ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Pelayo
García Acevedo

Tesis doctoral

Interacciones en Nanomateriales Magnéticos y su Influencia en Aplicaciones Biomédicas y Tecnológicas

Santiago de Compostela, 2024

Programa de doctorado en Ciencia de Materiales

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ESCOLA DE DOUTORAMENTO
INTERNACIONAL DA USC

TESIS DOCTORAL

INTERACCIONES EN NANOMATERIALES MAGNÉTICOS Y SU INFLUENCIA EN APLICACIONES BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS

Pelayo García Acevedo

Directores: José Rivas Rey y Yolanda Piñeiro Redondo

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA DE MATERIALES

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2024

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero empezar mencionando a mis directores de tesis, el Prof. José Rivas y la Dra. Yolanda Piñeiro o, fuera de formalismos, Pepe y Yoly. Gracias por darme la oportunidad de realizar esta tesis bajo vuestra dirección, por vuestros consejos científicos y vuestro tiempo, pero, sobre todo, por estar ahí en los problemas y en los momentos de dudas.

A los Prof. José Rivas y Prof. M. Arturo López Quintela que, hace ya algún que otro año, decidieron emprender una aventura conjunta y, probablemente pionera, la de unir los conocimientos de un físico y los de un químico y formar la que ha sido mi casa durante estos cuatro años, el grupo de investigación NANOMAG. Por este grupo han pasado muchos científicos y se han leído unas cuantas tesis doctorales. Espero, con este trabajo, poder haber aportado mi pequeño grano de arena.

Quiero agradecer también a todo el personal investigador que ha hecho posible que este trabajo salga adelante. En especial a los colaboradores y al personal de las infraestructuras de Apoyo a la Investigación y al Desarrollo Tecnológico (RIAIDT-USC). Por su inestimable colaboración y ayuda.

Al Dr. Manuel Bañobre, Manolo, por acogerme en su grupo de investigación durante mi estancia en el INL. Desde el primer día supe que las puertas de tu despacho estarían siempre abiertas para lo que necesitase. Gracias por el apoyo, por los consejos, por las discusiones científicas y también por alguna que otra risa. Fue un periodo corto, pero suficiente para transmitirme tu motivación y pasión por la ciencia. Al Dr. Juan Gallo, por su ayuda y sus consejos. A todos os colegas do AmTheNa Lab. À Lara, Brenda, Catia, Raquel B., Barbara, Raquel R., Víctor, Eleonora, Marina, Nuria, Andreia, por fazer minha estadia mais agradável. Obrigadíssimo! Gracias también al programa IACOBUS estancias por su apoyo económico para la realización de la estancia predoctoral.

Al Dr. Pablo Alonso y al Dr. Javier Martín del Quantum Nanoptics Lab de la Universidad de Oviedo, por que, gracias a vosotros, pude conocer que era eso de la investigación allá por el año 2018. Gracias por transmitirme vuestra pasión por la ciencia y, sobre todo, por la nanotecnología, que, hace ya unos años, hiciesen que tomase este camino. Por haber sido mis primeros referentes y acogerme como a uno más. Parte de esta tesis es gracias a vosotros.

A tod@s los compañer@s de grupo con los que he compartido mi tiempo durante estos años. Al Prof. Jorge Mira y Prof. Carlos Vázquez, por su ayuda y colaboración siempre que es necesario. A Susana, por tener la difícil tarea de enseñarme y transferirme su conocimiento. Cuando te fuiste no las tenía todas conmigo, pero hoy en día puedo decir que, al menos, no me cargué el VSM ni el SQUID. Gracias por tu paciencia y por tu apoyo constante. A Manu, porque, aunque cuando leas esta tesis digas ``eso son cuentos teóricos´´ o `` cosas raras de físicos´´, también formas parte de ella. A Lisa, a menina portuguesa, por tus consejos, siempre sabios, y los momentos compartidos, não é?. Con especial cariño a Ángela. Empezamos esta aventura juntos y después de cuatro años puedo decir que me llevo una amiga conmigo. Todo lo que tengo de químico (aunque sea poco), te lo debo a ti. Gracias por enseñarme que las mesas de los laboratorios se llaman poyatas o que los vasos esos alargados son en realidad probetas. Por mucho que me esfuerce, para ti seguiré siendo el físico raro que toca botones en el VSM.

A mi compi de la tierrina, Nere. Que sepas que la bandera de Asturias ahora está en mi cajón. A María, ya no sé cuándo apareciste por el grupo. Para mí siempre estuviste ahí. Gracias por tu alegría y tu ayuda. A Jose, ojalá algún día tener tu calma y tranquilidad. Por transmitir siempre buenas vibraciones. A Iría, por las risas, esa motivación científica que te caracteriza y alguna que otra caña. Y a tantos otros compañeros y compañeras que en algún momento hayamos coincido en esta etapa. Vosotr@s sois l@s que habéis compartido mi día a día durante estos años y nada de esto hubiese sido posible sin vuestra ayuda. Gracias.

A mi familia y amig@s que tuve la suerte de cruzarme en algún momento de la vida. Gracias. En especial a los que os torturé con esta tesis. A los Malqueda (Elena, Vera, Fuga y Héctor), a Adri y a María, por vuestra amistad y cariño (y bueno…por los catanes). Después de esto…unas hamburguesitas o que?

A ti, mamá. Por convertirme en lo que soy hoy. Nada de esto sería posible sin ti. Por tus valores, cariño, esfuerzo y sacrificio. Me harían falta cinco vidas para poder agradecerte todo lo que te debo. Se que esta tesis va a hacer que te sientas orgullosa pero no es comparable al orgullo que siento de tenerte como madre. Te quiero. A mi hermano, mi bro, Emi. Por ser mi referente. Poco o nada sabes de esta tesis (y dudo que algún día vayas a leer una triste línea jeje) pero gracias por haber estado siempre ahí.

A Lara, esta tesis es más tuya que mía. Por hacer que hoy pueda estar escribiendo estas líneas. Sin ti no hubiese sido posible. Por ser el apoyo en los momentos difíciles y darme el impulso de seguir en los momentos de dudas, que no fueron pocos. Ge smaukdaun, gyon op nodataim. Pero también por tu alegría diaria, tu cariño y tu amistad. Por querer compartir tu vida conmigo y acompañarme en este viaje. Haces que mi miedo se confunda con humo.

No sé si algún día volveré a leer estas líneas, pero si es así quiero leerlas con orgullo. Recordaré esta etapa como lo que es. Una etapa dura, con momentos difíciles y muchos momentos de incertidumbre, en los que la opción fácil hubiese sido dejarlo todo. Pero también con momentos de victoria, de satisfacción y de alegría. Todos lo sabemos, un día bueno en la ciencia puede contrarrestar cinco meses de derrotas y frustración. Por haber superado esta etapa, sin rendirme y levantándome de nuevo. Hoy, al fin, cierro una etapa única que recordaré siempre.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

FUNDING

Agradecer a la financiación que, durante estos años, ha permitido la realización de esta tesis y que es fundamental para poder hacer una ciencia de calidad:

- Xunta de Galicia: Programas de Consolidación a los Grupos de Referencia Competitiva 2017 (ED431C 2017/22) y 2021 (ED431C 2021/16)
- Xunta de Galicia: Desarrollo de la Agrupación Estratégica AeMAT (ED431E2018/08)
- European Commission under the BOW project (FETPROACT-EIC-05-2019, Grant 952183)
- Ministerio de Ciencia e Innovación/Agencia Estatal de Investigación y Next Generation EU: Proyecto CARTSol (PLEC2022-009217)

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Tabla de Contenidos

Resumen/Summary ..... **i**

1 Introducción **1**

1.1 Magnetismo **1**
1.1.1 Tipos de Materiales Magnéticos y sus Interacciones **1**
1.1.1.1 Momentos Magnéticos Aislados 1
1.1.1.2 Interacciones Magnéticas 2
1.1.2 Nanomagnetismo: Explorando el Magnetismo desde lo Macro a lo Nano **4**
1.1.2.1 Tamaño de Partícula y Comportamiento Magnético 5
1.1.2.2 Superparamagnetismo – Modelos de Relajación 7
1.1.2.3 El Papel de las Interacciones 8
1.1.2.4 Efectos Superficiales 10

1.2 Nanopartículas Magnéticas Basadas en Óxidos de Fe **10**
1.2.1 Síntesis de Nanopartículas Magnéticas **12**
1.2.1.1 Método de la Coprecipitación 12
1.2.1.2 Método Hidrotermal 13
1.2.1.3 Método de la Descomposición Térmica 13
1.2.1.4 Otros Procedimientos Sintéticos 14

1.3 Aplicaciones Tecnológicas de las Nanopartículas Magnéticas **15**
1.3.1 Introducción **15**
1.3.2 Fundamentos – El Efecto Exchange Bias **15**
1.3.3 Estado del Arte y Retos Futuros **17**

1.4 Aplicaciones Biomédicas de las Nanopartículas Magnéticas **20**
1.4.1 Hipertermia Magnética **20**
1.4.1.1 Introducción 20
1.4.1.2 Fundamentos: Néel, Brown y la Constante de Anisotropía 21
1.4.1.3 Estado del Arte y Retos Futuros 23
1.4.2 Imagen por Resonancia Magnética **26**
1.4.2.1 Introducción 26
1.4.2.2 Fundamentos – Relajación T_1 y T_2 26
1.4.2.3 Estado del Arte y Retos Futuros 28

2 Objetivos **31**

3 Metodología **33**

3.1 Síntesis de Nanopartículas Magnéticas **33**
3.1.1 Síntesis de Nanopartículas de Fe/Fe_3O_4 y Huecas de Fe_3O_4 ..... **33**
3.1.2 Síntesis de Nanopartículas de Fe_3O_4@SiO_2 ..... **33**
3.1.3 Síntesis de Nanopartículas de Fe_3O_4@PDA y Fe_3O_4@PEG **34**
3.1.4 Síntesis de Nanopartículas de Fe_3O_4@SiO_2 Fluorescentes **34**
3.1.5 Síntesis de Nanopartículas de Fe_3O_4@CS y Fe_3O_4@Citrate Multinúcleo **35**
3.1.6 Síntesis de Nanopartículas de Fe_3O_4@SiO_2 Multinúcleo **35**

3.2 Técnicas de Caracterización Fisicoquímica **36**
3.2.1 Caracterización Estructural **36**
3.2.2 Caracterización Morfológica **36**
3.2.3 Composición de las Nanopartículas **36**
3.2.4 Propiedades Coloidales **37**

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.2.5 Caracterización Óptica 37
3.2.6 Propiedades Magnéticas 37
4 Discusión General 39
4.1 Diseño de Sistemas de Nanopartículas Magnéticas 39
4.2 Propiedades Morfológicas y Estructurales 40
4.3 Propiedades Magnéticas y Su Relación con los Parámetros de Diseño 41
4.4 Interacción de Canje y Efecto Exchange Bias 44
4.5 Efecto de las Interacciones Dipolares en la Determinación de K_{eff} 48
4.6 Nanopartículas Como Agentes Ópticos y Nanocalentadores 52
5 Conclusiones/Conclusions 57
6 Publicación 1 65
7 Publicación 2 67
8 Publicación 3 69
9 Referencias 71
10 Anexo. Copia Íntegra de las Publicaciones 81

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

RESUMEN/SUMMARY

La ciencia de materiales ha ido evolucionando a lo largo de los años a pasos agigantados y hoy en día constituye uno de los pilares sobre los que se sustenta la sociedad. Una de las disciplinas más prometedoras, la nanotecnología, se basa en el uso de materiales cuyas dimensiones presentan un tamaño extremadamente reducido, unos pocos nanómetros. La aparición de nuevas e interesantes propiedades únicas de la nanoescala potencian el uso de estos materiales, pero, a su vez, agitan los cimientos de numerosas ramas del conocimiento científico, como la física, la química o la ingeniería, que requieren de una continua revisión de sus marcos teóricos.

Durante los últimos años, una de las disciplinas más investigadas es el nanomagnetismo, en la que se vienen explorando las propiedades magnéticas de diferentes sistemas nanoestructurados. Esto ha permitido su uso en multitud de aplicaciones, desde tecnológicas, como sistemas de grabación magnética o dispositivos basados en espintrónica, hasta biomédicas, como agentes teragnósticos que permitan mejorar la eficacia de diferentes terapias o realzar con mayor precisión el contraste en imagen médica. Recientemente destaca un tratamiento oncológico innovador basado en el calentamiento de una región local mediante hipertermia magnética, que permite prolongar la esperanza de vida en 6 meses/1 año en pacientes sin posibilidades con terapias convencionales. En este método, las nanopartículas magnéticas, expuestas a un campo magnético alterno, absorben la energía magnética, y mediante procesos de relajación la transforman en energía térmica, actuando así como fuentes de calor a escala nanométrica. Por su reducido tamaño, estos nanomateriales, permiten calentar selectivamente tumores de difícil acceso o actuar como tratamiento complementario coadyuvante de tratamientos convencionales (quimioterapia) aumentando su efectividad. Además, la posibilidad del uso de las nanopartículas magnéticas como agentes de diagnóstico por imagen médica, convierte a estos materiales en nanoherramientas teranósticas (terapia y diagnóstico).

Por otro lado, la reducción de tamaño continuada de los dispositivos electrónicos conlleva la necesidad de desarrollar sistemas de almacenamiento de información de un tamaño muy reducido. En este contexto, una de las disciplinas que ha ido ganando protagonismo para aportar soluciones en dispositivos de almacenamiento y procesamiento de la información es la espintrónica. Específicamente, la magnetorresistencia gigante es un efecto mecánico cuántico en el que se basan los sistemas de almacenamiento de memorias de acceso aleatorio no volátiles que, dadas sus numerosas ventajas, se espera que dominen en el mercado tecnológico en los próximos años. Estas memorias basan su funcionamiento en el acoplamiento de capas delgadas ferromagnéticas y antiferromagnéticas mediante un efecto conocido como exchange bias (EB). Este efecto también se observa en sistemas de nanopartículas magnéticas que, dadas sus reducidas dimensiones, se están convirtiendo en excelentes candidatos como alternativa a los sistemas de capas delgada.

No obstante, tanto en aplicaciones biomédicas como tecnológicas existen limitaciones del uso de las nanopartículas magnéticas que deben de ser solventadas. Por un lado, la agregación e inmovilización de las nanopartículas en organismos vivos conllevan una drástica reducción de su eficiencia en procesos de hipertermia magnética. Específicamente se ha observado una supresión del mecanismo de relajación de Brown, uno de los dos mecanismos que induce la generación de calor. Esto ha conllevado a la búsqueda de soluciones para potenciar el otro mecanismo implicado, la relajación de Néel, que depende fundamentalmente de la constante de anisotropía efectiva (K_{eff}) de la nanopartícula. Por otro lado, los parámetros que modulan el

USC DE COMPOSTELA

efecto EB en sistemas de nanopartículas aún no se comprenden bien, observándose discrepancias significativas en los trabajos reportados. En ambas aplicaciones, el papel que desempeñan las interacciones magnéticas, dipolares y de intercambio fundamentalmente, es clave y su presencia dificulta, en muchas ocasiones, la correcta determinación de las propiedades magnéticas de las nanopartículas. Así, con el objetivo de potenciar el uso de estos nanomateriales magnéticos en el mercado tecnológico y en la clínica, es fundamental comprender cómo determinados efectos de interacción modulan el rendimiento de los nanomateriales magnéticos.

En la presente tesis se ha investigado el papel de las interacciones de sistemas nanoestructurados magnéticos y su influencia tanto en aplicaciones tecnológicas como en biomédicas. Por un lado, se investigó en el efecto EB, basado en la interacción de intercambio, en sistemas de nanopartículas huecas, profundizando en los mecanismos que lo generan y su modulación mediante parámetros externos, como el campo de enfriamiento. En segundo lugar, se diseñó un sistema modelo basado en nanopartículas magnéticas que permitió obtener K_{eff} libre de interacciones dipolares, clave para la mejora de la relajación de Néel en hipertermia magnética. Por último, la variación en los parámetros de diseño y métodos sintéticos permitió explorar la aplicación de las nanopartículas magnéticas como agentes ópticos y agentes terapéuticos en hipertermia magnética.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Materials science has evolved over the years by leaps and bounds and today constitutes one of the pillars on which society is based. One of the most promising disciplines, nanotechnology, is based on the use of materials whose dimensions are extremely small, just a few nanometers. The emergence of new and interesting properties unique to the nanoscale is boosting the use of these materials, but at the same time shaking the foundations of many branches of scientific knowledge, such as physics, chemistry and engineering, which require continuous revision of their theoretical frameworks.

In recent years, one of the most researched disciplines is nanomagnetism, in which the magnetic properties of different nanostructured systems have been explored. This has allowed their use in a multitude of applications, from technological ones, such as magnetic recording systems or spintronics-based devices, to biomedical ones, such as theragnostic agents that improve the efficacy of different therapies or enhance the contrast in medical imaging with greater precision. Recently, an innovative oncological treatment based on the heating of a local region using magnetic hyperthermia, which makes it possible to prolong life expectancy by 6 months/1 year in patients with no possibilities with conventional therapies, stands out. In this method, magnetic nanoparticles, exposed to an alternating magnetic field, absorb magnetic energy, and through relaxation processes transform it into thermal energy, thus acting as heat sources on a nanometric scale. Due to their small size, these nanomaterials make it possible to selectively heat difficult-to-access tumors or act as a complementary adjuvant treatment to conventional treatments (chemotherapy), increasing their effectiveness. Furthermore, the possibility of using magnetic nanoparticles as medical imaging diagnostic agents turns these materials into theranostic nanotools (therapy and diagnosis).

On the other hand, the continued reduction in the size of electronic devices entails the need to develop information storage systems of a very small size. In this context, one of the disciplines that has been gaining prominence to provide solutions in information storage and processing devices is spintronics. Specifically, giant magnetoresistance is a quantum mechanical effect underlying non-volatile random access memory storage systems that, given their numerous advantages, are expected to dominate the technology market in the coming years. These memories base their operation on the coupling of thin ferromagnetic and antiferromagnetic layers through an effect known as exchange bias (EB). This effect is also observed in magnetic nanoparticle systems which, given their small dimensions, are becoming excellent candidates as an alternative to thin layer systems.

However, in both biomedical and technological applications there are limitations to the use of magnetic nanoparticles that must be resolved. On the one hand, the aggregation and immobilization of nanoparticles in living organisms leads to a drastic reduction in their efficiency in magnetic hyperthermia processes. Specifically, a suppression of the Brown relaxation mechanism, one of the two mechanisms that induces heat generation, has been observed. This has led to the search for solutions to enhance the other mechanism involved, the Néel relaxation, which fundamentally depends on the effective anisotropy constant (K_{eff}) of the nanoparticle. On the other hand, the parameters that modulate the EB effect in nanoparticle systems are still not well understood, with significant discrepancies observed in the reported works. In both applications, the role played by magnetic, dipolar and exchange interactions is fundamentally key, and their presence often makes it difficult to correctly determine the magnetic properties of the nanoparticles. Thus, in order to enhance the use of these magnetic nanomaterials in the technological market and in the clinic, it is essential to understand how certain interaction effects modulate the performance of magnetic nanomaterials.

In this thesis, the role of the interactions of magnetic nanostructured systems and their influence on both technological and biomedical applications has been investigated. On the one

USC DE COMPOSTELA

hand, the EB effect was investigated, based on the exchange interaction, in hollow nanoparticle systems, delving into the mechanisms that generate it and its modulation through external parameters, such as the cooling field. Secondly, a model system based on magnetic nanoparticles was designed that allowed K_{eff} to be obtained free of dipolar interactions, key to improving Néel relaxation in magnetic hyperthermia. Finally, the variation in design parameters and synthetic methods allowed exploring the application of magnetic nanoparticles as optical agents and therapeutic agents in magnetic hyperthermia.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1 INTRODUCCIÓN

La nanotecnología fue definida por la Iniciativa Nacional de Nanotecnología (INN) de Estados Unidos como ``una ciencia, ingeniería y tecnología que se desarrolla en la nanoescala (de 1 a 100 nm), donde fenómenos únicos permiten aplicaciones novedosas en una amplia gama de campos, desde la química, la física y la biología hasta la medicina, la ingeniería y la electrónica´´[1]. Este concepto fue introducido por el físico y premio Nobel, Richard Feynman, a finales de los años 50[2]. Sin embargo, no fue hasta 15 años más tarde cuando el científico japonés, Norio Taniguchi, definió, por primera vez, el término ``nanotecnología´´ que ``consiste principalmente en el proceso de separación, consolidación y deformación de materiales por un átomo o una molécula´´[3]. Hoy en día, esta tecnología está definida como la capacidad de observar, medir, manipular, controlar y fabricar materia a escala nanométrica y debe ser diferenciada de la nanociencia, que se ocupa de la manipulación de materiales a escala atómica y molecular[1].

Esta tecnología contribuye a numerosos campos de la ciencia, como la ciencia de los materiales, la física, la química o la biología. Esto ha permitido que, los materiales nanométricos o nanomateriales, se hayan implantado rápidamente como elementos esenciales en la mayoría de las tecnologías facilitadoras esenciales (TFE), como la micronanoelectrónica, la fotónica, la biotecnología o los materiales avanzados. Con especial interés, en los últimos años, ha abierto la puerta a avances en biomedicina tan prometedores como nuevos tratamientos contra el cáncer o agentes de contraste selectivos para la detección temprana de enfermedades neurodegenerativas. Precisamente, esto ha sido posible gracias a la comunión de la nanotecnología con el magnetismo, dando lugar a una innovadora área de investigación, el nanomagnetismo[4].

1.1 MAGNETISMO

1.1.1 Tipos de Materiales Magnéticos y sus Interacciones

En función de la respuesta de un material ante la presencia de un campo magnético externo, concretamente de la orientación de sus momentos magnéticos, se pueden diferenciar los tipos de magnetismo: diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo, antiferromagnetismo y ferrimagnetismo, representados en la Figura 1.1.a. El origen de estos comportamientos ocurre a nivel cuántico, y su entendimiento se debe a la contribución de las diferentes teorías desarrolladas por científicos como Paul Langevin, que expuso su teoría sobre el comportamiento diamagnético de los materiales[5]; Pierre Weiss, fundamental para comprensión del ferromagnetismo[6]; o Louis Néel, que desarrolló principalmente la teoría del antiferromagnetismo[7], entre otros. En términos generales, las interacciones entre los momentos magnéticos atómicos conducen a los distintos estados fundamentales de los materiales magnéticos.

1.1.1.1 Momentos Magnéticos Aislados

Si prescindimos de las interacciones entre momentos magnéticos en átomos distintos o con sus entornos cercanos, nos enfocamos exclusivamente en la física de átomos aislados y su relación con un campo magnético externo. Al simplificar, el gran número de átomos da lugar a

propiedades como la susceptibilidad magnética, que incluye un factor "n" representando el número de átomos por unidad de volumen. En este contexto, se manifiestan fenómenos como el diamagnetismo y el paramagnetismo. Todos los materiales muestran algún grado de diamagnetismo, que se manifiesta como una susceptibilidad magnética negativa débil. En este caso, un campo magnético induce un momento magnético que se opone al campo aplicado. Por otro lado, el paramagnetismo indica una susceptibilidad magnética positiva, donde un campo magnético induce una magnetización alineada con el campo aplicado. Este fenómeno ocurre en materiales con electrones desapareados.

1.1.1.2 Interacciones Magnéticas

Los diferentes tipos de interacción magnética, que pueden ser importantes para permitir que los momentos magnéticos en un sólido se comuniquen entre sí, son las interacciones dipolares y las interacciones de intercambio:

i) La **interacción dipolar**, acontecida entre dipolos magnéticos, es una interacción de largo alcance que, sin embargo, disminuye rápidamente con la distancia.

ii) La **interacción de intercambio** es una interacción de corto alcance que opera en distancias cercanas en la estructura atómica y cristalina de los materiales magnéticos. Esta interacción, de naturaleza cuántica, tiende a hacer que los espines de los electrones estén alineados en la misma dirección. Esta interacción puede ser de intercambio directo o indirecto:

- La interacción de intercambio directo ocurre entre electrones de átomos vecinos sin intermediarios, siendo la base de los materiales ferromagnéticos.
- La interacción de intercambio indirecto, denominada también superintercambio, ocurre entre iones no magnéticos e iones magnéticos no vecinos, siendo relevante en algunos sólidos iónicos y base de los materiales antiferromagnéticos y ferrimagnéticos.

Existen, a su vez, otro tipo de interacciones de intercambio, entre las que destacan: las interacciones de RKKY (Ruderman-Kittel-Kasuya-Yosida), un tipo de interacciones de intercambio en metales, en la que los electrones de conducción median la interacción entre momentos magnéticos localizados en métales; la interacción de doble intercambio, basada en la posibilidad de intercambio ferromagnético en óxidos debido a la valencia mixta de iones magnéticos; y la interacción de intercambio anisotrópica, que influye a través de la interacción espín-órbita, generando un componente ferromagnético débil en materiales antiferromagnéticos. Este efecto se conoce como ferromagnetismo débil y se encuentra en, por ejemplo, α-Fe_2O_3, $MnCO_3$ y $CoCO_3$. En base a las interacciones se pueden definir los diferentes estados magnéticos fundamentales[8].

Desde un punto de vista experimental, cada tipo de magnetismo presenta una huella bien diferenciada cuando se estudia la dependencia de la magnetización con un campo magnético externo, tal y como se puede observar en la Figura 1.1.b. En los materiales paramagnéticos y diamagnéticos, la orientación de los momentos magnéticos en la misma dirección o en la dirección contraria al campo, respetivamente, se traducen en una tendencia positiva o negativa de la magnetización frente al campo aplicado. En los materiales ferromagnéticos (o ferrimagnéticos), los dominios magnéticos en ausencia de un campo se encuentran alineados aleatoriamente con una magnetización neta nula y se van alineando bajo la aplicación de un campo magnético externo hasta la magnetización de saturación, M_S, para campos aplicados elevados. A medida que la intensidad del campo magnético externo disminuye, los dominios magnéticos perderán la alineación con el campo y la magnetización neta irá disminuyendo progresivamente. Sin embargo, la alineación de los momentos magnéticos conlleva una

magnetización espontánea que permanecerá una vez se elimina el campo, conocida como magnetización remanente o remanencia, M_R. Es posible eliminar esa M_R mediante la aplicación de un campo magnético. Este campo viene determinado en la curva M-H en el punto en el que la magnetización es nula y es conocido como campo coercitivo, H_C. Esta curva, que se obtiene al variar la intensidad y dirección del campo magnético desde un extremo positivo hasta un extremo negativo se conoce como ciclo de histéresis y engloba el comportamiento magnético que presenta un material.

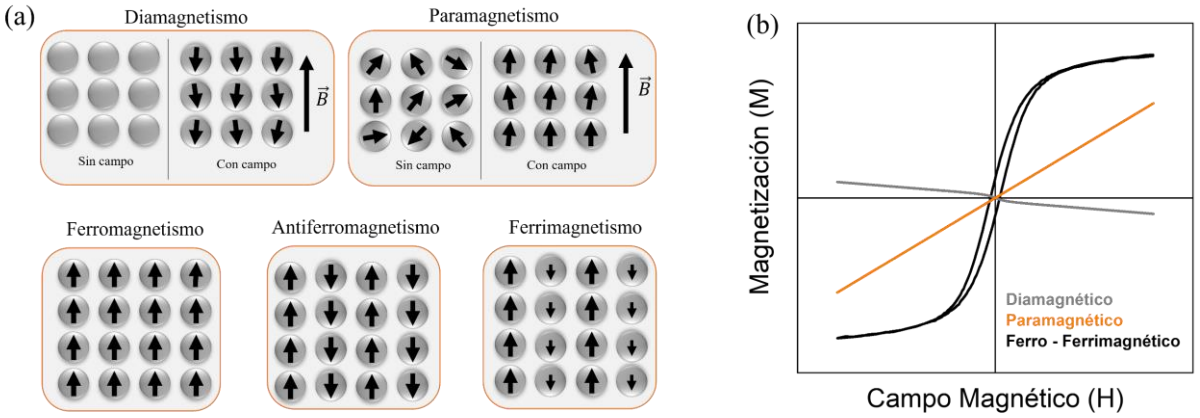

Figura 1.1 (a) Representación de la distribución de los momentos magnéticos en función de los comportamientos magnéticos del material: diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo, antiferromagnetismo y ferrimagnetismo. **(b)** Curvas de magnetización frente a campo magnético de sistemas magnéticos con diferentes comportamientos: diamagnético (gris), paramagnético (naranja) y ferro-ferrimagnético (negro). [Fuente: Elaboración propia].

La energía libre total (E) de una muestra ferromagnética en un campo magnético aplicado se puede expresar como la suma de varios términos energéticos:

$$E = E_H + E_{an} + E_{ex} + E_{ms} + E_\sigma \qquad (1.1)$$

i) La **energía de Zeeman**, E_H, es la energía de la magnetización, $\vec{M}$, de la muestra en el campo magnético externo aplicado, H_{ext}, dada por:

$$E_H = -\mu_0 \int \vec{M}\,\vec{H}_{ext} dV \qquad (1.2)$$

ii) La **energía de anisotropía**, E_{an}, representa la energía asociada con la anisotropía magnética, que es la dependencia direccional de las propiedades magnéticas del material. La anisotropía magnética se caracteriza por inducir la magnetización en una dirección preferencial y se clasifica en diferentes tipos: magnetocristalina, caracterizada por la presencia de un eje preferencial inducido por la red cristalina (eje fácil); de superficie, producida por la ausencia de simetría de los momentos magnéticos en la superficie de un material; y de forma[9].

iii) La **energía de intercambio**, E_{ex}, es la energía asociada con la alineación o antialineación de los momentos magnéticos vecinos y favorece la alineación paralela de los momentos magnéticos en un material ferromagnético. La expresión utilizada para esta energía requiere cierta discusión y constituye una parte importante de la energía total de muchas moléculas y de la unión covalente en muchos sólidos. Heisenberg demostró su papel crucial en el ferromagnetismo. Si dos átomos i y j tienen momentos angulares de espín **Si** = h/2π y **Sj** = h/2π, respectivamente, la energía de intercambio entre ellos se expresa como:

$$E_{ex} = -2\,J_{ex}\vec{S_i}\cdot\vec{S_j} = -2\,J_{ex}S_i \cdot S_j \cos\theta \qquad (1.3)$$

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

donde J_{ex} es una integral específica, conocida como integral de intercambio, utilizada en el cálculo del efecto de intercambio, y θ representa el ángulo entre los espines. Cuando J_{ex} es positivo, E_{ex} es mínima cuando los espines son paralelos (cos θ = 1) y máxima cuando son antiparalelos (cos θ =-1). En caso de que J_{ex} sea negativa, el estado de energía más bajo se logra con espines antiparalelos. El ferromagnetismo se origina por la alineación de momentos de espín en átomos cercanos. Por ende, un valor positivo en J_{ex} es esencial para que ocurra el ferromagnetismo, aunque esto es poco común, ya que J_{ex} suele ser negativo, como en la molécula de hidrógeno [10,11].

iv) La **autoenergía magnética**, $E_{ms,}$ es la energía asociada con el campo desmagnetizante, H_d, a veces denotada también como energía en su propio campo. Esta energía viene dada por[12]:

$$E_{ms} = \frac{\mu_0}{2} \int H_d^2 \, dv \tag{1.4}$$

siendo dv un elemento de volumen.

v) Por último, la **energía magnetoelástica**, Eσ, está asociada a la presencia de una tensión σ y, para una muestra con magnetización isotrópica, viene dada por:

$$E_\sigma = -\frac{3}{2}\lambda_{si}\sigma \cos^2\theta \tag{1.5}$$

por unidad de volumen, siendo θ el ángulo entre M_S y σ.

La minimización de E con respecto a las configuraciones de los momentos magnéticos implica encontrar la configuración que minimiza la suma de estas cinco contribuciones. Esto se produce mediante la formación de dominios magnéticos dentro de los materiales. En este contexto, las paredes magnéticas, también conocidas como paredes de dominio o fronteras de dominio, son regiones en un material magnético donde la dirección de la magnetización cambia. Estas paredes separan los dominios magnéticos, que son regiones en las que los momentos magnéticos están alineados en la misma dirección.

En un material ferromagnético, los átomos tienen momentos magnéticos inherentes debido al espín de los electrones. Estos momentos magnéticos tienden a alinearse en la misma dirección, generando un dominio magnético con una magnetización global coherente. Sin embargo, para minimizar la energía, pueden formarse múltiples dominios magnéticos en el material, donde los momentos magnéticos están alineados en diferentes direcciones. Las paredes magnéticas son zonas de transición entre estos dominios, donde la orientación de la magnetización cambia gradualmente, existiendo dos tipos principales:

- Paredes de dominio de Bloch: Se caracterizan por la rotación de la magnetización en un plano perpendicular a la dirección de la pared.
- Paredes de dominio de Néel: Se caracterizan por la rotación de la magnetización en un plano paralelo a la dirección de la pared.

La presencia de paredes magnéticas es crucial en el comportamiento de los materiales ferromagnéticos, ya que afectan al comportamiento de la magnetización en respuesta a campos magnéticos externos. Cuando se aplica un campo magnético externo, las paredes magnéticas pueden moverse y cambiar la configuración de los dominios magnéticos, afectando a las propiedades magnéticas del material. En este contexto, la comprensión y control de las paredes magnéticas son esenciales para diversas aplicaciones tecnológicas, como en dispositivos de almacenamiento de datos magnéticos y en el diseño de materiales magnéticos avanzados[11].

1.1.2 Nanomagnetismo: Explorando el Magnetismo desde lo Macro a lo Nano

Existen numerosos factores que inducen la variación de las propiedades magnéticas entre materiales nanométricos y macroscópicos, como la simetría quebrada, la proporción aumentada

de átomos en la superficie y el tamaño comparado con longitudes fundamentales. En este contexto, surge el nanomagnetismo, cuyo enfoque se centra en las propiedades magnéticas de materiales con al menos una dimensión en el rango nanoscópico.

Un ejemplo claro de cómo la reducción del tamaño afecta a las propiedades magnéticas se produce en materiales magnéticos con dimensiones en la nanoescala, concretamente en forma de nanopartículas. En muchas muestras ferromagnéticas, el estado de menor energía ante la ausencia de un campo magnético externo es el estado desmagnetizado, de modo que el momento magnético total es cero. Si se reduce el tamaño del material, las energías superficiales (como las energías de las paredes de dominio) se vuelven progresivamente más costosas en comparación con las energías volumétricas (como la energía desmagnetizante). Por lo tanto, se puede alcanzar una dimensión crítica por debajo de la cual es energéticamente favorable eliminar las paredes de dominio, de modo que el material consista en un solo dominio magnetizado. Se comportaría entonces como un pequeño imán permanente. Teniendo en cuenta que el tamaño de un dominio puede ser determinado como la distancia a la cual los momentos magnéticos mantienen su colinealidad, los materiales monodominio suelen tener un tamaño inferior a los 100 nm. En este tipo de materiales todos los espines son colineales y, por tanto, su magnetización es uniforme[10].

1.1.2.1 Tamaño de Partícula y Comportamiento Magnético

El tamaño por debajo del cual un material transita del multidominio al monodominio depende típicamente de características intrínsecas del material, tales como la morfología, la cristalinidad o la composición. Es posible obtener dicho tamaño crítico considerando una partícula con anisotropía uniaxial, siendo E_{an}:

$$E_{an} = -KV\text{sen}^2\theta \qquad (1.6)$$

donde K es la densidad de energía anisotrópica, V es el volumen de la partícula y θ es el ángulo entre el vector de magnetización y el eje fácil, representado en la Figura 1.2.a. Así, se puede ver como el sistema tiene dos estados de mínima energía (para θ = 0, π) que se encuentran separados por una barrera de energía cuya altura es KV, como se observa en la Figura 1.2.b.

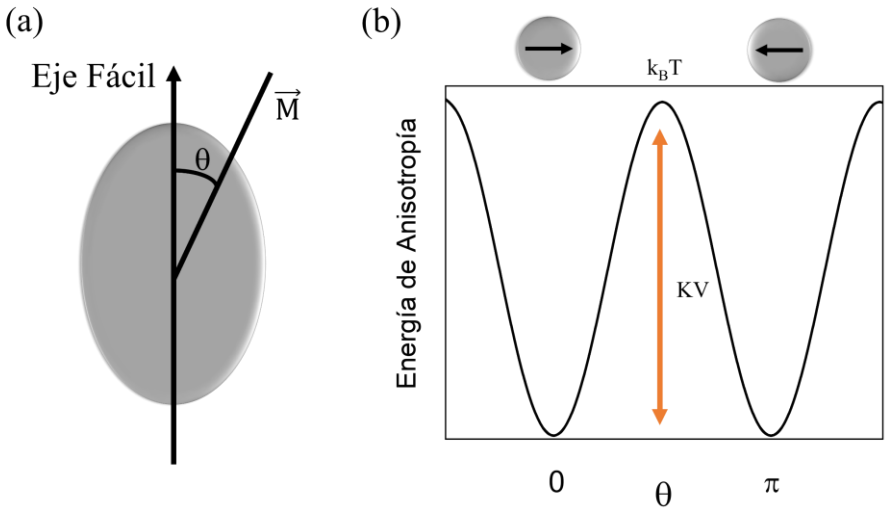

Figura 1.2. (a) Representación de una nanopartícula magnética con anisotropía magnética uniaxial donde θ representa el ángulo entre el eje fácil (de anisotropía) y el vector de magnetización. **(b)** Energía de anisotropía en función del ángulo θ. [Fuente: Elaboración propia].

Si se considera una partícula esférica cuya anisotropía satisface la siguiente condición:

$$K > \frac{\mu_0 M_s^2}{6} \tag{1.7}$$

siendo M_S la magnetización de saturación, el diámetro crítico a partir del cual un material transita a un estado de monodominio viene dado por:

$$D_c \approx \frac{36\sqrt{A_{ex}K}}{\mu_0 M_s^2} \tag{1.8}$$

siendo A_{ex} la rigidez de intercambio, una constante relacionada con la temperatura crítica, K es la anisotropía magnética del material, M_S la magnetización de saturación y μ_0 la permeabilidad en el vacío[11]. La Figura 1.3.a representa la variación en la distribución de los momentos magnéticos de una nanopartícula cuando el tamaño es inferior al tamaño crítico, $D<D_C$.

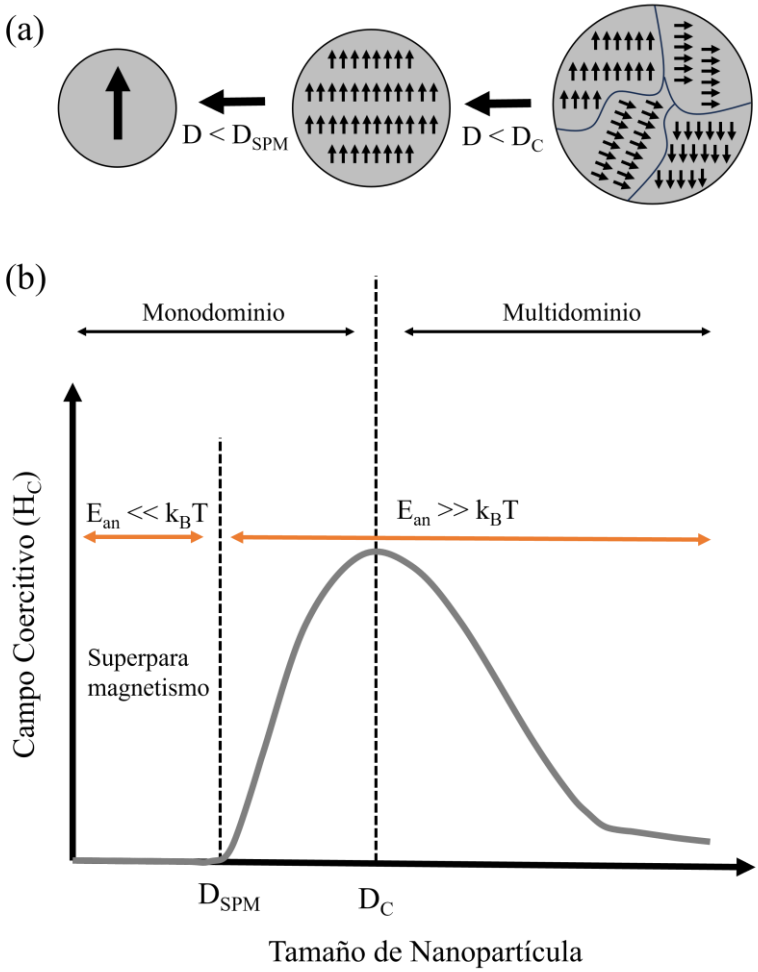

Figura 1.3. (a) Representación esquemática de la distribución de los momentos magnéticos de una partícula en función del régimen magnético: multidominio (derecha, $D>D_C$), monodominio (centro, $D<D_C$) y superparamagnético (izquierda, $D<D_{SPM}$). **(b)** Dependencia del campo coercitivo en función del tamaño de nanopartícula en los diferentes regímenes magnéticos: multidominio, monodomio y régimen superparamagnético. D_C y D_{SPM} representan los tamaños críticos de transición de un estado multidominio a monodominio y de un estado monodominio a superparamagnético, respectivamente. [Fuente: Elaboración propia].

A diferencia de los materiales macroscópicos, donde la respuesta ante un campo magnético viene dada por movimientos de las paredes de dominios, una característica interesante que surge

en los sistemas monodominio es la rotación de los espines. Stoner y Wohlfarth[13], a través de su trabajo pionero, fueron los impulsores de los marcos teóricos de las inversiones de los espines, consiguiendo predecir el valor del campo coercitivo asumiendo que los espines rotaban al unísono manteniendo la orientación colineal. Posteriormente, Luborsky[14] observó que la inversión de los espines en materiales monodominio requiere de energías mayores que las necesarias en los materiales multidominio para el movimiento de las paredes y, por ello, se produce un aumento de la coercitividad en la transición de un estado de multidominio a monodomio, como se observa en la Figura 1.3.b. El máximo de dicha coercitividad es controlado por E_{an} que se opone a la rotación lejos del eje fácil de magnetización. Cuando el tamaño de la nanopartícula es lo suficiente pequeño, por debajo de un tamaño crítico, los efectos térmicos comienzan a dominar sobre E_{an}. En este caso, la energía térmica, k_BT, puede exceder esta barrera energética, $k_BT > KV$ invirtiéndose la magnetización. Cuando esto ocurre, el sistema posee un comportamiento superparamagnético, donde la suma de los momentos individuales, denominado supermomento (Figura 1.3.a), rota aleatoriamente por efecto de la energía térmica. Son precisamente estas dos características las que denotan este nuevo comportamiento magnético, propio de la nanoescala, conocido como superparamagnetismo[10,11,15].

1.1.2.2 Superparamagnetismo – Modelos de Relajación

La probabilidad de que se produzca una inversión en la magnetización cuando la energía térmica es comparable a la barrera energética fue descrita, para sistemas de nanopartículas magnéticas libres de interacciones, a través de un modelo de relajación mediante la ley de Arrhenius-Néel[16]:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{\Delta E}{k_B T}\right) \tag{1.9}$$

siendo τ_N el tiempo que tarda una partícula en invertir su magnetización, τ_0 el tiempo de relajación característico, ΔE la barrera energética, y k_BT el término de energía térmica. La combinación de la ley Arrhenius-Néel, junto con el modelo estático de Stoner-Wohlfarth[13] permite conectar el término energético, ΔE, con la E_{an} de una nanopartícula, $E_{an} = KV$, siendo K la constante de anisotropía y V el volumen de la nanopartícula. La relación existente entre τ_N y el tiempo de medida de la correspondiente técnica experimental, τ_M, es la que define el estado en el que se encuentre el sistema de nanopartículas, conocidos como estado superparamagnético, para $\tau_M << \tau_N$, y estado bloqueado, para $\tau_M >> \tau_N$.

Existe, por tanto, un régimen de transición de un estado a otro, para $\tau_M=\tau_N$, que viene dado por la temperatura de bloqueo, T_B. Este parámetro depende de diferentes factores que pueden ser propios del material magnético, como K o el tamaño de la partícula, pero también de factores externos, como el tiempo de medida experimental o el campo aplicado. Partiendo de la Ec. (1.9), y considerando sistemas de nanopartículas magnéticas libres de interacciones, es decir, $\Delta E = E_{an}$, T_B puede ser obtenida mediante la siguiente expresión[17]:

$$T_B = \frac{E_{an}}{k_B \ln\left(\frac{\tau_m}{\tau_0}\right)} \tag{1.10}$$

Existen diferentes técnicas experimentales a partir de las cuales determinar T_B, aunque típicamente el uso de magnetómetros basados en dispositivos de interferencia cuántica superconductora (SQUID, del inglés Superconducting Quantum Interference Device) es el más extendido entre la comunidad científica. Esto no implica que otras técnicas, como la espectroscopía de Mössbauer, hayan sido empleadas, siendo las ventanas temporales de medida

diferentes que en el caso de los magnetómetros SQUID[18]. Centrándonos específicamente en el uso de los magnetómetros SQUID, T_B puede obtenerse mediante los conocidos protocolos de enfriamiento a campo cero (ZFC, del inglés ``Zero Field Cooling´´) y de enfriamiento con campo (FC, del inglés ``Field Cooling´´), denotados como protocolos ZFC-FC. A partir de esta técnica se determina la dependencia de la magnetización con la temperatura tras enfriar previamente la muestra con (FC) o sin campo (ZFC), obteniéndose, para el caso de nanopartículas magnéticas basadas en óxidos de Fe, una curva como la observada en la Figura 1.4. La determinación de T_B a partir de esta curva típicamente se obtiene como el máximo de la magnetización en la curva ZFC. Sin embargo, esto también ha sido motivo de debate en el campo durante los últimos años debido a la determinación de T_B mediante formas alternativas. Concretamente, hace menos de 10 años, se reportaban tres métodos diferentes en sistemas de nanopartículas magnéticas: una técnica basada en la derivada de la diferencia entre las curvas ZFC-FC (el bueno); el punto de corte entre la curva ZFC y FC, conocido como punto de inflexión (el feo); y el ZFC (el malo)[19].

1.1.2.3 El Papel de las Interacciones

Sin embargo, las condiciones de las medidas experimentales difieren de la idealidad de los sistemas de nanopartículas magnéticas libres de interacciones, consideradas en el modelo de relajación de Néel. La encapsulación de las nanopartículas en portamuestras en estado sólido conlleva la presencia de interacciones debido a la corta distancia que separa una nanopartícula de su vecina. Esto impone la necesidad de modificar el modelo de Néel para sistemas que no interactúan ($\Delta E = E_{an}$) añadiendo aquellas interacciones que estén afectando al sistema. Dormann–Bessais–Fiorani[20,21], desarrollaron un modelo teórico que considera la presencia de términos energéticos adicionales a la ecuación de Arrhenius-Néel:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{\Delta E^*}{k_B T}\right) \tag{1.11}$$

siendo $\Delta E^* = E_{an} + E_D + E_H$, formado por la suma de E_{an}, la energía de anisotropía magnética, E_D, un término de energía dipolar (un tipo de E_{ms}) y E_H, el término de energía de Zeeman producido por la presencia de campos magnéticos externos. Posteriormente, Jesús García-Otero et al.[22] confirmaron, basándose en una aproximación semiclásica del momento magnético de una partícula, μ_i, el modelo teórico propuesto por Dormann–Bessais–Fiorani mediante simulaciones de Monte Carlo, que define el término de la barrera energética como la suma de E_{an}, E_H, y E_D, dadas por:

$$E_{an}^{(i)} = -KV_i\left(\frac{\vec{\mu_i}\cdot\vec{n_i}}{|\vec{\mu_i}|}\right)^2 \tag{1.12}$$

siendo K la constante de anisotropía y $\vec{n}$el vector unidad que denota las direcciones fáciles.

$$E_H^{(i)} = -\vec{\mu_i}\cdot\vec{H} \tag{1.13}$$

siendo $\vec{H}$ el campo externo aplicado.

$$E_D^{(i,j)} = \frac{\vec{\mu_i}\cdot\vec{\mu_j}}{d_{ij}^3} - \frac{3(\vec{\mu_i}\cdot\vec{d_{ij}})(\vec{\mu_j}\cdot\vec{d_{ij}})}{d_{ij}^5} \tag{1.14}$$

siendo d_{ij} la distancia entre dos partículas. De forma que, asumiendo la contribución de todas las partículas, ΔE viene dado por:

$$\Delta E = \sum_i E_{an}^{(i)} + \sum_i E_H^{(i)} + \frac{1}{2}\sum_i \sum_{j\neq i} E_D^{(i,j)} \tag{1.15}$$

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

No obstante, tanto a nivel teórico y numérico como experimental, los estudios y modelos de nanopartículas con interacción dipolar llegan a conclusiones dispares desde hace décadas, con la consiguiente controversia en el campo. Diferentes parámetros como el tipo de síntesis empleada, el uso de cubiertas funcionales o incluso el tipo de medida pueden tener una influencia notable sobre la presencia de las interacciones y, por tanto, en la correcta determinación de la T_B.

La Figura 1.4 muestra las curvas ZFC-FC de dos sistemas de nanopartículas magnéticas formados por un mismo núcleo de óxido de Fe de un tamaño de d=9 nm, pero uno de ellos cubiertos con una capa no magnética de óxido de silicio (SiO_2). Se puede observar como el máximo de la curva ZFC, a partir del cual se obtiene T_B, se ve claramente desplazado hacia temperaturas menores cuando los núcleos magnéticos son separados por una capa no magnética de SiO_2. Este efecto se produce por la reducción de las interacciones dipolares al aumentar la distancia entre los núcleos magnéticos, que conlleva a una reducción del término E_D. No obstante, a pesar de que a priori parezca un tema trivial, los efectos de interacción de las nanopartículas magnéticas han sido motivo de debate dentro del magnetismo contemporáneo. Uno de ellos fue el sucedido hace poco más de 20 años entre los profesores J. L. Dormann, D. Fiorani y E.Tronc[21], cuyos modelos afirman el aumento ΔE con el aumento de las interacciones, y los profesores F. Hansen y S. Mørup[23,24], cuyos modelos afirman lo contrario.

Desde un punto de vista aplicado, es interesante disponer de sistemas de nanopartículas magnéticas cuya T_B sea inferior a la temperatura de trabajo de determinadas aplicaciones, como las aplicaciones biomédicas, donde las nanopartículas son inoculadas en organismos vivos, cuya temperatura corporal es de 37ºC. La razón reside en las características que adoptan las nanopartículas magnéticas en el régimen superparamagnético, donde H_C y M_R son despreciables. Este hecho evita posibles efectos secundarios en determinadas aplicaciones biomédicas, como la agregación de las nanopartículas.

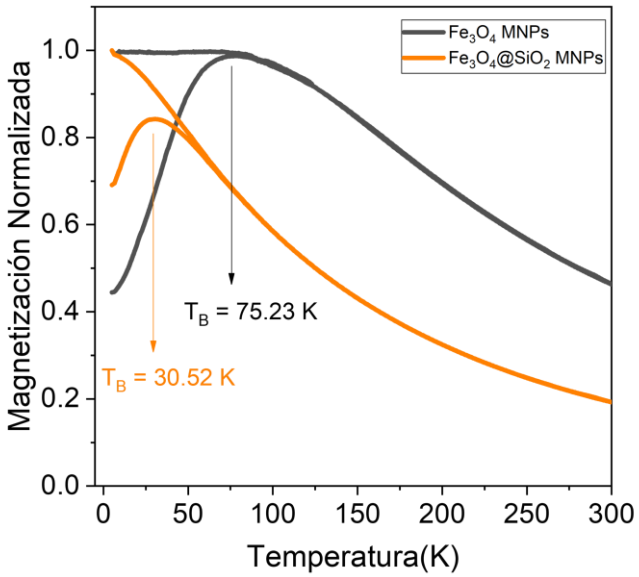

Figura 1.4. Curvas de ZFC-FC de dos sistemas de nanopartículas magnéticas: Fe_3O_4 (gris) y Fe_3O_4@SiO_2 (naranja), sintetizados en el grupo de investigación NANOMAG. [Fuente: Elaboración propia].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

La dependencia del tiempo de relajación con el tamaño de partícula es la causante de la drástica disminución de H_C cuando se transita al régimen superparapagmético[25], como se observa en la Figura 1.3.b. En este sentido, las diferentes observaciones experimentales han permitido establecer una relación entre el tamaño de la nanopartícula y H_C, dada por[26]:

$$H_C^{(SPM)}(D) = H_M\left[1 - \exp\left(-\frac{D}{D_1}\right)^5\right] \quad (1.16)$$

siendo H_M y D_1 parámetros empíricos del material que, en el caso de nanopartículas de mangetita vienen dados por, $H_M = 32$ kAm^{-1} y $D_1 = 15$ nm.

1.1.2.4 Efectos Superficiales

Sin embargo, el efecto de reducir el tamaño de las nanopartículas conlleva la presencia de efectos superficiales. Estos efectos de superficie se deben, fundamentalmente, a la relación existente entre el número de átomos superficiales y el número de átomos internos. A diferencia del material macroscópico, donde los átomos superficiales no desempeñan un papel importante, en los materiales nanométricos el número de átomos superficiales tienen una importante contribución a la magnetización del material. En estos materiales, se generan cambios en la estructura, la constante de red y la coordinación atómica, debido a la ruptura local de la simetría cristalina[27]. Esta ruptura conlleva la variación del orden de los momentos magnéticos generados por la anisotropía magnetocristalina, orientándose de forma aleatoria. Este efecto produce también una distorsión en los momentos magnéticos vecinos internos que, debido a la búsqueda del estado de mínima energía, modifican su orientación para reducir la interacción de intercambio. La característica fundamental de estos momentos magnéticos se enfoca en su orientación. A diferencia de los momentos magnéticos internos, que se orientan siguiendo la dirección del campo magnético externo, la orientación de los momentos magnéticos superficiales se mantiene inalterada y, por tanto, no contribuyen a la magnetización total neta. Precisamente es esta característica la que da nombre a esta región de momentos magnéticos, conocida como capa muerta, y conlleva una perdida en M_S de las nanopartículas con respecto al material macroscópico. Las dimensiones de esta capa muerta dependerán fundamentalmente del tamaño de la nanopartícula, siendo mayor a medida que disminuye el diámetro, pero también de propiedades intrínsecas del material, como la cristalinidad[28,29].

En sistemas basados en nanopartículas de óxido de Fe, se observa rutinariamente como la M_S típica para tamaños de $d \approx 10$ nm es de $M_S \approx 60$-70 emu g^{-1}, siendo la M_S del material masivo de $M_S = 92$ emu g^{-1}. Es decir, se produce una reducción de M_S de aproximadamente un 30 %. Esto efecto se vuelve más drástico cuando se reducen las dimensiones, para $d < 5$ nm, donde la M_S de las nanopartículas puede decaer por debajo del 50 % con respecto al material masivo[30].

1.2 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS BASADAS EN ÓXIDOS DE FE

Las nanopartículas magnéticas han sido ampliamente explotadas durante los últimos años en diferentes aplicaciones, desde tecnológicas, como la grabación magnética[31], hasta biomédicas, como agentes teranósticos[32,33], pasando por aplicaciones catalíticas[34], y eliminación de contaminantes[35]. Específicamente, los óxidos de Fe destacan sobre otros tipos de nanopartículas magnéticas debido a propiedades tales como baja toxicidad, alta estabilidad

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

coloidal y facilidad de síntesis mediante métodos químicos; todo ello manteniendo una magnetización alta, sin una reducción significativa respecto al material masivo[27].

De todas las fases de óxidos de Fe que existen, las más interesantes para aplicaciones biomédicas son la magnetita y la maghemita que tienden a coexistir dentro de una misma nanopartícula con una cierta proporción de hematita. Este hecho sucede debido a los procesos de síntesis y oxidación posteriores.

La magnetita, a la cual se hace referencia en la mayoría de los trabajos de investigación, se caracteriza por tener una estructura cristalina cúbica tipo espinela inversa, estando compuesta por iones Fe^{2+} y Fe^{3+} con una relación estequiométrica 1:2. Sin embargo, presenta una menor estabilidad que las otras dos fases y tiende a generarse una oxidación espontánea a maghemita al producirse un contacto con el oxígeno del aire. De esta forma, los iones Fe^{2+} tienden a oxidarse en Fe^{3+} organizándose en una estructura cúbica[36,37]. Experimentalmente, esta oxidación espontánea conlleva a que, generalmente, las nanopartículas de magnetita estén realmente formadas por una cubierta externa de maghemita, pero con una parte interna de magnetita que no es capaz de oxidarse. A su vez, la dificultad para diferenciar ambas fases por técnicas experimentales básicas como difracción por rayos X, teniendo que recurrir a técnicas más costosas y menos accesibles, como la espectroscopía Mossbauer[38], conlleva a que, dentro del campo, no se haga una distinción entre ambas fases. Desde el punto de vista de sus propiedades magnéticas, ambas presentan un comportamiento ferrimagnético, con una temperatura de Curie, T_C, en torno a T = 950 K y una baja anisotropía magnética[39], por lo que la dificultad para su diferenciación no conlleva un perjuicio en el campo. La principal diferencia entre ambos materiales reside en la capacidad aislante de la maghemita, en contraposición con las propiedades semiconductoras de la magnetita.

Por otro lado, la hematita es la que presenta una mayor estabilidad a la corrosión ya que se encuentra formada enteramente por iones Fe^{3+}. A diferencia de la maghemita y la magnetita, presenta un comportamiento antiferromagnético, una estructura cristalina romboédrica y no presenta vacantes periódicas[37].

Los óxidos de Fe presentan la transición desde un estado multidominio a monodominio a partir de un tamaño crítico, cuyo valor se puede obtener mediante un cálculo sencillo. Para óxidos de Fe, $A_{ex} \sim 10^{-11}$ J m^{-1}, $K \sim 1.1 \cdot 10^4$ J m^{-3} y $M_S \sim 4.8 \cdot 10^5$ Am^{-1}, por lo que, a través de la Ec. (1.8), el diámetro crítico es $d \approx 60$ nm[11]. Sin embargo, se ha reportado que el tamaño crítico por debajo del cual las nanopartículas de magnetita presentan un comportamiento superparamagnético a temperatura ambiente es $d \approx 20$ nm[40]. No obstante, desde un punto de vista experimental, existen multitud de parámetros que afectan al tamaño crítico por debajo del cual se observa un comportamiento superparamagnético. En este sentido, el tipo de método empleado para la formación de las nanopartículas puede tener consecuencias directas en la cristalinidad, la morfología o el estado de oxidación que afectan de manera directa en las propiedades magnéticas. Por otro lado, la distribución de las nanopartículas magnéticas puede verse afectada por efectos de interacción, llevando a la formación de agregados y, por tanto, a una variación del comportamiento individual de las nanopartículas. En este sentido, las nanopartículas pueden comportarse colectivamente[41] de forma no superparamagnética a temperatura ambiente, pese a tener tamaños por debajo de 20 nm. Durante los últimos años, el objetivo fundamental en el ámbito de las nanopartículas magnéticas ha consistido en la mejora de las propiedades magnéticas a través de una optimización de los métodos sintéticos. Pero también en una mayor comprensión de aquellos parámetros físicos que permitan modular dichas propiedades magnéticas, con especial intereses en las interacciones magnéticas y en el comportamiento individual o colectivo de los ensamblados de nanopartículas[41,42].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.2.1 Síntesis de Nanopartículas Magnéticas

La síntesis de nanopartículas y, específicamente de aquellas que poseen propiedades magnéticas, han sido tema de investigación desde los trabajos pioneros de los años 50 hasta la actualidad. Los diferentes métodos empleados, bien sean físicos o químicos, permiten modular en mayor o menor medida las propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales, con especial interés en la modificación de la morfología, tamaño, composición o estructura cristalina. Además, dada la necesidad de una traslación a métodos de síntesis más ecológicos, menos costosos y escalables para la industria, los métodos de síntesis se mantienen, hoy en día, en constante evolución.

Centrándonos en los métodos químicos que, aunque tienen un rendimiento menor que los métodos físicos, se caracterizan por producir nanomateriales con tamaños y formas controlados y estructura y composición definidas. Se pueden diferenciar diferentes tipos de síntesis de nanopartículas magnéticas: coprecipitación, descomposición térmica, microemulsión o síntesis hidrotermal. Estos métodos se caracterizan por la formación de nanopartículas a partir de entidades moleculares que contienen Fe y, por tanto, son considerados métodos con un enfoque ascendente (del inglés, ``bottom up´´)[43–45].

1.2.1.1 Método de la Coprecipitación

El método de la coprecipitación, reportado por primera vez en 1981 por R. Massart[46], está considerado como de uno de los métodos más sencillos y energéticamente menos costosos, junto con una buena reproducibilidad y escalabilidad. Se basa en la precipitación de dos sales de Fe en una solución acuosa que se produce en un rango de temperaturas inferior a 90 ºC, como se observa en la representación esquemática de la Figura 1.5.

A partir de estas dos sales se obtienen nanopartículas de Fe_3O_4 siguiendo la ecuación química:

$$Fe^{2+} + 2Fe^{3+} + 8OH^- \rightarrow Fe_3O_4 + 4H_2O \qquad (1.17)$$

Mediante este método es posible modificar ciertas características mediante la variación de los parámetros de síntesis, ajustando el pH, la temperatura o la relación entre ambas sales de Fe. No obstante, este método presenta desventajas tales como un escaso control sobre la morfología de las nanopartículas; una peor cristalinidad, que afecta a su rendimiento magnético; un mayor estado de agregación y una peor estabilidad en comparación con otros métodos[43,45].

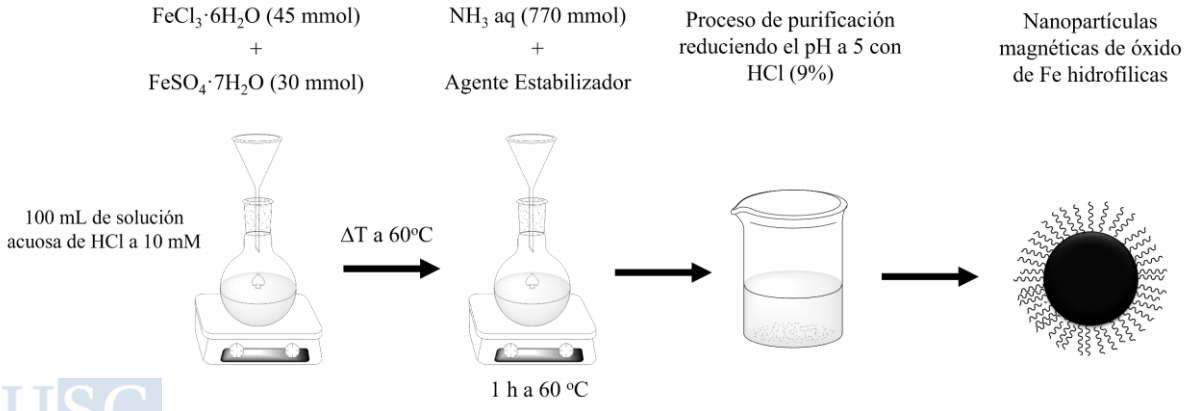

Figura 1.5. Esquema representativo del proceso síntesis de nanopartículas de óxido de Fe hidrofílicas mediante el método de la coprecipitación. [Fuente: Elaboración propia].

1.2.1.2 Método Hidrotermal

El método hidrotermal, considerando uno de los métodos más antiguos, se basa en la habilidad del agua en hidrolizar y deshidratar sales metálicas en condiciones de alta presión y temperatura. Los solventes empleados en este método son, generalmente, agua o etanol y los rangos de temperatura empleados varía con T = [100, 220] ºC. Por ello, el proceso sintético es realizado en reactores autoclave, condicionando, por ejemplo, la funcionalización de la superficie de las nanopartículas. En este método sintético, la modificación de parámetros tales como las sales empleadas, el volumen del solvente o la adicción de determinados agentes permiten una variación de la morfología y tamaño. El uso de temperaturas altas conlleva una mayor cristalinidad que, junto con un fácil control sobre la morfología y tamaño, son las grandes ventajas de este método. Por otro lado, la baja reproducibilidad y el uso de equipamiento costoso son las principales desventajas [43].

1.2.1.3 Método de la Descomposición Térmica

El método de la descomposición térmica es uno de los métodos más empleados para la obtención de nanopartículas magnéticas con una buena monodispersidad y elevada cristalinidad. Este método consiste en la descomposición, a altas temperaturas T > 300 ºC, de precursores de Fe organometálicos tales como acetilacetonato de Fe, oleato de Fe o pentacarbonilo de Fe bajo atmósferas inertes. Debido a las altas temperaturas empleadas, el solvente debe caracterizarse por poseer un elevado punto de ebullición, siendo los más comunes el éter bencílico o el éter difenílico y la descomposición es llevada a cabo en presencia de surfactantes como aminas[47].

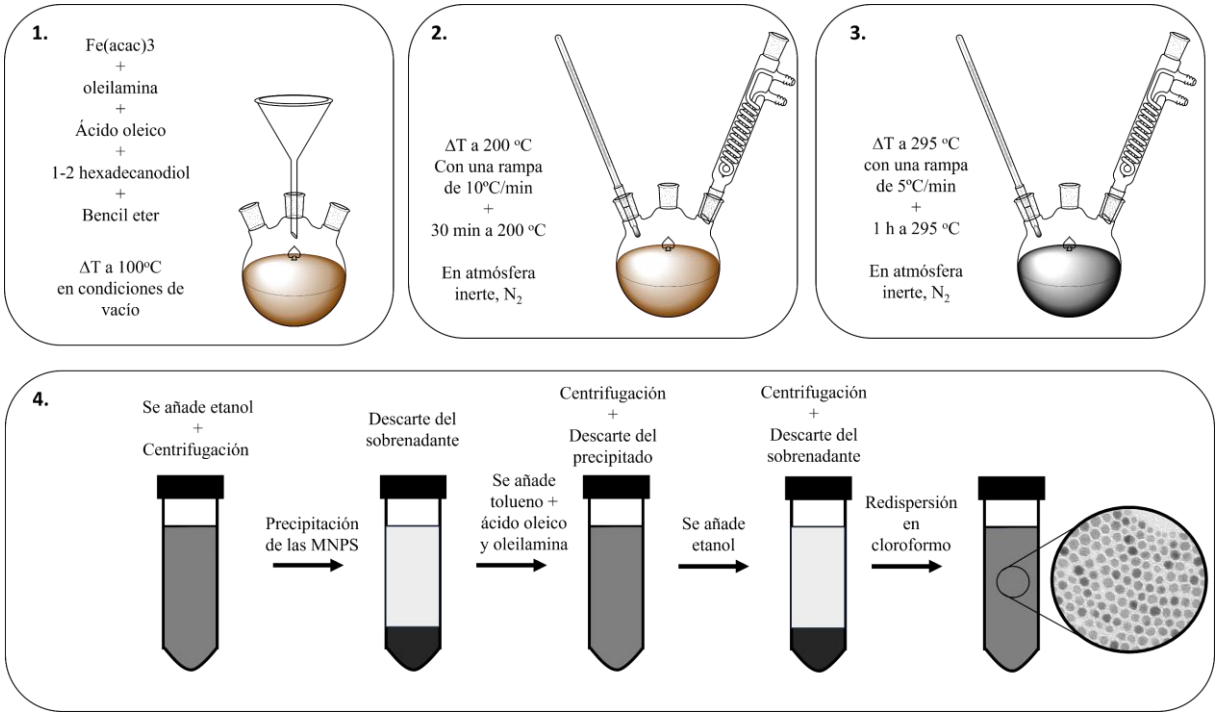

Figura 1.6. Esquema representativo del proceso síntesis de nanopartículas de óxido de Fe mediante el método de la descomposición térmica. [Fuente: Elaboración propia].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

La Figura 1.6 muestra un esquema de una síntesis típica de nanopartículas de Fe_3O_4 mediante descomposición térmica basado en el método reportado por Sun et al. [48]. En este caso, se emplean acetilacetonato de Fe como precursor, ácido oleico y oleilamina como surfactantes, éter bencílico como solvente y hexadecanodiol como agente estabilizador. En primer lugar, todos los reactivos son mezclados vigorosamente a una temperatura de T = 100ºC y en condiciones de vacío. Posteriormente, la temperatura de la reacción es aumentada hasta T = 300ºC en dos etapas y diferentes rampas de calentamiento en una atmosfera inerte. Dentro de los parámetros que permiten una modificación de la morfología y tamaño destacan la rampa de incremento de temperatura, aunque la variación en las relaciones entre el agente precursor y el solvente también es típicamente empleada. Las principales ventajas de este método residen en la formación de nanopartículas con una buena monodispersidad, estabilidad y cristalinidad, lo que se traduce en una respuesta magnética elevada. Sin embargo, el uso de temperaturas altas requiere de un gasto energético elevado que, junto con la producción de nanopartículas hidrófobas (estables en medios orgánicos como cloroformo o ciclohexano) son las principales desventajas del método. Por ello, es necesario un proceso de intercambios de ligandos postsíntesis para transferir las nanopartículas a medios acuosos[49].

1.2.1.4 Otros Procedimientos Sintéticos

A pesar de que los métodos anteriores sean, en general, los más empleados en la síntesis de nanopartículas magnéticas, otros métodos también han sido empleados. El método sol-gel se basa, por un lado, en la hidrólisis de los materiales precursores en medios ácidos o básicos y, por otro lado, en la policondensación de los productos hidrolizados de la reacción anterior. Las principales ventajas de este método se basan en el uso de temperaturas bajas, un control sobre la composición de las nanopartículas y una pureza alta [50]. El método de la microemulsión, caracterizado por la presencia de dos fases líquidas inmiscibles (aceite y agua), permite la formación de nanopartículas con un control preciso del tamaño, mediante la variación de los iones Fe^{2+}/Fe^{3+}, la temperatura y el pH. Sin embargo, se requiere de temperaturas bajas y cantidades excesivas de aceite, limitando su producción[47]. Cabe destacar, como uno de los métodos más recientes, la síntesis asistida por microondas, cuyo método se basa en la exposición a radiación electromagnética de precursores de Fe. Además de tratarse de un método sencillo, destaca su coste reducido y control fino sobre la morfología y tamaño[51].

Tabla 1.1. Ventajas y desventajas de los principales métodos de síntesis química para la producción de nanopartículas magnéticas.

Síntesis	Ventajas	Desventajas
Coprecipitación	Bajo Coste Síntesis Sencilla Escalabilidad	Cristalinidad reducida Poco control en la morfología Polidispersidad
Descomposición Térmica	Elevada cristalinidad Alta monodispersidad Alta estabilidad	Coste energético elevado Nanopartículas Hidrofóbicas
Hidrotermal	Alta cristalinidad Fácil control tamaño y morfología	Alto coste energético Uso de autoclaves Bajo reproducibilidad
Microemulsión	Control preciso sobre el tamaño	Cantidades excesivas de aceites

1.3 APLICACIONES TECNOLÓGICAS DE LAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

1.3.1 Introducción

Las nanopartículas magnéticas, en la escala nanométrica, se destacan como herramientas valiosas en numerosos campos. Específicamente, en nanotecnología, desempeñan un papel crucial al modificar propiedades magnéticas a nivel nanométrico, generando materiales innovadores para dispositivos electrónicos más eficientes y almacenamiento de información más denso. En el sector ambiental, se utilizan para la remediación de contaminantes, absorbiendo sustancias dañinas en agua y suelo y siendo recuperadas mediante campos magnéticos. En la industria energética, las nanopartículas magnéticas mejoran tecnologías de generación y almacenamiento de energía al ser aplicadas en la fabricación de materiales magnéticos para la captura y conversión de energía. En resumen, las nanopartículas magnéticas, más allá de su contribución a la investigación científica, transforman industrias variadas gracias a su manipulación eficaz mediante campos magnéticos. Su versatilidad impulsa la innovación, abriendo nuevas perspectivas para resolver desafíos tecnológicos en el siglo XXI.

Con especial interés, se puede destacar su aplicación en el ámbito de la espintrónica. El descubrimiento de la magnetorresistencia gigante, con aplicaciones en cabezas lectoras, ha llevado a la obtención del Premio Nobel en Física en el año 2007 de los científicos Albert Fert y Peter Grünberg[52]. Este hecho pone de manifiesto la evolución constante en el ámbito del magnetismo que, pese a ser una de las disciplinas más antiguas en el terreno investigador, sigue siendo un área de innovación científica[10]. Una de las propiedades que juega un rol importante para el uso de los materiales magnéticos es el fenómeno EB, de gran interés en aplicaciones en el campo de la electrónica, para dispositivos de espintrónica, válvulas de espín o circuitos de memoria magnetoresistitiva de acceso aleatorio (MRAM, del inglés ``magnetoresistive random-access memory´´) o nuevos medios de grabación magnética[53]. Este fenómeno fue descubierto en sistemas de nanopartículas de óxidos de Co en el año 1956 y, pese a que gran parte de las investigaciones posteriores se centraron en materiales basados en capas delgadas, el año 2003 marcó un antes y un después en el efecto de EB en sistemas de nanopartículas. Ese año, Vassil Skumryev et al.[54] reportaron en la revista *Nature* la superación del límite superparamagnético en sistemas de nanopartículas magnéticas de óxido de Co. Concretamente, consiguieron modificar la T_B desde T=10 K, que presentaba el sistema inicial, hasta temperatura ambiente, produciéndose este efecto debido al EB. Este hecho consigue solventar uno de los grandes inconvenientes que supone el superparamagnetismo presente en nanopartículas por debajo de un determinado tamaño que, dada la ausencia de remanencia, limitan su uso en aplicaciones tecnológicas que requieren de valores de remanencia elevados.

1.3.2 Fundamentos – El Efecto Exchange Bias

Las interacciones competitivas y la baja dimensionalidad generan comportamientos magnéticos complejos en sólidos. Se observan naturalmente en algunos sistemas, como en cristales que crecen de manera que los momentos magnéticos se acoplan en cadenas o ocupan sitios en retículas frustradas. También se pueden crear artificialmente, por ejemplo, fabricando multicapas ferromagnéticas. En este contexto, surge un efecto interesante, basado en la interacción entre un material ferrromagnético y uno antiferromagnético. Si la temperatura de Curie (T_C) del material ferromagnético es mayor que la temperatura de Néel (T_N) del

USC DE COMPOSTELA

antiferromagnético, al depositar uno sobre otro y enfriarlos en un campo magnético a través de T_N, la curva de histéresis magnética parece desplazarse, sugiriendo la existencia de otro campo magnético. Este fenómeno se conoce como Exchange Bias y es energéticamente favorable que la película ferromagnética se magnetice en una dirección específica.

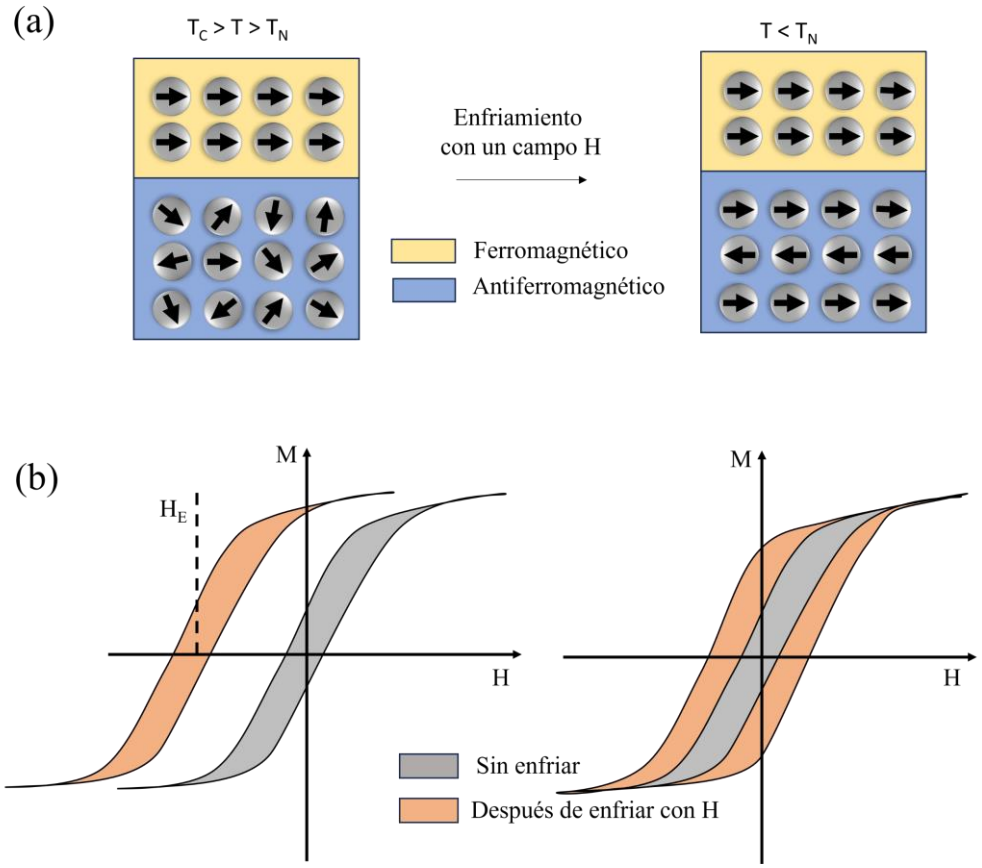

Figura 1.7. (a) Distribución de los momentos magnéticos en el acoplamiento entre materiales ferromagnéticos (amarillo) y antiferromagnéticos (azul) antes (izquierda) y después de enfriar con un campo magnético H (derecha). **(b)** Representación esquemática del efecto EB en los ciclos de magnetización antes (gris) y después de enfriar con un campo magnético H (naranja): desplazamiento del ciclo (izquierda, anisotropía de material antiferromagnético grande) y aumento de la coercitividad (derecha, anisotropía del material antiferromagnético pequeña). [Fuente: Elaboración propia].

La Figura 1.7.a representa la distribución de los momentos magnéticos en la intercara entre un material ferromagnético (amarillo) y antiferromagnético (azul), antes y después de aplicar un campo magnético de enfriamiento. El efecto de la anisotropía de intercambio, existente en la intercara entre los dos materiales, es agregar un campo unidireccional que compite con el campo magnético aplicado. En función del valor de la anisotropía del material antiferromagnético es posible diferenciar dos fenómenos. Por un lado, el desplazamiento del ciclo de histéresis, que se produce cuando la anisotropía es elevada (Figura 1.7.b izquierda) y, por otro lado, el aumento de H_C, cuando la anisotropía es pequeña (Figura 1.7.b derecha). No obstante, ambos fenómenos suelen ocurrir simultáneamente debido a posibles defectos estructurales que modifican la anisotropía del material antiferromagnético[55].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.3.3 Estado del Arte y Retos Futuros

La investigación y mejora constante de los métodos sintéticos, ha permitido desarrollar tipos de nanomateriales con estructuras y propiedades definidas. Entre ellos hay que destacar las nanopartículas binarias con fases con diferentes comportamientos magnéticos. Un ejemplo muy conocido de este tipo de nanomateriales son las nanopartículas con estructura núcleo-cubierta (del inglés ``core-shell´´). En estos sistemas la cubierta puede estar formada por un material antiferromagnético y el núcleo por un material ferromagnético, entre los que se establece una interacción de intercambio y en sus propiedades magnéticas se observa un efecto de EB. Aunque estos sistemas antiferromagnético-ferromagnético se consideran como un ejemplo prototípico de materiales con efecto de EB, este está presente en otros sistemas binarios tales como los compuestos por fases ferromagnéticas-ferrimagnéticas o antiferromagnéticas-ferrimagnéticas. Entre otros, se da este efecto en combinaciones de Fe y sus estados oxidados como Fe/Fe_3O_4[56], $Fe/\gamma\text{-}Fe_2O_3$[57] o Fe_3O_4/Fe_2O_3[58]; en Co y óxidos de Co como Co/CoO[59,60], o incluso en la combinación de ambos, $CoO/\gamma\text{-}Fe_2O_3$ y $/\gamma\text{-}Fe_2O_3/\ CoO$[61]. En este tipo de sistemas el fundamento es similar al de los sistemas en capas delgadas, donde los espines de un material ferromagnético (típicamente los núcleos de Fe y Co) interaccionan con los de un material antiferromagnético o ferromagnético (típicamente la cubierta de óxidos de Fe y Co).

La Figura 1.8.a-b representa una micrografía realizada mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM, del inglés Transmission Electron Microscopy) de nanopartículas formadas por un núcleo de Fe y una cubierta de óxido de Fe. En estos sistemas, como se observa en la Figura 1.8.c, existe una intercara entre el núcleo ferromagnético y la cubierta ferrimagnética donde existe una interacción de intercambio entre los espines. De esta forma, al aplicar un campo magnético externo (es decir, una energía de Zeeman), estos espines que interaccionan fuertemente, denominados espines ``congelados´´, no se alinearan en la dirección del campo magnético, induciendo el fenómeno de EB.

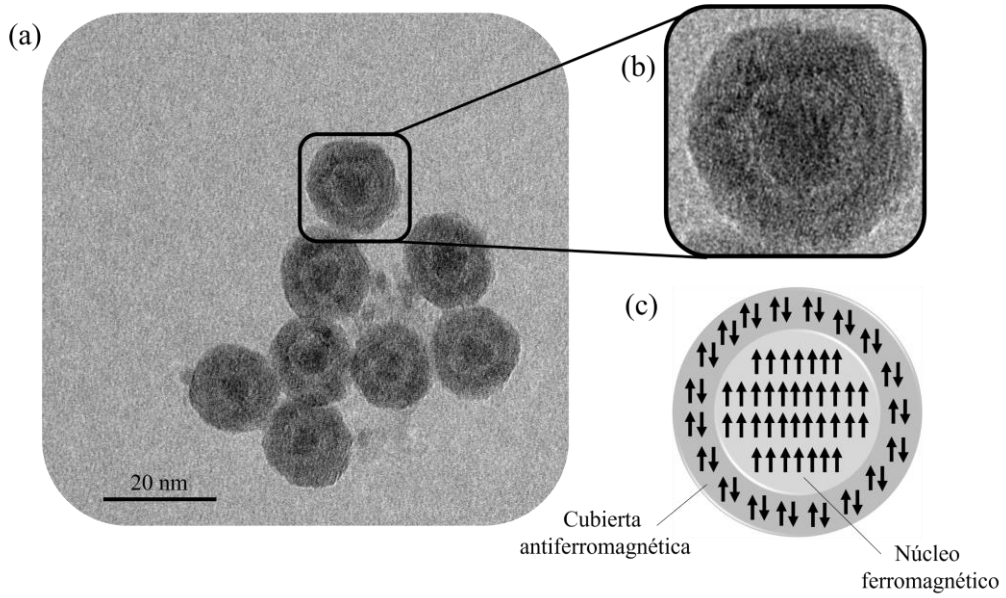

Figura 1.8. (a) Micrografía de TEM de nanopartículas con estructura núcleo-cubierta (Fe/Fe_3O_4). **(b)** Ampliación de la imagen (a). **(c)** Representación esquemática de la distribución de los espines en una nanopartícula con estructura núcleo-cubierta. [Fuente: Elaboración propia].

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

La Tabla 1.2 muestra valores de campo de EB, H_{EB}, de sistemas de nanopartículas con estructura núcleo-cubierta basados en un núcleo ferromagnético (Fe o FeO) y una cubierta ferrimagnética (Fe_3O_4). A pesar de que el rango de tamaños es amplio, desde d = 10 nm hasta d = 35 nm, no se observa una dependencia de H_{EB} en función del tamaño, observándose valores elevados tanto para d = 35 nm (H_{EB} = 2250 Oe) como para d = 10 nm (H_{EB} = 1700 Oe). Sin embargo, se obtuvo un H_{EB} significativamente inferior para nanopartículas de d = 14 nm. Estas discrepancias confirman la presencia de, al menos, dos mecanismos contribuyendo a la generación del EB: los efectos de desorden superficial (espines superficiales desordenados) y la interacción de intercambio en la intercara (espines ``congelados´´). La obtención de un H_{EB} elevado en nanopartículas de d = 35 nm pone de manifiesto la generación del EB mediante la interacción entre el núcleo y la cubierta, ya que los efectos superficiales en este tamaño son despreciables; mientras que en sistemas de d = 10 nm los efectos superficiales deberían desempeñar un rol más importante[62].

Tabla 1.2. Valores de H_{EB} obtenidos en sistemas de nanopartículas núcleo-cubierta basados en óxidos de Fe y su relación con el tamaño total de nanopartícula, d_T, y el espesor de la cubierta, d_C.

Núcleo/Cubierta	d_T (nm)	d_C (nm)	H_{EB} (Oe)	Ref
FeO/Fe_3O_4	14	3.5	471	D. W. Kavich et al.[63]
FeO/Fe_3O_4	18	6	1000	Aidin Lak et al.[64]
Fe/Fe_3O_4	14	2.5	1190	Quy Khac Ong et al.[65]
FeO/Fe_3O_4	10	0.6	1700	Hafsa Khurshid et al. [66]
FeO/Fe_3O_4	35	4	2250	Xiaolian Sun et al. [67]

Algunos modelos han tratado de arrojar luz partiendo del modelo de Meiklejohn y Bean (MB)[68] que inicialmente fue planteado para sistemas de capas delgadas antiferromagnéticas-ferrimagnéticas, siendo H_{EB}[62]:

$$H_{EB} = 2\frac{nJ_{ex}S_{FM}S_{FIM}}{a^2M_{FM}t_{FM}} = \frac{\Delta E}{2M_{FM}t_{FM}} \quad (1.18)$$

siendo ΔE la densidad de energía de intercambio de la intercara, necesaria para revertir los espines ``congelados´´; J_{ex} la constante de intercambio de la intercara; S_{FM} y S_{FI} los espines individuales del núcleo ferromagnético y de la cubierta ferrimagnética; M_{FM} y t_{FM} la magnetización de saturación y el espesor efectivo de la capa ferromagnética; y n/a^2 el número de enlaces acoplados por intercambio en la intercara por unidad de área. H_{EB} dependerá de la población de los espines ``congelados´´ presentes en la intercara, que se ve significativamente alterada al variar tanto el tamaño de la cubierta como el tamaño del núcleo. En este sentido, Hafsa Khurshid et al.[57] investigaron experimentalmente el efecto de los espines ``congelados´´ en sistemas de $Fe/\gamma\text{-}Fe_2O_3$, con una cubierta fija de δ = 2 nm y empleando tres tamaños de núcleo, d = 4, 6 y 11 nm, ocasionando una variación de la población de los espines ``congelados´´. De esta forma, se observó un tamaño crítico, de d = 10 nm, por encima del cual el mecanismo que domina la generación de EB es la interacción núcleo-cubierta (espines ``congelados´´) y por debajo del cual dominan los efectos superficiales[57]. No obstante, lejos de parecer aclarados los mecanismos en sistemas núcleo-cubierta, existen resultados contradictorios dentro del campo que requieren de más investigaciones.

Otro tipo de sistemas en los que se ha observado EB están basados en sistemas de nanopartículas huecas, donde la intercara presente en los sistemas núcleo-cubierta desaparece.

Estas nanopartículas huecas típicamente se obtienen mediante el efecto Kirkendall, que consiste en una evolución estructural desde sistemas núcleo-cubierta a sistemas huecos. En este proceso se produce una migración de los átomos metálicos del núcleo hacia la cubierta, mediante un proceso de oxidación, produciendo un hueco en el interior de la nanopartícula[69]. Se han investigado sistemas de nanopartículas huecas de diferente composición, tales como $CoFe_2O_4$[70], $NiFe_2O_4$[71], Fe_3O_4[56] pero, especialmente, γ-Fe_2O_3[72–74].

La Figura 1.9.a-b representa una micrografía de TEM de nanopartículas huecas de óxido de Fe. Este tipo de sistemas se caracterizan por poseer una capa de espines superficiales adicionales que a bajas temperaturas pueden entrar en un estado de tipo vidrio de espín (del inglés, ``spin-glass like´´). Esto conlleva la presencia de dos materiales con comportamientos magnéticos diferentes, los espines superficiales y los espines interiores con un orden magnético determinado, produciendo una interacción de intercambio entre ambos, siendo el origen del EB[62]. Sin embargo, se ha demostrado que también existe una interacción de intercambio entre los dominios cristalográficos dentro de la cubierta y, por tanto, existe una presencia de espines ``congelados´´ que desempeñan un papel no despreciable[72], como se observa en la Figura 1.9.c.

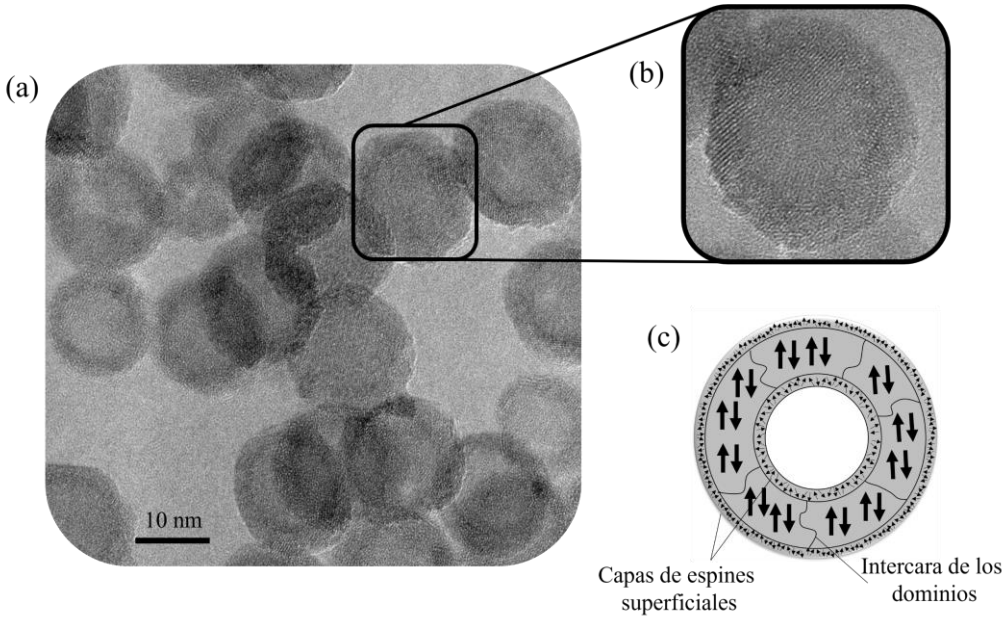

Figura 1.9. (a) Imagen de TEM de nanopartículas de óxido de Fe con estructura hueca. **(b)** Ampliación de la imagen (a). **(c)** Representación esquemática de la distribución de los espines en una nanopartícula con estructura hueca. [Fuente: Elaboración propia].

Algunos de los valores de H_{EB} reportados en nanopartículas huecas de óxido de Fe, en la Tabla 1.3, revelaron ser elevados para diferentes tamaños de nanopartícula: d = 8.1 nm (H_{EB} = 3000 Oe)[75], d = 9.4 nm (H_{EB} = 5000 Oe)[76] y d = 14.7 nm (H_{EB} = 7000 Oe)[76]. Sin embargo, en estos trabajos se observó que el máximo campo aplicado es más pequeño que el campo de irreversibilidad o, en otras palabras, que el ciclo de histéresis no está cerrado. Estos desplazamientos del ciclo se corresponden, por tanto, a un efecto de ciclo menor en lugar de a un efecto intrínseco de EB. En nanopartículas de mayor tamaño, d = 16 nm (Fe_3O_4)[65] y d = 18.7 nm (γ-Fe_2O_3)[72], sí que se observó un efecto intrínseco de EB, aunque los valores de H_{EB} = 133 Oe y H_{EB} = 960 Oe, respectivamente, son significativamente inferiores. Específicamente, Hafsa Khurshid et al.[72] observaron que la presencia de los ciclos menores se atribuye a una mayor

contribución de los espines superficiales a medida que el tamaño de las nanopartículas disminuye. En este sentido, el porcentaje de espines superficiales en nanopartículas huecas de d = 9 nm (87 %) es drásticamente superior que en nanopartículas huecas de d = 18 nm (3 %) y, por ello, los ciclos menores dominan en los sistemas de menor tamaño[72]. Sin embargo, contradictoriamente, F. Sayed et al.[77] sí reportaron un efecto de EB intrínseco en nanopartículas de γ-Fe_2O_3 huecas de un tamaño similar (d = 9.4 nm). Por ello, a pesar de que algunos modelos han tratado de arrojar luz[73], las discrepancias observadas y las diferencias entre los ciclos menores y el EB requieren de más investigaciones.

Tabla 1.3. Valores de H_{EB} obtenidos en sistemas de nanopartículas huecas basados en óxidos de Fe y su relación con el tamaño total de nanopartícula, d_T, y el espesor de la cubierta, d_C.

Huecas	d_T (nm)	d_C (nm)	H_{EB} (Oe)	Ref
γ- Fe_2O_3	8.1	1.6	3000	Alivisatos et al. [75]
γ- Fe_2O_3	9.4	1.9	5000	Nemati et al. [76]
γ- Fe_2O_3	14.7	3.2	7000	Nemati et al. [76]
γ- Fe_2O_3	18.7	4.5	960	Khurshid et al. [72]

1.4 APLICACIONES BIOMÉDICAS DE LAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

La combinación de campos magnéticos, englobados en radiaciones no ionizantes, y la consecuente manipulación, guiado y/o activación de las nanopartículas magnéticas a través de estos campos en el interior de organismos vivos[78], convierte a estos nanomateriales en excelentes nanoherramientas para aplicaciones biomédicas con un reducido número de efectos secundarios[79]. El comportamiento superparamagnético de estos nanomateriales es crucial ya que la magnetización inducida en regiones localizadas solo se produce bajo la aplicación de campos magnéticos, eliminándose cuando el campo es retirado. En este sentido, el uso de las nanopartículas magnéticas en biomedicina abarca aplicaciones que van desde el diagnóstico, a través de imágenes por resonancia magnética (MRI, del inglés ``Magnetic Resonance Imaging´´)[80] o imagen por nanopartículas magnéticas (MPI, del inglés ``Magnetic Particle Imaging´´)[81]; hasta el tratamiento, a través de la liberación controlada de fármacos[82] o mediante terapias térmicas como la hipertermia magnética[83]. Por ello, las nanopartículas magnéticas son considerados nanomateriales teragnósticos (terapia más diagnóstico) y su aprobación por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. (FDA, del inglés ``US Food and Drug Administration´´) ha permitido su traslación a la clínica[84].

1.4.1 Hipertermia Magnética

1.4.1.1 Introducción

La hipertermia magnética consiste en un tratamiento oncológico mediante el cual se induce la muerte de células cancerosas a través de incrementos térmicos a T > 43 ºC. Para ello, la energía aplicada mediante campos magnéticos externos es transformada en energía térmica por nanopartículas magnéticas mediante mecanismos de relajación. Esto permite producir

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

incrementos de temperatura localizados que pueden ser modulados externamente variando las condiciones del campo magnético.

Los inicios de este tratamiento se remontan a los años 50, cuando RK. Gilchrist et al.[85] radiaron térmicamente tumores con nanopartículas magnéticas. Sin embargo, no fue hasta los años 2000 cuando se realizaron los primeros estudios a nivel clínico en cáncer de páncreas, a través de la empresa alemana MAGFORCE[86,87] que, en el año 2010, consiguió la aprobación en Europa del uso de la hipertermia magnética para el tratamiento de glioblastoma. Cabe destacar, además, el papel de España en los avances de esta terapia oncológica. Recientemente se inició, en marzo de 2022, el primer ensayo clínico a nivel mundial en el Instituto de Oncología del Hospital Vall d'Hebron (http://www.nocanther-project.eu/) que explora la combinación de nanopartículas de óxidos de hierro e hipertermia magnética como tratamiento coadyuvante en procesos oncológicos en pacientes con cáncer de páncreas (Adenocarcinoma pancreático ductal). No obstante, aunque se hayan llevado a cabo numerosos ensayos clínicos, son necesarios más trabajos de investigación y desarrollo para aprovechar todo el potencial de esta nanotecnología contra el cáncer[88]. En particular, se debe solventar la reducción significativa de la eficiencia de estos nanomateriales cuando se trasladan de medios líquidos al interior de organismos vivos[89].

1.4.1.2 Fundamentos: Néel, Brown y la Constante de Anisotropía

La transformación de la energía suministrada mediante ondas electromagnéticas en energía térmica se produce debido a los procesos de relajación de los momentos magnéticos de las nanopartículas al aplicar el campo magnético, conocidos como relajación de Néel y relajación de Brown.

Específicamente, la presencia de estos mecanismos de relajación depende del estado magnético de las nanopartículas. Por un lado, la relajación de Néel ocurre en nanopartículas de un tamaño suficientemente pequeño, en estado superparamagnético. En este sentido, la E_{an} de las nanopartículas, dependiente del volumen, es menor que la energía térmica del medio y, esta última, es capaz de revertir el momento magnético interno, induciendo un momento magnético nulo. Por otro lado, la relajación de Brown domina en nanopartículas de mayor tamaño, monodominio o multidominio. En este tipo de nanopartículas, la E_{an} es mayor y no puede ser superada por la energía térmica, impidiendo la fluctuación de los momentos magnéticos internos. En este caso se dice que la nanopartícula está bloqueada y, ante la aplicación de un campo magnético externo, el momento magnético experimenta un torque que provoca la rotación de la nanopartícula.

La relajación de Néel depende de propiedades intrínsecas del material, con especial importancia de la constante de anisotropía efectiva, y viene dada por:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{K_{eff}V}{k_B T}\right) \tag{1.19}$$

siendo τ_0 el tiempo característico, K_{eff} la constante de anisotropía efectiva y k_B la constante de Boltzmann. Por otro lado, la relajación de Brown depende de las propiedades reológicas y viene dada por:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{k_B T} \tag{1.20}$$

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

siendo η la viscosidad del medio, V_H el tamaño hidrodinámico de las nanopartículas y k_B la constante de Boltzmann[83].

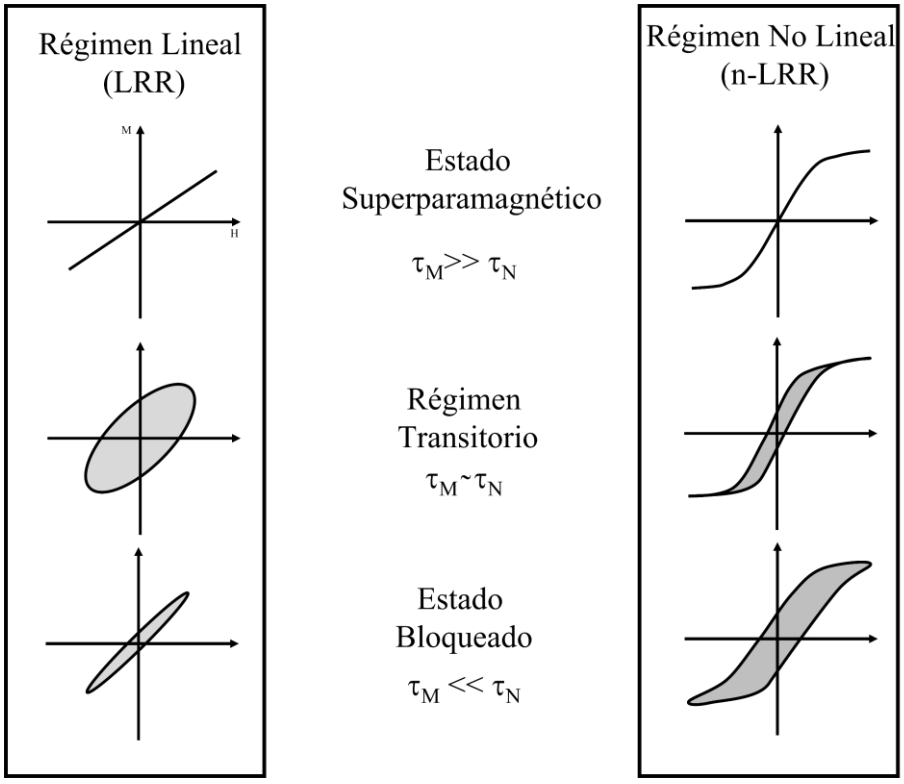

Figura 1.10. Representación esquemática de la transición de las curvas de magnetización dinámicas de sistemas de nanopartículas en función de la relación entre τ_M y τ_N: superparamagnético ($\tau_M >> \tau_N$), transitorio ($\tau_M \sim \tau_N$) y bloqueado ($\tau_M << \tau_N$) de los dos regímenes, lineal (LRR) y no lineal (n-LRR). [Fuente: Elaboración propia].

La coexistencia de ambos mecanismos de relajación en los procesos de hipertermia magnética ha llevado a la investigación a través de numerosos modelos de la relación existente. En este sentido, Rosensweig propuso en el año 2002 un modelo que conecta ambos tiempos de relajación, considerados de forma independiente, mediante un tiempo efectivo, τ_{eff}[90]:

$$\frac{1}{\tau_{eff}} = \frac{1}{\tau_N} + \frac{1}{\tau_B} \qquad (1.21)$$

Según este modelo, el tiempo de relajación más corto dominará τ_{eff}. Por ello, τ_N dominará en aquellos sistemas de nanopartículas con un tamaño reducido, mientras que τ_B dominará para volúmenes hidrodinámicos reducidos y entornos de muy baja viscosidad, como el agua[91]. Sin embargo, la afirmación de la independencia de τ_N y τ_B vuelve a este modelo inexacto, ya que solo se cumple cuando la respuesta de la magnetización al campo aplicado es lineal, conocida como región de respuesta lineal (LRR, del inglés `` Linear Response Theory´´)[92]. Esta región, definida cuando el campo magnético aplicado (H_{AMF}) es muy inferior al H_C de las nanopartículas, fue bien aceptada inicialmente como el modelo teórico que describe los ciclos de histéresis de sistemas de nanopartículas bajo la aplicación de H_{AMF}. Fundamentalmente, la

ecuación principal del modelo describe los ciclos de histéresis como elipses que se expanden de manera lineal con H_{AMF}. Sin embargo, en determinadas ocasiones, los H_{AMF} empleados son mayores que H_C de las nanopartículas, $H_{AMF} > H_C$, de forma que la magnetización sobrepasa la barrera energética de anisotropía y colapsa eventualmente en un estado de saturación magnética. En este sentido, dada la invalidez del modelo LRR, se definió un segundo modelo que describe los ciclos de histéresis en este régimen, conocido como régimen de respuesta no lineal (non-LRR, ``Non-Linear Response Regime´´). Independientemente de la región, se produce una transición desde un estado superparamagnético ($\tau_M >> \tau_N$) a un estado bloqueado ($\tau_M << \tau_N$) produciéndose un estado transitorio para $\tau_M \sim \tau_N$[93]. La Figura 1.10 representa las diferentes respuestas dinámicas que pueden acontecer en nanopartículas magnéticas expuestas a H_{AMF}. El dominio de un régimen u otro dependerá del H_C del material.

Desde un punto de vista experimental, la tasa de absorción específica (SAR, del inglés ``Specific Absorption Rate´´) es el parámetro ampliamente empleado para determinar la eficiencia de sistemas de nanopartículas en procesos de hipertermia magnética. Este parámetro, que también es conocido como potencia de perdida específica (SLP, del inglés `` Specific Loss Power), se define como la cantidad de energía electromagnética que es absorbida por unidad de masa de material magnético (expresado en unidades de Wg^{-1}):

$$\mathrm{SAR} = \chi_0 H_0^2 \mu_0 \pi \frac{2\pi f^2 \tau_{eff}}{1 + (2\pi f \tau_{eff})^2} \quad (1.22)$$

siendo χ_0 la susceptibilidad inicial, H_0 la amplitud del campo magnético, f la frecuencia empleada, y τ_{eff} el tiempo de relajación efectivo que representa una combinación de τ_N y τ_B. El SAR puede ser obtenido a través de los ciclos de histéresis como el producto del área por la frecuencia empleada, SAR = A·f. No obstante, a pesar de que es posible obtener los ciclos de histéresis de sistemas de nanopartículas expuestos a campos magnéticos externos desde un punto de vista experimental, la mayoría de los procesos de hipertermia magnética involucran el uso de equipamientos basados en calorimetría, en los cuales se registra el incremento de temperatura a través de una sonda de temperatura. En este sentido, el SAR puede ser obtenido mediante la pendiente del incremento de temperatura por[83]:

$$\mathrm{SAR} = \frac{C_{muestra} m_{muestra}}{m_{MNPs}} \frac{\Delta T}{\Delta t} \quad (1.23)$$

siendo $C_{muestra}$ la capacidad calorífica del medio, $m_{muestra}$ la masa total, m_{MNPs} la masa del material magnético empleado y $\Delta T/\Delta t$ el incremento de temperatura en un intervalo temporal específico.

1.4.1.3 Estado del Arte y Retos Futuros

A pesar de las ventajas que potencialmente presenta la hipertermia magnética como tratamiento oncológico local, se ha observado una drástica disminución de la eficiencia de calentamiento cuando las nanopartículas son internalizadas en organismos vivos[94–96]. Esto se debe fundamentalmente a los entornos de alta viscosidad presente en medios celulares y organismos vivos, que limitan la capacidad de rotación de las nanopartículas. Por tanto, se reduce significativamente la contribución de Brown, siendo la contribución de Néel la dominante en la generación de calor. Por ello, las investigaciones en el campo durante los últimos años se han centrado en modular aquellos parámetros intrínsecos de las nanopartículas

USC DE COMPOSTELA

que permiten modificar τ_N, tales como la morfología, composición, fase, forma y tamaño, que tienen una incidencia directa en K_{eff}[97]. En este sentido, se han desarrollado diferentes estrategias para modificar K_{eff}, como el desarrollo de nanopartículas con estructuras núcleo/cubierta[98,99], donde es posible modular la anisotropía manipulando la interacción de intercambio en la intercara[97]; ingeniería de dopaje en ferritas[100]; o técnicas sintéticas basadas en moléculas en nanopartículas de óxidos de Fe[101].

Por otro lado, todo proceso de hipertermia magnética requiere de la aplicación de un H_{AMF} a una frecuencia determinada, que modulan directamente el SAR. La variación de estos dos parámetros, considerados extrínsecos, son una estrategia fundamental para potenciar el SAR en sistemas de nanopartículas, siendo mayor el SAR a mayor H_{AMF} y f. No obstante, el uso de campos magnéticos alternos pasando por un material conductor conlleva, como describe la Ley de Faraday, la formación de corrientes eléctricas, conocidas como corrientes de Eddy[102]. Estas corrientes implican una generación de calor que puede tener consecuencias negativas en los tejidos humanos. Por ello, se han establecido una serie de límites seguros dentro del ámbito de la hipertermia magnética. Inicialmente, fueron Atkinson et al.[103] y Brezovich et al.[104] en la década de los 80, quienes investigaron profundamente los efectos de campos alternos en pacientes humanos. Para ello, colocaron una bobina de 30 cm en pacientes sanos e investigaron la tolerancia a diferentes H_{AMF} y f, observando que los pacientes podían tolerar intensidades de campo de hasta $H_{AMF} = 36.3\ Am^{-1}$ a una frecuencia de f = 13.56 MHz. Por ello, se estableció el primer límite seguro, dado por $H \cdot f = 4.85 \cdot 10^8\ Am^{-1}s^{-1}$, conocido como límite Atkinson–Brezovich. Sin embargo, a lo largo de los años se han ido estableciendo otros límites seguros. Hergt et al.[105] establecieron un límite un orden de magnitud superior, $H \cdot f = 5 \cdot 10^9\ Am^{-1}s^{-1}$, mientras que el límite establecido por Olaf Dösse et al.[106] fue ligeramente inferior, $H \cdot f = 2 \cdot 10^8\ Am^{-1}s^{-1}$. Por otro lado, el tratamiento alemán Nanotherm®, emplea $H_{AMF} = 1.8\ kAm^{-1}$ y frecuencias de hasta f = 100 kHz ($H \cdot f = 1.8 \cdot 10^9\ Am^{-1}s^{-1}$) para el tratamiento del gliobastoma[107]. La importancia y necesidad de establecer de forma clara los H_{AMF} y frecuencias aplicables, hace que los límites seguros sean, hoy en día, motivo de debate e investigación. Prueba de ello es el reciente estudio que de la Parte et al.[102] han llevado a cabo a través de estudios *in vivo*. En él se emplean H_{AMF} de hasta $H_{AMF} = 18\ kAm^{-1}$ y frecuencias comprendidas entre f = 594 y 928 MHz, estableciéndose un nuevo límite seguro, $H \cdot f = 9.46 \cdot 10^9\ Am^{-1}s^{-1}$.

A su vez, la extensa cantidad de parámetros variables en los equipamientos de medida conlleva una disparidad de los datos experimentales, impidiendo la estandarización de los resultados y la extracción de conclusiones generales precisas. No solo existen una amplia cantidad de frecuencias y H_{AMF} que pueden ser empleados, si no que se pueden diferenciar dos grandes condiciones de medida: entornos adiabáticos, caracterizados por condiciones de vacío y una menor perdida de calor por difusión; y no adiabáticos, en entornos abiertos y con importantes pérdidas por difusión de calor[108]. Además, a pesar de que se hayan establecido unos límites seguros, existen numerosos estudios que sobrepasan estos límites cuando realizan investigaciones básicas que no involucren ensayos *in vitro* o *in vivo*.

Los valores de SAR reportados difieren en función de diferentes características de los sistemas de nanopartículas, tales como su morfología, tamaño o el tipo de síntesis. En general, el SAR para nanopartículas comprendidas entre d = 8 nm (superparamagnéticas) y d = 30 nm (ferromagnéticas), puede tomar valores entre 30 y 1000 Wg^{-1}.[109] Sin embargo, en algunos casos los valores de SAR obtenidos experimentalmente han revelado ser significativamente superiores, resumidos en la Tabla 1.4.

Tabla 1.4. Algunos de los valores de SAR más elevados reportados en la literatura con un determinado tamaño y en unas condiciones de frecuencia (f) y campo (H_{AMF}) específicas de cada estudio.

Morfología	Tamaño (nm)	f(kHz)	H_{AMF} (kAm^{-1})	SAR(Wg^{-1})
Esférica	16	700	24.8	1650
Cubíca	19	520	29.0	2452
Octaédrica	98	358	63.7	2629
Nanoanillos	70	400	58.8	3050
Nanodiscos	220	488	47.8	5000

Para nanopartículas de magnetita con forma esférica se han reportado valores de SAR tan elevados como SAR = 1650 Wg^{-1} con un tamaño de d =16 nm (f = 700 kHz, H_{AMF} = 24.8 kAm^{-1}), que decae a valores próximos a SAR = 400 Wg^{-1} al reducir el tamaño hasta d =12 nm (f = 110 kHz, H_{AMF} = 16.0 kAm^{-1}) y hasta d = 10 nm (f = 230 kHz, H_{AMF} = 8 kAm^{-1}), disminuyendo el SAR a medida que disminuye el tamaño[110]. Sin embargo, en otro trabajo similar, el SAR reveló seguir una tendencia diferente con el tamaño. Específicamente, se investigó el efecto del tamaño de nanopartículas esféricas basadas en óxido de Fe en un rango de 5-18 nm, con el objetivo de diferenciar tres regiones: la región superparamagnética (d < 10 nm) donde el calentamiento se atribuye principalmente a la relajación de Néel; la región de transición superparamagnética-ferromagnética (d =10-13 nm); y la región ferromagnética (d > 13 nm), donde dominan las pérdidas por histéresis. Se observó la presencia de un máximo local para d = 10 nm (SAR = 230 Wg^{-1}), disminuyendo a valores próximos a cero a medida que disminuye el tamaño de nanopartícula, estableciéndose, en este rango de tamaños, una tendencia similar a la observada en el trabajo anterior. Sin embargo, para d > 10 nm se observó una disminución del SAR para d = 13 nm, que aumentó significativamente para d = 18 nm (SAR = 450 Wg^{-1}). Estos resultados ponen de manifiesto el papel que comienzan a jugar las pérdidas por histéresis una vez se sobrepasa el régimen superparamagnético[111].

En nanopartículas de magnetita con morfología cúbica de un tamaño de d = 19 nm, el SAR reportado es significativamente superior, SAR = 2452 Wg^{-1} (f = 520 kHz, H_{AMF} = 29 kAm^{-1}), siendo uno de los mayores valores obtenidos en el campo[112]. Este resultado concuerda con algunas investigaciones que demostraron una mejor eficiencia en hipertermia magnética de nanopartículas con morfología cúbica frente a morfologías esféricas[113]. A pesar de que las nanopartículas con morfologías esféricas o cúbicas con un comportamiento superparamagnético sean los candidatos idóneos en procesos de hipertermia magnética, se han investigado nanomateriales con otras morfologías que presentan valores de SAR superiores. Entre otros destacan, nanoanillos de d = 70 nm (SAR = 3050 Wg^{-1}, f = 400 kHz, H_{AMF} = 58.8 kAm^{-1})[109], nanodiscos de d = 220 nm (SAR = 5000 Wg^{-1}, f = 488 kHz, H_{AMF} = 47.8 kAm^{-1})[114] o nanooctaedros de d = 98 nm (SAR = 2629 W g^{-1}, f = 358 kHz, H_{AMF} = 63.66 kAm^{-1})[115].

Aunque los valores de H_{AMF} y f se hayan establecido por convención en H_{AMF} < 50 kAm^{-1} y f < 900 kHz, para poder comparar la gran acumulación de datos obtenidos con condiciones experimentales muy dispares de campo y frecuencia, se ha introducido un parámetro conocido como potencia de pérdida intrínseca (ILP, del inglés ``Intrinsic Loss Power´´) que normaliza la influencia de H_{AMF} y f, y se define como[116]:

$$\mathrm{ILP} = \frac{\mathrm{SAR}}{\mathrm{H_{AMF}\, f^2}} \qquad (1.24)$$

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Sin embargo, aunque el ILP pueda solventar la disparidad de los parámetros de medida aplicados, las diferentes configuraciones de los equipamientos dificultan la unificación de los resultados. Este hecho ha ocasionado que, recientemente, se haya llevado a cabo un estudio entre 21 laboratorios diferentes con el objetivo de establecer una imagen global y unificar criterios de medida. Con especial interés, en este estudio se han llegado a obtener, bajo las mismas condiciones de concentración, composición y volumen de muestra, desviaciones estándar de hasta el 40 % en las métricas de calentamiento magnético de nanopartículas de óxidos de Fe medidas en diferentes equipamientos. Las conclusiones de este trabajo pusieron de manifiesto la complejidad existente en el campo[117] y las dificultades para establecer soluciones terapéuticas estandarizables.

1.4.2 Imagen por Resonancia Magnética

1.4.2.1 Introducción

La obtención de imágenes médicas capaces de dar detalles de los tejidos y órganos internos del cuerpo es fundamental para el diagnóstico preciso y temprano de enfermedades. Actualmente existen numerosas técnicas de imagen, como la tomografía computarizada (TC) y la tomografía por emisión de positrones (PET, del inglés ``Positron Emission Tomography´´), que presentan una alta sensibilidad y penetración en los tejidos. Sin embargo, poseen la desventaja de usar radiaciones ionizantes que puede favorecer la aparición de determinados tipos de cáncer para exposiciones prolongadas[118]. En este sentido, en los años 80 se implementó clínicamente una técnica de imagen basada en la resonancia de los espines nucleares de los átomos de hidrógeno, mediante la excitación con campos magnéticos externos, conocida como imagen por resonancia magnética (MRI)[119]. Esta técnica solventa los efectos secundarios por las radiaciones ionizantes y, pese a que presente una menor sensibilidad que las técnicas tomográficas, se caracteriza por una alta resolución[120]. La característica fundamental de esta técnica se basa en la aplicación de campos magnéticos de intensidades comprendidas, típicamente, entre 1.5 T y 3 T, para casos clínicos. Estos campos inducen una excitación magnética y posterior relajación de los protones de las moléculas de agua que forman los tejidos, produciendo imágenes en escala de grises.

1.4.2.2 Fundamentos – Relajación T_1 y T_2

El fundamento de la MRI se basa en los procesos de relajación que se producen en los momentos de los protones presentes en el agua. Para ello, tras la aplicación de un campo magnético (B_0), y un posterior pulso de radiofrecuencia (RF), típicamente perpendicular a B_0, se induce un desequilibrio de los espines que, a través de procesos de relajación, retornan a su estado original (Estado de Boltzmann) tras la absorción de la energía de RF. Específicamente, surgen dos procesos de relajación, uno en la dirección longitudinal, y otro en las direcciones transversales que se describen a través de dos constantes de tiempo: T_1, conocida como relajación espín-red, caracterizada por una disipación de la energía a la red, es decir, al entorno, a medida que se produce la relajación longitudinal; y T_2, conocida como relajación espín-espín y caracterizada por el intercambio energético entre los espines[119]. Estas dos constantes temporales gobiernan la recuperación de las magnetización longitudinal, M_z, y transversal, $M_{x,y}$, en función del tiempo, que vienen dadas por[121]:

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

$$M_z = M_0 \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right)\right] \quad (1.25)$$

$$M_{x,y} = M_0 \sin(\omega_0 + \phi) \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_2}\right) \quad (1.26)$$

siendo M_0 la magnetización neta en equilibrio. La Figura 1.11.a-b representa M_z y $M_{x,y}$ de una muestra de H_20 en función del tiempo, respectivamente, obtenidas mediante un relajómetro para B_0 = 1.4 T. De forma que T_1 representa el tiempo requerido para que M_Z recupere el 63 % de la magnetización original, mientras que T_2 representa el tiempo que tarda $M_{x,y}$ en alcanzar el 37 % de la magnetización original.

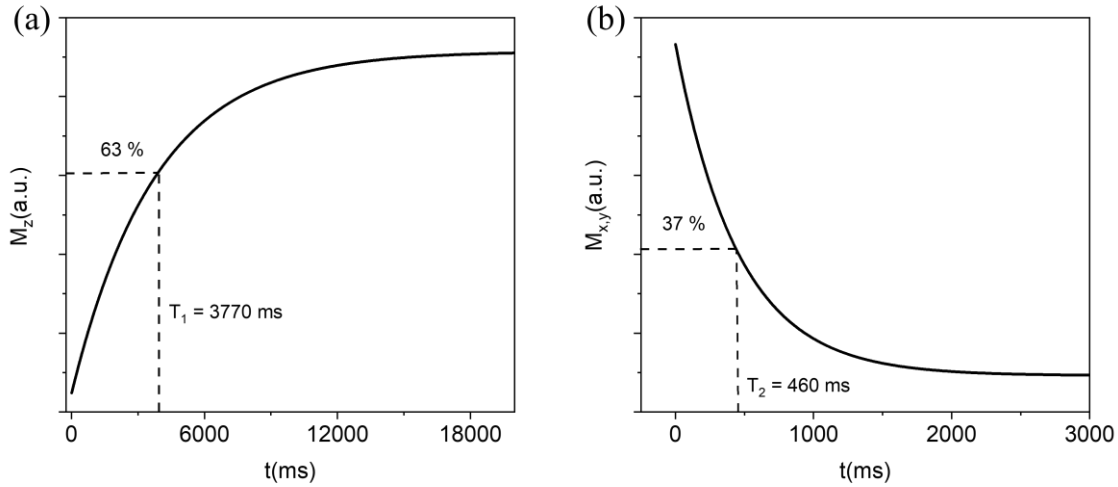

Figura 1.11. (a) Curva de magnetización longitudinal (M_Z) y **(b)** transversal (M_{XY}) de una muestra de H_20 obtenida experimentalmente mediante un relajómetro de campo fijo (B=1.4 T). T_1 representa el tiempo de recuperación del 63 % de M_Z de la magnetización original y T_2 representa el tiempo de decaimiento de 37 % de M_{XY} de la magnetización original. [Fuente: Elaboración propia].

En la práctica, las imágenes de MRI son obtenidas mediante procesos matemáticos basados en transformadas de Fourier, capaces de reconvertir la tensión que se genera tras la absorción y emisión de energía por los núcleos, detectada mediante bobinas sintonizadas, en imágenes o en un espectro de frecuencias. Esto sucede al producirse la relajación magnética de los núcleos de hidrógeno, conllevando una variación del campo magnético dipolar asociado al espín, lo que produce una corriente en la bobina detectora. La diferencia de contrastes obtenida en las imágenes se debe a la diferencia de concentraciones de protones en unas zonas u otras, dando lugar a variaciones en los valores T_1 y T_2. Esto puede suceder no solo por las moléculas no ligadas que fluyen en el organismo, como las presentes en la sangre, si no por los núcleos de hidrógenos presentes en las moléculas orgánicas fijas en el espacio, cuyo entorno químico es diferente dependiendo de la zona y que, por tanto, inducen una relajación diferente.

Sin embargo, existen determinadas situaciones donde el contraste no es suficiente para diagnosticar una determinada patología y la sensibilidad debe ser mejorada. Para ello, es posible mejorar la resolución de las imágenes mediante el uso de intensidades de campos más elevadas. En este sentido, mientras para escáneres con B_0< 3 T es posible obtener una resolución de 1 mm, se ha demostrado que aumentando a B_0 = 7 T la resolución puede aumentarse a 0.5 mm e incluso a B_0 = 9 T se ha conseguido aumentar a 0.2 mm en ensayos preclínicos con ratones.

Desde el punto de vista clínico, en el año 2003 la FDA aprobó el uso de escáneres de MRI con B_0 =8 T, existiendo aun ciertas limitaciones para el uso de campos de mayor intensidad[121]. Por ello, una alternativa para la mejora de las imágenes consiste en el uso de agentes de contraste.

Los agentes de contraste son materiales basados en una amplia variedad de compuestos químicos que pueden ser desde pequeños quelatos mononucleares, basados en Gd, hasta nanopartículas con propiedades paramagnéticas o superparamagnéticas, basadas en óxidos de Mn o Fe, respectivamente. La función principal de los agentes de contraste es acortar los tiempos de relajación que experimentan los protones del agua, proporcionando un mejor contraste en determinadas regiones[120]. En este sentido, existen dos agentes de contraste aprobados en uso clínico y ampliamente utilizados: Gadovist®, es un agente de contraste, basado en cationes de gadolinio, empleado para mejorar el contraste en T_1[122]; y Resovist®, compuesto por micropartículas de óxido de Fe, empleando como agente de contraste en T_2[123]. No obstante, el reporte de ciertos efectos secundarios, como la fibrosis sistémica nefrogénica, junto con la deposición del agente de contraste en el cerebro, especialmente en los compuestos basados en gadolinio[124], hace necesaria la búsqueda de nuevos agentes de contraste más eficaces y seguros. Específicamente, las nanopartículas magnéticas han surgido como candidatos idóneos debido a la variedad de sus propiedades magnéticas que implican diferentes comportamientos magnéticos. Con especial interés destacan las nanopartículas paramagnéticas, como los óxidos de Mn, y las ferromagnéticas, como los óxidos de Fe.

La eficiencia de los agentes de contraste en MRI se mide mediante la relajatividad, r_i, que se obtiene a través de la determinación del inverso de los tiempos de relajación, T_1 y T_2, conocido como índice de relajación, R_i, para diferentes concentraciones de agente de contraste:

$$R_i = \frac{1}{T_{i,0}} + r_i \cdot C \qquad (1.27)$$

donde i=1,2 representa las componentes longitudinales y transversales, respectivamente, $T_{i,0}$ es el tiempo de relajación del agua (en ausencia de agentes de contraste) y C es la concentración del agente de contraste. Experimentalmente, la r_i es obtenida mediante ajustes matemáticos lineales al representar los valores de R_i ($1/T_i$) frente a la concentración del agente de contraste. A pesar de que los agentes de contraste influyen tanto en T_1 como en T_2, tienden a dominar sobre uno en concreto. Esto permite clasificar los agentes de contraste como positivos (dominio en T_1), caracterizados por valores altos de r_1, o negativos (dominio en T_2), caracterizados por valores altos de r_2. Los agentes positivos permiten acortar los valores de T_1 y, por tanto, producir imágenes en tonos más brillantes, mientras que los agentes de contraste negativos permiten acortar los valores de T_2, produciendo imágenes más oscuras. Por otro lado, la relación r_2/r_1 también se emplea típicamente como figura de mérito. Para agentes de contrastes negativos cuanto mayor sea r_2/r_1 mejor será su eficiencia, mientras que para agentes positivos valores bajos de r_2/r_1 se asocian con una buena eficiencia de contraste[121].

1.4.2.3 Estado del Arte y Retos Futuros

En la práctica clínica, Gadovist® es el agente de contraste positivo más empleado y posee una r_1 = 3.3 $mM^{-1}\,s^{-1}$ (B_0 = 1.5 T). Por otro lado, Resovist® y Feridex® dominan como agentes de contraste negativos con r_2 = 61 $mM^{-1}s^{-1}$ y r_2 = 41 $mM^{-1}s^{-1}$, respectivamente[125]. La Tabla 1.5 muestra la relación r_2/r_1 de estos tres agentes de contraste a diferentes B_0, B_0 = 0.47, 1.5, 3.0 y 4.7 T, observándose valores altos para los agentes de contraste negativos (Resovist® y Feridex®) y próximos a 1 para el agente de contraste positivo (Gadovist®). No obstante, la búsqueda de nuevos agentes de contraste ha llevado a que estos valores de r_i se hayan visto mejorados. Especialmente, entre otros, se han investigado extensivamente sistemas de

nanopartículas basados en óxidos de Fe, principalmente como agentes de contraste negativos, aunque sin descartar su utilidad también como agentes de contraste positivos. La Tabla 1.6 representa algunos de los valores de r_2 más elevados obtenidos en este tipo de nanopartículas con diferentes morfologías. Estas nanopartículas revelaron tener valores significativamente superiores a los agentes de contraste comerciales, con r_2 hasta 10 veces superiores (nanopartículas de óxidos de Fe cúbicas de d = 22 nm, r_2 =761.0 $mM^{-1}s^{-1}$ B_0 = 3 T) [126].

Tabla 1.5. Valores de la relación r_2/r_1 de tres agentes de contraste comerciales: Resovist® y Feridex® (negativos) y Gadovist® (positivo) y su dependencia con el campo aplicado B_0 en agua a T = 37ºC.[30]

Nombre Comercial	Compuesto	0.47 T	1.5 T	3.0 T	4.7 T
Resovist®	Óxido Fe	4.17	7.0	31.1	62.9
Feridex®	Óxido Fe	5.63	8.72	22.7	45.7
Gadovist®	Ga	1.38	1.18	1.22	1.22

Tabla 1.6. Valores de relajatividad, r_2, en sistemas de nanopartículas de óxido de Fe en función de su tamaño, morfología y campo aplicado, B_0.

Morfología	Tamaño (nm)	r_2 ($mM^{-1}s^{-1}$)	B_0 (T)	Ref
Esférica	7.4	232	0.5	Cheng Tao[127]
Esférica	13.8	385	0.47	Sheng Tong[128]
Esférica	33.0	510	1.41	Minjung Cho[129]
Cúbica	22.0	761	3.0	Nohyun Lee[126]
Cúbica	28.0	740	3.0	Nohyun Lee[126]
Octápoda	30.0	679	7.0	Zhenghuan Zhao[130]

En los agentes de contraste basados en nanopartículas, especialmente para el caso de agentes de contraste T_2, existen una serie de factores que modifican notablemente la eficiencia en MRI, tales como el tamaño, la morfología o la cristalinidad. En este sentido, cuando las nanopartículas son lo suficientemente pequeñas es posible satisfacer el régimen de promedio móvil (MAR del inglés, ``Motional Averaging Regime´´) y r_2 viene dado por:

$$r_2 = \frac{4\gamma^2\mu_0^2\nu_{mag}M_V^2d^2}{405\ D} \qquad (1.28)$$

siendo γ la constante goniométrica de los protones (42.6 MHz T^{-1}), μ_0 la permeabilidad magnética en el vacío ($4\pi \times 10^{-7}$ T mA^{-1}), ν_{mag} el volumen molar del material magnético, M_V^2 la magnetización de saturación, d el diámetro de la nanopartícula y D el coeficiente de difusión del agua ($3\times10^{-9}m^2s^{-1}$)[131]. Se puede observar cómo tanto el papel de la magnetización como el tamaño influyen de manera notable en r_2.

Específicamente, una reducción significativa del tamaño conlleva un aumento de la capa muerta de espines superficiales que afecta de manera directa a M_S. Para sistemas de nanopartículas de d = 2.5 nm, d = 5 nm y d = 15 nm, la capa muerta se corresponde con un 78 %, 49 % y 18 %, respetivamente, de los espines totales de la nanopartícula[30]. Este hecho repercute directamente en M_S ya que la capa muerta no contribuye a la magnetización neta y, por ello, se ha reportado una disminución de r_2 a medida que se reduce el tamaño. En sistemas

USC SANTIAGO DE COMPOSTELA

de nanopartículas de Fe_3O_4 se obtuvieron valores de r_2 de aproximadamente r_2 = 350, 200, 150 y 100 $mM^{-1}s^{-1}$ con tamaños de d = 12, 9, 6 y 4 nm, respectivamente, relacionándose directamente la M_S de M_S = 102, 80. 25 y 12 emu g^{-1}, respectivamente[132]. No obstante, una reducción del tamaño puede ser interesante para el uso de las nanopartículas como agentes de contraste positivos. Especialmente destacan aquellos sistemas con d<5 nm, conocidas como nanopartículas ultrapequeñas. En estos sistemas el tamaño también se vuelve crucial pero no existe una relación directa. Recientemente se investigó el uso de nanopartículas de óxido de Fe con tamaños comprendidos entre d = 1.9 nm y d = 4.9 nm como agentes de contraste positivos, reportando un tamaño óptimo en d = 3.6 nm[133]. Otros factores como la morfología pueden desempeñar un papel relevante. Por ejemplo, se ha observado que una morfología alargada (``nanorods´´) puede conllevar un aumento de r_2 en aproximadamente el doble en comparación con nanopartículas esféricas del mismo tamaño. La funcionalización de la superficie de la nanopartícula con diferentes cubiertas también es un parámetro que modula r_2[129]. Con especial interés, se ha demostrado que el confinamiento de las nanopartículas en matrices no magnéticas, donde se forman agrupaciones, puede conllevar al aumento de r_2 en entre 2-5 veces más que en el caso de las nanopartículas aisladas. Este hecho pone de manifiesto el papel que las interacciones magnéticas puede desempeñar en la mejora de r_2, siendo necesarios más investigaciones en el campo[134].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2 OBJETIVOS

La presencia de interacciones magnéticas modifica el rendimiento magnético de sistemas de nanopartículas y se vuelve necesario considerarlas de forma explícita dentro del conjunto de parámetros de diseño de las aplicaciones. En este sentido, el objetivo general de esta Tesis Doctoral se centra en la profundización, desde un punto de vista experimental, del papel que desempeñan las interacciones magnéticas en ensamblados de nanopartículas de óxidos de Fe y cómo influyen en la aplicabilidad de estos nanomateriales. Este objetivo requiere la consecución de varios objetivos específicos:

Objetivo 1. Optimización de las Condiciones de Diseño de Nanomateriales Magnéticos

En primer lugar, se optimizaron las condiciones de diseño de nanomateriales magnéticos mediante técnicas químicas, pues de ellas dependen las propiedades fisicoquímicas. Para ello, se realizó una caracterización precisa del tamaño, forma, composición, estructura y textura de los nanomateriales, mediante diferentes técnicas experimentales como la microscopia electrónica, la difracción de rayos X o la termogravimetría. La consecución de este objetivo permitió el diseño de nanopartículas magnéticas que fueron empleadas como sistema experimental de estudio de sus efectos de interacción magnética.

Objetivo 2. Efectos Superficiales e Interacción de Intercambio en el Efecto EB

En segundo lugar, se investigó la respuesta magnética de los nanomateriales desarrollados. Por un lado, se estudió en nanopartículas con estructura núcleo/cubierta y huecas, de óxido de Fe, el efecto de la interacción de intercambio mediante el fenómeno de EB. Las nanopartículas núcleo/cubierta se emplearon como sistema precursor de las nanopartículas huecas obtenidas mediante el efecto Kirkendall. De esta forma, mediante técnicas de magnetometría a bajas temperaturas, se demostró la presencia de EB en estos nanomateriales y se investigó qué parámetros y mecanismos influyen en este fenómeno. Se investigaron los dos mecanismos implicados en la generación de EB: los espines congelados presentes en los nanogranos que forman las nanopartículas y los espines superficiales. A su vez, se investigó el efecto de parámetros externos, como el campo aplicado y la temperatura, sobre los mecanismos involucrados en la generación de EB tales como H_C, M_R, los espines congelados y los espines superficiales, así como en el campo de EB generado.

Objetivo 3. El Papel de la Interacción Dipolar en la Determinación de K_{eff}

En tercer lugar, se determinó el papel que juegan las interacciones dipolares en la correcta determinación de K_{eff} de sistemas de nanopartículas magnéticas para la optimización de τ_N en hipertermia magnética. Para ello, mediante el uso de cubiertas espaciadoras no magnéticas, de óxido de silicio, se diseñaron sistemas de nanopartículas de 3 tamaños diferentes con un control sobre la distancia entre ellas. Mediante técnicas de magnetometría se investigó el papel de las interacciones dipolares determinadas mediante técnicas en DC, a partir de la determinación de T_B y los gráficos de Henkel, como en AC. Con este set experimental, se propuso un modelo capaz de identificar E_D, en el término de la barrera energética, ΔE. Este enfoque permite demostrar experimentalmente la predicción de la energía de interacción dipolar de campo medio

USC UNIVERSIDADE DE COMPOSTELA

con la distancia interpartícula, d_{ij}, $E_D \approx 1/d_{ij}^3$, y obtener E_{an} como límite asintótico para distancia entre nanopartículas muy elevadas. Al hacerlo, se obtuvo K_{eff} desacoplada de las contribuciones de interacción dipolar para los tres sistemas de nanopartículas (núcleos de óxido de hierro con tamaños medios de d = 8.1, 10.2 y 15.3 nm).

Objetivo 4. Nanopartículas como Agentes Ópticos y Nanocalentadores en Hipertermia Magnética

Por último, se diseñaron sistemas de nanopartículas magnéticas mediante diferentes procedimientos, coprecipitación, descomposición térmica y método solvotermal, y con diferentes disposiciones, mononúcleo (d = [8,40] nm) y multinúcleo (d = [140, 200] nm). Se funcionalizaron, a su vez, mediante materiales de recubrimiento orgánicos e inorgánicos, y se exploró su capacidad como agentes de imagen óptica y como nanocalentadores en procesos de hipertermia magnética.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3 METODOLOGÍA

Para la consecución de los objetivos planteados en esta Tesis Doctoral se emplearon un conjunto de herramientas metodológicas que abarcan desde técnicas de síntesis química de nanomateriales hasta técnicas de caracterización.

3.1 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

3.1.1 Síntesis de Nanopartículas de Fe/Fe_3O_4 y Huecas de Fe_3O_4

La síntesis de nanopartículas con estructura núcleo/cubierta (Fe/Fe_3O_4) fue llevada a cabo siguiendo el método de Peng et al.[135] Para ello, en primer lugar, una mezcla de 1-octadeceno (V = 200 mL) y oleilamina (V = 3 mL) fue desgasificada bajo un flujo de nitrógeno a T = 120 ºC, con el objetivo de eliminar la presencia de oxígeno. Posteriormente, la solución fue calentada hasta T = 180 ºC, manteniendo el flujo de nitrógeno, y se añadió rápidamente pentacarbonilo de Fe (V = 7 mL). Por último, se mantuvo la reacción durante 40 minutos a T = 180 ºC. Una vez obtenidas las nanopartículas núcleo/cubierta, se sintetizaron, a partir de estas, nanopartículas huecas de óxido de Fe. Para ello, se preparó una mezcla de N-óxido de trietilamina (m = 400 mg) y 1-octadeceno (V = 200 mL) en un balón de tres bocas, que fue posteriormente desgasificada bajo un flujo de nitrógeno. La solución fue calentada hasta T = 130 ºC durante 1 h y se añadieron las nanopartículas con estructura núcleo/cubierta sintetizadas previamente. La solución resultante se mantuvo a T = 130ºC durante 2 h y, posteriormente, se calentó hasta T = 210 ºC durante 4 h. Finalmente, la solución se dejó enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente. Estos nanomateriales fueron empleados en la Publicación 1 en el Capítulo 6.

3.1.2 Síntesis de Nanopartículas de $Fe_3O_4@SiO_2$

La síntesis de nanopartículas de óxido de Fe con cubiertas no magnéticas de SiO_2 fue llevada a cabo en dos pasos. Por un lado, se sintetizaron tres núcleos de óxido de Fe de tres tamaños diferentes (d = 8,10 y 15 nm) siguiendo dos técnicas: la coprecipitación, basándose en el método de Massart [46] y la descomposición térmica, basándose en el método de Sun et al.[48]

Para la obtención de las nanopartículas de d = 8 nm y d = 10 nm se disolvieron, en primer lugar, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (m = 90 mmol) y $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (m = 60 mmol) en V = 200 mL de una solución acuosa de ácido clorhídrico (C = 0.01 M). Esta solución se calentó hasta los T = 60 ºC y, posteriormente, se añadió NH_4OH (m = 430 mmol) y ácido oleico (m = 14.2 mmol), manteniendo la reacción bajo agitación mecánica durante 1 h. A continuación, se transfirió la solución a un vaso de precipitados y se colocó una placa calefactora a T = 200ºC, en el caso de las nanopartículas de d = 8 nm, y a T = 100ºC, en el caso de las nanopartículas de d = 10 nm, para facilitar la precipitación de las nanopartículas. Finalmente, se retiró el sobrenadante y las nanopartículas obtenidas fueron lavadas mediante agua desionizada y redispersadas en ciclohexano. Esta síntesis permitió la obtención de nanopartículas de óxido de Fe cubiertas con una capa de ácido oleico, con carácter hidrofóbico, y fueron empleadas en la Publicación 2 en el Capítulo 7.

El método de la descomposición térmica fue el empleado para la obtención de nanopartículas de d = 15 nm. En esta síntesis se disolvieron acetilacetonato de Fe (m = 12 mmol), 1,2-hexadecanodiol (m = 48 mmol), ácido oleico (m = 96 mmol) y oleilamina (m = 24

mmol) en éter bencílico (V = 120 mL) a T = 50 ºC durante 20 min bajo una atmósfera de N_2. Posteriormente, la mezcla fue llevada a una temperatura de T = 200ºC bajo reflujo y, tras 30 min, la temperatura se aumentó hasta T = 300ºC, manteniendo la reacción durante 2 h. Finalmente, la reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente, las nanopartículas fueron recolectadas mediante un imán permanente y redispersadas en ciclohexano. Esta síntesis permitió la obtención de nanopartículas de óxido de Fe cubiertas con una capa de ácido oleico, con carácter hidrofóbico, y fueron empleadas en la Publicación 2 en el Capítulo 7.

El recubrimiento de estos tres núcleos magnéticos con cubiertas de SiO_2 fue llevado a cabo siguiendo el método de la microemulsión, mediante la técnica descrita por Moldes-Diz et al.[136] Para ello, las nanopartículas de óxido de Fe de d = 8, 10 o 15 nm, previamente sintetizadas, se redispersan en una mezcla de Igepal CO-520 y ciclohexano mediante agitación mecánica a 350 rpm durante 30 min. Posteriormente, se añade NH_4OH y TEOS y se agita mecánicamente a temperatura ambiente durante 16 h, manteniendo la reacción en condiciones de ausencia de luz. Finalmente, las nanopartículas obtenidas se someten a un proceso de lavado con isopropanol, etanol y agua, y se redispersan en agua de grado biológico. Con el objetivo de variar el espesor de la cubierta de SiO_2 se variaron las cantidades de NH_4OH y TEOS empleadas. Esta síntesis permitió la obtención de nanopartículas de óxido de Fe cubiertas con SiO_2 de diferente espesor, con carácter hidrofílico, y fueron empleadas en la Publicación 2 en el Capítulo 7.

3.1.3 Síntesis de Nanopartículas de Fe_3O_4@PDA y Fe_3O_4@PEG

El método de la coprecipitación también fue empleado para la obtención de nanopartículas de óxido de Fe, funcionalizadas con PDA y PEG. Para ello, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (m = 45 mmol) y $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (m = 30 mmol) se disolvieron en V = 100 mL de una solución acuosa de ácido clorhídrico (C = 0.01 M). Esta solución se calentó hasta los T = 60 ºC y posteriormente se añadió NH_4OH (m = 770 mmol) y el correspondiente polímero (PDA o PEG, m = 1.11 mmol), manteniendo la reacción bajo agitación mecánica durante 1 h. Finalmente, la solución obtenida se acidificó con HCl hasta obtener un pH = 5 y se sometió a lavados con H_2O desionizada. Esta síntesis permitió la obtención de nanopartículas de óxido de Fe cubiertas con PEG y PDA, con carácter hidrofílico, y fueron empleadas en la Publicación 3 en el Capítulo 8.

3.1.4 Síntesis de Nanopartículas de Fe_3O_4@SiO_2 Fluorescentes

La síntesis de nanopartículas con propiedades fluorescentes fue llevada a cabo en varios pasos. En primer lugar, el método de la descomposición térmica basado en el procedimiento de Zhou et al.[137] se empleó para la síntesis de nanopartículas de óxido de Fe cubiertas de ácido oleico. Para ello, un complejo de oleato de Fe (m = 3 mmol) y ácido oleico (m = 1.5 mmol) fueron disueltos en 1-octadeceno (V = 50 mL). La reacción fue sometida a una temperatura de T = 320ºC con una rampa de calentamiento de 6ºC min^{-1}, bajo una atmosfera de N_2, y manteniéndose a esta temperatura durante 2 h. Las nanopartículas obtenidas fueron recolectadas empleando un imán permanente, lavadas con etanol y ciclohexano y, finalmente, resuspendidas en ciclohexano. Esta síntesis permitió la obtención de nanopartículas de óxido de Fe cubiertas con una capa de ácido oleico, con carácter hidrofóbico, y fueron empleadas en la Publicación 3 en el Capítulo 8.

Se sintetizaron nanopartículas de óxido de Fe cubiertas de SiO_2 con propiedades fluorescentes mediante el método de la microemulsión[138,139] y la incorporación de moléculas fluorescentes (Isotiocianato de fluoresceína, FITC, e isotiocianato de rodamina B, RITC). Para ello se emplearon núcleos de óxido de Fe cubiertos con ácido oleico previamente sintetizados

USC DE COMPOSTELA

mediante la coprecipitación y la descomposición térmica. Posteriormente, se preparó el complejo fluorescente. Para ello, m = 0.037 mmol de la correspondiente molécula fluorescente fue disuelta en etanol desoxigenado (V = 35 mL) bajo agitación magnética a 200 rpm durante 30 min. Posteriormente, se añadió APTS (V = 150 μL) a la mezcla y se mantuvo 16 h bajo las mismas condiciones de agitación magnética. Finalmente, se evaporó el solvente hasta obtener un volumen final de V = 1 mL y un complejo fluorescente obtenido fue almacenado en condiciones de baja temperatura (T = 4ºC). Una vez obtenidos los núcleos magnéticos y los complejos fluorescentes se procedió al diseño de las nanopartículas cubiertas con SiO_2. Para ello, se mezclaron las nanopartículas de óxido de Fe (m = 10 mg), Igepal CO-520 (m = 3.6 mmol) y ciclohexano (V = 18.7 mL) en agitación orbital durante 30 min, empleando un incubador. Posteriormente se añadieron NH_4OH (V = 210 μL) y TEOS en tres etapas diferentes, manteniendo las mismas condiciones de agitación orbital durante todo el proceso, añadiéndose en la primera etapa el complejo fluorescente (V = 30 μL). La reacción se mantuvo durante 16 horas en agitación orbital y las nanopartículas fueron sometidas a un proceso de lavado con isopropanol. Las nanopartículas fluorescentes obtenidas fueran redispersadas en H_2O mili-Q. Esta síntesis permitió la obtención de nanopartículas de óxido de Fe cubiertas con una capa de SiO_2 y propiedades fluorescentes, con carácter hidrofílico, y fueron empleadas en la Publicación 3 en el Capítulo 8.

3.1.5 Síntesis de Nanopartículas de Fe_3O_4@CS y Fe_3O_4@Citrate Multinúcleo

El método solvotermal fue empleado para la obtención de nanopartículas de óxido de Fe con una disposición de multinúcleos. Para la obtención de nanopartículas multinúcleo funcionalizadas con quitosano (Fe_3O_4@CS) se siguió el procedimiento descrito por Shen et al.[140] Para ello, en etilenglicol (V = 70 mL) se añadieron los siguientes reactivos: $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (m = 5.6 mmol), CS (m = 0.5 g), NaOAc (m = 44 mmol) and PVP (m = 1 g), sometiéndose a una agitación mecánica hasta la obtención de una solución transparente. La mezcla obtenida se transfirió a un autoclave revestido de teflón y sometido a T = 200ºC durante 8 h. Por último, las nanopartículas obtenidas fueron separadas magnéticamente y redispersadas en agua mili-Q.

De manera similar, se obtuvieron nanopartículas multinúcleo funcionalizadas con citrato (Fe_3O_4@Citrate), siguiendo el procedimiento descrito por Jiang et al.[141] Para ello, se disolvieron $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (m = 3.75 mmol) y citrato de sodio (m = 0.4 mmol) en etilenglicol (V = 30 mL), bajo agitación mecánica a 200 rpm durante 30 min. A continuación, se añadió NaOAc (m = 33 mmol) y la mezcla se sometió a agitación mecánica. La solución se transfirió a un autoclave revestido de teflón y sometido a T = 200ºC durante 15 h. Por último, las nanopartículas obtenidas fueron separadas magnéticamente y redispersadas en H_2O mili-Q. Esta síntesis permitió la obtención de nanopartículas de óxido de Fe con estructura multinúcleo y carácter hidrofílico, y fueron empleadas en la Publicación 3 en el Capítulo 8.

3.1.6 Síntesis de Nanopartículas de Fe_3O_4@SiO_2 Multinúcleo

El método Stöber fue empleado para obtener nanopartículas de óxido de Fe con estructuras multinúcleo. Para ello, se encapsularon nanopartículas de óxido de Fe funcionalizadas con PEG, previamente sintetizadas, en una cubierta de SiO_2 siguiendo el método descrito por Alavi Nikje et al.[142] Para ello, V = 1 mL de nanopartículas funcionalizadas con PEG (Fe_3O_4@PEG) a una concentración de C = 3 $mgmL^{-1}$ se dispersaron en etanol (V = 5 mL) bajo un baño de ultrasonidos durante 15 min. Posteriormente, se añadieron NH_4OH (V = 114.6 μL) y TEOS (V = 100 μL) y se mantuvo bajo agitación orbital durante 24 h. Finalmente, las nanopartículas

fueron separadas magnéticamente y redispersadas en H_2O mili-Q. Esta síntesis permitió la obtención de nanopartículas de óxido de Fe con estructura multinúcleo y carácter hidrofílico, y fueron empleadas en la Publicación 3 en el Capítulo 8.

3.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA

3.2.1 Caracterización Estructural

La caracterización estructural de los materiales fue llevada a cabo mediante difracción de rayos X empleando un difractómetro Philips PW1710 (Panalytical, Brighton, UK) con una fuente de radiación Cu Kα a una longitud de onda, λ = 1.54186 Å. Las medidas se obtuvieron en un rango angular $10^o < 2\theta < 80^o$ con pasos de $2\theta = 0.02^o$ y 10 s/paso. La ecuación de Scherrer[143] fue empleada para obtener el tamaño cristalino, d_{XRD}, a partir del pico obtenido en los difractogramas:

$$d_{XRD} = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta_{hkl}} \quad (3.1)$$

siendo k la constante de Scherrer (0.9 adimensional), λ la longitud de onda de la fuente de rayos X, β el ancho de pico a la mitad del máximo y θ es al ángulo de Bragg.

3.2.2 Caracterización Morfológica

La morfología y tamaño de las nanopartículas se llevó a cabo mediante micrografías TEM empleando un microscopio JEOL JEM-1011 (JEOL, Tokyo, Japón) operando a 100 kV. Los materiales fueron depositados en rejillas de cobre con películas Formvar®. A partir de las micrografías obtenidas se empleó el software *ImageJ* para obtener la distribución de tamaños de las nanopartículas, ajustando los valores mediante el *Distribution Fit* del software *OriginPro 2016*. Para ello, el número de nanopartículas empleado fue n>100.

3.2.3 Composición de las Nanopartículas

La determinación de la funcionalización de la superficie de los nanomateriales fue llevada a cabo mediante espectros de infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR, del inglés `` Fourier Transform Infrared´´) registrados con un espectrómetro Thermo Nicolet Nexus (Thermo Fisher Scientific, Madrid, España) utilizando el método de reflectancia total atenuada (ATR, del inglés ``Attenuated Total Reflectance´´) de 4000 a 400 cm^{-1}.

La composición de los nanomateriales se determinó mediante espectroscopia de absorción atómica de llama (FAAS, del inglés ``Flame Atomic Absorption Spectroscopy´´) realizada con un espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer 3110 (Perkin, Waltham, MA, USA) y mediante termogravimetría con un TGA Perkin Elmer model 7 (Perkin, Waltham, MA, USA).

La espectroscopia de Mössbauer se empleó para la determinación de la fase de oxidación del Fe de los nanomateriales a temperatura ambiente, en una geometría de transmisión y empleando un espectrómetro convencional de aceleración constante con fuente de ^{57}Co-Rh. Los valores del desplazamiento de isómero se tomaron con respecto a una lámina de calibración de α-Fe medida a temperatura ambiente. Además, el programa NORMOS Mössbauer (versión 16.07.2001) desarrollado por Brand et al.[144] se empleó para el ajuste de los espectros.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.2.4 Propiedades Coloidales

Las propiedades coloidales se investigaron mediante técnicas de dispersión dinámica de luz, determinado el tamaño hidrodinámico, y mediante medidas de potencial ζ. Las medidas fueron llevadas a cabo en un Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK) equipado con un láser He-Ne (λ = 633 nm) operando en un ángulo de dispersión de θ = 173º a temperatura ambiente. Las medidas se realizaron por triplicado.

3.2.5 Caracterización Óptica

Las propiedades ópticas se determinaron mediante un espectrofotómetro fluorescente Varian Cary Eclipse (Agilent Technologies, Santa Clara, California) y a través de imágenes ópticas con un microscopio confocal Leica TCS SP8 SMD (Leica, Wetzlar, Alemania).

3.2.6 Propiedades Magnéticas

Las medidas de magnetometría fueron llevabas a cabo empleando tres magnetométros diferentes: un magnetómetro de muestra vibrante VSM, del inglés ``Vibrating Sample Magnetometer (DMS, Lowell, MA, USA), un magnetómetro superconductor con interferencia cuántica, SQUID, del inglés ``Superconducting Quantum Interference Devices´´ (Quantum Design, Darmstadt, Germany) y un sistema de medición de propiedades físicas, PPMS, del inglés ``Physical Property Measurement System´´ (Quantum Design, Darmstadt, Germany). El VSM se empleó para la realización de ciclos de histéresis a temperatura ambiente con campos magnéticos comprendidos entre H = [–10, 10] kOe. El magnetómetro SQUID fue empleado para la obtención de ciclos de histéresis tanto a temperatura ambiente como a bajas temperaturas (hasta T = 5 K), con campos magnéticos entre H = [–50, 50] kOe. Las curvas ZFC-FC, también obtenidas mediante el magnetómetro SQUID, fueron realizadas desde T = 5 K hasta T = 350 K bajo la aplicación de un campo magnético de H = 100 Oe. La secuencia de medidas ZFC se realiza primero enfriando la muestra sin la aplicación de un campo magnético, hasta T = 5 K, tras lo cual se aplica un campo magnético de H=100 Oe y se registra la magnetización de la muestra a medida que se aumenta la temperatura. Para la obtención de la medida FC, la muestra se enfría nuevamente hasta T=5 K bajo la aplicación de un campo magnético de H=100 Oe y, posteriormente, se registra la magnetización mientras se aumenta la temperatura hasta T=350 K. Los gráficos de Henkel fueron obtenidos mediante la obtención de la magnetización remanente isotérmica (IRM, del inglés `` Isothermal Remanent Magnetization´´) y la curva de desmagnetización de corriente continua (DCD, del inglés ``DC Demagnetization´´) a una temperatura de T=10 K, siguiendo el procedimiento descrito por J.A. Toro et al.[145] . Las curvas IRM y DCD están conectadas mediante la ecuación de Wohlfarth[146]:

$$M_D\,(H) = M_{RS} - 2M_R(H) \qquad (3.2)$$

siendo M_D la magnetización DCD, M_{RS} la remanencia de saturación, M_R la magnetización IRM y H el campo magnético aplicado. A partir de M_D y M_R, los gráficos de Henkel, δM, se obtienen mediante la siguiente ecuación:

$$\delta M\,(H) = M_D(H) - [M_{RS} - 2M_R(H)] \qquad (3.3)$$

A partir de la positividad, negatividad o ausencia del pico δM se puede terminar el tipo de interacción, dipolar, de intercambio o ausencia de interacciones, respectivamente, y su intensidad. El magnetómetro PPMS fue empleado para obtener la susceptibilidad AC en un rango de T = [10,300] K con pasos de ΔT=10 K, un campo de excitación de H = 1 Oe y H= 10 Oe y frecuencias variables comprendidas entre f=10 Hz y f=1 kHz. Para las medidas

magnéticas, se utilizó una cantidad considerable (al menos 5 mg) de los nanomateriales y se colocaron en un porta muestras en estado de polvo.

Los ciclos de magnetización AC se llevaron a cabo mediante un magnetómetro de inducción comercial (AC Hyster Series, Nanotech Solutions, Madrid, España) que permite la aplicación de campos magnéticos en un rango de H_{AMF} = [0,24] kAm^{-1} y un rango de frecuencias de f = [0,350] kHz. Para la realización de las medidas, los nanomateriales se dispersaron en medios acuosos a una concentración determinada en un volumen de V = 40 μL.

La eficiencia de calentamiento en procesos de hipertermia magnética de los nanomateriales se llevó a cabo en un equipo comercial (MagneTherm, Nanotherics) equipado con un sistema de registro de temperatura mediante fibra óptica, bajo la aplicación de campos magnéticos alternos en un rango de H_{AMF} = [0,50] kAm^{-1} y frecuencias entre f = [0,985] kHz. La realización de las medidas puede ser llevada a cabo tanto en materiales en estado líquido, dispersos en medios acuosos, como en estado sólido.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4 DISCUSIÓN GENERAL

En este capítulo se describen los principales resultados de esta Tesis Doctoral de acuerdo con los objetivos del Capítulo 2, siguiendo la metodología del Capítulo 3 y que se encuentran detallados en las publicaciones de los Capítulos 6, 7 y 8.

4.1 DISEÑO DE SISTEMAS DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Los diferentes métodos sintéticos empleados en esta Tesis Doctoral permitieron el diseño de nanopartículas magnéticas enfocadas, por un lado, a la determinación de los efectos de interacción de interés y, por otro lado, a la investigación de su aplicabilidad. La Figura 4.1 muestra micrografías TEM representativas de algunas de las diferentes nanopartículas desarrolladas. Para ello se emplearon diferentes métodos sintéticos.

Por un lado, las nanopartículas con estructura núcleo/cubierta de Fe/Fe_3O_4, representadas en la Figura 4.1.a, fueron sintetizadas empleando el método de la descomposición térmica y, mediante el efecto Kirkendall, fueron transformadas en nanopartículas de óxidos de Fe huecas, representadas en la Figura 4.1.d. Estos nanomateriales, dada su estructura específica, fueron los sistemas modelo empleados para el estudio de la interacción de canje y el efecto EB en la Publicación 1 en el Capítulo 6.

Las nanopartículas con estructuras núcleo/cubierta, representadas en la Figura 4.1.b,e, están compuestas por núcleos de óxido de Fe de tamaños de d = 8 nm y d = 15 nm cubiertos con capas no magnéticas de SiO_2, de δ = 10 nm y δ = 14 nm respectivamente. Estas micrografías representativas se corresponden al lote de nanopartículas empleado en la Publicación 2 del Capítulo 7. Este lote está compuesto por núcleos magnéticos de d = 8 nm y d = 10 nm, sintetizados mediante el método de la coprecipitación, y de d = 15 nm, sintetizados por descomposición térmica que, posteriormente, fueron recubiertas con capas de SiO_2 de 3-4 espesores diferentes mediante el método de la microemulsión. Las características de estos lotes permitieron el diseño de un modelo experimental donde las interacciones dipolares fueron variadas a demanda, mediante la variación del espesor de SiO_2, con el objetivo de demostrar la dependencia de K_{eff} con la interacción dipolar. Las muestras se han denominado MCa -SX, donde "MC" designa el núcleo magnético (núcleo magnético de óxido de hierro), "S" designa el material no magnético (cubierta de SiO_2), "a" determina el tamaño del núcleo (d = 8, 10 o 15 nm) y "X" el espesor del SiO_2 en nm.

Este tipo de nanomateriales, con cubiertas funcionales de SiO_2, fueron empleados también como agentes ópticos en la Publicación 3 en el Capítulo 8, con la diferencia de que durante el proceso de síntesis se añadieron moléculas fluorescentes basadas en fluoresceína y rodamina (denotadas como Fe_3O_4@SiO_2-FITC y Fe_3O_4@SiO_2-RITC). A su vez, también fue posible el anclaje de polidopamina, un polímero con propiedades fluorescentes, a la superficie de nanopartículas de óxido de Fe sintetizadas por el método de la coprecipitación (Fe_3O_4@PDA). Por otro lado, se investigó el rendimiento en procesos de hipertermia magnética de nanopartículas magnéticas con estructura multinúcleo, representadas en la Figura 4.1.c,f. Se pueden diferenciar dos tipos de sistemas multinúcleo con diferentes tipos de cubierta: orgánica (citrato, quitosano) e inorgánica (sílice), obtenidas por diferentes procedimientos sintéticos. Por un lado, se empleó el método solvotermal para el diseño de nanopartículas multinúcleo con

cubiertas funcionales de citrato y quitosano, denotadas como Fe_3O_4@Citrate y Fe_3O_4@CS, respectivamente. Por otro lado, el método de Stöber se empleó para la agrupación de nanopartículas de óxido de Fe previamente sintetizadas (Fe_3O_4@PEG) en cubiertas de SiO_2. Estas nanopartículas fueron empleadas en la Publicación 3 en el Capítulo 8.

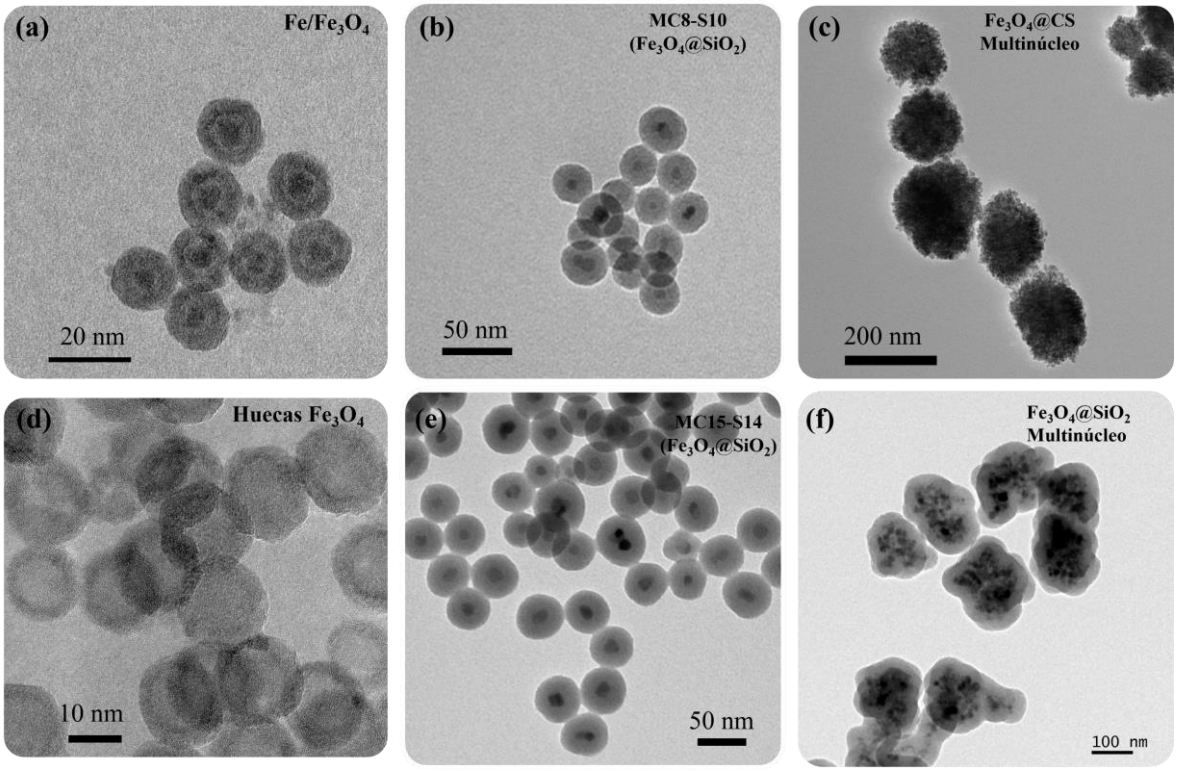

Figura 4.1. Microscopías TEM de algunas de las nanopartículas magnéticas representativas empleadas en la Tesis Doctoral: **(a)** y **(c)** nanopartículas Fe/Fe_3O_4 con estructura núcleo/cubierta y huecas de Fe_3O_4 (Publicación 1); **(b)** y **(e)** nanopartículas Fe_3O_4@SiO_2 con unas cubiertas espaciadoras no magnéticas (Publicación 2); **(c)** y **(f)** nanopartículas con estructuras multinúcleo (Publicación 3). [Fuente: Elaboración propia].

4.2 PROPIEDADES MORFOLÓGICAS Y ESTRUCTURALES

La distribución de tamaños se obtuvo a partir de las micrografías TEM para todas las nanopartículas, lo que permitió constatar el efecto del método sintético empleado. En general, las nanopartículas obtenidas mediante el método de la coprecipitación revelaron una distribución de tamaños más ancha que los métodos realizados a temperaturas altas (solvotermal y descomposición térmica).

Las nanopartículas núcleo/cubierta de Fe/Fe_3O_4, revelaron tener un tamaño total de d = 11.9 ± 0.9 nm, con un tamaño del núcleo de Fe de d = 2.3 nm y una cubierta de δ = 2.4 nm. Por otro lado, las nanopartículas huecas de Fe_3O_4, obtenidas mediante la oxidación del núcleo de Fe, presentaron un tamaño de d = 13.2 ± 0.7 nm, con un tamaño de la cubierta de δ = 3.7 nm. Este aumento del tamaño total de la nanopartícula y, especialmente, de la cubierta, se produce debido al efecto Kirkendall, en el que el núcleo de Fe se oxida y los iones que lo forman pasan a formar parte de la cubierta en el proceso de transformación a nanopartículas huecas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Respecto al lote de nanopartículas basado en estructuras de Fe_3O_4@SiO_2, los núcleos magnéticos empleados revelaron tener un tamaño de d = 8.1 ± 2.7 nm y d = 10.2 ± 3.9 nm, sintetizados por coprecipitación, y d = 15.3 ± 3.4 nm, sintetizados mediante descomposición térmica. Por otro lado, el método de la microemulsión permitió el diseño de cubiertas de SiO_2 lo suficientemente pequeñas para los tres núcleos, δ = 2 nm (MC8-S2), δ = 2.3 nm (MC10-S2) y δ = 4.7 nm (MC15-S5), y suficientemente grandes, δ = 9.9 nm (MC8-S10), δ = 9.2 nm (MC10-S9) y δ = 14.2 nm (MC15-S14), permitiendo tener sistemas de estudio con interacción magnética de diferente intensidad.

Los sistemas mononúcleo, empleados como agentes ópticos, revelaron tener tamaños totales por debajo de 50 nm: d = 14.90 nm (Fe_3O_4@PDA), d = 22.50 nm (Fe_3O_4@SiO_2-RITC) y d = 40.09 nm (Fe_3O_4@SiO_2-FITC); mientras que los sistemas multinúcleo, empleados como nanocalentadores en hipertermia magnética, presentan tamaños por encima de los 100 nm: d = 178.44 nm (Fe_3O_4/CS), d = 145.96 nm (Fe_3O_4/Citrate) y d = 197.27 nm (Fe_3O_4@SiO_2).

El uso de una u otra técnica sintética permite las variaciones tanto en la estructura como en el tamaño y, sobre todo, tiene consecuencias directas sobre la dispersión de las nanopartículas. Por ello, es posible observar como aquellas nanopartículas sintetizadas mediante el método de la descomposición térmica presentan un índice de polidispersidad (PDI, del inglés ``Polidisperity Index´´) inferior en comparación con aquellas nanopartículas sintetizadas mediante el método de la coprecipitación. Por ejemplo, los núcleos de d = 8 nm y d = 10 nm tienen un PDI de PDI = 0.111 y PDI = 0.146, respectivamente, siendo hasta dos veces superior que los núcleos de d =15 nm (PDI = 0.052) o las nanopartículas Fe/Fe_3O_4 (PDI = 0.005) y las Fe_3O_4 huecas (PDI = 0.002), indicando una mayor polidispersidad.

La difracción de rayos X permitió demostrar que todas las nanopartículas empleadas están compuestas por óxidos de Fe, fundamentalmente magnetita/maghemita, al observarse una coincidencia de los patrones con los picos principales de la magnetita/maghemita: (1 1 1), (2 2 0), (3 1 1), (4 0 0), (4 2 2), (5 1 1), (4 4 0), (6 2 0) y (5 5 3). Sin embargo, pudieron observarse algunas diferencias en función del método sintético o las características del nanomaterial, como el uso de cubiertas funcionales. En este sentido, en las nanopartículas de Fe/Fe_3O_4 y huecas de óxido de Fe, el difractograma revela una baja cristalinidad de los nanomateriales, al observarse un ancho de pico mayor (Figura 1.a de la Publicación 1 en el Capítulo 6). En los sistemas de Fe_3O_4@SiO_2 se observó una buena cristalinidad en todas las nanopartículas y, con especial interés, se observó la presencia de un pico ancho ($2\theta \approx 23^{\circ}$) correspondiente a la cubierta de SiO_2, cuya presencia es más notable a medida que aumenta el espesor (Figura S4 de la Publicación 2 en el Capítulo 7). Este pico se observó también en los sistemas fluorescentes Fe_3O_4@SiO_2-RITC y Fe_3O_4@SiO_2-RITC y en las nanopartículas multinúcleo Fe_3O_4@SiO_2 (Figura 2 de la Publicación 3 en el Capítulo 8).

4.3 Propiedades Magnéticas y Su Relación con los Parámetros de Diseño

La variedad en los parámetros de diseño de los nanomateriales tiene una repercusión directa en las propiedades magnéticas de los mismos. Mediante ciclos de histéresis obtenidos por magnetómetros SQUID y VSM se obtuvieron parámetros relevantes como M_S, M_R o H_C, representados en la Tabla 4.1 para los diferentes nanomateriales sintetizados.

En primer lugar, se observa que la M_S de las nanopartículas Fe/Fe_3O_4 y huecas de Fe_3O_4 es significativamente inferior al resto de nanopartículas, debido al menor tamaño de sus dominios cristalinos ($d_{XRD} \approx 4$ nm) y, por tanto, a la mayor contribución de la capa muerta. Este hecho se debe a la presencia de un núcleo de Fe con una cristalinidad reducida y notables efectos de

superficie, que hacen que los momentos magnéticos se encuentren desordenados y no se orienten bajo la aplicación de un campo magnético externo. El aumento de M_S cuando las Fe/Fe_3O_4 se transforman en huecas se debe fundamentalmente al aumento de la cubierta, desde $\delta = 2.4$ nm hasta $\delta = 3.7$ nm. Esto conlleva una disminución de la tasa superficie-volumen, desde 0.9 (Fe/Fe_3O_4) hasta 0.6 (huecas de Fe_3O_4). Este efecto se ve claramente reflejado en la presencia de una contribución paramagnética en los ciclos de histéresis (Figura 4 de la Publicación 1 en el Capítulo 6). Esta contribución se cuantificó mediante la ecuación de Langevin (Ec. (3) de la Publicación 1 en el Capítulo 6) y se demostró una contribución del 23 y 26 % de los espines superficiales en las nanopartículas de Fe/Fe_3O_4 y las nanopartículas huecas de Fe_3O_4, respectivamente. Esto, sumado a la presencia de materiales magnéticos con diferente comportamiento, conllevó a la demostración del efecto EB en estos nanomateriales.

Por otro lado, se observa que el método de síntesis tiene un efecto notable en las propiedades magnéticas de las nanopartículas debido a las diferencias observadas en la calidad cristalina. Una de las principales ventajas de la descomposición térmica frente a la coprecipitación es la obtención de nanopartículas con una mayor cristalinidad, debido al uso de temperaturas más elevadas durante el proceso sintético. Este hecho contribuye a la reducción de la capa muerta de espines, y se vio reflejado en una mayor M_S en aquellas nanopartículas de $Fe_3O_4@SiO_2$ cuyo núcleo, de d = 15 nm, se sintetizó por descomposición térmica, es decir, el lote MC15-SX. La M_S de estas nanopartículas es de $M_S \approx 75$ emu g^{-1}, mientras que, para los lotes MC8-SX y MC10-SX, cuyos núcleos de d = 8 nm y d = 10 nm fueron sintetizados por coprecipitación, M_S se redujo hasta $M_S \approx 67$ emu g^{-1} y $M_S \approx 71$ emu g^{-1}, respectivamente.

En las nanopartículas fluorescentes también se observaron diferencias significativas. Por un lado, las nanopartículas de $Fe_3O_4@PDA$ y $Fe_3O_4@SiO_2$-RITC, cuyos núcleos magnéticos fueron sintetizados por coprecipitación, presentan valores de $M_S = 65$ emu g^{-1} y $M_S = 71$ emu g^{-1}, similares a los obtenidos en los lotes MC8-SX y MC10-SX. Sin embargo, las nanopartículas $Fe_3O_4@SiO_2$-FITC, con un núcleo sintetizado por descomposición térmica, poseen una M_S ligeramente inferior, $M_S \approx 50$ emu g^{-1}. Este valor no concuerda con el obtenido en el lote MC15-SX, también sintetizado mediante descomposición térmica, y la razón puede deberse al uso de reactivos diferentes durante el proceso sintético. Mientras que en el lote MC15-SX el precursor de Fe consiste en acetilacetonato de Fe, las nanopartículas de $Fe_3O_4@SiO_2$-FITC se sintetizaron partiendo de un complejo de oleato de Fe. Las nanopartículas con estructuras multinúcleo, pese a sintetizarse mediante diferentes procedimientos sintéticos, poseen una M_S similar, $M_S \approx 67$ emu g^{-1}, en los tres sistemas de nanopartículas, Fe_3O_4/CS, Fe_3O_4/Citrate y $Fe_3O_4@SiO_2$.

Otro parámetro que afecta a la respuesta magnética de las nanopartículas son los efectos de agregación, ya sea en las nanopartículas multinúcleos o debido a la proximidad de nanopartículas vecinas en sistemas mononúcleo. Mediante protocolos de ZFC-FC obtenidos con el magnetómetro SQUID, fue posible obtener la T_B de cada una de las nanopartículas, compiladas en la Tabla 4.1.

La Figura 4.2 representa las curvas ZFC-FC de las nanopartículas empleadas en la Publicación 3 en el Capítulo 8. Se espera que aquellos sistemas de nanopartículas de óxido de Fe que posean un tamaño por debajo del tamaño crítico, d < 20 nm, presenten un comportamiento superparamagnético a temperatura ambiente, es decir, $T_B < 300$ K. Por ello se observa que las T_B obtenidas cumplen esa condición en los sistemas mononúcleo (Figura 4.2.a), con excepción de las nanopartículas $Fe_3O_4@PDA$, principalmente debido a la agregación de las nanopartículas. Este efecto de estrecho contacto entre las nanopartículas formando agregados

hace que, pese a que las nanopartículas tengan un tamaño óptimo para presentar un comportamiento superparamagnético, los efectos de interacción dipolar sean notables e influyan en la barrera energética ΔE (Ec. 1.15). De esta forma, en la Ec. (1.10), a partir de la cual se obtiene T_B, el término de E_{an} no se encuentra desacoplado del resto de términos energéticos E_D y E_H. Por tanto, no es posible obtener experimentalmente un valor de T_B correspondiente a un sistema de nanopartículas de Fe_3O_4@PDA sin interacción. Este efecto no se observó en el resto de los sistemas de nanopartículas sintetizados mediante coprecipitación debido a la presencia de cubiertas de SiO_2 no magnéticas, tanto en los lotes MC8-SX y MC10-SX, como en los sistemas fluorescentes Fe_3O_4@SiO_2-FITC y Fe_3O_4@SiO_2-RITC. Precisamente, en los sistemas de Fe_3O_4@SiO_2, el efecto de la variación del espesor de SiO_2, que funciona como separación controlada entre los núcleos magnéticos, tiene una correlación directa en la variación de la T_B. En este sentido, los valores de T_B obtenidos para el mínimo espesor de SiO_2 ($T_{B\text{-}Max}$ = 89.52, 136.91, 195.49 K) se vieron significativamente reducidos cuando el espesor de SiO_2 es máximo ($T_{B\text{-}Min}$ = 51.73, 61.20, 154.74 K), para los lotes MC8-SX, MC10-SX y MC15-SX, respectivamente, y, por tanto, se reducen las interacciones dipolares entre nanopartículas. Este hecho demuestra la idoneidad de estas nanopartículas como sistemas modelo para el estudio de las interacciones dipolares. En los sistemas multinúcleo, las interacciones dipolares debido a la agrupación de las nanopartículas modulan, basándose en el mismo argumento que en las nanopartículas de Fe_3O_4@PDA, ΔE y, por tanto, no se observó un comportamiento superparamagnético a temperatura ambiente, T_B > 350 K (Figura 4.2.b).

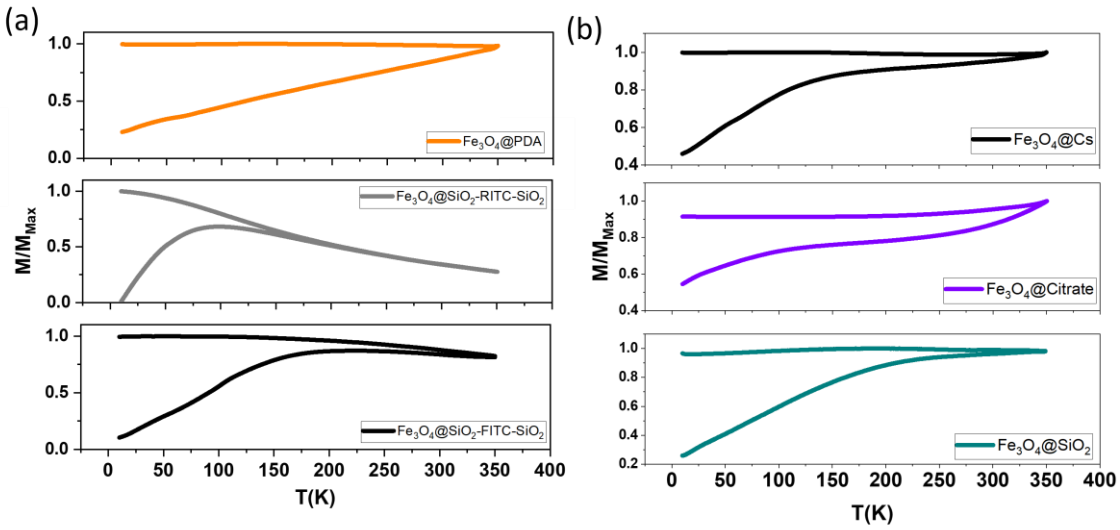

Figura 4.2. Curvas de ZFC-FC de nanopartículas **(a)** mononúcleo: Fe_3O_4@PDA (línea naranja), Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 (gris) y Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 (negra) y **(b)** multinúcleo: Fe_3O_4@CS (negra), Fe_3O_4@Citrato (violeta) y Fe_3O_4@SiO_2 (azul). [Esta figura pertenece a la Publicación 3 en el Capítulo 8. Fuente: Elaboración propia].

Dadas sus características específicas y sus propiedades magnéticas, cada uno de los lotes de nanopartículas ha sido seleccionado con un objetivo específico para profundizar en el papel de las interacciones y su influencia en diferentes aplicaciones.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 4.1. Propiedades magnéticas de las nanopartículas magnéticas diseñadas en la Tesis Doctoral: D_T, diámetro obtenido por TEM; M_S, magnetización de saturación, M_R, magnetización remanente y H_C, campo coercitivo, obtenidos a temperatura ambiente; T_B, temperatura de bloqueo. PC indica la publicación científica donde fueron empleadas las nanopartículas: 1, 2 y 3 correspondientes a los Capítulos 6, 7 y 8, respectivamente.

Nombre	Composición	Estructura	D_T (nm)	M_S ($emug^{-1}$)	M_R ($emug^{-1}$)	H_C ($emug^{-1}$)	T_B (K)	PC
C/V/S	Fe/Fe_3O_4	Núcleo/cubierta	11.9	30.75	0.11	17.78	108.44	1
Hollow	Fe_3O_4	Huecas	13.2	38.90	0.30	17.74	80.12	1
MC8-S2	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	12.2	67.96	2.46	16.90	89.52	2
MC8-S5	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	18.3	69.60	3.18	18.02	59.52	2
MC8-S10	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	27.9	66.30	3.31	17.98	51.73	2
MC10-S2	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	14.7	72.38	8.39	37.03	136.91	2
MC10-S6	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	22.7	71.83	7.63	34.26	106.45	2
MC10-S7	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	24.5	71.50	8.14	34.54	93.31	2
MC10-S9	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	28.7	72.60	8.77	34.80	61.20	2
MC15-S5	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	24.7	75.15	1.88	37.52	195.49	2
MC15-S9	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	32.3	75.73	0.39	26.45	165.09	2
M15-S11	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	36.6	75.02	1.84	37.28	158.67	2
M15-S14	$Fe_3O_4@SiO_2$	Núcleo/cubierta	43.7	75.63	1.73	37.39	154.74	2
Fe_3O_4@PDA	Fe_3O_4/PDA	Mononúcleo	14.90	65.38	5.74	51.7	>350	3
$Fe_3O_4@SiO_2$-RITC	$Fe_3O_4@SiO_2$-RITC	Núcleo/cubierta	22.50	71.44	0.65	3.53	96.00	3
$Fe_3O_4@SiO_2$-FITC	$Fe_3O_4@SiO_2$-FITC	Núcleo/cubierta	40.09	49.89	3.35	13.45	216.00	3
Fe_3O_4/CS	Fe_3O_4/CS	Multinúcleo	178.44	67.35	0.70	3.85	>350	3
Fe_3O_4/Citrate	Fe_3O_4/Citrate	Multinúcleo	145.96	67.45	2.33	17.19	>350	3
$Fe_3O_4@SiO_2$	$Fe_3O_4@SiO_2$	Multinúcleo	197.27	67.05	1.44	10.18	~350	3

4.4 INTERACCIÓN DE CANJE Y EFECTO EXCHANGE BIAS

La obtención de determinados resultados contradictorios en el efecto EB en sistemas de nanopartículas demostró la necesidad de profundizar en determinados parámetros que dominan la generación de EB. Una de las limitaciones de algunos trabajos en el campo, que estudian EB en sistemas de nanopartículas huecas, es el reducido tamaño de las nanopartículas y la mezcla de los estados de oxidación (se pueden tener simultáneamente fases de magnetita y maghemita). Esto hace que los sistemas reportados posean magnetizaciones significativamente bajas (d = 9.2 nm, M_{MAX}<1 emu g^{-1} [77]; d = 9.2 nm, M_{MAX}~1 emu g^{-1} [72]; d = 9.4 nm, M_{MAX}~1.2 emu g^{-1} [76]; d = 8.2 nm, M_{MAX}~6 emu g^{-1} [75]) que, junto con la asociación de los fenómenos magnéticos observados a ciclos menores en lugar de efectos de EB intrínsecos, concluyan en la necesidad de diseñar nanomateriales con mejores prestaciones.

En la Publicación 1 en el Capítulo 6, los sistemas de nanopartículas huecos desarrollados están compuestos, en mayor parte, por magnetita, presentando valores de magnetización significativamente superiores a otros trabajos (M_{MAX} = 38.90 emu g^{-1}) y revelando la presencia de un efecto intrínseco de EB. Además, se analizó también el efecto EB en las nanopartículas de Fe/Fe_3O_4 como sistemas precursores ya que, a partir de ellas, se obtuvieron las

nanopartículas huecas de Fe_3O_4. La Figura 4.3 muestra los ciclos de histéresis obtenidos a baja temperatura (T = 5 K) empleando condiciones de FC (H_{FC} = 10 kOe, rojo) y de ZFC (negro). La presencia de un desplazamiento del ciclo de histéresis en el eje de magnetización y de campo, tanto en las nanopartículas con estructura núcleo/cubierta de Fe/Fe_3O_4 (Figura 4.3.a) como con estructura hueca de Fe_3O_4 (Figura 4.3.b), demuestra la presencia de un efecto de EB.

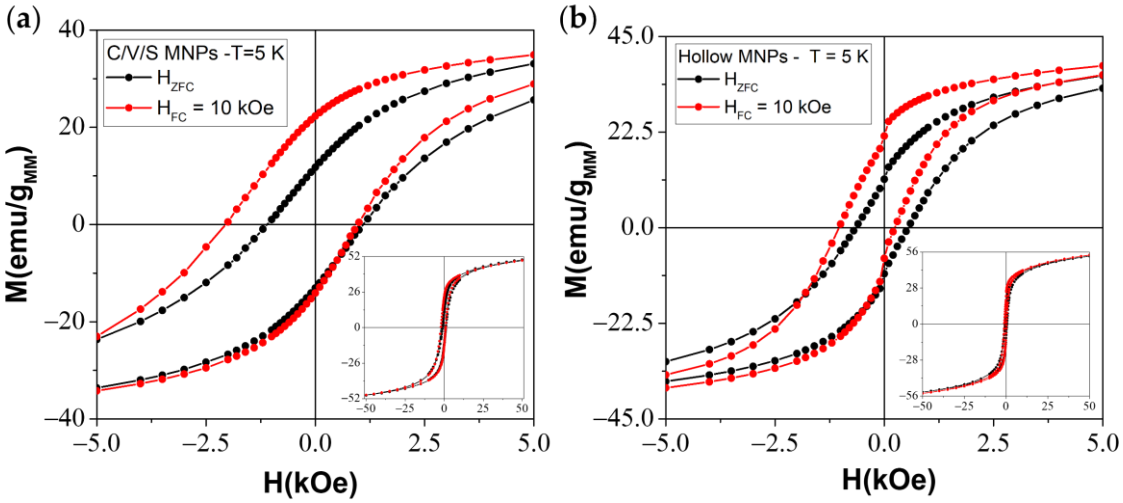

Figura 4.3. Ciclos de histéresis de nanopartículas **(a)** con estructura núcleo/cubierta de Fe/Fe_3O_4 y **(b)** huecas de Fe_3O_4 obtenidos a T = 5 K enfriados sin campo (ZFC, puntos negros) y con H_{FC} = 10 kOe (FC, puntos rojos) en el rango de H = [-50, 50] kOe. Para mayor claridad, sólo se muestra el rango entre H = [-5, 5] kOe. Recuadros: ciclos de histéresis completos. Se observa un desplazamiento del ciclo de histéresis en los ejes X (campo) e Y (magnetización), lo que indica la presencia de EB. [Esta figura pertenece a la Publicación 1 en el Capítulo 6. Fuente: Elaboración propia].

La generación de EB se ve afectada por diversos factores, tales como el tamaño de partícula, el espesor de la cubierta, tanto en nanopartículas núcleo/cubierta como en nanopartículas huecas, la morfología o la composición, pero, especialmente, por factores extrínsecos como la temperatura o el campo de enfriamiento, H_{FC}.

En este sentido, el efecto de la temperatura fue ampliamente demostrado y se observó que a menor temperatura el H_{EB} obtenido es mayor. Sin embargo, la dependencia de H_{EB} con H_{FC} no se encuentra bien definida. En sistemas de nanopartículas de Fe/Fe_3O_4[65], H_{EB} crece con H_{FC}, mientras que, en sistemas de $CoFe_3O_4$[147] y Fe_3O_4[148], se observó un máximo de H_{EB} a H_{FC} = 5 kOe y H_{FC} = 30 kOe, respectivamente, a partir del cual H_{EB} decrece. Por otro lado, en sistemas de nanopartículas huecas no se han reportado, hasta donde sepamos, estudios de la dependencia de H_{EB} con H_{FC}. En este sentido, en las nanopartículas con estructuras núcleo/cubierta de Fe/Fe_3O_4 y huecas de Fe_3O_4 desarrolladas en esta Tesis Doctoral se investigó el efecto de H_{FC} con H_{EB}, con un H_{FC} de hasta H_{FC} = 50 kOe y T = 5 K, representado en la Figura 4.4.a. Se obtuvo un valor de H_{EB} más elevado en los sistemas precursores de Fe/Fe_3O_4 (H_{EB} = 581.5 Oe) en comparación con las nanopartículas huecas (H_{EB} = 444.0 Oe) pero, sin embargo, obtenidos a diferentes H_{FC}, H_{FC} = 5 kOe para las nanopartículas Fe/Fe_3O_4 y H_{FC} = 3 kOe para las nanopartículas huecas. Estos resultados permiten intuir la presencia de diferentes mecanismos en la generación de EB y, hasta nuestro conocimiento, este trabajo sugiere una nueva tendencia de H_{EB} con H_{FC} en nanopartículas huecas, no reportada en otros trabajos de investigación.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

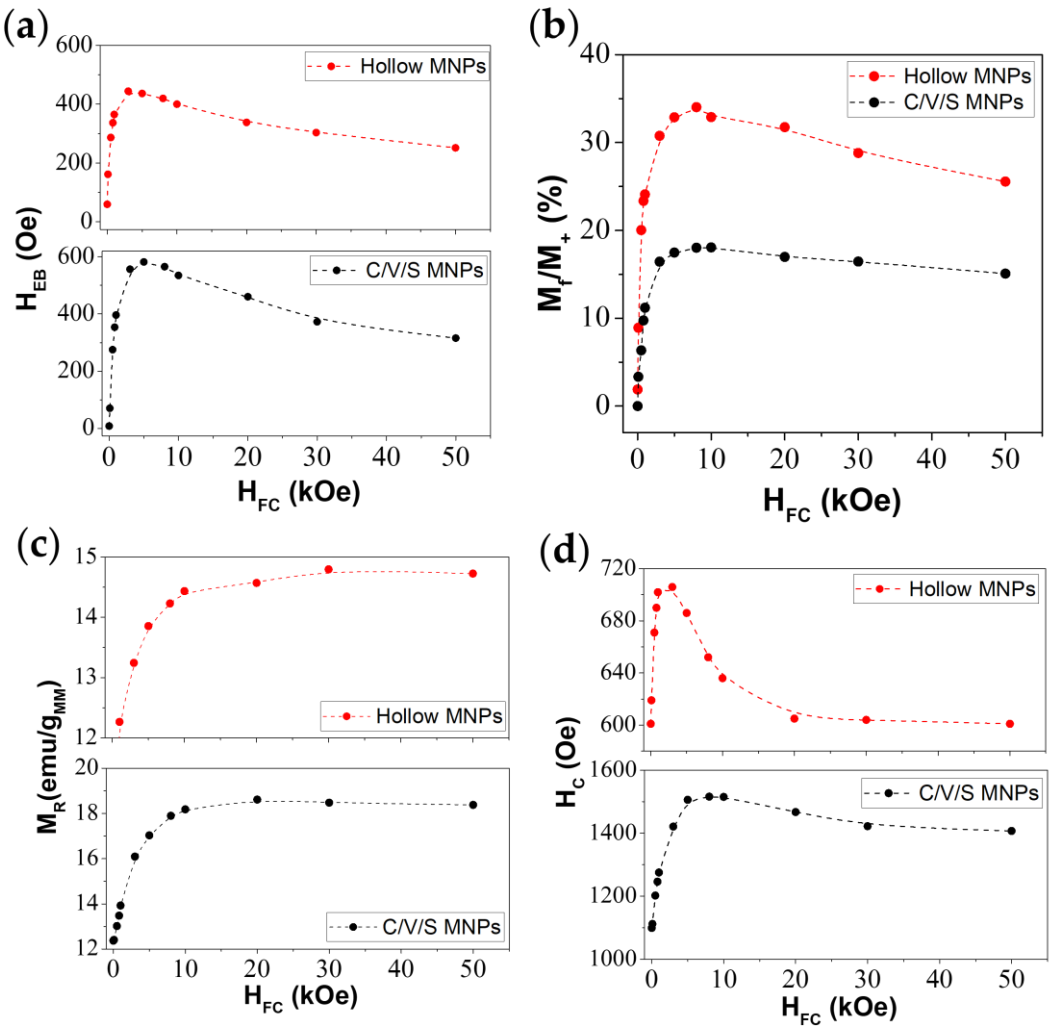

Figura 4.4. Dependencia de **(a)** H_{EB}, **(b)** M_f, **(c)** M_R y **(d)** H_C con el campo de enfriamiento (H_{FC}) medido a 5 K para las nanopartículas de núcleo/cubierta (puntos negros) y huecas (puntos rojos) en función de los campos de enfriamiento (H_{FC}). [Figura adaptada de las Figuras 6, 7 y 9 de la Publicación 1 en el Capítulo 6. Fuente: Elaboración propia].

Con el objetivo de profundizar en aquellos mecanismos que dominan EB, se investigó el efecto de la proporción de los espines congelados, M_f, responsables de la interacción de intercambio, y de la M_R y H_C, representados en la Figura 4.4.b-d, respectivamente. Se observaron dos regiones bien diferenciadas en la dependencia de estos parámetros con H_{FC}. Por un lado, para bajos H_{FC}, tanto M_R, H_C, M_f (obtenidos mediante la Ec. (4) de la Publicación 1 en el Capítulo 6) y, por tanto, H_{EB}, aumentan con H_{FC}. Esto es debido a la dirección preferencial en la que los momentos magnéticos se congelan al enfriar con un campo magnético externo. Esto conlleva que la anisotropía de intercambio no se promedie y se genere EB. Por otro lado, a medida que H_{FC} aumenta, la energía de Zeeman asociada al campo aumenta y deja de ser despreciable frente a la interacción de intercambio, induciendo una disminución de los espines congelados y, por tanto, una disminución de H_C y H_{EB}. Las diferencias observadas en los máximos a partir de los cuales se produce un cambio en la tendencia entre las nanopartículas de Fe/Fe_3O_4 y las huecas de Fe_3O_4 sugiere una mayor reducción del promediado de la anisotropía, debido a la aleatoriedad, en las nanopartículas de Fe/Fe_3O_4.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Por otro lado, el área superficial efectiva (S/V) de estas nanopartículas, significativamente superior a las nanopartículas no huecas, conlleva una presencia muy elevada de espines superficiales que son los responsables de la generación del efecto de EB. Para corroborar esta hipótesis se investigaron las contribuciones superparamagnéticas y paramagnéticas en las nanopartículas (representadas en la Figura 7 de la Publicación 1 en el Capítulo 6) mediante la función de Langevin (Ec. (3) de la Publicación 1 en el Capítulo 6). En este sentido, se pudo demostrar el número significativo de espines superficiales, mayor en el caso de las nanopartículas huecas (26 %) en comparación con las nanopartículas núcleo/cubierta de Fe/Fe_3O_4 (23 %). Estos resultados se atribuyeron al mayor tamaño de la cubierta de las nanopartículas huecas. La presencia de este tipo de espines conlleva que, a bajas temperaturas, pueden entrar en un estado similar al vidrio de espín, cuyo acoplamiento de intercambio con los espines ordenados del interior de las nanopartículas genera un efecto de EB.

La obtención de estos resultados permitió arrojar luz a los mecanismos de EB, proponiendo una distribución de los espines en ambas nanopartículas, observado en la Figura 4.5.a-b. Por un lado, la contribución de los espines superficiales obtenida se representó a través de la presencia de dos capas superficiales, interna y externa, en ambos sistemas de nanopartículas. En este caso, dada la similitud de los porcentajes de espines superficiales totales obtenidos, 23 % (en las nanopartículas Fe/Fe_3O_4) y 26 % (en las nanopartículas huecas de Fe_3O_4), la distribución y efecto en la generación de EB debe ser similar en ambos tipos de nanopartículas. Además, la mayor contribución de estos espines en comparación con el trabajo reportado por Ong et al.[65] permitió demostrar que los espines superficiales son clave para mejorar H_{EB}.

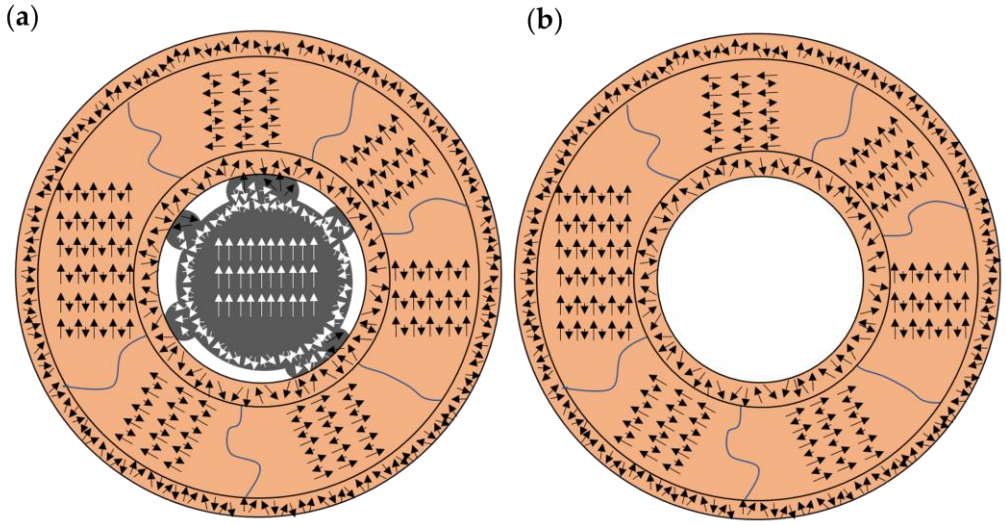

Figura 4.5. Representación esquemática de la distribución de los espines en las nanopartículas con estructura **(a)** núcleo/cubierta de Fe/Fe_3O_4 y **(b)** huecas de Fe_3O_4. [Esta figura pertenece a la Publicación 2 en el Capítulo 7. Fuente: Elaboración propia.]

Por otro lado, se propuso una estructura interna basada en nanogranos debido a los resultados obtenidos de los espines congelados junto con el tamaño cristalino, significativamente inferior al tamaño total de nanopartícula. En este caso, la obtención de una mayor proporción de espines congelados en las nanopartículas huecas se atribuyó a la presencia del núcleo de Fe en las nanopartículas Fe/Fe_3O_4, cuyos espines poseen un carácter reversible. La contribución de este mecanismo, no obstante, es similar en ambas nanopartículas y la principal diferencia en los valores de H_{EB} obtenidos reside en la presencia del núcleo de Fe, que induce una interacción de intercambio de forma discontinua con la cubierta de óxido de Fe.

4.5 EFECTO DE LAS INTERACCIONES DIPOLARES EN LA DETERMINACIÓN DE K_{EFF}

El rango de distancias que separa a los momentos magnéticos determina cual es la interacción magnética que domina en cada caso. Como se observó previamente, en el Capítulo 1, la interacción de intercambio, presente en las nanopartículas de Fe/Fe_3O_4 y las nanopartículas huecas de Fe_3O_4, dominan a distancias muy reducidas, unos pocos Å, siendo muy fuerte y decayendo muy rápidamente para distancia superiores, haciéndose despreciable. Sin embargo, cuando la distancia entre las nanopartículas aumenta en el rango de los nanómetros, y la interacción de intercambio es casi nula, la interacción dipolar se convierte en el mecanismo dominante e influye de manera notable en las propiedades magnéticas de las nanopartículas. Su presencia afecta no solo a la eficiencia magnética de algunos procesos experimentales, como puede ser el rendimiento en hipertermia magnética de las nanopartículas[149], sino que también dificulta la determinación de parámetros magnéticos, como K_{eff}. Este parámetro se considera relevante en algunos trabajos para la predicción correcta y optimización de la eficiencia de calentamiento en procesos de hipertermia magnética *in vitro* e *in vivo*, pues permite maximizar la contribución del mecanismo de relajación de Néel. Sin embargo, como se puso de manifiesto en determinados modelos[22], la interacción dipolar contribuye a ΔE (Ec. 1.15) y, para determinar experimentalmente K_{eff} de manera precisa, hay que asegurar condiciones de medida donde las nanopartículas magnéticas se encuentren libres de interacciones.

Habitualmente, las condiciones de medidas magnéticas experimentales conllevan una proximidad entre nanopartículas, afectadas por la interacción dipolar, por lo que la K_{eff} obtenida lleva implícita su contribución. Para evitar este error en la medida, se han llevado a cabo algunos enfoques experimentales con el objetivo de limitar el efecto de estas interacciones: nanopartículas embebidas en matrices no magnéticas[150–152]; nanopartículas dispersas en medios líquidos a muy bajas concentraciones[153,154]; y nanopartículas con cubiertas funcionales espaciadoras[155–159]. Sin embargo, existen determinadas discrepancias en el campo que han llevado a que no exista un consenso en la determinación de K_{eff} de una forma precisa. Los enfoques más recientes se basan en el uso de nanopartículas con cubiertas espaciadoras de SiO_2, anchas, que reducen el efecto de las interacciones dipolares, en estado seco, ya que se suprime el mecanismo de rotación y se restringe la inversión magnética al mecanismo de Néel. No obstante, aunque estos estudios ofrecen valores de K_{eff} en nanopartículas de maghemita con tamaños entre d = 6.2 nm y d = 11.5 nm (K_{eff} = [20, 50] kJm^{-3})[160] y en sistemas de magnetita con diferentes morfologías (K_{eff} = [10, 20] kJm^{-3})[161], no consiguen demostrar explícitamente la presencia de la interacción dipolar magnética en términos de distancia interpartícula y momento magnético.

Siguiendo una estrategia similar, en esta Tesis Doctoral se han desarrollado una serie de sistemas de nanopartículas de óxido de Fe con cubiertas de SiO_2 con espesor variable y controlado en el rango de los nanómetros. Esto ha permitido su utilización como sistemas modelo para el estudio de los efectos de interacción dipolar con la distancia y el momento magnético de las nanopartículas. En este trabajo, cuyos resultados se representan en la Publicación 2 en el Capítulo 7, se cuantificaron los efectos de interacción dipolar en función de la distancia entre nanopartículas, d_{ij}, que se modifica con la variación del espesor de SiO_2.

En primer lugar, se demostró la validez del sistema modelo, representado en la Figura 4.6.a-c, como sistema de reducción y control de las interacciones dipolares. Para ello, mediante técnicas de magnetometría, se demostró cómo se reducen las interacciones dipolares tanto en medidas DC, a través de los protocolos ZFC-FC y los gráficos de Henkel, como en medidas AC.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

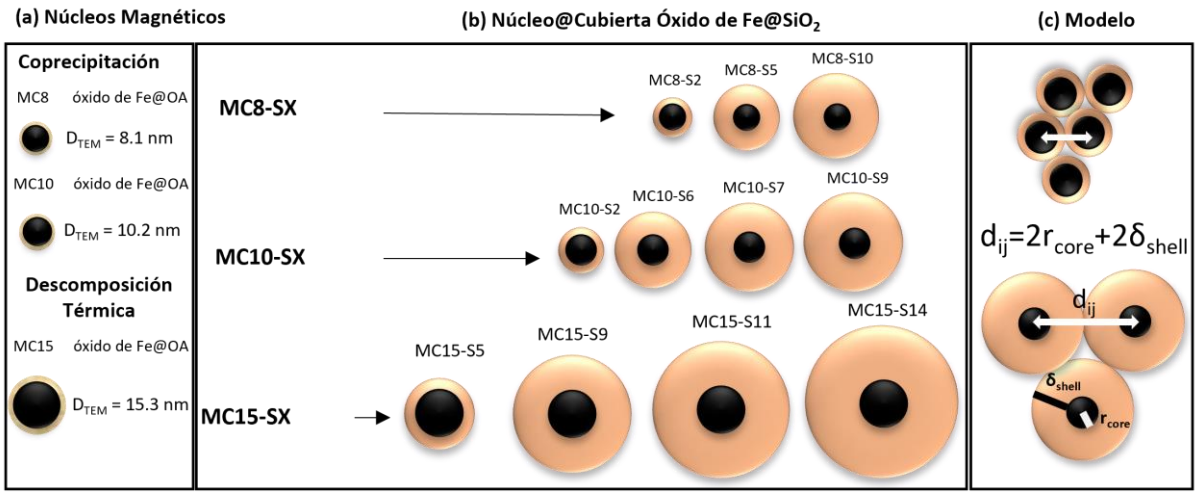

Figura 4.6. Representación esquemática de los conjuntos de sistemas modelo basados en: **(a)** núcleos de óxido de hierro magnético producidos por los métodos de coprecipitación y descomposición térmica para obtener diferentes tamaños (8.1, 10.2 y 15.3 nm) y **(b)** nanopartículas con estructura núcleo/cubierta con diferentes espesores de la cubierta de SiO_2 sintetizados mediante el método de microemulsión. **(c)** Con estas estructuras es posible ajustar la distancia entre los núcleos magnéticos (d_{ij}) aumentando espesor de la cubierta y permitiendo un control sobre las interacciones dipolares. [Esta figura pertenece a la Publicación 2 en el Capítulo 7. Fuente: Elaboración propia].

La Figura 4.7 representa las curvas ZFC-FC obtenidas de los tres lotes de nanopartículas, MC8-SX (Figura 4.7.a), MC10-SX (Figura 4.7.b) y MC15-SX (Figura 4.7.c) a partir de los cuales se obtuvo T_B. La dependencia de T_B con d_{ij}, observada en los recuadros de la Figura 4.7, reveló una clara disminución a medida que aumenta δ de la SiO_2, es decir, la d_{ij}. Basándose en la Ec (1.9) y considerando el término energético $\Delta E = E_{an} + E_D + E_H$, se asoció esta tendencia a una disminución E_D, de acuerdo con la Ec. (1.14) en el modelo propuesto por Jesus García-Otero et al. Por otro lado, a partir de la forma de la curva FC en la región de irreversibilidad (para $T<T_B$), también se pudo estimar la intensidad de las interacciones. Un aplanamiento de la forma de la curva se asocia con un aumento de las interacciones. Mediante la ecuación $FC_{rise}=(M_{plateau}–M_{TMAX})/M_{TMAX}$ se pudo cuantificar la interacción dipolar y, como se observa en la Figura S10 de la Publicación 2 en el Capítulo 7, se produce un aumento de FC_{Rise} con d_{ij}. Esta tendencia se asoció a una disminución del comportamiento colectivo de las nanopartículas y, por tanto, a un menor efecto de las interacciones.

Estos resultados se corroboraron con la intensidad de los picos obtenido en los gráficos de Henkel. La Figura 4.8 muestra las curvas IRM y DCD a partir de las cuales se obtuvo δM de dos muestras representativas MC15 (Figura 4.8.a) y MC15-S14 (Figura 4.8.b), correspondientes al núcleo magnético de d = 15 nm (sin recubrimiento de SiO_2) y a las nanopartículas con mayor δ de SiO_2 del lote MC15-SX, respectivamente. En este caso, se observa una clara disminución de la intensidad del pico cuando el núcleo magnético, MC15, es cubierto con una capa gruesa de SiO_2, MC15-S14, y, por tanto, d_{ij} aumenta. De forma general, se observó que el aumento de la cubierta conllevó una disminución de la intensidad de δM, concordando con el hecho de que la interacción dipolar magnética disminuye cuando las distancias entre partículas aumentan. Para el conjunto MC8-SX, la intensidad se redujo a la

mitad, desde -0.55 (MC8-S2 con δ ≈ 2 nm) hasta -0.20 (MC8-S10 con δ ≈ 10 nm); para el conjunto MC10-SX desde -0.72 (MC10-S2 con δ ≈ 2 nm) hasta -0.34 (MC10-S9 con δ ≈ 9 nm); y para el conjunto MC15-SX desde -0.60 (MC15 con δ ≈ 1 nm) hasta -0.15 (MC15-S14 con δ ≈ 14 nm). Cabe destacar que, la presencia de un pico negativo, junto con la ausencia del efecto EB (Figura S5 de la Publicación 2 del Capítulo 7) permitieron demostrar la ausencia de interacciones de intercambio que pudiesen inferir en nuestro sistema modelo.

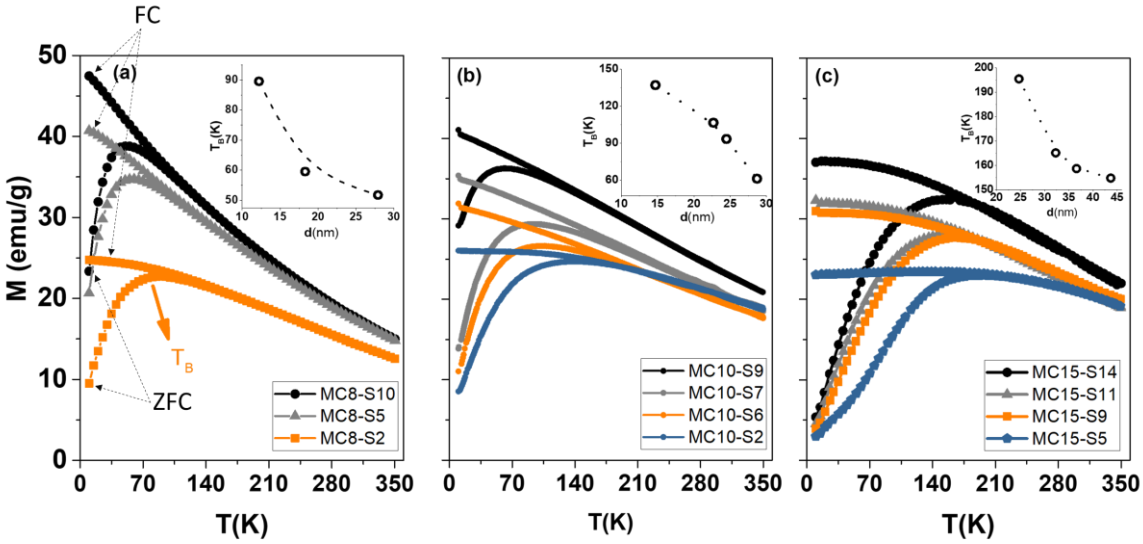

Figura 4.7. Curvas de ZFC-FC de los lotes de nanopartículas **(a)** MC8-SX, **(b)** MC10-SX y **(c)** MC15-SX a 100 Oe. Las temperaturas de bloqueo, observadas en los recuadros inferiores en función del tamaño total de las nanopartículas, es decir, la distancia entre los núcleos magnéticos, se obtuvieron a partir del máximo de la curva ZFC. [Esta figura pertenece a la Publicación 2 en el Capítulo 7. Fuente: Elaboración propia].

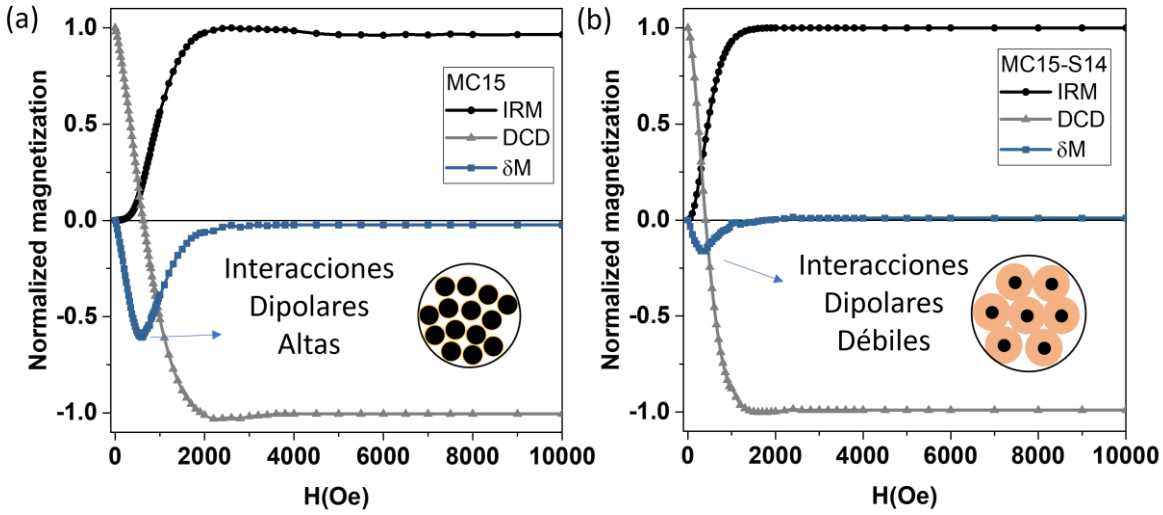

Figura 4.8. (a) Curvas IRM, DCD y δM obtenidas a 10 K de las nanopartículas MC15 (el núcleo magnético del conjunto MC15-SX) y **(b)** de las nanopartículas MC15-S14 (nanopartículas con mayor espesor de SiO_2 del conjunto MC15-SX). [Esta figura pertenece a la Publicación 2 en el Capítulo 7. Fuente: Elaboración propia]

Una vez establecida la dependencia de las interacciones dipolares con d_{ij}, se determinó K_{eff} de dos maneras:

- Siguiendo los enfoques convencionales de sistemas libres de interacciones ($\Delta E = E_{an}$) por técnicas de magnetometría DC y AC.
- Mediante un modelo propuesto basado en el límite asintótico de ΔE desacoplando los efectos de interacción dipolar, E_D.

La Figura 4.9 muestra los valores de K_{eff} obtenidos por DC, mediante los protocolos ZFC-FC, y AC, mediante la obtención de las T_B y considerando $\Delta E = E_{an}$, de los lotes MC8-SX (Figura 4.9.a), MC10-SX (Figura 4.9.b) y MC15-SX (Figura 4.9.c). Con independencia de la técnica empleada, se observa una disminución de K_{eff} a medida que d_{ij} aumenta, demostrando el influyente efecto de las interacciones dipolares en la correcta determinación de K_{eff}. En consecuencia, se obtuvieron valores denominados $K_{eff\text{-}DC}$ y $K_{eff\text{-}AC}$ para las nanopartículas con la capa de SiO_2 más gruesa, es decir, con menor presencia de interacciones. Estos valores revelaron ser: $K_{eff\text{-}DC}$ = 66.6, 40.2 y 30.2 kJ m^{-3} y $K_{eff\text{-}AC}$ = 57.6, 29.9 y 16.9 kJ m^{-3} para los núcleos magnéticos de d = 8.1, 10.2 y 15.3 nm, respectivamente.

No obstante, el uso de recubrimientos elevados, a pesar de minimizar el efecto de las interacciones dipolares, no garantiza el completo desacople de los efectos de interacción dipolar al considerar, típicamente, el enfoque de sistemas libre de interacciones ($\Delta E = E_{an}$). En este sentido, se determinó K_{eff} de un modo más preciso, partiendo del modelo de Jesús Garcia-Otero et al[22], considerando $\Delta E = E_{an} + E_D + E_H$, a partir de la Ec. (1.11). Para ello, mediante medidas AC se obtuvo ΔE y se representó en función de d_{ij} para cada uno de los lotes, MC8-SX (Figura 4.10.a), MC10-SX (Figura 4.10.b) y MC15-SX (Figura 4.10.c). Así, suponiendo que la E_H es despreciable, al considerar campos muy bajos, sólo se tuvieron en cuenta E_{an} y E_D, cuya dependencia es alcanzable experimentalmente mediante el sistema modelo con δ variable, aproximándose a $E_D \approx d_{ij}^{-3}$.

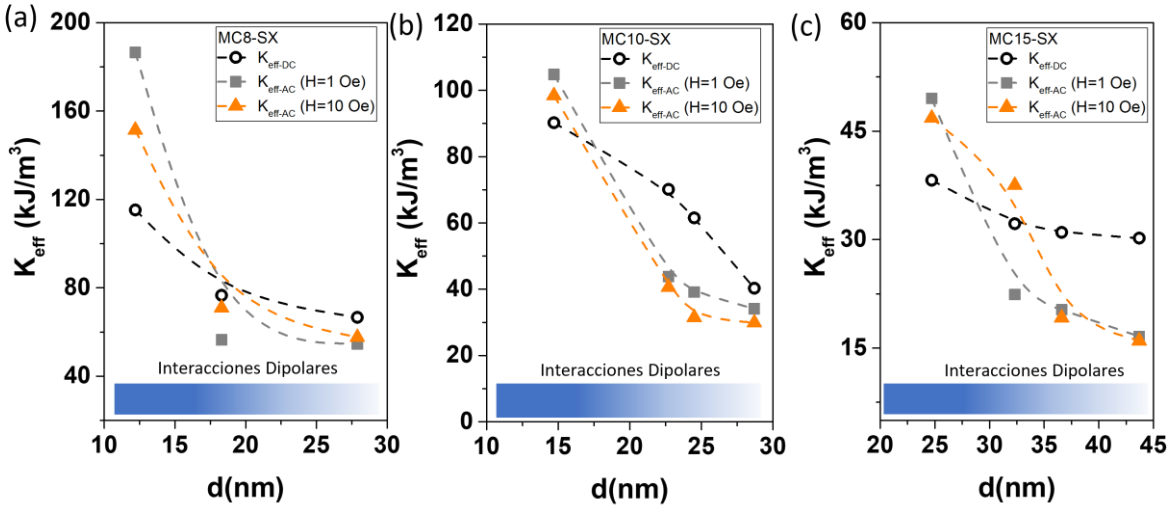

Figura 4.9. Dependencia de la constante de anisotropía efectiva con la distancia entre los núcleos magnéticos, es decir, con el aumento del espesor de SiO_2 obtenido por los métodos de DC ($K_{eff\text{-}DC}$, símbolos abiertos) y AC ($K_{eff\text{-}AC}$, símbolos cerrados) de los lotes **(a)** MC8-SX, **(b)** MC10-SX y **(c)** MC15-SX. La línea discontinua representa una guía visual y el aumento de la intensidad del color azul de la barra indica el aumento de la intensidad de interacción dipolar a medida que aumenta el grosor del SiO_2. [Esta figura pertenece a la Publicación 2 en el Capítulo 7. Fuente: Elaboración propia].

En la Figura 4.10 se puede ver fácilmente como a medida que d_{ij} aumenta, la influencia de E_D en ΔE irá disminuyendo. Por ello, K_{eff} fue obtenida mediante el límite asintótico, permitiendo desacoplar los efectos de interacción dipolar:

$$K_{eff-D.Correction} = \lim_{d_{ij}\to\infty}\left(K_{eff}\ V_{core} + \frac{\alpha\mu^2}{d_{ij}^3}\right)\frac{1}{k_B} = \lim_{d_{ij}\to\infty}\left(a + b\frac{1}{d_{ij}^3}\right) \quad (4.1)$$

En este sentido, se obtuvo K_{eff} desacoplada de los efectos de interacción, denotada como $K_{eff\text{-}D.Correction}$, como $K_{eff} = ak_B$, donde ``a´´ se obtiene del ajuste de la Ec. (4.1). Los valores obtenidos fueron: K_{eff} = 42.62 kJ m^{-3} y K_{eff} = 48.36 kJ m^{-3} (lote MC8-SX), K_{eff} = 23.17 kJ m^{-3} y K_{eff} = 18.28 kJ m^{-3} (lote MC10-SX) y K_{eff} = 11.74 kJ m^{-3} y K_{eff} = 11.87 kJ m^{-3} (lote MC15-SX) para los dos campos empleados, H = 1 Oe y H = 10 Oe, respectivamente. Estos valores son inferiores a los obtenidos mediante los métodos convencionales de DC y AC, demostrando un desacople de los efectos de interacción. Por otro lado, se observó una disminución de K_{eff} a medida que aumenta el tamaño de nanopartícula, desde d = 8 nm hasta d = 15 nm, con una tendencia hacia los valores de K_{eff} de la magnetita (K_{eff} = 13.5 kJ m^{-3}) y maghemita (K_{eff} = 4.6 kJ m^{-3}) en tamaño macroscópico. Esto concuerda con la ley de K_{eff}, $K_{eff} = k_b + 6K_S/d$ que tiene en cuenta un término de anisotropía del material macroscópico, K_b, y la anisotropía superficial, K_S, que depende del tamaño de la nanopartícula, d[162].

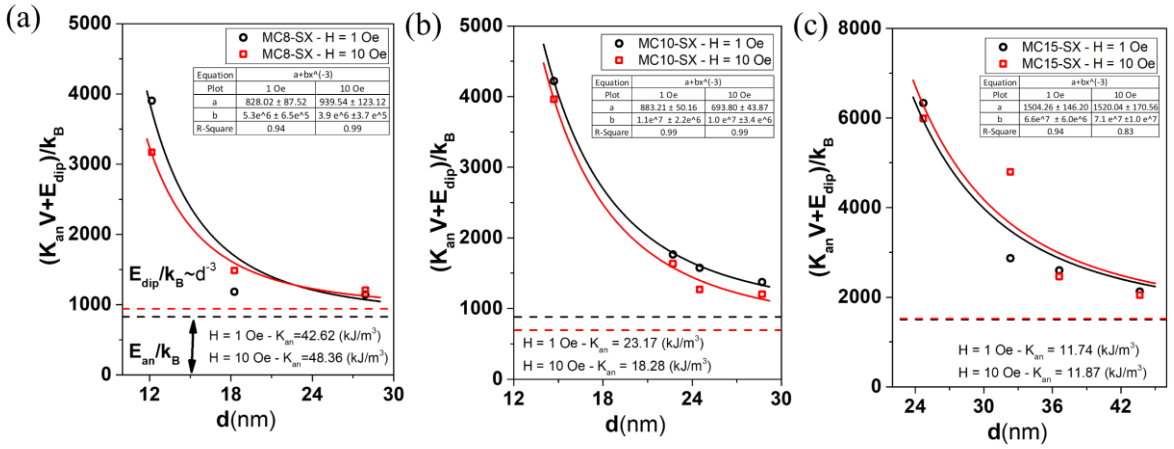

Figura 4.10. Dependencia de la barrera de energía, ΔE, formada por la suma de la energía de anisotropía (E_A) y la energía de interacción dipolar magnética (E_D) con la distancia entre partículas, d_{ij}, y por tanto con la intensidad de las interacciones dipolares de los lotes **(a)** MC8-SX, **(b)** MC10-SX, y **(c)** MC15-SX a 1 Oe (patrón negro) y 10 Oe (patrón rojo). Los símbolos representan los valores de ΔE y las líneas continuas representan el ajuste de ΔE a la ecuación (4.1). El recuadro interior muestra los valores de ``a´´ y ``b´´ obtenidos en este ajuste, donde ``a´´ es el valor de energía obtenido en el límite asintótico ($d_{ij}\to\infty$). [Esta figura pertenece a la Publicación 2 en el Capítulo 7. Fuente: Elaboración propia].

4.6 NANOPARTÍCULAS COMO AGENTES ÓPTICOS Y NANOCALENTADORES

La versatilidad de las nanopartículas magnéticas a través de la variación de los parámetros de diseño en los diferentes procedimientos sintéticos permite su aplicación con diferentes objetivos. En la Publicación 3 en el Capítulo 8, se investigaron las capacidades de nanopartículas con estructura mononúcleo (Fe_3O_4@PDA, Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 y

Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2) como agentes ópticos mediante la adición de moléculas fluorescentes. Por otro lado, se investigó la capacidad de las nanopartículas con estructura multinúcleo (Fe_3O_4@Citrate, Fe_3O_4@CS y Fe_3O_4@SiO_2) en procesos de hipertermia magnética.

La eficiencia óptica de las nanopartículas se analizó mediante espectros de fotoluminiscencia, representados en la Figura 4.11. Estos espectros revelaron la presencia de picos de excitación y emisión bien definidos, con máximos localizados a λ=424 nm (Fe_3O_4@PDA, Figura 4.11.a), λ=515 nm (Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2, Figura 4.11.b) y λ=583 nm (Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2, Figura 4.11.c). A su vez, mediante imágenes por microscopía confocal con líneas de excitación de λ=405 nm, λ=488 nm y λ=522 nm, observadas en la Figura 4.11.d-f, se verificó la fluorescencia de las nanopartículas, permitiendo la visualización de PDA, FITC y RITC, respectivamente. La dotación de actividad fluorescente, junto con las propiedades magnéticas descritas previamente, con M_S< 50 $emug^{-1}$, permitieron el aislamiento y seguimiento celular, empleando una línea celular HeLa, mediante el uso de campos magnéticos externos basados en imanes permanentes.

El uso de campos magnéticos externos, además de utilizarse para mejorar los procesos de transfección y aislamiento celular, se emplearon para la generación de calor a la nanoescala en hipertermia magnética. En este sentido, la agregación que se induce en las nanopartículas cuando son internalizadas en organismos vivos conlleva un aumento de las interacciones dipolares. Por ello, los sistemas de nanopartículas con estructura multinúcleo deben ser empleados como sistemas modelo con el objetivo de simular, previamente a su internalización, las condiciones de agregación de las nanopartículas en estudios *in vitro* e *in vivo*.

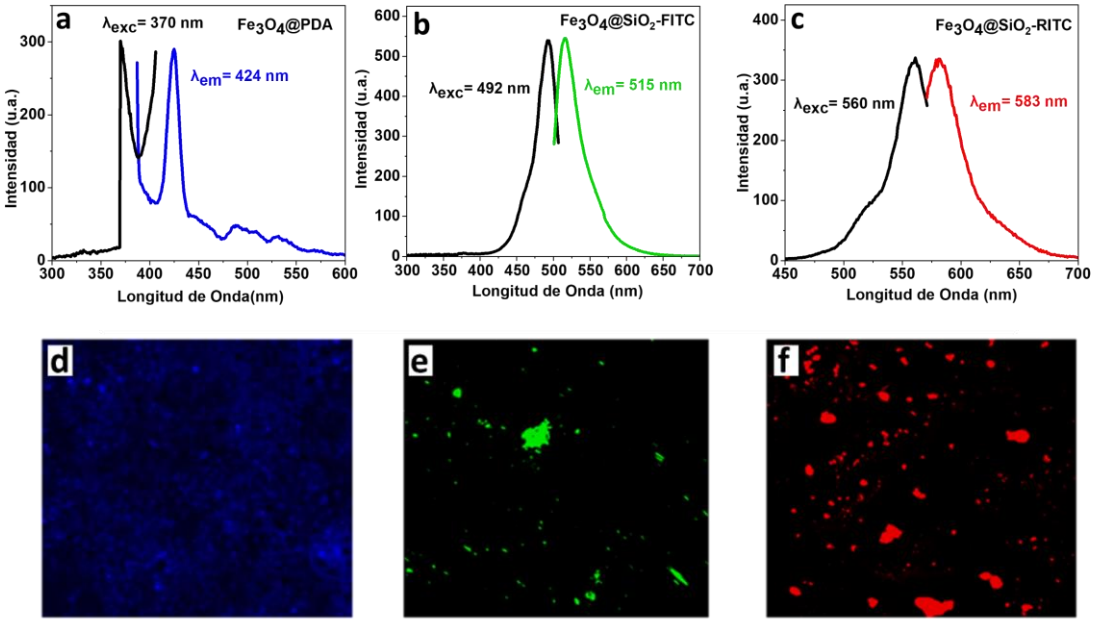

Figura 4.11. Espectros de fotoluminiscencia e imágenes de microscopio de fluorescencia confocal de las nanopartículas con estructura mononúcleo fluorescentes: PDA **(a,d)**, FITC **(b,e)** y RITC **(c,f)**, respectivamente. [Esta figura pertenece a la Publicación 3 en el Capítulo 8. Fuente: Elaboración propia].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

En este sentido, se investigó la eficiencia de calentamiento de las nanopartículas multinúcleo sintetizadas mediante el método solvotermal (Fe_3O_4@CS y Fe_3O_4@Citrate) y Stöber (Fe_3O_4@SiO_2). A partir de los ciclos de histéresis en condiciones AC, representados en la Figura 4.12.a-c para las nanopartículas de Fe_3O_4@CS, Fe_3O_4@Citrate y Fe_3O_4@SiO_2, respectivamente, se obtuvieron parámetros relevantes como H_C, M_R, M_{MAX} y el área del ciclo, recopilados en la Tabla 4.2 a f = 350 kHz. En primer lugar, puede observarse como, a pesar de que la M_S obtenida por magnetometría DC era similar en las tres nanopartículas (M_S = 67 $emug^{-1}$), en condiciones AC las diferencias en M_{MAX} son notables. Se observan diferencias de más del doble entre las nanopartículas de Fe_3O_4@Citrate (M_{MAX} = 47.8 Am^2kg^{-1}) y las nanopartículas de Fe_3O_4@SiO_2 (M_{MAX} = 22.4 Am^2kg^{-1}). Sin embargo, un mayor H_C en estas últimas (H_C = 3.8 kAm^{-1}) conllevó un aumento del área y el SAR, obtenido como SAR = A·f, es similar en ambas nanopartículas, SAR ≈ 100 Wg^{-1} (Figura 4.12.d). Por otro lado, las nanopartículas Fe_3O_4@Citrate, pese a ser obtenidas por el método solvotermal (similar a Fe_3O_4@CS), revelaron un SAR = 63.2 Wg^{-1} significativamente inferior, debido a un menor H_C, M_R y M_{MAX}. Estas diferencias significativas ponen de manifiesto la complejidad que la agregación de las nanopartículas induce en las condiciones dinámicas, dificultando el consenso que el papel de las interacciones dipolares desempeña en procesos de hipertermia magnética y sugiriendo la profundización en las investigaciones de estas nanopartículas como sistemas modelo.

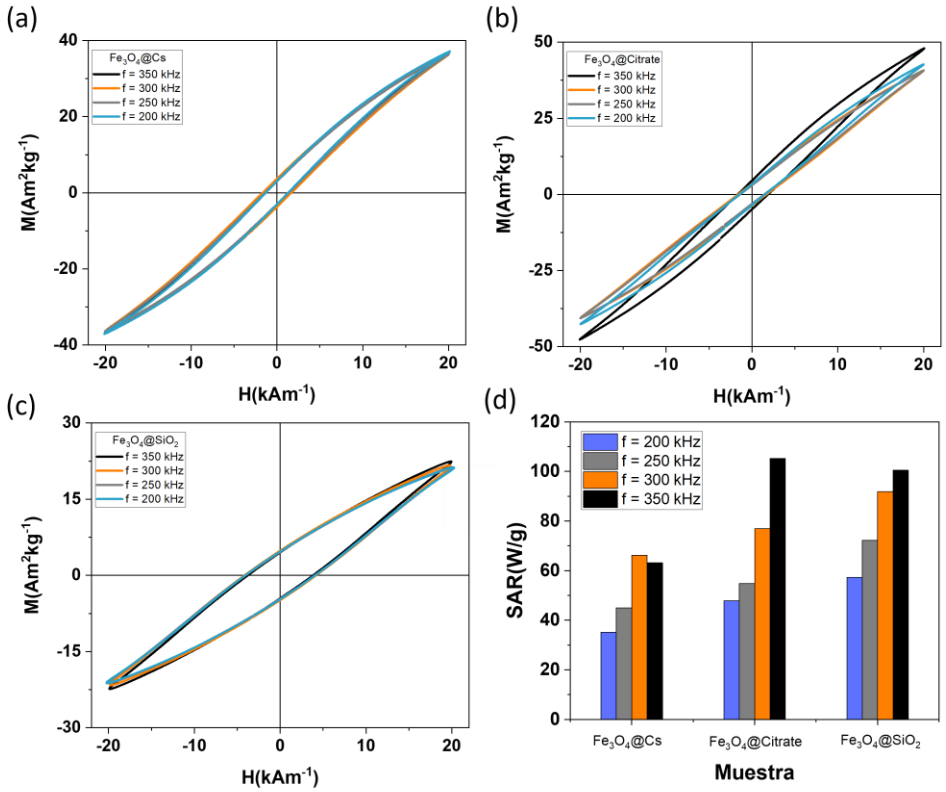

Figura 4.12. Ciclos de histéresis en condiciones AC, H_{AC} = 20 kAm^{-1} y cuatro frecuencias, 350 (negro), 300 (naranja), 250 (gris) y 200 (azul) kHz a temperatura ambiente para nanopartículas con estructura multinúcleo: **(a)** Fe_3O_4@CS, **(b)** Fe_3O_4@Citrato y **(c)** Fe_3O_4@SiO_2. **(d)** Valores SAR obtenidos de los ciclos de histéresis. [Esta figura pertenece a la Publicación 3 en el Capítulo 8. Fuente: Elaboración propia].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Para corroborar la validez de las nanopartículas como nanocalentadores se realizaron medidas de hipertermia magnética en un equipo comercial (Magnetherm) equipado con una fibra óptica, H_{AC} = 20 kAm^{-1} y cuatro frecuencias, f = 605, 428, 252 y 168 kHz. Para ello, se empleó un volumen de V = 400 μL de nanopartículas dispersas en agua a una concentración de C = 5 mg mL^{-1}. Los incrementos de temperatura, ΔT, obtenidos durante la aplicación del campo magnético, se observan en la Figura 12 de la Publicación 3 en el Capítulo 8, cuyos valores se compilaron en la Tabla 4.2 a una frecuencia de f = 605 kHz. Los ΔT obtenidos de ΔT = 16.54, 27.24 y 24.37 ºC, desde T ambiente, para las nanopartículas de Fe_3O_4@CS, Fe_3O_4@Citrate y Fe_3O_4@SiO_2, respectivamente, demostraron alcanzar temperaturas válidas para la aplicación de las nanopartículas en hipertermia magnética (T = 42-45ºC)[163]. Mediante la Ec. (1.23), se obtuvieron los valores de SAR, compilados en la Tabla 4.2 a una frecuencia de f = 605 kHz, a partir de las curvas de ΔT. La tendencia obtenida es similar a la obtenida mediante la respuesta dinámica de las nanopartículas, siendo las nanopartículas de Fe_3O_4@Citrate y Fe_3O_4@SiO_2 las que presentan un mayor valor (SAR ≈ 34 Wg^{-1}), frente a las nanopartículas de Fe_3O_4@CS. Sin embargo, estos valores son significativamente inferiores a los obtenidos mediante los ciclos de histéresis. Siendo las posibles razones el uso de volúmenes más elevados y las condiciones de medida, no adiabáticas, con mayores pérdidas por difusión de calor.

Tabla 4.2. Valores de H_C, M_R, M_{MAX} y SAR_{AC} obtenidos mediante magnetometría AC bajo la aplicación de H_{AC} = 20 kAm-1 a f = 350 kHz; y valores de SAR_{MH} y ΔT obtenidos en procesos de hipertermia magnética bajo la aplicación de H_{AC} = 20 kAm^{-1} y f = 605 kHz durante 10 min.

Muestra	**$H_{C\text{-}AC}$ (kAm^{-1})**	**$M_{R\text{-}AC}$ (Am^2kg^{-1})**	**$M_{Max\text{-}AC}$ (Am^2kg^{-1})**	**Área ($mJkg^{-1}$)**	**SAR_{AC} (Wg^{-1})**	**SAR_{MH} (Wg^{-1})**	**ΔT (ºC)**
Fe_3O_4@Cs	1.4	3.1	36.9	181.4	63.2	19.56	16.54
Fe_3O_4@Citrate	1.8	4.7	47.8	302.2	105.2	34.13	27.24
Fe_3O_4@SiO_2	3.8	4.5	22.4	288.5	100.5	34.55	24.37

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

5 CONCLUSIONES/CONCLUSIONS

El trabajo desarrollado en esta Tesis Doctoral se centró en el desarrollo de materiales magnéticos nanoestructurados, con parámetros diseñados a medida, para ser utilizados como sistemas modelo en la evaluación del efecto de las interacciones magnéticas y su influencia en diversas aplicaciones.

En primer lugar, el diseño de nanomateriales magnéticos basados en nanopartículas huecas de óxido de Fe, a partir de nanopartículas precursoras con estructura núcleo/cubierta, permitió profundizar en los mecanismos de generación de EB y su modulación mediante parámetros extrínsecos.

Mediante procedimientos sintéticos basados en la descomposición térmica se obtuvieron, en primer lugar, nanopartículas con una estructura núcleo/cubierta de carácter hidrofóbico. El tamaño total, obtenido por micrografías TEM, reveló ser de d = 11.9 ± 0.9 nm, formado por un núcleo de Fe (d = 2.3 nm) y una cubierta de óxido de Fe (δ = 2.4 nm). Su estructura cristalina fue determinada mediante difracción de rayos X. Posteriormente, mediante un proceso oxidativo del núcleo de Fe, basado en el efecto Kirkendall, se sintetizaron nanopartículas huecas cuya fase, determinada por difracción de rayos X y espectroscopía Mössbauer, reveló ser óxido de Fe, principalmente Fe_3O_4. Debido a la oxidación del núcleo, el tamaño de estas nanopartículas aumentó, siendo d = 13.2 ± 0.7 nm, con un tamaño de la cubierta de δ = 3.7 nm.

Ambas nanopartículas de óxido de Fe poseen una M_S inferior a la M_S del material masivo (M_S = 92 emu g^{-1}), de acuerdo con lo esperable en sistemas de nanopartículas de tamaño reducido en las que la contribución de la capa magnética muerta reduce la magnetización efectiva. No obstante, las M_S obtenidas ($M_S \approx$ 40-50 emu g^{-1}) revelaron valores superiores en comparación con nanopartículas con características similares reportadas en la literatura. Se demostró la presencia de un efecto de EB intrínseco en ambas nanopartículas, en un rango de H_{FC} amplio (H_{FC} = [0.1, 50] kOe), a diferencia de los ciclos menores reportados en la literatura. La determinación del número de espines superficiales con una presencia del 23 y 26 %, en las nanopartículas núcleo/cubierta y huecas, respectivamente, permitió establecer su influencia en la generación de EB. Por otro lado, se estudió la dependencia del número de espines congelados con factores externos tales como H_{FC} y la temperatura. Se observó, además, que la dependencia de H_{EB} con el campo de enfriamiento, H_{FC}, no sigue una relación lineal, sino que presenta un máximo ($H_{EB} \approx$ 400-500 Oe) para H_{FC} pequeños ($H_{FC} \sim$ 5 Oe).

La suma de estas propiedades, M_S moderada, EB intrínseco y H_{EB} modulable con H_{FC}, es de interés para aplicaciones tecnológicas, especialmente en las basadas en magnetorresistencia gigante.

En segundo lugar, se llevó a cabo una corrección de la interacción dipolar para la determinación de K_{eff} de forma experimental. Para ello se desarrolló un sistema modelo de nanopartículas con núcleos de óxidos de Fe (d = 8.1, 10.2 y 15.3 nm) recubiertas con capas de SiO_2 no magnéticas con diferentes espesores.

La coprecipitación y la descomposición térmica fueron los procedimientos sintéticos que permitieron la obtención de los núcleos de óxido de Fe. La caracterización morfológica y estructural demostró una buena cristalinidad y una morfología esférica. Específicamente, debido a las temperaturas más elevadas empleadas en el método de la descomposición térmica, se observó una mejor cristalinidad y una distribución de tamaños más estrecha en el núcleo magnético de d = 15.3 nm, en comparación con los núcleos de d = 8.1 nm y d = 10.2 nm, sintetizados mediante el método de la coprecipitación. La presencia de ácido oleico en el procedimiento sintético conlleva que la naturaleza de las nanopartículas sea de carácter

USC DE COMPOSTELA

hidrofóbico y, por ello, el método de la microemulsión permitió el recubrimiento de los núcleos magnéticos con cubiertas de SiO_2. La variación de los reactivos empleados, específicamente el TEOS y el NH_4OH, permitió diseñar cubiertas de SiO_2 con espesor variable en los tres núcleos magnéticos, desde espesores significativamente pequeños ($\delta \approx 2$ nm) hasta espesores grandes ($\delta \approx 14$ nm). A partir de las micrografías TEM se demostró el correcto recubrimiento de los núcleos de Fe y la morfología esférica de las cubiertas de SiO_2.

Estos recubrimientos permitieron el diseño de sistemas con una reducción controlada de los efectos de interacción, siendo posible distinguir su contribución en la determinación de las propiedades magnéticas. Esta reducción de las interacciones se demostró mediante medidas de magnetometría, con especial intereses en los gráficos de Henkel, pero también mediante protocolos ZFC-FC. En una primera aproximación, se determinó K_{eff} mediante la T_B obtenida por magnetometría DC y AC, considerando el enfoque para sistemas libres de interacciones ($\Delta E = E_{an}$), como se emplea típicamente para la determinación de K_{eff} en otros trabajos de investigación en sistemas con cubiertas de SiO_2 grandes. En este caso, se obtuvieron los valores de $K_{eff\text{-}DC}$ y $K_{eff\text{-}AC}$ para las nanopartículas con la cubierta de SiO_2 mayor, con valores de $K_{eff\text{-}DC}$ = 66.6, 40.2, y 30.2 kJ m^{-3} y $K_{eff\text{-}AC}$ = 57.6, 29.9, y 16.9 kJ m^{-3}, para los núcleos magnéticos de d = 8.1, 10.2 y 15.3 nm, respectivamente. A su vez, el aumento de K_{eff} a medida que se disminuye el grosor de SiO_2 permitió demostrar la gran influencia de la interacción dipolar magnética. Este hecho puso de manifiesto la necesidad de desacoplar la energía de interacción dipolar de la energía de anisotropía, para determinar con precisión K_{eff}. Por lo tanto, empleando medidas de magnetometría AC con campos extremadamente reducidos, para minimizar la contribución Zeeman, y añadiendo un término de energía de interacción dipolar magnética de campo medio (E_D), se comprobó experimentalmente su relación con la distancia interpartícula (d_{ij}) y se pudo desacoplar de ΔE. Mediante este método se obtuvo K_{eff} desacoplada de los efectos de interacción, revelando valores de K_{eff} = 42.62, 23.17 y 11.74 kJ m^{-3} para los núcleos magnéticos con tamaños de d = 8.1, 10.2 y 15.3 nm, respectivamente, siendo inferiores a los obtenidos mediante los métodos convencionales.

Finalmente, se estudiaron nanomateriales complejos con respuesta óptica y magnética y diferentes configuraciones del núcleo (un solo núcleo o múltiples núcleos) como nanosondas en bioimagen y nanocalentadores en hipertermia magnética.

Por un lado, se desarrollaron nanopartículas con estructuras mononúcleo, funcionalizadas con agentes fluorescentes con emisiones a diferentes longitudes de onda (PDA, FITC y RITC). El procedimiento de la coprecipitación permitió el desarrollo de nanopartículas de Fe_3O_4@PDA con carácter hidrofílico, revelando tener un tamaño de d = 14.90 nm. Mientras que el método de la coprecipitación y la descomposición térmica permitieron desarrollar núcleos magnéticos de Fe_3O_4 hidrofóbicos, con cubiertas de OA, que fueron posteriormente transferidos a medios acuosos mediante el método de la microemulsión. Esto permitió la síntesis de sistemas de nanopartículas con cubiertas de SiO_2 y agentes fluorescentes RITC y FITC con tamaños de d = 22.50 nm y d = 40.09 nm, respectivamente.

Por otro lado, se diseñaron nanopartículas multinúcleo, basadas en la agrupación de núcleos magnéticos, como sistemas optimizados para un enfoque de emisión de calor en la nanoescala. Para ello el método solvotermal permitió la obtención de dos sistemas de nanopartículas de óxido de Fe funcionalizadas con quitosano (Fe_3O_4@CS) y citrato (Fe_3O_4@Citrate) con un tamaño de d = 178.44 nm y d = 145.96 nm, respectivamente. Las micrografías TEM demostraron la formación de estas estructuras a partir de núcleos magnéticos de un tamaño menor. De forma diferente, con un menor coste energético, el método de Stöber permitió agrupar nanopartículas de Fe_3O_4@PEG, sintetizadas previamente mediante el método de la coprecipitación, en estructuras multinúcleo, empleando cubiertas de SiO_2. Estas nanopartículas

poseen un tamaño de d = 197.27 nm y las micrografías TEM revelaron una correcta agrupación de multitud de núcleos de Fe_3O_4@PEG en una cubierta de SiO_2, mostrando una estructura núcleo/cubierta de morfología esférica.

Debido a la variación de los parámetros de diseño, las propiedades magnéticas revelaron comportamientos diferentes. En general, se observó un comportamiento superparamagnético (T_B < 300 K) en las nanopartículas mononúcleo. Sin embargo, en las nanopartículas con estructura multinúcleo este comportamiento no se observó (T_B > 300 K), asociándose a la contribución de las interacciones dipolares en ΔE. Además, la M_S obtenida mediante los ciclos de histéresis fue similar en las diferentes nanopartículas y propia de las síntesis empleadas, con la excepción de las nanopartículas de Fe_3O_4@SiO_2-FITC (M_S = 50 $emug^{-1}$). Esta reducción de M_S fue asociada al oleato de Fe empleado en el procedimiento sintético.

Las propiedades fluorescentes de las nanopartículas permitieron su seguimiento tras ser transfectadas en células HeLa a través de técnicas de microscopía confocal que, junto con las propiedades magnéticas presentes, demostraron su aplicación como sistemas de guiado y aislamiento magnético de células. Por otro lado, la eficiencia de las nanopartículas multinúcleo en procesos de hipertermia se llevó a cabo mediante la investigación de las propiedades magnéticas a través de la respuesta dinámica y mediante la aplicación de campos magnéticos alternos en equipamientos de calorimetría. En este caso, se observó que la eficiencia de calentamiento varía notablemente, utilizando el mismo método de síntesis, el solvotermal, pero variando los agentes reactivos (citrato y CS) así como la temperatura y el tiempo de síntesis, obteniéndose valores de SAR de hasta SAR = 100 Wg^{-1}. Por otro lado, se demostró que el método Stöber puede ser utilizado para la agrupación de nanopartículas como método de síntesis con menor coste energético que el método solvotérmico y con eficiencias de calentamiento similares. Específicamente, los ΔT obtenidos en procesos de hipertermia magnética con condiciones de H_{AC} = 20 kAm^{-1} y f = 605 kHz durante 10 min demostraron la validez de las nanopartículas para emplearse como agentes terapéuticos: ΔT = 16.54 ºC (Fe_3O_4@CS), ΔT = 27.24 ºC (Fe_3O_4@Citrate) y ΔT = 24.37 ºC (Fe_3O_4@SiO_2).

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

The work developed in this Doctoral Thesis focused on the development of magnetic nanostructured materials with custom designed parameters to be used as model systems to study the effect of magnetic interactions and their influence on various applications.

Firstly, the design of magnetic nanomaterials based on hollow Fe oxide nanoparticles, from precursor nanoparticles with a core/shell structure, allowed us to delve deeper into the mechanisms of EB generation and its modulation through extrinsic parameters.

Via synthetic procedures based on thermal decomposition, nanoparticles with a hydrophobic core/shell structure were first obtained. The total size, obtained by TEM micrographs, revealed to be d = 11.9 ± 0.9 nm, formed by an Fe core (d = 2.3 nm) and an Fe oxide shell (δ = 2.4 nm). The crystal structure was determined by X-ray diffraction. Subsequently, by an oxidative process of the Fe core, based on the Kirkendall effect, hollow nanoparticles were synthesized whose phase, determined by X-ray diffraction and Mössbauer spectroscopy, revealed to be Fe oxide, mainly Fe_3O_4. Due to core oxidation, the size of these nanoparticles increased, being d = 13.2 ± 0.7 nm, with a shell size of δ = 3.7 nm.

Both Fe oxide nanoparticles have M_S lower than the M_S of the massive material (M_S=92 emu g^{-1}), as expected in nanoparticles of reduced size in which the contribution of the dead magnetic layer reduces the effective magnification. However, the M_S obtained ($M_S \approx$ 40-50 emu g^{-1}) revealed superior values compared to nanoparticles with similar characteristics reported in the literature. The presence of an intrinsic EB effect was demonstrated in both nanoparticles, in a wide H_{FC} range (H_{FC} = [0.1, 50] kOe), unlike the minor loops reported in the literature. The determination of the number of surface spins with a presence of 23 and 26% in core/shell and hollow nanoparticles, respectively, allowed us to establish their influence on the generation of EB. On the other hand, the dependence of the number of frozen spins on external factors such as H_{FC} and temperature was studied. It was also observed that the dependence of H_{EB} with H_{FC} does not follow a linear relationship, but rather presents a maximum ($H_{EB} \approx$ 400-500 Oe) for small H_{FC} (H_{FC} ~5 (Oe)).

The sum of these properties, moderate saturation, intrinsic EB and H_{FC}-modular H_{EB}, is of interest for technological applications, especially those based on giant magnetoresistance.

Secondly, a correction of the dipolar interaction for the determination of K_{eff} was carried out experimentally using a model system of nanoparticles with Fe oxide cores (8.1, 10.2 and 15.3 nm) coated with non-magnetic SiO_2 layers with different thicknesses.

Coprecipitation and thermal decomposition were the synthetic procedures that allowed obtaining Fe oxide cores. The morphological and structural characterization showed a good crystallinity and a spherical morphology. Specifically, due to the higher temperatures used in the thermal decomposition method, a better crystallinity and a narrower size distribution were observed in the magnetic core of d = 15.3 nm, compared to the cores of d = 8.1 nm and d = 10.2 nm, synthesized by coprecipitation. The presence of oleic acid in the synthetic procedure entails that the nature of the nanoparticles is hydrophobic and, therefore, the microemulsion method allowed the coating of the magnetic cores with SiO_2 shells. The variation of the reagents employed, specifically TEOS and NH_4OH, allowed the design of SiO_2 coatings with varying thickness on the three magnetic cores, from significantly small thicknesses ($\delta \approx$ 2 nm) to large thicknesses ($\delta \approx$ 14 nm). From TEM micrographs, the correct coating of the Fe cores and the spherical morphology of the SiO_2 shells were demonstrated.

These coatings allowed the design of systems with a controlled reduction of interaction effects, making it possible to distinguish their contribution in determining magnetic properties. To this end, this reduction in interactions was demonstrated through magnetometry measurements, with special interest in the Henkel plots, but also via ZFC-FC protocols. In a first approximation, K_{eff} was determined using the blocking temperature obtained by DC and

AC magnetometry, considering the approach for non-interacting systems ($\Delta E = E_{an}$), as is typically used for the determination of K_{eff} in other research works in systems with very thick SiO_2 shells. In this case, the $K_{eff\text{-}DC}$ and $K_{eff\text{-}AC}$ values were obtained for the nanoparticles with the larger SiO_2 shell, with values of $K_{eff\text{-}DC}$ = 66.6, 40.2, and 30.2 kJ m^{-3} and $K_{eff\text{-}AC}$ = 57.6, 29.9, and 16.9 kJm^{-3}, for the magnetic cores of d = 8.1, 10.2 and 15.3 nm, respectively. In turn, the increase of K_{eff} as the thickness of SiO_2 decreased allowed to demonstrate the great influence of the magnetic dipole interaction. This fact highlighted the need to decouple the dipole interaction energy from the anisotropy energy, to accurately determine K_{eff}. Therefore, based on AC magnetometry measurements with extremely small fields, to minimize the Zeeman contribution, adding a mean field magnetic dipole interaction energy term (E_D), its relationship with the interparticle distance (d_{ij}) and could be decoupled from ΔE. Using this method, K_{eff} was obtained uncoupled from the interaction effects, revealing values of K_{eff} = 42.62, 23.17 and 11.74 kJ m^{-3} for the magnetic cores with sizes of d = 8.1, 10.2 and 15.3 nm, respectively, being lower than those obtained by conventional methods.

Finally, the capabilities of the nanoparticles in biomedical applications as fluorescent imaging agents and as therapeutic agents using magnetic hyperthermia were investigated. Thus, on the one hand, nanoparticles with single-core structures were developed, functionalized with fluorescent agents with emissions at different wavelengths (PDA, FITC and RITC).

The coprecipitation procedure allowed the development of Fe_3O_4@PDA nanoparticles with hydrophilic character, revealing to have a size of d = 14.90 nm, obtained by TEM micrographs. The coprecipitation method and thermal decomposition allowed the development of hydrophobic Fe_3O_4 magnetic cores, with OA shells, which were subsequently transferred to aqueous media by the microemulsion method. This allowed the synthesis of nanoparticle systems with SiO_2 shells and RITC and FITC fluorescent agents with sizes of d = 22.50 nm and d = 40.09 nm, respectively.

On the other hand, multicore nanoparticles were designed, based on the grouping of magnetic cores, as optimized systems for a nanoscale heat emission approach. For this purpose, the solvothermal method allowed obtaining two systems of Fe oxide nanoparticles functionalized with chitosan (Fe_3O_4@CS) and citrate (Fe_3O_4@Citrate) with a size of d = 178.44 nm and d = 145.96 nm, respectively. TEM micrographs demonstrated the formation of these structures from magnetic cores of a smaller size. In a different way, with a lower energy cost, the Stöber method allowed clustering Fe_3O_4@PEG nanoparticles previously synthesized by the coprecipitation method into multicore structures, using SiO_2 shells. These nanoparticles have a size of d = 197.27 nm and TEM micrographs revealed a correct clustering of a multitude of Fe_3O_4@PEG cores on a SiO_2 shell, showing a core/shell structure of spherical morphology.

Due to the variation of design parameters, the magnetic properties revealed different behaviors. In general, superparamagnetic behavior (T_B < 300 K) was observed in single-core nanoparticles. However, in nanoparticles with multicore structure this behavior was not observed (T_B > 300 K), associating to the contribution of dipolar interactions at ΔE. Moreover, the M_S obtained by hysteresis loops was similar in the different nanoparticles and proper of the syntheses used, except for Fe_3O_4@SiO_2-FITC nanoparticles (M_S = 50 $emug^{-1}$). This M_S reduction was associated with the Fe oleate used in the synthetic procedure.

The fluorescent properties of the nanoparticles allowed the monitoring of the nanoparticles after being transfected into HeLa cells through confocal microscopy techniques that, together with the magnetic properties present, demonstrated their application as cell guidance and magnetic isolation systems. On the other hand, the efficiency of multicore nanoparticles in hyperthermia processes was carried out by investigating the magnetic properties through dynamic response and by applying alternating magnetic fields in calorimetry equipment. In this

case, it was observed that the heating efficiency varies significantly, using the same synthesis method, the solvothermal, but varying the reactive agents (citrate and CS) as well as the temperature and time, obtaining SAR values of up to SAR =100 Wg^{-1}. On the other hand, it was demonstrated that the Stöber method can be used for the grouping of nanoparticles as a synthesis method with lower energy cost than the solvothermal method and with similar heating efficiencies. Specifically, the ΔT obtained in magnetic hyperthermia processes with conditions of H_{AC} = 20 kAm^{-1} and f = 605 kHz for 10 min demonstrated the validity of the nanoparticles to be used as therapeutic agents: ΔT = 16.54 ºC (Fe_3O_4@CS), ΔT = 27.24 ºC (Fe_3O_4@Citrate) and ΔT = 24.37 ºC (Fe_3O_4@SiO_2).

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

6 PUBLICACIÓN 1

Significant Surface Spin Effects and Exchange Bias in Iron Oxide-Based Hollow Magnetic Nanoparticles

Pelayo García Acevedo[1], Manuel A. González Gómez[1], Ángela Arnosa Prieto[1], Jose S. Garitaonandia[2], Yolanda Piñeiro[1], José Rivas[1]

Nanomaterials 2022, 12(3), 456

DOI: https://doi.org/10.3390/nano12030456

https://www.mdpi.com/2079-4991/12/3/456

Afiliaciones:

[1] NANOMAG Laboratory, Applied Physics Department, iMATUS Materials Institute, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain;

[2] Faculty of Science and Technology, University of the Basque Country (UPV/EHU), 48940 Leioa, Spain;

Índices de calidad de la publicación:
Journal: Nanomaterials
ISSN: 2079-4991
Publisher: MDPI
Impact Factor (Journal Citation Reports (JCR)): 5.3 (2022)
Category: Physics, Applied (39/160), Q1 (D3)

Contribution - Pelayo García Acevedo: Conceptualization, writing, investigation and development

© 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/ 4.0/).

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

7 PUBLICACIÓN 2

Role of Dipolar Interactions on the Determination of the Effective Magnetic Anisotropy in Iron Oxide Nanoparticles

Pelayo García-Acevedo, Manuel A. González-Gómez, Ángela Arnosa-Prieto, Lisandra de Castro-Alves, Yolanda Piñeiro, José Rivas

Adv. Sci. 2023, 10, 2203397

DOI: https://doi.org/10.1002/advs.202203397

https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/advs.202203397

Afilicaciones:
NANOMAG Laboratory, Applied Physics Department, iMATUS Materials Institute, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain.

Índices de calidad de la publicación:
Journal: Advanced Science
ISSN: 2198-3844
Publisher: Wiley
Impact Factor (Journal Citation Reports (JCR)): 15.1 (2022)
Category: Materials Science, Multidisciplinary (24/344), Q1 (D1)

Contribution - Pelayo García Acevedo: Conceptualization, Writing, Investigation and development

© 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

8 PUBLICACIÓN 3

Fluorescent Single-core and Multi-core Nanoprobes as Cell Trackers and Magnetic Nanoheaters

Pelayo García Acevedo, Manuel A. González Gómez, Ángela Arnosa Prieto, Lisandra de Castro Alves, Román Seco Gudiña, Yolanda Piñeiro, José Rivas

Magnetochemistry **2022**, *8*(8), 83

DOI: https://doi.org/10.3390/magnetochemistry8080083

https://www.mdpi.com/2312-7481/8/8/83

Afilicaciones:
NANOMAG Laboratory, Applied Physics Department, iMATUS Materials Institute, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain.

Índices de calidad de la publicación:
Journal: Magnetochemistry
ISSN: 2312-7481
Publisher: MDPI
Impact Factor (Journal Citation Reports (JCR)): 2.7 (2022)
Category: Chemistry, Inorganic & Nuclear (19/42), Q2 (D5)

Contribution - Pelayo García Acevedo: Conceptualization, Writing, Investigation and development

© 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/ 4.0/).

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

9 REFERENCIAS

(1) Bayda, S.; Adeel, M.; Tuccinardi, T.; Cordani, M.; Rizzolio, F. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical-Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules* **2020**. https://doi.org/10.3390/molecules25010112.

(2) Feynman, R. P. Plenty of Room at the Bottom. **1959**

(3) Taniguchi, N. On the Basic Concept of 'Nano-Technology'. Proc. ICPE; Tokyo, Part II, Japan Society of Precision Engineering, 1974. "'Nano-technology" mainly consists of the processing of separation, consolidation, and deformation of materials by one atom or one molecule.

(4) Stueber, D. D.; Villanova, J.; Aponte, I.; Xiao, Z.; Colvin, V. L. Magnetic Nanoparticles in Biology and Medicine: Past, Present, and Future Trends. *Pharmaceutics* **2021**. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070943.

(5) Langevin, P. Sur La Théorie Du Magnétisme. *J. Phys. Theor. Appl* **1905**, *4* (1), 678–693. https://doi.org/10.1051/jphystap:019050040067800ï.

(6) Weiss, P. L'hypothèse Du Champ Moléculaire et La Propriété Ferromagnétique. *Journal de Physique Théorique et Appliquée* **1907**, *6* (1), 661–690. https://doi.org/10.1051/jphystap:019070060066100.

(7) Néel, L. Propriétés Magnétiques Des Ferrites: Ferrimagnétisme et Antiferromagnétisme; *Ann Phys* **1948**, *12* (3). https://doi.org/10.1051/anphys/194812030137ï.

(8) Morrish, A.H. The Physical Principles of Magnetism. *Wiley-IEEE Press* **2001**. http://dx.doi.org/10.1109/9780470546581

(9) Dormann, J.L., Fiorani, D. and Tronc, E. Magnetic Relaxation in Fine-Particle Systems. In Advances in Chemical Physics **1997** (*eds I. Prigogine and S.A. Rice*). https://doi.org/10.1002/9780470141571.ch4

(10) Papaefthymiou, G. C. Nanoparticle Magnetism. *Nano Today* **2009**, 438–447. https://doi.org/10.1016/j.nantod.2009.08.006.

(11) Chris Binns. Nanomagnetism: Fundamentals and Applications. *Elsevier* **2014**

(12) Cullity, B. D.; Graham, C. D. Introduction to Magnetic Materials (Second Edition). *Wiley-IEEE Press* **2008**. DOI:10.1002/9780470386323

(13) Stoner, E. C., Wohlfarth, E. P. A Mechanism of Magnetic Hysteresis in Heterogeneous Alloys. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences* **1948**, 240, 599–642**.** doi:10.1098/rsta.1948.0007

(14) Luborsky, F. E. Development of Elongated Particle Magnets. *J Appl Phys* **1961**, *32* (3). https://doi.org/10.1063/1.2000392.

(15) Akbarzadeh, A.; Samiei, M.; Davaran, S. Magnetic Nanoparticles: Preparation, Physical Properties, and Applications in Biomedicine. *Nanoscale Res Lett* **2012**, *7*. https://doi.org/10.1186/1556-276X-7-144.

(16) Néel L. Théorie du traînage magnétique des ferromagnétiques en grains fins avec application aux terres cuites, *Annales de Géophysique* **1949**, 5, 99-136.

(17) Rivas Rojas, P. C.; Tancredi, P.; Londoño-Calderón, C. L.; Moscoso Londoño, O.; Socolovsky, L. M. Comparison of the Anisotropy Energy Obtained from Temperature Dependent AC and DC Magnetometry in Iron Oxide Nanoparticles (IONPs) with Controlled Dipolar Interactions. *J Magn Magn Mater* **2022**, *547*. https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2021.168790.

(18) Concas, G.; Congiu, F.; Muscas, G.; Peddis, D. Determination of Blocking Temperature in Magnetization and Mössbauer Time Scale: A Functional Form Approach. *Journal of Physical Chemistry C* **2017**, *121* (30), 16541–16548. https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b01748.

(19) Bruvera, I. J.; Mendoza Zélis, P.; Pilar Calatayud, M.; Goya, G. F.; Sánchez, F. H. Determination of the Blocking Temperature of Magnetic Nanoparticles: The Good, the Bad, and the Ugly. *J Appl Phys* **2015**, *118* (18). https://doi.org/10.1063/1.4935484.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(20) Dormann, J. L.; Bessais, L.; Fiorani, D. *A Dynamic Study of Small Interacting Particles: Superparamagnetic Model and Spin-Glass Laws*. *Journal of Physics C: Solid State Physics* **2015**, 21, DOI 10.1088/0022-3719/21/10/019.

(21) Dormann, J. L.; Fiorani, D.; Tronc, E. On the Models for Interparticle Interactions in Nanoparticle Assemblies: Comparison with Experimental Results. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **1999**, 202, 1. https://doi.org/10.1016/S0304-8853(98)00627-1.

(22) García-Otero, J.; Porto, M.; Rivas, J.; Bunde, A. Influence of Dipolar Interaction on Magnetic Properties of Ultrafine Ferromagnetic Particles. *Phys Rev Lett*. **2000**, 84. doi:10.1103/PhysRevLett.84.167.

(23) Mgrup, S.; Tronc, E. Superparamagnetic Relaxation of Weakly Interacting Particles. **Phys Rev Lett.** 1994, 72 (20). doi: 10.1103/PhysRevLett.72.3278.

(24) Hansen, M. F.; Mørup, S. Models for the Dynamics of Interacting Magnetic Nanoparticles; *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **1998**, 184, https://doi.org/10.1016/S0304-8853(97)01165-7.

(25) Sadat, M. E.; Bud'ko, S. L.; Ewing, R. C.; Xu, H.; Pauletti, G. M.; Mast, D. B.; Shi, D. Effect of Dipole Interactions on Blocking Temperature and Relaxation Dynamics of Superparamagnetic Iron-Oxide (Fe_3O_4) Nanoparticle Systems. *Materials* **2023**, *16* (2). https://doi.org/10.3390/ma16020496.

(26) Hergt, R.; Dutz, S.; Röder, M. Effects of Size Distribution on Hysteresis Losses of Magnetic Nanoparticles for Hyperthermia. *Journal of Physics Condensed Matter* **2008**, *20* (38). https://doi.org/10.1088/0953-8984/20/38/385214.

(27) Piñeiro, Y.; Gómez, M. G.; Alves, L. de C.; Prieto, A. A.; Acevedo, P. G.; Gudiña, R. S.; Puig, J.; Teijeiro, C.; Vilar, S. Y.; Rivas, J. Hybrid Nanostructured Magnetite Nanoparticles: From Bio-Detection and Theragnostics to Regenerative Medicine. *Magnetochemistry* **2020**. https://doi.org/10.3390/magnetochemistry6010004.

(28) Shaterabadi, Z.; Nabiyouni, G.; Goya, G. F.; Soleymani, M. The Effect of the Magnetically Dead Layer on the Magnetization and the Magnetic Anisotropy of the Dextran-Coated Magnetite Nanoparticles. *Appl Phys A Mater Sci Process* **2022**, *128* (8). https://doi.org/10.1007/s00339-022-05675-x.

(29) Batlle, X.; Moya, C.; Escoda-Torroella, M.; Iglesias, Ò.; Fraile Rodríguez, A.; Labarta, A. Magnetic Nanoparticles: From the Nanostructure to the Physical Properties. *J Magn Magn Mater* **2022**, *543*. https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2021.168594.

(30) Jeon, M.; Halbert, M. V.; Stephen, Z. R.; Zhang, M. Iron Oxide Nanoparticles as T1 Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging: Fundamentals, Challenges, Applications, and Prospectives. *Advanced Materials* **2021**. https://doi.org/10.1002/adma.201906539.

(31) Mohtasebzadeh, A. R.; Ye, L.; Crawford, T. M. Magnetic Nanoparticle Arrays Self-Assembled on Perpendicular Magnetic Recording Media. *Int J Mol Sci* **2015**, *16* (8), 19769–19779. https://doi.org/10.3390/ijms160819769.

(32) Chee, H. L.; Gan, C. R. R.; Ng, M.; Low, L.; Fernig, D. G.; Bhakoo, K. K.; Paramelle, D. Biocompatible Peptide-Coated Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for in Vivo Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. *ACS Nano* **2018**, *12* (7), 6480–6491. https://doi.org/10.1021/acsnano.7b07572.

(33) Xiao, L.; Li, J.; Brougham, D. F.; Fox, E. K.; Feliu, N.; Bushmelev, A.; Schmidt, A.; Mertens, N.; Kiessling, F.; Valldor, M.; Fadeel, B.; Mathur, S. Water-Soluble Superparamagnetic Magnetite Nanoparticles with Biocompatible Coating for Enhanced Magnetic Resonance Imaging. *ACS Nano* **2011**, *5* (8), 6315–6324. https://doi.org/10.1021/nn201348s.

(34) Zhang, Q.; Yang, X.; Guan, J. Applications of Magnetic Nanomaterials in Heterogeneous Catalysis. *ACS Appl Nano Mater* **2019**, *2* (8), 4681–4697. https://doi.org/10.1021/acsanm.9b00976.

(35) Neeraj, G.; Krishnan, S.; Senthil Kumar, P.; Shriaishvarya, K. R.; Vinoth Kumar, V. Performance Study on Sequestration of Copper Ions from Contaminated Water Using Newly Synthesized High Effective Chitosan Coated Magnetic Nanoparticles. *J Mol Liq* **2016**, *214*, 335–346. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.11.051.

(36) Parkinson, G. S. Iron Oxide Surfaces. *Surface Science Reports* **2016**, pp 272–365. https://doi.org/10.1016/j.surfrep.2016.02.001.

(37) Can, M. M.; Coşkun, M.; Firat, T. A Comparative Study of Nanosized Iron Oxide Particles; Magnetite (Fe_3O_4), Maghemite (γ-Fe_2O_3) and Hematite (α-Fe_2O_3), Using Ferromagnetic Resonance. *J Alloys Compd* **2012**, *542*, 241–247. https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2012.07.091.

(38) Joos, A.; Rümenapp, C.; Wagner, F. E.; Gleich, B. Characterisation of Iron Oxide Nanoparticles by Mössbauer Spectroscopy at Ambient Temperature. *J Magn Magn Mater* **2016**, *399*, 123–129. https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2015.09.060.

(39) Shokrollahi, H. A Review of the Magnetic Properties, Synthesis Methods and Applications of Maghemite. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2017**. https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2016.11.033.

(40) Li, Q.; Kartikowati, C. W.; Horie, S.; Ogi, T.; Iwaki, T.; Okuyama, K. Correlation between Particle Size/Domain Structure and Magnetic Properties of Highly Crystalline Fe_3O_4 Nanoparticles. *Sci Rep* **2017**, *7* (1). https://doi.org/10.1038/s41598-017-09897-5.

(41) Sánchez, E. H.; Vasilakaki, M.; Lee, S. S.; Normile, P. S.; Andersson, M. S.; Mathieu, R.; López-Ortega, A.; Pichon, B. P.; Peddis, D.; Binns, C.; Nordblad, P.; Trohidou, K.; Nogués, J.; De Toro, J. A. Crossover From Individual to Collective Magnetism in Dense Nanoparticle Systems: Local Anisotropy Versus Dipolar Interactions. *Small* **2022**, *18* (28). https://doi.org/10.1002/smll.202106762.

(42) Sánchez, E. H.; Vasilakaki, M.; Lee, S. S.; Normile, P. S.; Muscas, G.; Murgia, M.; Andersson, M. S.; Singh, G.; Mathieu, R.; Nordblad, P.; Ricci, P. C.; Peddis, D.; Trohidou, K. N.; Nogués, J.; De Toro, J. A. Simultaneous Individual and Dipolar Collective Properties in Binary Assemblies of Magnetic Nanoparticles. *Chemistry of Materials* **2020**, *32* (3), 969–981. https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.9b03268.

(43) Wallyn, J.; Anton, N.; Vandamme, T. F. Synthesis, Principles, and Properties of Magnetite Nanoparticles for in Vivo Imaging Applications—A Review. *Pharmaceutics* **2019**. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11110601.

(44) Kudr, J.; Haddad, Y.; Richtera, L.; Heger, Z.; Cernak, M.; Adam, V.; Zitka, O. Magnetic Nanoparticles: From Design and Synthesis to Real World Applications. *Nanomaterials* **2017**. https://doi.org/10.3390/nano7090243.

(45) Ma, Z.; Mohapatra, J.; Wei, K.; Liu, J. P.; Sun, S. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Anisotropy, and Applications. *Chemical Reviews* **2023**, pp 3904–3943. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00860.

(46) Massart, R. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media, *IEEE Transactions on Magnetics* **1981**, 17, 2. doi: 10.1109/TMAG.1981.1061188.

(47) Arias, L. S.; Pessan, J. P.; Vieira, A. P. M.; De Lima, T. M. T.; Delbem, A. C. B.; Monteiro, D. R. Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: A Perspective on Synthesis, Drugs, Antimicrobial Activity, and Toxicity. *Antibiotics* **2018**. https://doi.org/10.3390/antibiotics7020046.

(48) Sun, S.; Zeng, H.; Robinson, D. B.; Raoux, S.; Rice, P. M.; Wang, S. X.; Li, G. Monodisperse MFe2O4 (M = Fe, Co, Mn) Nanoparticles. *J Am Chem Soc* **2004**, *126* (1), 273–279. https://doi.org/10.1021/ja0380852.

(49) Pardo, A.; Pelaz, B.; Gallo, J.; Bañobre-López, M.; Parak, W. J.; Barbosa, S.; Del Pino, P.; Taboada, P. Synthesis, Characterization, and Evaluation of Superparamagnetic Doped Ferrites as Potential Therapeutic Nanotools. *Chemistry of Materials* **2020**, *32* (6), 2220–2231. https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.9b04848.

(50) Bustamante-Torres, M.; Romero-Fierro, D.; Estrella-Nuñez, J.; Arcentales-Vera, B.; Chichande-Proaño, E.; Bucio, E.; José, S.; Yachay, P. Polymeric Composite of Magnetite Iron Oxide Nanoparticles and Their Application in Biomedicine: A Review. *Polymers* **2022**. https://doi.org/10.3390/polym.

(51) Wu, W.; Wu, Z.; Yu, T.; Jiang, C.; Kim, W. S. Recent Progress on Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Surface Functional Strategies and Biomedical Applications. *Science and Technology of Advanced Materials* **2015**. https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/2/023501.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(52) Premio Nobel en Física 2007. Enlace: https://www.nobelprize.org/prizes/physics/2007/summary/
(53) Acevedo, P. G.; González Gómez, M. A.; Prieto, Á. A.; Garitaonandia, J. S.; Piñeiro, Y.; Rivas, J. Significant Surface Spin Effects and Exchange Bias in Iron Oxide-Based Hollow Magnetic Nanoparticles. *Nanomaterials* **2022**, *12* (3). https://doi.org/10.3390/nano12030456.
(54) Skumryev, V., Stoyanov, S., Zhang, Y. et al. Beating the superparamagnetic limit with exchange bias. *Nature* **2003** 423, 850–853. https://doi.org/10.1038/nature01687
(55) Nogués, J.; Sort, J.; Langlais, V.; Skumryev, V.; Suriñach, S.; Muñoz, J. S.; Baró, M. D. Exchange Bias in Nanostructures. *Physics Reports* **2005**, pp 65–117. https://doi.org/10.1016/j.physrep.2005.08.004.
(56) Ong, Q. K.; Wei, A.; Lin, X. M. Exchange Bias in Fe/Fe_3O_4 Core-Shell Magnetic Nanoparticles Mediated by Frozen Interfacial Spins. *Phys Rev B Condens Matter Mater Phys* **2009**, *80* (13). https://doi.org/10.1103/PhysRevB.80.134418.
(57) Khurshid, H.; Phan, M. H.; Mukherjee, P.; Srikanth, H. Tuning Exchange Bias in Fe/γ-Fe_2O_3 Core-Shell Nanoparticles: Impacts of Interface and Surface Spins. *Appl Phys Lett* **2014**, *104* (7). https://doi.org/10.1063/1.4865904.
(58) Hwang, Y.; Angappane, S.; Park, J.; An, K.; Hyeon, T.; Park, J. G. Exchange Bias Behavior of Monodisperse Fe_3O_4/γ- Fe_2O_3 Core/Shell Nanoparticles. *Current Applied Physics* **2012**, *12* (3), 808–811. https://doi.org/10.1016/j.cap.2011.11.011.
(59) Schneider, V.; Reinholdt, A.; Kreibig, U.; Weirich, T.; Güntherodt, G.; Beschoten, B.; Tillmanns, A.; Krenn, H.; Rumpf, K.; Granitzer, P. Structural and Magnetic Properties of Ni/Ni Oxide- and Co/Co Oxide Core/Shell Nanoparticles and Their Possible Use for Ferrofluids. In *Zeitschrift fur Physikalische Chemie* **2006**, 220 https://doi.org/10.1524/zpch.2006.220.2.173.
(60) Goswami, S.; Gupta, P.; Nayak, S.; Bedanta, S.; Iglesias, Ò.; Chakraborty, M.; De, D. Dependence of Exchange Bias on Interparticle Interactions in Co/CoO Core/Shell Nanostructures. *Nanomaterials* **2022**, *12* (18). https://doi.org/10.3390/nano12183159.
(61) Panagiotopoulos, I.; Basina, G.; Alexandrakis, V.; Devlin, E.; Hadjipanayis, G.; Colak, L.; Niarchos, D.; Tzitzios, V. Synthesis and Exchange Bias in γ-Fe_2O_3/CoO and Reverse CoO/γ-Fe_2O_3 Binary Nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C* **2009**, *113* (33), 14609–14614. https://doi.org/10.1021/jp8085446.
(62) Phan, M. H.; Alonso, J.; Khurshid, H.; Lampen-Kelley, P.; Chandra, S.; Repa, K. S.; Nemati, Z.; Das, R.; Iglesias, Ó.; Srikanth, H. Exchange Bias Effects in Iron Oxide-Based Nanoparticle Systems. *Nanomaterials* **2016.** https://doi.org/10.3390/nano6110221.
(63) Kavich, D. W.; Dickerson, J. H.; Mahajan, S. V.; Hasan, S. A.; Park, J. H. Exchange Bias of Singly Inverted FeO/Fe_3O_4 Core-Shell Nanocrystals. *Phys Rev B Condens Matter Mater Phys* **2008**, *78* (17). https://doi.org/10.1103/PhysRevB.78.174414.
(64) Lak, A.; Kraken, M.; Ludwig, F.; Kornowski, A.; Eberbeck, D.; Sievers, S.; Litterst, F. J.; Weller, H.; Schilling, M. Size Dependent Structural and Magnetic Properties of FeO-Fe_3O_4 Nanoparticles. *Nanoscale* **2013**, *5* (24), 12286–12295. https://doi.org/10.1039/c3nr04562e.
(65) Ong, Q. K.; Wei, A.; Lin, X. M. Exchange Bias in Fe/ Fe3 O4 Core-Shell Magnetic Nanoparticles Mediated by Frozen Interfacial Spins. *Phys Rev B Condens Matter Mater Phys* **2009**, *80* (13). https://doi.org/10.1103/PhysRevB.80.134418.
(66) Khurshid, H.; Li, W.; Chandra, S.; Phan, M. H.; Hadjipanayis, G. C.; Mukherjee, P.; Srikanth, H. Mechanism and Controlled Growth of Shape and Size Variant Core/Shell FeO/Fe_3O_4 Nanoparticles. *Nanoscale* **2013**, *5* (17), 7942–7952. https://doi.org/10.1039/c3nr02596a.
(67) Sun, X.; Frey Huls, N.; Sigdel, A.; Sun, S. Tuning Exchange Bias in Core/Shell FeO/Fe_3O_4 Nanoparticles. *Nano Lett* **2012**, *12* (1), 246–251. https://doi.org/10.1021/nl2034514.
(68) Meiklejohn, H.; Bean, C. P. New Magnetic Anisotropy; *Phys. Rev*. **1957** 105. https://doi.org/10.1103/PhysRev.105.904
(69) Ong, Q. K.; Lin, X. M.; Wei, A. Role of Frozen Spins in the Exchange Anisotropy of Core-Shell Fe@Fe_3O_4 Nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115* (6), 2665–2672. https://doi.org/10.1021/jp110716g.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(70) Jaffari, G. H.; Ceylan, A.; Bui, H. P.; Beebe, T. P.; Ozcan, S.; Shah, S. I. Non-Equilibrium Cation Distribution and Enhanced Spin Disorder in Hollow $CoFe_2O_4$ Nanoparticles. *Journal of Physics Condensed Matter* **2012**, *24* (33). https://doi.org/10.1088/0953-8984/24/33/336004.

(71) Jaffari, G. H.; Ceylan, A.; Ni, C.; Shah, S. I. Enhancement of Surface Spin Disorder in Hollow $NiFe_2O_4$ Nanoparticles. *J Appl Phys* **2010**, *107* (1). https://doi.org/10.1063/1.3277041.

(72) Khurshid, H.; Li, W.; Phan, M. H.; Mukherjee, P.; Hadjipanayis, G. C.; Srikanth, H. Surface Spin Disorder and Exchange-Bias in Hollow Maghemite Nanoparticles. *Appl Phys Lett* **2012**, *101* (2). https://doi.org/10.1063/1.4733621.

(73) Sayed, F.; Labaye, Y.; Sayed Hassan, R.; El Haj Hassan, F.; Yaacoub, N.; Greneche, J. M. Size and Thickness Effect on Magnetic Structures of Maghemite Hollow Magnetic Nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research* **2016**, *18* (9). https://doi.org/10.1007/s11051-016-3584-x.

(74) Kachkachi, H.; Ezzir, A.; Nogués, M.; Tronc, E. Surface Effects in Nanoparticles: Application to Maghemite γ-Fe_2O_3. *Eur. Phys. J. B* **2000** Vol. 14. https://doi.org/10.1007/s100510051079

(75) Alivisatos, A. P.; Cabot, A.; Puntes, V. F.; Balcells, L.; Iglesias, Ò.; Labarta, A. Magnetic Domains and Surface Effects in Hollow Maghemite Nanoparticles. *Phys Rev B Condens Matter Mater Phys* **2009**, *79* (9). https://doi.org/10.1103/PhysRevB.79.094419.

(76) Nemati, Z.; Khurshid, H.; Alonso, J.; Phan, M. H.; Mukherjee, P.; Srikanth, H. From Core/Shell to Hollow Fe/γ-Fe_2O_3 Nanoparticles: Evolution of the Magnetic Behavior. *Nanotechnology* **2015**, *26* (40). https://doi.org/10.1088/0957-4484/26/40/405705.

(77) Sayed, F.; Yaacoub, N.; Labaye, Y.; Hassan, R. S.; Singh, G.; Kumar, P. A.; Greneche, J. M.; Mathieu, R.; Hadjipanayis, G. C.; Agostinelli, E.; Peddis, D. Surface Effects in Ultrathin Iron Oxide Hollow Nanoparticles: Exploring Magnetic Disorder at the Nanoscale. *Journal of Physical Chemistry C* **2018**, *122* (13), 7516–7524. https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b00300.

(78) Sengupta, S.; Balla, V. K. A Review on the Use of Magnetic Fields and Ultrasound for Non-Invasive Cancer Treatment. *Journal of Advanced Research* **2018**. https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.06.003.

(79) Chiarelli, P. A.; Revia, R. A.; Stephen, Z. R.; Wang, K.; Jeon, M.; Nelson, V.; Kievit, F. M.; Sham, J.; Ellenbogen, R. G.; Kiem, H. P.; Zhang, M. Nanoparticle Biokinetics in Mice and Nonhuman Primates. *ACS Nano* **2017**, *11* (9), 9514–9524. https://doi.org/10.1021/acsnano.7b05377.

(80) Gallo, J.; Long, N. J.; Aboagye, E. O. Magnetic Nanoparticles as Contrast Agents in the Diagnosis and Treatment of Cancer. *Chem Soc Rev* **2013**, *42* (19), 7816–7833. https://doi.org/10.1039/c3cs60149h.

(81) Lu, C.; Han, L.; Wang, J.; Wan, J.; Song, G.; Rao, J. Engineering of Magnetic Nanoparticles as Magnetic Particle Imaging Tracers. *Chemical Society Reviews* **2021**. https://doi.org/10.1039/d0cs00260g.

(82) Tietze, R.; Zaloga, J.; Unterweger, H.; Lyer, S.; Friedrich, R. P.; Janko, C.; Pöttler, M.; Dürr, S.; Alexiou, C. Magnetic Nanoparticle-Based Drug Delivery for Cancer Therapy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2015**. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.08.022.

(83) Périgo, E. A.; Hemery, G.; Sandre, O.; Ortega, D.; Garaio, E.; Plazaola, F.; Teran, F. J. Fundamentals and Advances in Magnetic Hyperthermia. *Applied Physics Reviews* **2015**. https://doi.org/10.1063/1.4935688.

(84) Bobo, D.; Robinson, K. J.; Islam, J.; Thurecht, K. J.; Corrie, S. R. Nanoparticle-Based Medicines: A Review of FDA-Approved Materials and Clinical Trials to Date. *Pharmaceutical Research*. **2016**, pp 2373–2387. https://doi.org/10.1007/s11095-016-1958-5.

(85) Glcmst, R. K.; Shorey, W. D.; Hanselman, R. C.; Pamotrr, J. C.; Taylor, C. B. Selective Inductive Heating of Lymph Nodes. *Ann Surg.* **1957**. doi: 10.1097/00000658-195710000-00007

(86) Johannsen, M.; Gneveckow, U.; Eckelt, L.; Feussner, A.; Waldöfner, N.; Scholz, R.; Deger, S.; Wust, P.; Loening, S. A.; Jordan, A. Clinical Hyperthermia of Prostate Cancer Using Magnetic Nanoparticles: Presentation of a New Interstitial Technique. *International Journal of Hyperthermia* **2005**, *21* (7), 637–647. https://doi.org/10.1080/02656730500158360.

(87) Johannsen, M.; Gneveckow, U.; Taymoorian, K.; Thiesen, B.; Waldöfner, N.; Scholz, R.; Jung, K.; Jordan, A.; Wust, P.; Loening, S. A. Morbidity and Quality of Life during Thermotherapy

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Using Magnetic Nanoparticles in Locally Recurrent Prostate Cancer: Results of a Prospective Phase I Trial. *International Journal of Hyperthermia* **2007**, *23* (3), 315–323. https://doi.org/10.1080/02656730601175479.

(88) Liu, X.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Zhu, W.; Li, G.; Ma, X.; Zhang, Y.; Chen, S.; Tiwari, S.; Shi, K.; Zhang, S.; Fan, H. M.; Zhao, Y. X.; Liang, X. J. Comprehensive Understanding of Magnetic Hyperthermia for Improving Antitumor Therapeutic Efficacy. *Theranostics* **2020**, *10* (8), 3793–3815. https://doi.org/10.7150/thno.40805.

(89) Cabrera, D.; Coene, A.; Leliaert, J.; Artés-Ibáñez, E. J.; Dupré, L.; Telling, N. D.; Teran, F. J. Dynamical Magnetic Response of Iron Oxide Nanoparticles Inside Live Cells. *ACS Nano* **2018**, *12* (3), 2741–2752. https://doi.org/10.1021/acsnano.7b08995.

(90) Rosensweig, R. E. Heating Magnetic Fluid with Alternating Magnetic Field. Journal of Magnetism and Magnetic Materials **2002**, 252. https://doi.org/10.1016/S0304-8853(02)00706-0

(91) Deatsch, A. E.; Evans, B. A. Heating Efficiency in Magnetic Nanoparticle Hyperthermia. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2014**, pp 163–172. https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2013.11.006.

(92) Lima, E.; De Biasi, E.; Zysler, R. D.; Vasquez Mansilla, M.; Mojica-Pisciotti, M. L.; Torres, T. E.; Calatayud, M. P.; Marquina, C.; Ricardo Ibarra, M.; Goya, G. F. Relaxation Time Diagram for Identifying Heat Generation Mechanisms in Magnetic Fluid Hyperthermia. *Journal of Nanoparticle Research* **2014**, *16* (12), 1–11. https://doi.org/10.1007/s11051-014-2791-6.

(93) Cabrera, D.; Yoshida, T.; Rincón-Domínguez, T.; Cuñado, J. L. F.; Salas, G.; Bollero, A.; Morales, M. del P.; Camarero, J.; Teran, F. J. Superparamagnetic-Blocked State Transition under Alternating Magnetic Fields: Towards Determining the Magnetic Anisotropy in Magnetic Suspensions. *Nanoscale* **2022**, *14* (24), 8789–8796. https://doi.org/10.1039/d2nr00808d.

(94) Di Corato, R.; Espinosa, A.; Lartigue, L.; Tharaud, M.; Chat, S.; Pellegrino, T.; Ménager, C.; Gazeau, F.; Wilhelm, C. Magnetic Hyperthermia Efficiency in the Cellular Environment Fordifferent Nanoparticle Designs. *Biomaterials* **2014**, *35* (24), 6400–6411. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.04.036.

(95) Cabrera, D.; Coene, A.; Leliaert, J.; Artés-Ibáñez, E. J.; Dupré, L.; Telling, N. D.; Teran, F. J. Dynamical Magnetic Response of Iron Oxide Nanoparticles Inside Live Cells. *ACS Nano* **2018**, *12* (3), 2741–2752. https://doi.org/10.1021/acsnano.7b08995.

(96) Soukup, D.; Moise, S.; Céspedes, E.; Dobson, J.; Telling, N. D. In Situ Measurement of Magnetization Relaxation of Internalized Nanoparticles in Live Cells. *ACS Nano* **2015**, *9* (1), 231–240. https://doi.org/10.1021/nn503888j.

(97) Obaidat, I. M.; Narayanaswamy, V.; Alaabed, S.; Sambasivam, S.; Muralee Gopi, C. V. V. Principles of Magnetic Hyperthermia: A Focus on Using Multifunctional Hybrid Magnetic Nanoparticles. *Magnetochemistry* **2019**. https://doi.org/10.3390/magnetochemistry5040067.

(98) Fabris, F.; Lima, E.; De Biasi, E.; Troiani, H. E.; Vásquez Mansilla, M.; Torres, T. E.; Fernández Pacheco, R.; Ibarra, M. R.; Goya, G. F.; Zysler, R. D.; Winkler, E. L. Controlling the Dominant Magnetic Relaxation Mechanisms for Magnetic Hyperthermia in Bimagnetic Core-Shell Nanoparticles. *Nanoscale* **2019**, *11* (7), 3164–3172. https://doi.org/10.1039/c8nr07834c.

(99) Fabris, F.; Lohr, J.; Lima, E.; De Almeida, A. A.; Troiani, H. E.; Rodríguez, L. M.; Vásquez Mansilla, M.; Aguirre, M. H.; Goya, G. F.; Rinaldi, D.; Ghirri, A.; Peddis, D.; Fiorani, D.; Zysler, R. D.; De Biasi, E.; Winkler, E. L. Adjusting the Néel Relaxation Time of Fe_3O_4/Zn XCo1-XFe_2O_4 core/Shell Nanoparticles for Optimal Heat Generation in Magnetic Hyperthermia. *Nanotechnology* **2020**, *32* (6). https://doi.org/10.1088/1361-6528/abc386.

(100) Kahmei, R. D. R.; Seal, P.; Borah, J. P. Tunable Heat Generation in Nickel-Substituted Zinc Ferrite Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia. *Nanoscale Adv* **2021**, *3* (18), 5339–5347. https://doi.org/10.1039/d1na00153a.

(101) Prado, Y.; Daffé, N.; Michel, A.; Georgelin, T.; Yaacoub, N.; Grenèche, J. M.; Choueikani, F.; Otero, E.; Ohresser, P.; Arrio, M. A.; Cartier-Dit-Moulin, C.; Sainctavit, P.; Fleury, B.; Dupuis, V.; Lisnard, L.; Fresnais, J. Enhancing the Magnetic Anisotropy of Maghemite Nanoparticles via the Surface Coordination of Molecular Complexes. *Nat Commun* **2015**, *6*. https://doi.org/10.1038/ncomms10139.

(102) Herrero de la Parte, B.; Rodrigo, I.; Gutiérrez-Basoa, J.; Correcher, S. I.; Medina, C. M.; Echevarría-Uraga, J. J.; Garcia, J. A.; Plazaola, F.; García-Alonso, I. Proposal of New Safety Limits for In Vivo Experiments of Magnetic Hyperthermia Antitumor Therapy. *Cancers* **2022**, *14* (13). https://doi.org/10.3390/cancers14133084.

(103) Atkinson, W. J.; Brezovich, I. A.; Chakraborty, D. P. Usable Frequencies in Hyperthermia with Thermal Seeds; IEEE Trans Biomed Eng. **1984**. doi: 10.1109/TBME.1984.325372. PMID: 6724612.

(104) Brezovich, I.A. Low frequency hyperthermia: capacitive and ferromagnetic thermoseed methods. *Med. Phys. Monogr*. **1988**, 6, 82–111.

(105) Hergt, R.; Dutz, S. Magnetic Particle Hyperthermia-Biophysical Limitations of a Visionary Tumour Therapy. *J Magn Magn Mater* **2007**, *311* https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2006.10.1156.

(106) Dössel, O.; Bohnert, J. Safety Considerations for Magnetic Fields of 10 mT to 100 mT Amplitude in the Frequency Range of 10 kHz to 100 kHz for Magnetic Particle Imaging. *Biomedizinische Technik* **2013**, *58* (6), 611–621. https://doi.org/10.1515/bmt-2013-0065.

(107) Mahmoudi, K.; Bouras, A.; Bozec, D.; Ivkov, R.; Hadjipanayis, C. Magnetic Hyperthermia Therapy for the Treatment of Glioblastoma: A Review of the Therapy's History, Efficacy and Application in Humans. *International Journal of Hyperthermia* **2018**, pp 1316–1328. https://doi.org/10.1080/02656736.2018.1430867.

(108) Natividad, E.; Castro, M.; Mediano, A. Adiabatic vs. Non-Adiabatic Determination of Specific Absorption Rate of Ferrofluids. *J Magn Magn Mater* **2009**, *321* (10), 1497–1500. https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2009.02.072.

(109) Liu, X. L.; Yang, Y.; Ng, C. T.; Zhao, L. Y.; Zhang, Y.; Bay, B. H.; Fan, H. M.; Ding, J. Magnetic Vortex Nanorings: A New Class of Hyperthermia Agent for Highly Efficient in Vivo Regression of Tumors. *Advanced Materials* **2015**, *27* (11), 1939–1944. https://doi.org/10.1002/adma.201405036.

(110) Rajan, A.; Sahu, N. K. Review on Magnetic Nanoparticle-Mediated Hyperthermia for Cancer Therapy. *Journal of Nanoparticle Research* **2020**. https://doi.org/10.1007/s11051-020-05045-9.

(111) Bakoglidis, K. D.; Simeonidis, K.; Sakellari, D.; Stefanou, G.; Angelakeris, M. Size-Dependent Mechanisms in AC Magnetic Hyperthermia Response of Iron-Oxide Nanoparticles. *IEEE Trans Magn* **2012**, *48* (4), 1320–1323. https://doi.org/10.1109/TMAG.2011.2173474.

(112) Guardia, P.; Di Corato, R.; Lartigue, L.; Wilhelm, C.; Espinosa, A.; Garcia-Hernandez, M.; Gazeau, F.; Manna, L.; Pellegrino, T. Water-Soluble Iron Oxide Nanocubes with High Values of Specific Absorption Rate for Cancer Cell Hyperthermia Treatment. *ACS Nano* **2012**, *6* (4), 3080–3091. https://doi.org/10.1021/nn2048137.

(113) Martinez-Boubeta, C.; Simeonidis, K.; Makridis, A.; Angelakeris, M.; Iglesias, O.; Guardia, P.; Cabot, A.; Yedra, L.; Estradé, S.; Peiró, F.; Saghi, Z.; Midgley, P. A.; Conde-Leborán, I.; Serantes, D.; Baldomir, D. Learning from Nature to Improve the Heat Generation of Iron-Oxide Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia Applications. *Sci Rep* **2013**, *3*. https://doi.org/10.1038/srep01652.

(114) Yang, Y.; Liu, X.; Lv, Y.; Herng, T. S.; Xu, X.; Xia, W.; Zhang, T.; Fang, J.; Xiao, W.; Ding, J. Orientation Mediated Enhancement on Magnetic Hyperthermia of Fe_3O_4 Nanodisc. *Adv Funct Mater* **2015**, *25* (5), 812–820. https://doi.org/10.1002/adfm.201402764.

(115) Lv, Y.; Yang, Y.; Fang, J.; Zhang, H.; Peng, E.; Liu, X.; Xiao, W.; Ding, J. Size Dependent Magnetic Hyperthermia of Octahedral Fe3O4 Nanoparticles. *RSC Adv* **2015**, *5* (94), 76764–76771. https://doi.org/10.1039/c5ra12558h.

(116) Liu, X.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Zhu, W.; Li, G.; Ma, X.; Zhang, Y.; Chen, S.; Tiwari, S.; Shi, K.; Zhang, S.; Fan, H. M.; Zhao, Y. X.; Liang, X. J. Comprehensive Understanding of Magnetic Hyperthermia for Improving Antitumor Therapeutic Efficacy. *Theranostics* **2020**, *10* (8), 3793–3815. https://doi.org/10.7150/thno.40805.

(117) Wells, J.; Ortega, D.; Steinhoff, U.; Dutz, S.; Garaio, E.; Sandre, O.; Natividad, E.; Cruz, M. M.; Brero, F.; Southern, P.; Pankhurst, Q. A.; Spassov, S. Challenges and Recommendations for Magnetic Hyperthermia Characterization Measurements. *International Journal of Hyperthermia* **2021**, *38* (1), 447–460. https://doi.org/10.1080/02656736.2021.1892837.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(118) Pearce, M. S.; Salotti, J. A.; Little, M. P.; McHugh, K.; Lee, C.; Kim, K. P.; Howe, N. L.; Ronckers, C. M.; Rajaraman, P.; Craft, A. W.; Parker, L.; De González, A. B. Radiation Exposure from CT Scans in Childhood and Subsequent Risk of Leukaemia and Brain Tumours: A Retrospective Cohort Study. *The Lancet* **2012**, *380* (9840), 499–505. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60815-0.

(119) Grover, V. P. B.; Tognarelli, J. M.; Crossey, M. M. E.; Cox, I. J.; Taylor-Robinson, S. D.; McPhail, M. J. W. Magnetic Resonance Imaging: Principles and Techniques: Lessons for Clinicians. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* **2015**, pp 246–255. https://doi.org/10.1016/j.jceh.2015.08.001.

(120) Estelrich, J.; Sánchez-Martín, M. J.; Busquets, M. A. Nanoparticles in Magnetic Resonance Imaging: From Simple to Dual Contrast Agents. *Int J Nanomedicine* **2015**, *10*, 1727–1741. https://doi.org/10.2147/IJN.S76501.

(121) Banerjee, A.; Blasiak, B.; Dash, A.; Tomanek, B.; van Veggel, F. C. J. M.; Trudel, S. High-Field Magnetic Resonance Imaging: Challenges, Advantages, and Opportunities for Novel Contrast Agents. *Chemical Physics Reviews* **2022**, *3* (1). https://doi.org/10.1063/5.0064517.

(122) Ohno, T.; Kubota, T.; Yano, M.; Fujiwara, Y.; Araki, F. Monte Carlo Study of Dosimetric Impact of Gadolinium Contrast Medium in Transverse Field MR-Linac System. *Physica Medica* **2021**, *86*, 19–30. https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2021.05.020.

(123) Sameh K. Morcos. Radiological Contrast Agents. *Side Effects of Drugs Annual, Elsevier*, **2007.** https://doi.org/10.1016/S0378-6080(06)29046-9

(124) Costelloe, C. M.; Amini, B.; Madewell, J. E. Risks and Benefits of Gadolinium-Based Contrast-Enhanced MRI. *Seminars in Ultrasound, CT and MRI* **2020**, *41* (2), 170–182. https://doi.org/10.1053/j.sult.2019.12.005.

(125) Rohrer, M.; Bauer, H.; Mintorovitch, J.; Requardt, M.; Weinmann, H.-J. Comparison of Magnetic Properties of MRI Contrast Media Solutions at Different Magnetic Field Strengths; *Invest Radiol*. **2005**, 40(11), 715-24. doi: 10.1097/01.rli.0000184756.66360.d3.

(126) Lee, N.; Choi, Y.; Lee, Y.; Park, M.; Moon, W. K.; Choi, S. H.; Hyeon, T. Water-Dispersible Ferrimagnetic Iron Oxide Nanocubes with Extremely High r_2 Relaxivity for Highly Sensitive in Vivo MRI of Tumors. *Nano Lett* **2012**, *12* (6), 3127–3131. https://doi.org/10.1021/nl3010308.

(127) Tao, C.; Chen, Y.; Wang, D.; Cai, Y.; Zheng, Q.; An, L.; Lin, J.; Tian, Q.; Yang, S. Macromolecules with Different Charges, Lengths, and Coordination Groups for the Coprecipitation Synthesis of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles as T1 MRI Contrast Agents. *Nanomaterials* **2019**, *9* (5). https://doi.org/10.3390/nano9050699.

(128) Tong, S.; Hou, S.; Zheng, Z.; Zhou, J.; Bao, G. Coating Optimization of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for High T2 Relaxivity. *Nano Lett* **2010**, *10* (11), 4607–4613. https://doi.org/10.1021/nl102623x.

(129) Cho, M.; Villanova, J.; Ines, D. M.; Chen, J.; Lee, S. S.; Xiao, Z.; Guo, X.; Dunn, J. A.; Stueber, D. D.; Decuzzi, P.; Colvin, V. L. Sensitive T_2 MRI Contrast Agents from the Rational Design of Iron Oxide Nanoparticle Surface Coatings. *Journal of Physical Chemistry C* **2023**, *127* (2), 1057–1070. https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.2c05390.

(130) Zhao, Z.; Zhou, Z.; Bao, J.; Wang, Z.; Hu, J.; Chi, X.; Ni, K.; Wang, R.; Chen, X.; Chen, Z.; Gao, J. Octapod Iron Oxide Nanoparticles as High-Performance T 2 Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging. *Nat Commun* **2013**, *4*. https://doi.org/10.1038/ncomms3266.

(131) Díez-Villares, S.; Ramos-Docampo, M. A.; da Silva-Candal, A.; Hervella, P.; Vázquez-Ríos, A. J.; Dávila-Ibáñez, A. B.; López-López, R.; Iglesias-Rey, R.; Salgueiriño, V.; Fuente, M. de la. Manganese Ferrite Nanoparticles Encapsulated into Vitamin E/Sphingomyelin Nanoemulsions as Contrast Agents for High-Sensitive Magnetic Resonance Imaging. *Adv Healthc Mater* **2021**, *10* (21). https://doi.org/10.1002/adhm.202101019.

(132) Jun, Y. W.; Huh, Y. M.; Choi, J. S.; Lee, J. H.; Song, H. T.; Kim, S.; Yoon, S.; Kim, K. S.; Shin, J. S.; Suh, J. S.; Cheon, J. Nanoscale Size Effect of Magnetic Nanocrystals and Their Utilization for Cancer Diagnosis via Magnetic Resonance Imaging. *J Am Chem Soc* **2005**, *127* (16), 5732–5733. https://doi.org/10.1021/ja0422155.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(133) Shen, Z.; Chen, T.; Ma, X.; Ren, W.; Zhou, Z.; Zhu, G.; Zhang, A.; Liu, Y.; Song, J.; Li, Z.; Ruan, H.; Fan, W.; Lin, L.; Munasinghe, J.; Chen, X.; Wu, A. Multifunctional Theranostic Nanoparticles Based on Exceedingly Small Magnetic Iron Oxide Nanoparticles for T1-Weighted Magnetic Resonance Imaging and Chemotherapy. *ACS Nano* **2017**, *11* (11), 10992–11004. https://doi.org/10.1021/acsnano.7b04924.

(134) Scialla, S.; Genicio, N.; Brito, B.; Florek-Wojciechowska, M.; Stasiuk, G. J.; Kruk, D.; Bañobre-López, M.; Gallo, J. Insights into the Effect of Magnetic Confinement on the Performance of Magnetic Nanocomposites in Magnetic Hyperthermia and Magnetic Resonance Imaging. *ACS Appl Nano Mater* **2022**, *5* (11), 16462–16474. https://doi.org/10.1021/acsanm.2c03537.

(135) Peng, S.; Sun, S. Synthesis and Characterization of Monodisperse Hollow Fe_3O_4 Nanoparticles. *Angewandte Chemie - International Edition* **2007**, *46* (22), 4155–4158. https://doi.org/10.1002/anie.200700677.

(136) Moldes-Diz, Y.; Eibes, G.; Vázquez-Vázquez, C.; Fondado, A.; Mira, J.; Feijoo, G.; Lema, J. M.; Moreira, M. T. A Novel Enzyme Catalysis Reactor Based on Superparamagnetic Nanoparticles for Biotechnological Applications. *J Environ Chem Eng* **2018**, *6* (5), 5950–5960. https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.09.014.

(137) Zhou, Z.; Zhu, X.; Wu, D.; Chen, Q.; Huang, D.; Sun, C.; Xin, J.; Ni, K.; Gao, J. Anisotropic Shaped Iron Oxide Nanostructures: Controlled Synthesis and Proton Relaxation Shortening Effects. *Chemistry of Materials* **2015**, *27* (9), 3505–3515. https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.5b00944.

(138) Han, Y.; Jiang, J.; Lee, S. S.; Ying, J. Y. Reverse Microemulsion-Mediated Synthesis of Silica-Coated Gold and Silver Nanoparticles. *Langmuir* **2008**, *24* (11), 5842–5848. https://doi.org/10.1021/la703440p.

(139) Fang, Y.; Loc, W. S.; Lu, W.; Fang, J. Synthesis of In_2O_3@SiO_2 Core-Shell Nanoparticles with Enhanced Deeper Energy Level Emissions of In_2O_3. *Langmuir* **2011**, *27* (23), 14091–14095. https://doi.org/10.1021/la203333d.

(140) Shen, M.; Jia, W.; Lin, C.; Fan, G.; Jin, Y.; Chen, X.; Chen, G. Facile Synthesis of Folate-Conjugated Magnetic/Fluorescent Bifunctional Microspheres. *Nanoscale Res Lett* **2014**, *9* (1). https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-558.

(141) Jiang, X.; Wang, F.; Cai, W.; Zhang, X. Trisodium Citrate-Assisted Synthesis of Highly Water-Dispersible and Superparamagnetic Mesoporous Fe_3O_4 Hollow Microspheres via Solvothermal Process. *J Alloys Compd* **2015**, *636*, 34–39. https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2015.02.156.

(142) Alavi Nikje, M. M.; Farahmand Nejad, M. A.; Shabani, K.; Haghshenas, M. Preparation of Magnetic Polyurethane Rigid Foam Nanocomposites. *Colloid Polym Sci* **2013**, *291* (4), 903–909. https://doi.org/10.1007/s00396-012-2808-6.

(143) Saleh, T.A. Structural Characterization of Hybrid Materials. In Polymer Hybrid Materials and Nanocomposites; *Elsevier*, **2021**.

(144) Brand, R.A. Normos Mössbauer Fitting Program. Univ.Duisburg. **2002.** Available online: https://www.uni-due.de/~hm236ap/keune/deutsch/Bran/r.a.brand.homepage.htm#Normos (accessed on 21 January 2022).

(145) De Toro, J. A.; Vasilakaki, M.; Lee, S. S.; Andersson, M. S.; Normile, P. S.; Yaacoub, N.; Murray, P.; Sánchez, E. H.; Muñiz, P.; Peddis, D.; Mathieu, R.; Liu, K.; Geshev, J.; Trohidou, K. N.; Nogués, J. Remanence Plots as a Probe of Spin Disorder in Magnetic Nanoparticles. *Chemistry of Materials* **2017**, *29* (19), 8258–8268. https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.7b02522.

(146) Wohlfarth, E. P. Relations between Different Modes of Acquisition of the Remanent Magnetization of Ferromagnetic Particles. *Journal of Applied Physics*. **1958**, pp 595–596. https://doi.org/10.1063/1.1723232.

(147) Mumtaz, A.; Maaz, K.; Janjua, B.; Hasanain, S. K.; Bertino, M. F. Exchange Bias and Vertical Shift in $CoFe_2O_4$ Nanoparticles. *J Magn Magn Mater* **2007**, *313* (2), 266–272. https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2007.01.007.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(148) Wang, H.; Zhu, T.; Zhao, K.; Wang, W. N.; Wang, C. S.; Wang, Y. J.; Zhan, W. S. Surface Spin Glass and Exchange Bias in Fe_3O_4 Nanoparticles Compacted under High Pressure. *Phys Rev B Condens Matter Mater Phys* **2004**, *70* (9). https://doi.org/10.1103/PhysRevB.70.092409.

(149) Ovejero, J. G.; Cabrera, D.; Carrey, J.; Valdivielso, T.; Salas, G.; Teran, F. J. Effects of Inter- and Intra-Aggregate Magnetic Dipolar Interactions on the Magnetic Heating Efficiency of Iron Oxide Nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2016**, *18* (16), 10954–10963. https://doi.org/10.1039/c6cp00468g.

(150) Caizer, C.; Savii, C.; Popovici, M. Magnetic Behaviour of Iron Oxide Nanoparticles Dispersed in a Silica Matrix. *Materials Science and Engineering: B* **2003**, 97, 2. https://doi.org/10.1016/S0921-5107(02)00403-8.

(151) Calero-Diaz Del Castillo, V. L.; Rinaldi, C. Effect of Sample Concentration on the Determination of the Anisotropy Constant of Magnetic Nanoparticles. *IEEE Trans Magn* **2010**, 852–859. https://doi.org/10.1109/TMAG.2009.2032240.

(152) Peddis, D.; Mansilla, M. V.; Mørup, S.; Cannas, C.; Musinu, A.; Piccaluga, G.; D'Orazio, F.; Lucari, F.; Fiorani, D. Spin-Canting and Magnetic Anisotropy in Ultrasmall $CoFe_2O_4$ Nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B* **2008**, *112* (29), 8507–8513. https://doi.org/10.1021/jp8016634.

(153) Farrell, D.; Cheng, Y.; McCallum, R. W.; Sachan, M.; Majetich, S. A. Magnetic Interactions of Iron Nanoparticles in Arrays and Dilute Dispersions. *Journal of Physical Chemistry B* **2005**, *109* (28), 13409–13419. https://doi.org/10.1021/jp050161v.

(154) Vieira, C. A. M.; Cabreira Gomes, R.; Silva, F. G.; Dias, A. L.; Aquino, R.; Campos, A. F. C.; Depeyrot, J. Blocking and Remanence Properties of Weakly and Highly Interactive Cobalt Ferrite Based Nanoparticles. *Phys.: Condens. Matter* **2019**. https://doi.org/10.1088/1361.

(155) De Toro, J. A.; Normile, P. S.; Lee, S. S.; Salazar, D.; Cheong, J. L.; Muñiz, P.; Riveiro, J. M.; Hillenkamp, M.; Tournus, F.; Tamion, A.; Nordblad, P. Controlled Close-Packing of Ferrimagnetic Nanoparticles: An Assessment of the Role of Interparticle Superexchange versus Dipolar Interactions. *Journal of Physical Chemistry C* **2013**, *117* (19), 10213–10219. https://doi.org/10.1021/jp402444x.

(156) Pérez, N.; Moya, C.; Tartaj, P.; Labarta, A.; Batlle, X. Aggregation State and Magnetic Properties of Magnetite Nanoparticles Controlled by an Optimized Silica Coating. *J Appl Phys* **2017**, *121* (4). https://doi.org/10.1063/1.4974532.

(157) Rivas Rojas, P. C.; Tancredi, P.; Moscoso Londoño, O.; Knobel, M.; Socolovsky, L. M. Tuning Dipolar Magnetic Interactions by Controlling Individual Silica Coating of Iron Oxide Nanoparticles. *J Magn Magn Mater* **2018**, *451*, 688–696. https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2017.11.099.

(158) Andersson, M. S.; De Toro, J. A.; Lee, S. S.; Normile, P. S.; Nordblad, P.; Mathieu, R. Effects of the Individual Particle Relaxation Time on Superspin Glass Dynamics. *Phys Rev B* **2016**, *93* (5). https://doi.org/10.1103/PhysRevB.93.054407.

(159) Coskun, M.; Can, M. M.; Coskun, O. D.; Korkmaz, M.; Firat, T. Surface Anisotropy Change of CoFe2O4 Nanoparticles Depending on Thickness of Coated SiO_2 Shell. *Journal of Nanoparticle Research* **2012**, *14* (10). https://doi.org/10.1007/s11051-012-1197-6.

(160) Andersson, M. S.; Mathieu, R.; Lee, S. S.; Normile, P. S.; Singh, G.; Nordblad, P.; De Toro, J. A. Size-Dependent Surface Effects in Maghemite Nanoparticles and Its Impact on Interparticle Interactions in Dense Assemblies. *Nanotechnology* **2015**, *26* (47). https://doi.org/10.1088/0957-4484/26/47/475703.

(161) Mamiya, H.; Fukumoto, H.; Cuya Huaman, J. L.; Suzuki, K.; Miyamura, H.; Balachandran, J. Estimation of Magnetic Anisotropy of Individual Magnetite Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia. *ACS Nano* **2020**, *14* (7), 8421–8432. https://doi.org/10.1021/acsnano.0c02521.

(162) Bødker, F.; Mørup, S.; Linderoth, S. Surface Effects in Metallic Iron Nanoparticles. *Phys. Rew. Lett*. **1994**; Vol. 72. https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.72.282

(163) Dutz, S.; Hergt, R. Magnetic Nanoparticle Heating and Heat Transfer on a Microscale: Basic Principles, Realities and Physical Limitations of Hyperthermia for Tumour Therapy. *International Journal of Hyperthermia*. **2013**. https://doi.org/10.3109/02656736.2013.822993.

10 ANEXO. COPIA ÍNTEGRA DE LAS PUBLICACIONES

A continuación, se anexan las copias íntegras de las publicaciones científicas de los capítulos 6, 7 y 8.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

nanomaterials

MDPI

Article

Significant Surface Spin Effects and Exchange Bias in Iron Oxide-Based Hollow Magnetic Nanoparticles

Pelayo García Acevedo [1,*], Manuel A. González Gómez [1], Ángela Arnosa Prieto [1], Jose S. Garitaonandia [2], Yolanda Piñeiro [1] and José Rivas [1,*]

[1] NANOMAG Laboratory, Applied Physics Department, iMATUS Materials Institute, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain; manuelantonio.gonzalez@usc.es (M.A.G.G.); angela.arnosa@usc.es (Á.A.P.); y.pineiro.redondo@usc.es (Y.P.)

[2] Faculty of Science and Technology, University of the Basque Country (UPV/EHU), 48940 Leioa, Spain; js.garitaonandia@ehu.eus

* Correspondence: pelayo.garcia.acevedo@usc.es (P.G.A.); jose.rivas@usc.es (J.R.); Tel.: +34-881813097 (P.G.A.); +34-881813062 (J.R.)

Abstract: Exchange bias (EB) properties have become especially important in hollow magnetic nanoparticles (MNPs) due to the versatility and reduced size of these materials. In this work, we present the synthesis and study of the EB properties of iron-oxide-based hollow MNPs and their precursors Fe/iron oxide MNPs with core/void/shell structure. The two mechanisms involved in EB generation were investigated: the frozen spins present in the nanograins that form the nanoparticles and the surface spins. The effect of external parameters on the coercivity (H_C), remanence (M_R), exchange bias field (H_{EB}) and frozen spins, such as cooling field (H_{FC}) and temperature, was investigated. Both H_C and H_{EB} present a maximum threshold above which their values begin to decrease with H_{FC}, showing a new trend of H_{EB} with H_{FC} and allowing modulation on demand. The existence of surface spins, present on the outer and inner surfaces, was demonstrated, and an intrinsic EB phenomenon (H_{EB} = 444 Oe for hollow iron oxide-based MNPs of 13.1 nm) with significant magnetization (M_S~50 emu/g) was obtained. Finally, core/void/shell MNPs of 11.9 nm prior to the formation of the hollow MNPs showed a similar behavior, with non-negligible H_{EB}, highlighting the importance of surface spins in EB generation.

Keywords: magnetic nanoparticles; nanomagnetism; exchange bias; surface spins; interfacial effects

check for updates

Citation: García Acevedo, P.; González Gómez, M.A.; Arnosa Prieto, Á.; Garitaonandia, J.S.; Piñeiro, Y.; Rivas, J. Significant Surface Spin Effects and Exchange Bias in Iron Oxide-Based Hollow Magnetic Nanoparticles. *Nanomaterials* **2022**, *12*, 456. https://doi.org/10.3390/nano12030456

Academic Editor: Fabien Grasset

Received: 5 November 2021
Accepted: 8 January 2022
Published: 28 January 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Exchange bias is a magnetic phenomenon in which magnetic phases of different character are coupled via exchange interaction and their magnetic behavior departs from a simple response, giving rise to a shift from the zero-field position of the hysteresis loop at low temperatures. Although interest in EB is growing, owing to its technological applications in the electronic field (spintronic devices [1], spin valves [2], magnetoresistive random-access memory (MRAM) circuits [3]), or new recording media [4] based on materials where the superparamagnetic limit could be defeated with the help of EB-tailored properties, the detailed understanding of EB is still poorly understood.

Initially, the prototypical magnetic system showing EB was a ferromagnetic (FM)/antiferromagnetic (AFM) binary system, cooled through the Néel temperature under the application of an external magnetic field [5–7]. Subsequently, it was further observed in other binary systems at the interface of ferromagnetic/ferrimagnetic (FM/FI) [8] or antiferromagnetic/ferrimagnetic (AF/FI) [9] materials. Despite this, most efforts have been focused on studying the EB phenomenon in thin-layer systems; and since its observation in MNPs in 1956 [10], the interest in EB in nanomaterials has increased. In recent years, the improvement of MNP synthesis, which allows the production of MNPs with strict size and shape control, has turned relevant MNPs into interesting tools to study fundamental EB

mechanisms and alternative solutions for small size applications. In fact, the possibility to produce solid cores, core@shell, and hollow nanostructures allows the study of the cross-over contribution of a different set of mechanisms related to EB: surface spin disorder and exchange coupling of different magnetic phases.

The impact of size reduction on the magnetic properties of solid MNPs, caused by the large contribution of a disordered surface spin layer, has been widely studied for different materials, such as $CoFe_2O_4$ MNPs of 4.5 nm (H_{EB} = 735 Oe) [11] or NiO MNPs of 4 nm (H_{EB} = 900 Oe) [12], and, more intensely, in γ-Fe_2O_3 MNPs [13–16]. EB observed in solid MNPs is attributed to the exchange coupling between disordered surface spins that may become frozen in a spin-glass-like state and inner-ordered spins [5]. In Fe oxide-based MNPs, significant differences in magnetization have been found between small (5 nm) Fe_3O_4 and γ-Fe_2O_3 MNPs [17,18], owing to the notable contribution of surface effects at this size scale and the fact that surface spin disorder is stronger in γ-Fe_2O_3 MNPs than in Fe_3O_4 MNPs [5]. Although EB effects, ascribed to exchange coupling between the disordered surface and antiferromagnetically ordered structure of the core [19], have been observed in γ-Fe_2O_3 MNPs, and also in Fe_3O_4 MNPs, their detailed understanding in terms of size remains elusive owing to contradictory reported data. Systematic studies of the size effects related to EB in small Fe_3O_4 MNPs, of 4, 6, 8, 10, and 12 nm, only report EB effects (H_{EB} = 750 Oe) in the smaller samples (4 nm) [18]. Equally sized small (8 nm) Fe_3O_4 and γ-Fe_2O_3 MNPs [20] show larger and stronger surface disorder in γ-Fe_2O_3 and should provide higher H_{EB}. Moreover, as the size of γ-Fe_2O_3 MNPs increases, 7 nm [21], 8 nm [20], 10 nm [22], they show an increasing EB, H_{EB} = 60 (Oe), H_{EB} = 267 (Oe), H_{EB} = 1500 (Oe), respectively, for decreasing surface spin. Although surface effects and magnetic frustration are more noticeable as the size of MNPs is reduced, a defined relationship between size and H_{EB} cannot be established from the data reported in previous research, since EB depends in a complex way on other factors, such as shape or magnetic interactions [5]. Besides this, since EB in solid MNPs requires surface spin effects that become relevant in MNPs with a large size reduction, the consequence of this entails a reduction in magnetization [18]. Therefore, new types of MNP with EB properties, such as core/shell MNPs with a coupling between the core and the shell [23], or hollow MNPs, with an additional layer of surface spins contributing to increased spin disorder [24], can be envisaged as alternative systems showing EB and moderate magnetization simultaneously.

Core/shell MNPs, such as thin-layer systems, have been reported to show EB, mainly due to the exchange coupling between different magnetic materials: Fe/γ-Fe_2O_3 with particle sizes of 15 nm (H_{EB} = 1.6 kOe), 10 nm (H_{EB} = 3.5 kOe) and 8 nm (H_{EB} = 3200 Oe) [25]; Fe/Fe_3O_4 MNPs of 13.8 nm (H_{EB} = 1190 Oe) [23]; FeO/Fe_3O_4 MNPs of 10 nm (H_{EB} = 1700 Oe) [26]; Fe_3O_4/γ-Fe_2O_3 MNPs of 12 nm (H_{EB} = 270 Oe) [27] or CoO/Fe_3O_4 MNPs [28]. Different magnetite-based systems, combining an antiferromagnetic core (FeO) and a ferrimagnetic shell (Fe_3O_4) in a wide range of sizes (10–35 nm) [26,29–31], have been explored to produce tailored EB (Xiaolian Sun et al. [30] have reported H_{EB} = 2260 Oe in FeO/Fe_3O_4 MNPs of 35 nm). However, in addition to the core/shell coupling, the surface effects become relevant and even dominant in EB. In fact, a critical particle size in Fe/γ-Fe_2O_3 MNPs, in which the interface spin effect contributes primarily to the EB, but below which the surface spin effect dominates, has been established by keeping the shell thickness (2 nm) fixed and varying the core size (4–11 nm) [25]. However, different studies aiming to assess the importance of surface spins in the EB of core/shell NPs provide contradictory results. On one hand, it was stated that no substantial modification of H_{EB} was observed between the core/shell and void/shell system after removing the core in Fe/γ-Fe_2O_3 MNPs [32], while in different works, a drastic reduction in H_{EB} was observed in core/shell MNPs after keeping only the Fe_3O_4 shell, showing the low importance of surface spins in this type of systems [5,23,33].

The transformation from core/shell MNPs to hollow MNPs using the Kirkendall effect [33], is a useful chemical tool to create nanostructures with tailored surface–volume ratios to further analyze EB in hollow MNPs. Although EB in hollow MNPs was firstly attributed only to the large portion of disordered spins located in the inner and outer

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

shells [5], other studies show that the interfaces between the crystallographic domains of MNPs may also play an important role [34]. Although H_{EB} has been studied in hollow MNPs with diverse compositions, such as $CoFe_2O_4$ (H_{EB} = 733 Oe) [35], $NiFe_2O_4$ (H_{EB} = 301 Oe) [36] or Fe_3O_4 (H_{EB} = 133 Oe) [23], studies on γ-Fe_2O_3 hollow MNPs are the most abundant [13,24,34,37]. A large hysteresis loop shift has been reported in hollow γ-Fe_2O_3 as small as 8.2 nm [37], 9.2 nm [34], and 9.4 nm [32]. However, since the maximum applied field is smaller than the irreversibility field, these shifts correspond to a minor loop and not an intrinsic EB effect. In addition, a significant loop shift (7000 Oe) was also reported in larger γ-Fe_2O_3 hollow MNPs (14.7 nm) [32]. On the other hand, an intrinsic EB phenomenon has been reported in larger γ-Fe_2O_3 hollow MNPs (18.7 nm) [34]. However, the H_{EB} obtained is significantly lower than the loop shifts obtained in ultrathin hollow γ-Fe_2O_3 with minor loop effects. Large differences were reported between the surface spin contributions above the magnetic properties in hollow γ-Fe_2O_3 MNPs of 9 and 18 nm, obtaining a percentage of surface spins of 87 and 3% for the γ-Fe_2O_3 MNPs of 9 nm (minor loop) and 18 nm (EB), respectively [32]. This suggests that a greater presence of surface spins contributes significantly to minor loop generation and not to EB. However, interestingly, F. Sayed et al. [38] recently reported the existence of an intrinsic EB effect in ultrathin hollow γ-Fe_2O_3 MNPs (9.4 nm). From Mossbauer experiments, the disorder of surface spins was shown and through Monte Carlo simulations, the fundamental role of the surface anisotropy in the noncollinearity of the spin structure was corroborated. In addition, F. Sayed et al. [24] reported a computer model of hollow MNPs as a function of size and shell thickness. The influence of the shell thickness of hollow MNPs on the spin configuration was reported, with the conclusion that the superficial anisotropy (from both the internal and external surfaces) becomes larger as the shell diminishes. In addition, a H_{EB} = 133 Oe value in 16.0 nm hollow Fe_3O_4 MNPs was reported by Ong et al. [23], the only recent study to report EB in hollow Fe_3O_4 MNPs. However, due to the small size of hollow γ-Fe_2O_3 (<10 nm), the surface effects led to a significant magnetization reduction of MNPs. In addition, large differences between the minor loop effect and intrinsic EB were observed in hollow MNPs. Therefore, more experimental studies of hollow MNPs with an intrinsic EB and with significant magnetization to improve its application should be carried out.

Exchange bias generation in MNPs is affected by several factors, such as particle size, the thickness of the shell in core/shell MNPs or in hollow MNPs, temperature, cooling field (H_{FC}), morphology, and composition [5]. Especially important is the effect of temperature and H_{FC} on modifying EB, since it is an externally controllable factor in obtaining H_{EB} on demand. Temperature dependence has been widely demonstrated, showing a reduction in the EB effect with increasing temperature [5,21,22,25,32,39]. Despite the numerous EB studies reported on MNPs, there is no well-defined trend in H_{EB} dependence with H_{FC}. While in Fe/Fe_3O_4 MNPs, H_{EB} grows with H_{FC} ($H_{FC}{}^{Max}$ = 10 kOe) [23], in $CoFe_2O_4$ MNPs an H_{EB} maximum has been observed at H_{FC} = 5 kOe (lower than $H_{FC}{}^{Max}$ = 15 kOe) [40]. A similar trend was observed in Fe_3O_4 MNPs. However, the H_{EB} maximum was reported at a higher H_{FC} (30 kOe) [41]. In addition, H_{EB} dependence with H_{FC} up to 50 kOe in a granular system of Fe nanoparticles was investigated, showing a H_{EB} maximum at 4 kOe [42]. Despite the multiple efforts made in EB generation in hollow γ-Fe_2O_3 MNPs, to our knowledge, no studies of H_{EB} dependence with H_{FC} have been reported. It is therefore necessary to carry out more studies in this area.

Numerous studies have reported a hysteresis loop shift in hollow iron-oxide-based MNPs. However, many have been attributed to a minor loop effect and not an intrinsic effect of EB, especially in hollow γ-Fe_2O_3 MNPs. In addition, due to the small size of hollow γ-Fe_2O_3 MNPs (<10 nm), the surface effects lead to a significant magnetization reduction of MNPs and the maximum magnetization of these MNPs is very low (9.2 nm, M_{MAX} < 1 emu/g [38]; 9.2 nm, M_{MAX}~1 emu/g [34]; 9.4 nm, M_{MAX}~1.2 emu/g [32]; 8.2 nm, M_{MAX}~6 emu/g [37]). These combinations of minor loops instead of intrinsic EB and reduced magnetization may be a drawback in the use of hollow γ-Fe_2O_3 MNPs for several

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

applications. Therefore, in order to gain insights on EB in hollow γ-Fe_2O_3 or Fe_3O_4 MNPs, systematic studies are required to assess different aspects of H_{EB} and its dependence with extended values of H_{FC}, since the current field is very limited.

In the present work, an intrinsic EB effect (H_{EB} = 444 Oe) in iron oxide-based hollow MNPs of 13.1 nm with a significant magnetization (around 50 emu/g) is studied in detail. The dependence of H_C, M_R and H_{EB} with H_{FC} and temperature using H_{FC} up to 50 kOe, as well as the variation in the number of frozen spins with H_{FC} and temperature, were investigated to shed light on the field-cooling effects on EB, producing new results not reported so far in iron oxide hollow MNPs. In addition, the presence of surface spins as a new way to improve the EB properties of hollow MNPs was studied. To understand in depth the EB generation mechanism, a detailed study of the magnetic properties of the precursor core/void/shell MNPs (with Fe core) was performed prior to the complete oxidation of the Fe core, allowing us to shed light on EB generation in hollow iron-oxide-based MNPs.

2. Materials and Methods

2.1. Chemicals and Materials

Chemicals used for this study were iron (0) pentacarbonyl ($Fe(CO)_5$, >99.99%), oleylamine ($C_{18}H_{35}NH_2$, 80–90%), 1-octadecene ($C_{18}H_{36}$, 90%), trimethylamine N-oxide ($(CH_3)_3NO$, 98%), and hexane($CH_3(CH_2)_4CH_3$, >95%), all obtained from Sigma-Aldrich (Burlington, MA, USA).

2.2. Synthesis of Core/Void/Shell Nanoparticles (Fe/Iron Oxide)

MNPs were obtained following Peng's method [43] with some modifications. In a typical synthesis, 1-octadecene (200 mL) and oleylamine (3 mL, 9.12 mmol) were degassed under nitrogen at 120 °C for 3 h to eliminate the oxygen of the mixture. After that, the solution was heated until 180 °C and iron pentacarbonyl (7 mL, 53.2 mmol) was quickly added under nitrogen. The reaction was kept at 180 °C for 40 min. The mixture was cooled naturally to room temperature.

2.3. Synthesis of Hollow Magnetic Nanoparticles (Iron Oxide)

Hollow MNPs were prepared by adding trimethylamine N-oxide (400 mg) and 1-octadecene (200 mL) in a three-necked round flask. The mixture was degassed with nitrogen throughout the procedure and mechanically stirred. The reaction was heated at 130 °C for 1 h, followed by quickly adding core/void/shell (C/V/S) MNPs (800 mg) dispersed in hexane into the mixture and heated for 2 h to remove the hexane and it was heated at 210 °C for 4 h. The product was allowed to cool down to room temperature.

Oleylamine was used in both MNPs as a functional coating in order to avoid direct interactions between the MNPs.

2.4. Physicochemical and Magnetic Characterization of Core/Void/Shell and Hollow MNPs

The characterization of the crystalline phases of the MNPs was performed by X-ray diffraction (XRD) on powder samples with a Philips PW1710 diffractometer (Panalytical, Brighton, UK) and a Cu K_a radiation source, λ = 1.54186 Å. Measurements were collected in the 2θ angle range between 10 and 80° with steps of 0.02° and 10 s per step. Morphology of the MNPs was characterized by transmission electron microscopy (TEM) images using a JEOL JEM-1011 microscope (JEOL, Tokyo, Japan) at 100 kV. Iron content of the MNPs was determined by flame atomic absorption spectroscopy (FAAS) in a Perkin Elmer 3110 Atomic Absorption Spectrometer (Waltham, MA, USA). Fourier transform infrared (FTIR) spectra were recorded in a Thermo Nicolet Nexus spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Madrid, Spain) using the attenuated total reflectance (ATR) method. Mössbauer spectroscopy measurements were performed at room temperature in transmission geometry using a conventional constant-acceleration spectrometer with ^{57}Co-Rh source. The isomer shift values were taken with respect to an α-Fe calibration foil measured at room temperature. NORMOS Mössbauer fitting program (version 16.07.2001) developed by Brand et al. [44]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

was used for fitting the spectra. AC magnetization curves of dried samples were measured using a Quantum Design Physical Property Measurement System (PPMS) (Quantum Design, Darmstadt, Germany) in a temperature range of 10–300 K with steps of 10 K, an excitation field of 1 Oe and driving frequencies varying from 10 Hz to 1 kHz. DC magnetization curves of dried samples were measured using a Superconducting Quantum Interference Device (SQUID) Magnetometer (Quantum Design, Darmstadt, Germany). Measurements of the MNPs magnetization were made in field-cooled (FC) and zero-field-cooled (ZFC) conditions employing different cooling fields (H_{FC} = 0.1–50 kOe) and as a function of temperature (T = 5–300 K). The effect of temperature and applied cooling field on the hysteresis loops (H = ±50 kOe) for the MNPs was analysed.

3. Results and Discussion

3.1. Structural, Chemical, and Morphological Properties

3.1.1. XRD Characterization

Figure 1a shows the powder XRD patterns of the C/V/S (black pattern) and the hollow MNPs (red pattern). The position and relative intensities of the main peaks could indicate the presence of magnetite with inverse spinel structure (JCPDS card No. 79-0417) [45]. However, this iron oxide phase could also be associated with maghemite, since these two oxides cannot be distinguished from XRD. The magnetite and maghemite have almost identical or closely crystal structures. Furthermore, 110 and 200 reflections from iron with cubic structure can be observed in the C/V/S MNPs (JCPDS card No. 89-4184) [46].

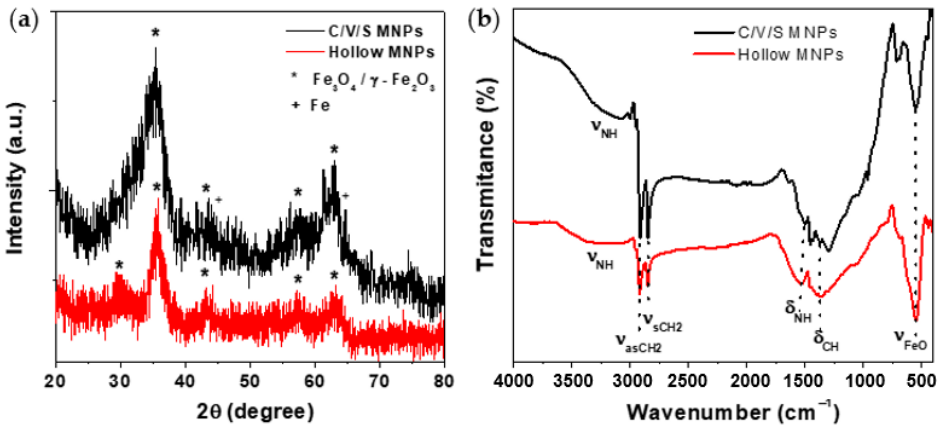

Figure 1. (**a**) XRD pattern of C/V/S (black pattern) and hollow (red pattern) MNPs, compared to the XRD pattern of magnetite/maghemite (*) from JCPDS 79-0417 and iron (+) from JCPDS 89-4184 data bases. (**b**) FT-IR spectra of C/V/S (black pattern) and hollow (red pattern) MNPs.

A lower crystallinity was observed in C/V/S MNPs due to the greater width of the main peak of the XRD pattern. This fact is consistent with the synthesis process of MNPs described by Peng et al. [43], which started from a completely amorphous core/shell MNPs before the crystallinity increased as the C/V/S MNPs were transformed into hollow MNPs. In this study, it was observed that C/V/S MNPs are in an intermediate state of crystallinity between completely amorphous core/shell MNPs and crystalline hollow MNPs. This made it possible to show that in C/V/S MNPs, the oxidation process of the Fe core begins prior to the complete oxidation of the Fe core and the formation of the hollow iron oxide MNPs.

3.1.2. FT-IR Spectroscopy

The FT-IR spectra of the hollow MNPs and the C/V/S precursor MNPs are shown in Figure 1b, black pattern (C/V/S MNPs) and red pattern (hollow MNPs). The FTIR spectra of both samples show a broad absorption band around 3327 cm^{-1}, which is characteristic of the stretching vibrations of the O-H group attributed to the presence of hydroxyl residue, which is due to atmospheric moisture [47]. In addition, the peaks appearing at 2920 and

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2849, and 1550 and 1305 cm^{-1}, are assigned to the stretching vibrations of -CH_2 (asymmetric and symmetric) and the scissoring vibrations (N-H and -C-H) of oleylamine [48], respectively. This oleylamine coating makes it possible to avoid direct interactions between MNPs and their effect on EB generation. Furthermore, the peak at about 550 cm^{-1} is characteristic of the stretching vibration of Fe_3O_4 [49].

3.1.3. Transmission Electron Microscopies (TEM)

Figure 2 shows TEM micrographs of (a) the precursor C/V/S and (b) the hollow MNPs. The insets show high-resolution TEM images (HRTEM). A regular spherical morphology with a relatively wide size distribution of around 11.9 ± 0.9 nm (C/V/S MNPs) and 13.2 ± 0.7 nm (hollow MNPs) was obtained. A void space can be observed between the Fe core and the iron oxide shell, suggesting a core/void/shell morphology. On the other hand, in Figure 2b, the hollow morphology of the MNPs can be observed due to the darker color of the shell.

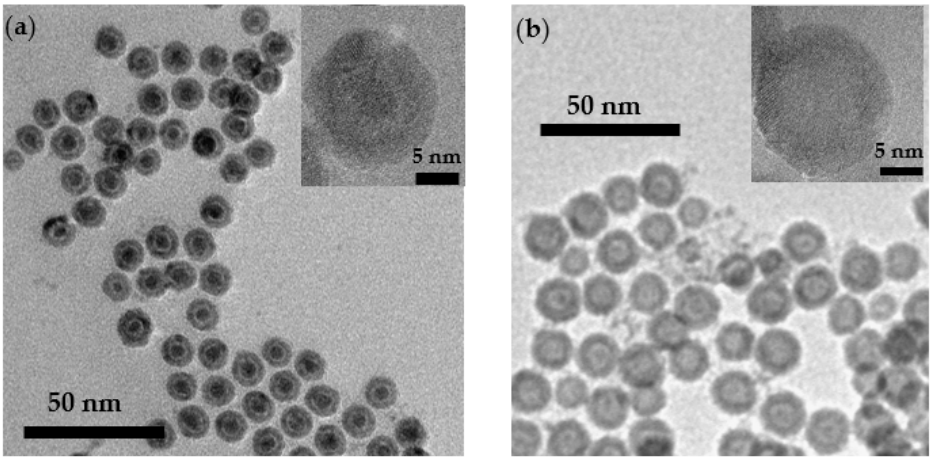

Figure 2. TEM micrograph of (**a**) core/void/shell and (**b**) hollow iron oxide MNPs dispersed in hexane. The size distribution was performed using the ImageJ software and shows particle sizes of 11.9 ± 0.9 nm for core/void/shell MNPs and 13.2 ± 0.7 nm for hollow iron oxide based MNPs. Insets shows HRTEM images of MNPs.

From the HRTEM and TEM micrographs it is possible to obtain the shell thickness, as well as the inner and outer radius of both MNPs. Table 1 shows the morphological values of the MNPs. Shell thicknesses of 2.4 ± 0.3 nm for C/V/S MNPs and 3.7 ± 0.3 nm for hollow MNPs were obtained, showing a shell increase. Furthermore, a Fe core size of 4.5 ± 0.5 nm and a void between the core and the shell of 1.3 ± 0.2 nm were obtained in C/V/S MNPs. From these values, the surface-to-volume (S/V) ratio can be obtained from the following expressions:

$$R_{Hollow} = \frac{S}{V_{shell}} = \frac{S_{Outer} + S_{inner}}{V_{Total} - V_{inner}} \quad (1)$$

$$R_{C/V/S} = \frac{S}{V_{shell} + V_{Core}} = \frac{S_{Outer} + S_{inner} + S_{core}}{(V_{Total} - V_{inner}) + V_{Core}} \quad (2)$$

where S_{outer} and S_{inner} correspond to the outer and inner surface of the shell and S_{core} and V_{core} correspond to the surface and volume of the Fe core, respectively.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 1. Inner radius (R_{outer}), outer radius (R_{inner}), core radius (R_{Core}), shell thickness (δ_{shell}), void thickness (d_{void}) and surface-to-volume ratio (S/V) values of MNPs.

	R_{outer} (nm)	R_{inner} (nm)	R_{Core} (nm)	δ_{shell} (nm)	δ_{void} (nm)	S/V
Hollow	6.6	2.9	-	3.7	5.8	0.6
Core/void/shell	6.0	3.6	2.3	2.4	1.3	0.9

The surface-to-volume ratio is higher for the C/V/S MNPs (S/V = 0.9) than for the hollow MNPs (S/V = 0.6), due to the smaller size of the C/V/S MNPs and the contribution of the Fe core surface. This suggests greater disorder and magnetic frustration in the C/V/S MNPs.

3.1.4. Room Temperature Mössbauer Spectra

Figure 3 shows the Mössbauer spectrum corresponding to the hollow iron oxide MNPs obtained at room temperature.

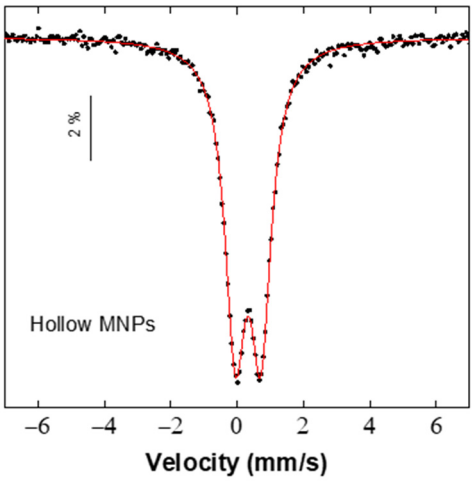

Figure 3. Room temperature ^{57}Fe Mössbauer spectrum of superparamagnetic hollow iron oxide MNPs.

The spectrum of hollow MNPs is characterized by a well resolved doublet and the absence of other any additional component, as expected from samples composed by homogenously sized MNPs well above the blocking temperature (T_B) in a superparamagnetic regimen. Hyperfine parameters, with an isomer shift (IS) of 0.33 mm/s, quadrupolar splitting (QS) of 0.76 mm/s, and a linewidth of 0.75 mm/s were obtained for the hollow iron oxide MNPs. Spectra with these hyperfine parameters are commonly observed in systems composed by superparamagnetic magnetite-precursor MNPs [50] and in low-dimensional magnetite MNPs systems with high surface/core ratio [51,52].

3.2. DC Magnetic Properties

In order to understand the DC magnetic properties of the C/V/S MNPs and hollow MNPs, hysteresis loops were performed as the temperature reduced from 300 to 10 K. Figure 4 shows the hysteresis loops of the C/V/S MNPs (Figure 4a) and the hollow MNPs (Figure 4b) at different temperatures: 10 K (light blue), 50 K (dark blue), 100 K (red), 200 K (gray), and 300 K (black). These were performed with a SQUID magnetometer between −50 and +50 kOe. The insets show the low-field region in more detail, where the coercivity and remanence of both samples can be observed. Neither MNP presented saturation, despite the use of very high fields, ±50 kOe, and a noticeable paramagnetic contribution can be observed in the hysteresis loops.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

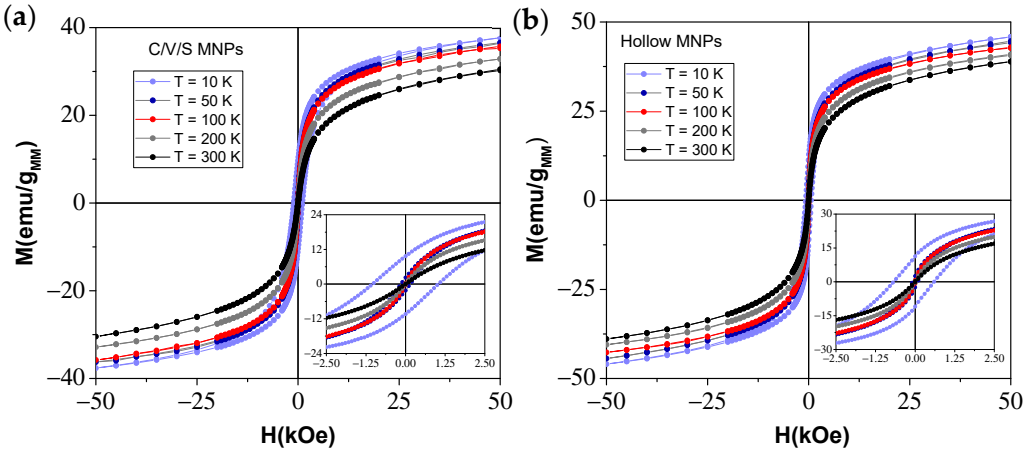

Figure 4. Hysteresis loops of (**a**) core/void/shell MNPs and (**b**) hollow iron oxide MNPs at different temperatures: 10, 50, 100, 200 and 300 K. Insets: Scale amplification of hysteresis loops.

Maximum magnetization values at H = 50 kOe between 38.17 (10 K) and 30.75 (300 K) emu/g and 45.93 (10 K) and 38.90 (300 K) emu/g were obtained for the C/V/S and hollow MNPs, respectively. Lower values of magnetization were observed in C/V/S MNPs due to lower crystallinity than in hollow MNPs. However, the magnetization values did not differ too much between both MNPs. This agrees with the XRD results, from which it can be concluded that the C/V/S were in an intermediate state of crystallinity prior to the formation of hollow MNPs. Despite the high values of the S/V ratio, the magnetization was not drastically reduced by surface effects. This suggests that hollow MNPs may emerge as an interesting alternative, presenting improved magnetic properties and exhibiting an intrinsic EB effect.

3.3. Exchange Bias Properties

In order to study the EB and spin disorder properties, the magnetization of the specimens as a function of magnetic field and temperature was measured under FC, using 11 different cooling fields (0.1–50 kOe) and ZFC conditions. All the hysteresis loops were performed using the same measuring field (between −50 kOe and 50 kOe). Figure 5 shows hysteresis loops with ZFC conditions (black points) and with H_{FC} = 10 kOe (red points) for C/V/S MNPs (Figure 5a) and for hollow MNPs (Figure 5b) at 5 K. A shift of the hysteresis loops toward both the negative field and the positive magnetization axis is observed, which, with an enhanced coercive field (H_C^{ZFC} = 1099 Oe and $H_C^{FC=10kOe}$ = 1515 Oe of C/V/S and H_C^{ZFC} = 601 Oe and $H_C^{FC=10kOe}$ = 636 Oe of hollow MNPs), constitutes strong evidence of the existence of an exchange bias effect [8,9].

In order to study the oleylamine coating effect of the C/V/S and hollow MNPs on reducing the direct interactions between MNPs, iron oxide solid MNPs of similar sizes and with an oleylamine coating were studied under FC conditions. Figure S2 shows a comparison between the hysteresis loops of the solid iron oxide MNPs (black points) and hollow MNPs (red points) under FC conditions (H_{FC} = 10 kOe) at 5 K. No EB effect on iron oxide solid MNPs was observed, suggesting that exchange interactions between MNPs are prevented with the oleylamine shell. Therefore, the effect of the interactions between MNPs in EB generation was satisfactorily avoided using a functional coating.

Figure 6a shows the H_{EB} dependence with H_{FC}. In comparison, the C/V/S MNPs exhibited a higher maximum H_{EB} (H_{EB} = 581.5 Oe) than the hollow MNPs (H_{EB} = 444.0 Oe). In addition, the maximum H_{EB} values were obtained at different cooling fields, H_{FC} = 5 kOe for C/V/S MNPs and H_{FC} = 3 kOe for hollow MNPs. In both MNPs, it was observed that the H_{EB} maximum was not reached in the largest applied cooling field (H_{FC} = 50 kOe), showing a maximum field below which H_{EB} decays. This trend was not observed in previous studies based on Fe/Fe_3O_4 MNPs of 13.8 nm, in which studies of the H_{EB} dependence with H_{FC} were carried out up to H_{FC} = 10 kOe [33]. In our case, this new trend was

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

observed by investigating the H_{EB} behavior with cooling fields greater than 10 kOe (up to 50 kOe). In addition, the trend of H_{EB} with H_{FC} has not been reported in hollow MNPs due to the low value of H_{EB} [23]. Therefore, to our knowledge, the present study suggests a new trend of H_{EB} with H_{FC} in hollow iron oxide MNPs not reported so far.

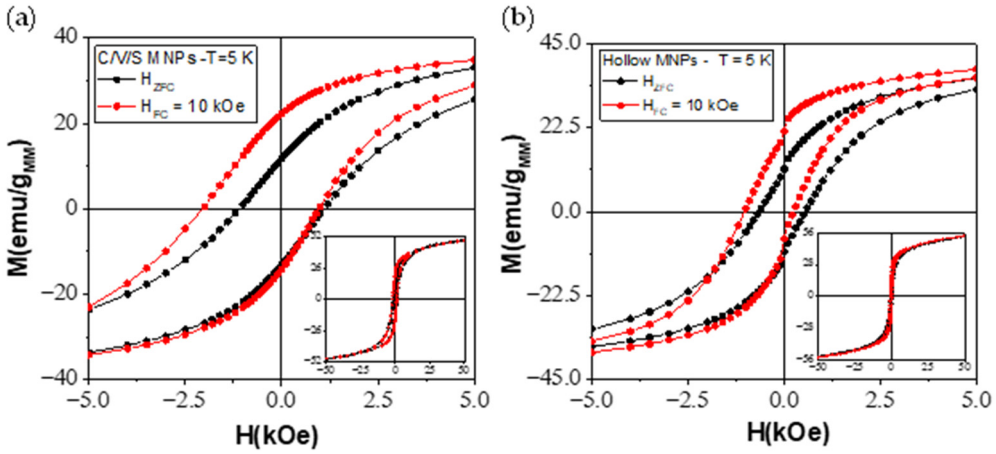

Figure 5. Hysteresis loops of (**a**) core/void/shell MNPs and (**b**) iron oxide hollow MNPs at 5 K cooled without field (ZFC, black points) and with H_{FC} = 10 kOe (FC, red points) in the range of −50 kOe and 50 kOe. For clarity only the range between −5 kOe and 5 kOe is shown. Insets: Complete hysteresis loops. A hysteresis loop shift is observed in both X (field) and Y (magnetization) axes, indicating the presence of EB.

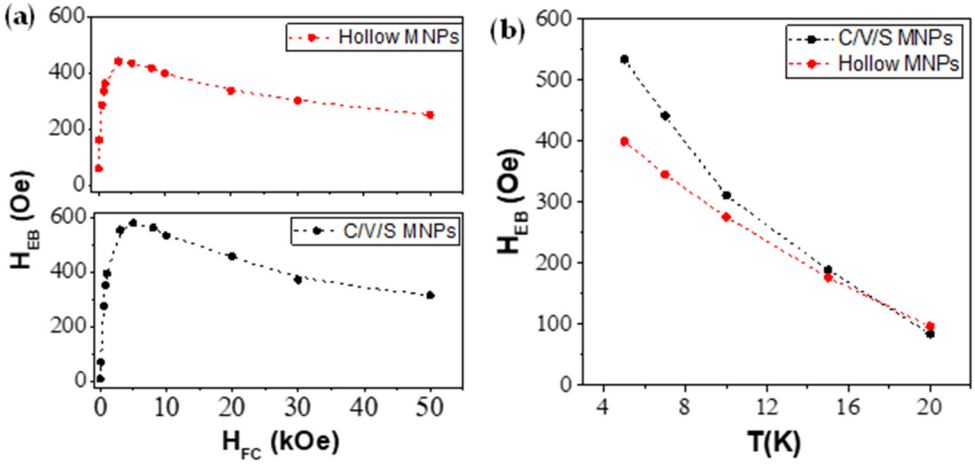

Figure 6. (**a**) Exchange bias field (H_{EB}) measured at 5 K for core/void/shell (black dots) and hollow MNPs (red dots) as a function of the cooling fields (H_{FC}). (**b**) Exchange bias field (H_{EB}) for core/void/shell (black dots) and hollow MNPs (red dots) as a function of the temperature (T = 5–20 K).

Since EB is a phenomenon that occurs at low temperatures, the temperature dependence must be studied. Accordingly, magnetic measurements under FC conditions were carried out using a H_{FC} = 10 kOe and different temperatures, 5, 7, 10, 15, and 20 K. Figure 6b shows the H_{EB} dependence with temperature of C/V/S MNPs (black points) and hollow MNPs (red points). Both MNPs show a decrease in H_{EB} with temperature from the corresponding maximum values at 5 K (534.5 Oe for C/V/S and 400.0 Oe for hollow MNPs with H_{FC} = 10 kOe) to an approximate value of 100 Oe at 20 K. This shows that although H_{EB} is produced below the Néel temperature, the H_{EB} is drastically reduced with increasing temperature.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

It has been reported that the morphology of MNPs plays an important role in EB generation. In core/shell MPNs, an exchange coupling between the core and shell components has been reported. A hysteresis loop shift has been observed in core/shell FeO/Fe_3O_4 MNPs with sizes between 10 and 35 nm and with surface-to-volume ratios between 0.60 and 0.17 [26,29–31]. In this case, the core features antiferromagnetic properties, while the shell features ferrimagnetic properties. As can be seen in Table 2, a direct relationship between the size of the particles and the H_{EB} value was not observed. Interestingly, an EB phenomenon was obtained in MNPs as large as 35 nm. This shows that EB is generated by the core–shell coupling because the size of the FeO/Fe_3O_4 MNPs is sufficiently high for the surface effects to not be noticeable. In addition, EB was reported in MNPs formed by a non-oxidized Fe core (ferromagnetic) and an Fe_3O_4 shell (ferrimagnetic) with D_T = 14 nm and δ_S = 2.5 nm [23]. Even though all these MNPs feature large H_{EB} values and EB generation is dominated by the core–shell, the transformation in hollow MNPs has not been studied. Therefore, core/void/shell MNPs formed prior to hollow MNP formation should be studied to better understand EB generation. These MNPs are formed by three surface layers, corresponding to the shell and the core. This leads to a higher surface-to-volume ratio and surface effects begin to play an important role. For this reason, it is important to note that the core/void/shell MNPs presented here feature a much higher surface-to-volume ratio (0.9) than the Fe/Fe_3O_4 MNPs shown in Table 2, even those with a smaller size (FeO/Fe_3O_4 MNPs of 10 nm with S/V = 0.6).

Table 2. Total diameter (D_T), shell thickness (δ_S), hysteresis loop shift (H_{EB}), and surface-to-volume ratio(S/V) values of iron oxide-based core/shell MNPs.

Core/Shell	Void?	d_T (nm)	δ_S (nm)	H_{EB} (Oe)	S/V	Ref
FeO/Fe_3O_4	No	10.1	0.6	1700	0.60	[26]
FeO/Fe_3O_4	No	14	3.5	471	0.43	[31]
FeO/Fe_3O_4	No	18	~6	~1000	0.33	[46]
FeO/Fe_3O_4	No	35	4	2260	0.17	[30]
Fe/Fe_3O_4	No	13.8	2.5	1190	0.43	[23]
C/V/S MNPs	Yes	11.9	2.4	581.5	0.9	Present Study

The hollow MNPs were only studied after the Fe core oxidation in the precursor C/V/S MNPs. However, the H_{EB} values obtained were significantly low and a study on the EB properties in C/V/S MNPs was not carried out. In addition, the H_{EB} value observed in these hollow MNPs is practically negligible [23,33] Here, a study of the EB effect in core/void/shell MNPs was carried out to understand which mechanisms affect EB generation in hollow MNPs.

On the other hand, a hysteresis loop shift in hollow γ-Fe_2O_3 MNPs (either a minor loop or an intrinsic EB effect) was reported (Table 3). The γ-Fe_2O_3 MNPs with a total diameter of D_T = 8.1 nm and shell thickness of δ_S = 1.6 nm showed a high hysteresis loop shift of 3000 Oe. However, since the maximum applied field is smaller than the irreversibility field, this shift is a minor loop and not an EB effect [37]. Similar behavior was reported in the γ-Fe_2O_3 MNPs with D_T = 9.2 nm and δ_S = 2 nm. In this case, the hysteresis loop shift was attributed to the high number of disoriented spins on the shell surface and at the interfaces of the crystallographic domains [34]. Furthermore, a minor loop effect was also observed in the γ-Fe_2O_3 MNPs with D_T = 9.4 nm and δ_S = 1.9 nm [32]. These three systems, with similar sizes and shell thicknesses, show that in smaller hollow MNPs, in which there is a greater number of disordered spins on the surface than in larger hollow systems, the hysteresis loops shift corresponds to a minor loop effect and not a EB phenomenon. A minor loop effect has also been reported in γ-Fe_2O_3 MNPs with a larger size (D_T = 14.7 nm and δ_S = 3.2 nm). In addition, due to surface effects, all these MNPs present low magnetization values.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 3. Total diameter (D_T), shell thickness (δ_S), hysteresis loop shift values (H_{EB}), type of hysteresis loop shift, and surface-to-volume ratio (S/V) of iron-oxide-based hollow MNPs.

Hollow	d_T (nm)	δ_S (nm)	H_{EB} (Oe)	Type	S/V	Ref
γ-Fe_2O_3	8.1	1.6	~3000	Minor Loop	1.29	[37]
γ-Fe_2O_3	9.2	2	-	Minor Loop	1.05	[34]
γ-Fe_2O_3	9.4	1.9	~5000	Minor Loop	1.10	[32]
γ-Fe_2O_3	14.7	3.2	~7000	Minor Loop	0.66	[32]
γ-Fe_2O_3	18.7	4.5	960	EB	0.47	[34]
Fe_3O_4	16.0	4.5	133	EB	0.49	[23]
Iron Oxide	13.2	3.7	444	EB	0.6	Present Study

In this work, iron oxide-based hollow MNPs with D_T = 13.2 nm and δ_S = 4.5 nm and with surface-to-volume values of 0.6 are presented, showing an intrinsic EB phenomenon with enhanced magnetization. To this end, a complete study of the role played by interfacial and surface spins in the EB generation must be carried out both in hollow MNPs and in the precursor C/V/S MNPS prior to the complete oxidation of the Fe core.

3.4. Role of Surface Spins

In order to determine the role of surface spins in the magnetic properties of MNPs, the superparamagnetic (SPM) and paramagnetic (PM) contributions of the MNPs were studied. The experimental data are fitted according to the Langevin function with an added linear term corresponding to the PM contribution:

$$M(H) = M_S^{SPM}\left[\coth\left(\frac{\mu H}{K_B T}\right) - \left(\frac{\mu H}{K_B T}\right)^{-1}\right] + C^{PM}H \quad (3)$$

where M_S^{SPM} is the saturation magnetization of the SPM component, μ is the average magnetic moment of the MNPs, C^{PM} is the susceptibility of the paramagnetic contribution, and H is the magnetic field. Figure 7a,b shows the initial magnetization at 300 K of C/V/S and hollow MNPs, respectively.

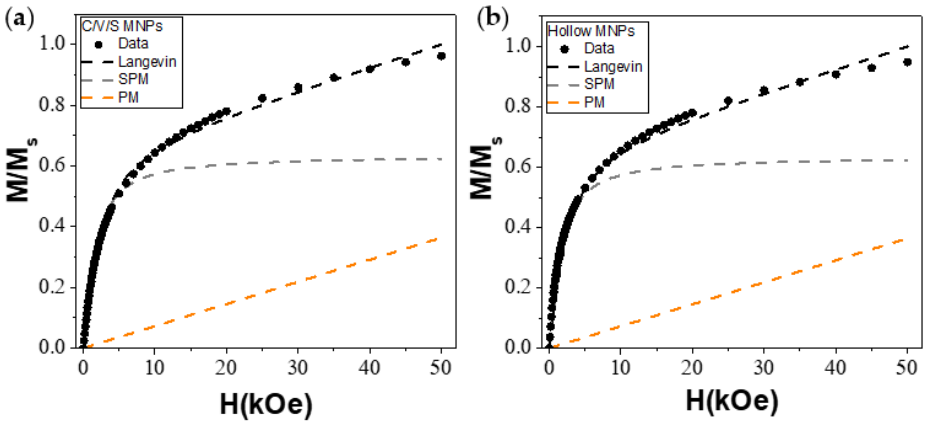

Figure 7. Initial magnetization curve at 300 K of (**a**) core/void/shell and (**b**) hollow iron oxide MNPs fitted to Equation (3). The black, gray, and orange dashed curves represent the Langevin fit and the SPM and PM contributions, respectively.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

As can be seen from the experimental data (black points) and the Langevin fit (black dashed line) of the C/V/S and hollow MNPs, respectively, the SPM contribution (gray dashed line), corresponding to the inner spins, and the PM contribution (orange dashed

line), corresponding to the surface spins, were obtained. From these fits, SPM contributions of 76 and 73% for C/V/S and hollow MNPs, respectively, were obtained. On the other hand, PM contributions represented 23% and 26% for C/V/S and hollow MNPs, respectively.

From these results, it is possible to conclude that a significant number of surface spins in both MNPs play an important role in the magnetic properties. In turn, the greater number of surface spins present in the hollow MNPs (26%) may be due to the larger shell size of the hollow MNPs. At low temperatures, these spins may enter a spin-glass-like state, whose exchange coupling with the ordered spins generates an EB effect. The spin-glass-like behavior was inferred from the AC measurements by the Φ parameter. Values of Φ below 0.06 demonstrate spin-glass-like behavior in MNPs [32]. Values of 0.04 and 0.05 were obtained for the core/void/shell and hollow MNPs, respectively, showing spin-glass behavior (See Supporting Information).

However, the higher surface-to-volume ratio of the C/V/S (S/V = 0.9) compared to the hollow MNPs (S/V = 0.6) indicates a greater surface area due to the additional surface area of the Fe core. This suggests the greater role of the surface spins located in the shell in the magnetic properties of the MNPs than the role of the surface spins located in the Fe core, which were negligible. Based on the surface area of the inner and outer surfaces of the hollow MNPs, an estimation of the % of surface spins corresponding to each surface was carried out. Values of 21.8 and 4.2% for the external and internal surface spins, respectively, were obtained in the hollow MNPs, showing the significant contribution of the surface spins of the external layer. In addition, the effect of the inner surface spins was studied by comparing the EB phenomenon in the solid and hollow MNPs. Figure S2 shows a comparison between the hysteresis loops of the solid iron oxide MNPs (black points) and the hollow MNPs (red points) under FC conditions (H_{FC} = 10 kOe) at 5 K. A significant reduction in the PM contribution was observed in the solid MNPs. Considering the similar amount of surface spins in the external layer in both MNPs, the importance of the additional internal surface spin layer in the magnetic properties and in the EB generation was demonstrated. Although H. Khurshid et al. [34] have discussed the effect of surface internal spins in this way, the multiple phenomena in EB generation, such as the exchange coupling of frozen spins from internal nanograins, do not allow a clear differentiation between the internal and external spins' contribution in EB. Therefore, more experimental studies must be carried out.

In a similar study, the contribution of the SPM and PM components was obtained in 9.2 nm and 18.7 nm γ-Fe_2O_3 hollow MNPs. In this case, PM contributions of 87% (9.2 nm) and 3% (18.7 nm) were obtained. An increase in the linear component of magnetization (and a greater number of surface spins) was demonstrated due to the reduction in the thickness of the shell [34]. For this reason, a lower PM contribution was observed on the magnetic properties of Fe/Fe_3O_4 MNPs and hollow Fe_3O_4 MNPs of 13.8 and 16.0 nm, respectively, by Ong et al. [33] than in our MNPs of smaller sizes (11.9 nm for C/V/S and 13.2 nm for hollow MNPs). Thus, the significantly lower values obtained in the 16.0 nm hollow Fe_3O_4 MNPs (H_{EB} = 133 Oe) than in our hollow MNPs (H_{EB} = 444 Oe) highlight the importance of surface spins to the improvement the EB properties of hollow iron oxide MNPs.

3.5. Remanence (M_R) and Coercivity (H_C) Dependence with Cooling Field (H_{FC})

A study of the remanence (M_R) and coercive force (H_C) dependence with H_{FC} was carried out with the aim of understanding the EB generation process. Figure 8a shows the M_R dependence with H_{FC} of the C/V/S MNPs (black dots) and hollow MNPs (red dots). For small fields, M_R increases with H_{FC}. However, from $H_{FC} \geq 20$ kOe, a maximum value was reached, and M_R remained constant. This indicates that the sample retained more magnetization by increasing H_{FC}. Figure 8b shows the H_C dependence with H_{FC} of C/V/S MNPs (black dots) and hollow MNPs (red dots). Similarly to M_R, a steep rise in H_C along with increasing H_{FC} from low values was observed. Next, a maximum value of H_C was

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

reached, followed by a decrease for larger H_{FC}. The maximum H_C was reached at different H_{FC} for each MNP: 5 kOe for the C/V/S MNPs and 3 kOe for the hollow MNs.

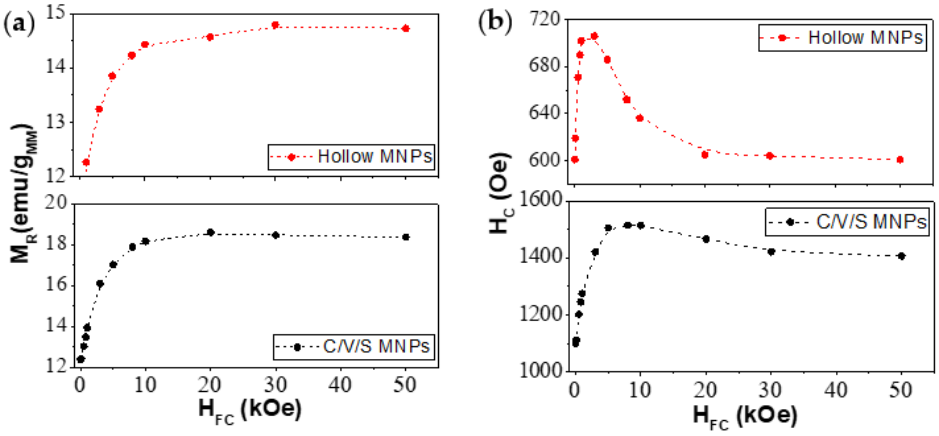

Figure 8. (**a**) Remanent magnetization (M_R) and (**b**) coercivity (H_C) measured at 5 K for core/void/shell (black dots) and hollow MNPs (red dots) as a function of the cooling field (H_{FC}).

Two different regions were observed in the M_R, H_C, and H_{EB} dependence with H_{FC}. In the first region, for low H_{FC}, where M_R, H_C, and H_{EB} increase with H_{FC}. A preferential direction, along which the magnetic moments tended to freeze at 5 K, was induced by the cooling field. Therefore, the exchange anisotropy was not averaged out (as in ZFC conditions) and a net exchange bias effect was observed. However, for high H_{FC}, the coupling between the magnetic moments and the H_{FC} (Zeeman coupling) was no longer negligible compared to the exchange coupling existing in the MNPs. Thus, the energy associated with the exchange interactions was not minimized due to Zeeman coupling, generating a decrease in H_C and H_{EB} [42]. This Zeeman coupling was greater as H_{FC} increased. It can be seen how the maximum of H_{EB} was different in both MNPs, suggesting that the Zeeman coupling begins to be noticeable at lower H_{FC} in hollow MNPs. In the hollow MNPs, the first region in which M_R, H_C, and H_{EB} increased with H_{FC} was produced for $H_{FC} < 3$ kOe and in the C/V/S MNPs for $H_{FC} < 5$ kOe. This suggests that the effect of averaging of the anisotropy, due to randomness, was more reduced in the C/V/S than in the hollow MNPs.

3.6. Frozen Spins Behavior

In order to understand the behavior of the exchange coupling in both MNPs and their dependence on H_{FC}, a study of the number of frozen spins in the MNPs was carried out. A vertical shift in the hysteresis loop under FC conditions in the direction of the cooling field is proportional to the number of frozen spins that cannot be reversed by the measurement field [53]. The net moment of frozen spins can be quantified as:

$$M_f = \frac{1}{2}\left[M(H^+) - M(H^-)\right] \quad (4)$$

Here the positive direction is the direction of the cooling field. M_f studies were carried out using different H_{FC} and different temperatures of both C/V/S and hollow MNPs to understand the role of frozen spins in the EB generation.

Figure 9a shows the relative magnitude of the frozen moment ($M_f/M(H^+)$) for the C/V/S MNPs (black points) and hollow MNPs (red points). Similar trends in both MNPs were observed. The number of frozen spins showed a drastic increase as the value of the cooling field increased. Subsequently, the number of spins reached a maximum value that did not correspond to the H_{FC}. Once this maximum was reached, the number of frozen spins began to decrease. This fact indicates that the irreversible spins began to reverse their moment due to the high magnetic field applied. This fact agrees with the trends observed

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

for H_C and H_{EB}, whose values reached a maximum due to the Zeeman coupling. The $M_f/M(H^+)$ maximum was 18% (for H_{FC} = 10 kOe) and 34% (for H_{FC} = 8 kOe) for the C/V/S MNPs and hollow MNPs, respectively, demonstrating the presence of exchange coupling in both MNPs. The core/void/shell MNPs did not present a direct exchange coupling, but rather discontinuously, due to the presence of gaps between the core and the shell; it must be considered that exchange coupling is a short-range interaction and decays exponentially with distance [33]. However, exchange interactions between the Fe core and the iron oxide shell cannot be totally ruled out. On the other hand, the hollow MNPs did not present said Fe core and the presence of frozen spins cannot be explained in this way. This result, together with the HRTEM images, allows us to show that the shell of the C/V/S and the hollow MNPs was formed by nanograins that were coupled to each other. This coupling was, in part, responsible of the EB generation in the hollow MNPs and it is presented as an alternative to classic EB generation, which is produced by two magnetically different materials. The higher number of frozen spins in the hollow MNPs may have been due to the larger size of the shell (3.7 nm for the hollow MNPs and 2.4 nm for the C/V/S MNPs) and, therefore, of the nanograins that formed the shell. In addition, the presence of the Fe core in the C/V/S MNPs formed by reversible spins must be considered. This number of reversible spins present in the Fe core could counteract the frozen spins in C/V/S MNPs and, therefore, the percentage of frozen spins in C/V/S MNPs was lower.

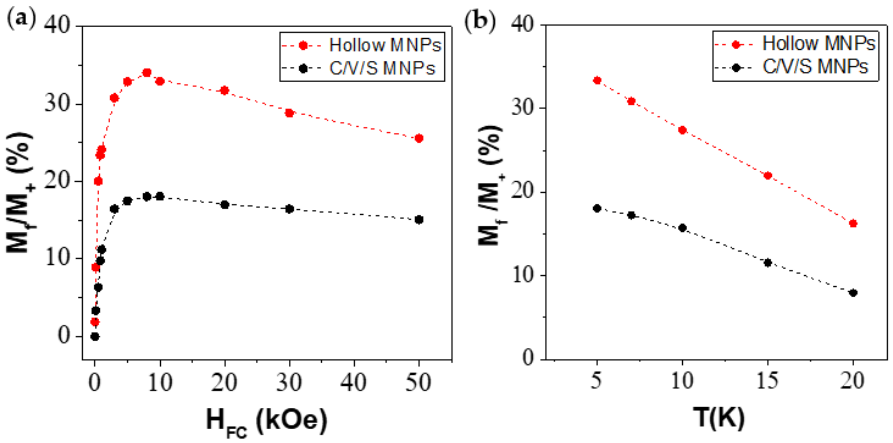

Figure 9. (**a**) Relative magnitude of frozen moment ($M_f/M(H^+)$) measured at 5 K for C/V/S (black dots) and hollow MNPs (red dots) as a function of the cooling field (H_{FC}). (**b**) Relative magnitude of frozen moment ($M_f/M(H^+)$)) for C/V/S (black dots) and hollow MNPs (red dots) as a function of the temperature (T = 5–20 K).

Figure 9b shows the temperature dependence of ($M_f/M(H^+)$) for the C/V/S MNPs (red points) and hollow MNPs (black points). In the hollow MNPs, a decrease from 33 to 16% was observed when the temperature increased from 5 to 20 K. On the other hand, the C/V/S MNPs showed a decrease from 18 to 8% at the same temperatures. This decrease was also observed in H_{EB}, showing the importance of interfacial spins in EB generation.

Based on these results, a spin distribution for both MNPs is proposed, with the aim of shedding light on EB generation. Figure 10 shows a diagram of the spin distribution of (a) C/V/S and (b) hollow MNPs. The presence of two layers of surface spin in the shells of the MNPs is suggested. From the percentage of surface spins (23% for C/V/S and 26% for hollow MNPs), a similar distribution and effect on EB generation in these spins in both MNPs can be inferred. The surface spin contribution in EB generation, when entering a spin-glass-like state, should not be ignored, due to the high values obtained. Compared to the work reported by Ong et al. [23], a key role of surface spins to inducing an improvement in H_{EB} was observed. Furthermore, the results obtained from the frozen spins show a nanograin structure in the shell of the MNPs whose spins were coupled to each other. Due to the presence of the Fe core reversible spins, a lower percentage of frozen spins in C/V/S

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

MNPs was obtained. However, the EB generation process due to the frozen spins of the nanograins must be similar in both MNPs. The significant difference resides in the presence of the Fe core. In the C/V/S MNPs, there was a discontinuous coupling between the Fe (FM) core and the iron oxide (FI) shell, which was responsible for the higher H_{EB} values obtained in the C/V/S MNPs. However, this coupling did not dominate in the generation of EB, since the H_{EB} values obtained were not significantly higher.

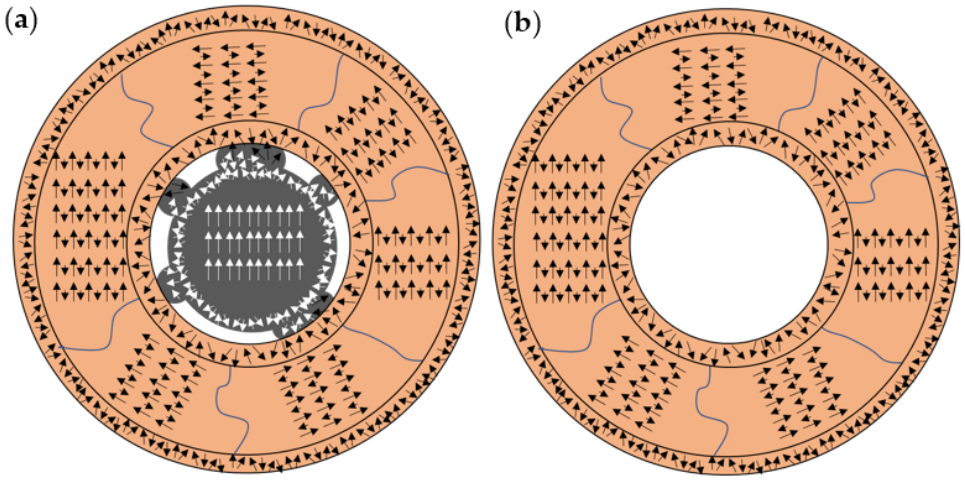

Figure 10. Schematic illustration of the different spin arrangements in (**a**) core/void/shell and in (**b**) hollow MNPs, with inner magnetic domains, external surfaces (inner and outer), and core magnetic domain.

4. Conclusions

In summary, we presented the study of the intrinsic EB effect on iron oxide (with Fe_3O_4 or γ-Fe_2O_3 as the main magnetic phase) hollow MNPs (H_{EB} = 444 Oe) with improved magnetization (50 emu/g) within an extended range of H_{FC} (from 0.1 to 50 kOe). The number of surface spins present in the hollow MNPs and in the precursors with core/void/shell structure were studied. The important role of the surface spins in the magnetic properties of MNPs and, in turn, in the enhancement of H_{EB} in hollow MNPs, was inferred. On the other hand, the dependence of frozen spins on the cooling field and temperature was measured and found to be similar to the relationship between H_{EB} with $H_{FC.}$ This highlighted the notable influence of frozen spins on EB generation. Moreover, the relationship between H_{EB} and a large interval of cooling fields revealed the maximum H_{EB} values at particular H_{FC} and showed new trends, not reported so far, in iron-oxide-based hollow MNPs. Therefore, this finding can be useful in the design of hollow iron oxide MNPs with $H_{EB\text{-}max}$ and $H_{FC\text{-}max}$ for in-demand applications.

Supplementary Materials: The following are available online at https://www.mdpi.com/article/10.3390/nano12030456/s1. Figure S1: Temperature dependence of the real component χ'(T) of (**a**) C/V/S MNPs and (**b**) hollow MNPs at 1 Oe. Insets show the imaginary component χ''(T) of the magnetic susceptibility of C/V/S MNPs and hollow MNPs; Figure S2: Hysteresis loops of solid iron oxide based MNPs (black points) and hollow iron oxide based MNPs (red points) at 5 K and with H_{FC} = 10 kOe in the range of (**a**) −50 and 50 kOe. For clarity the range between −5 and 5 kOe is shown in (**b**).

Author Contributions: Conceptualization—P.G.A. and Y.P.; supervision and formal analysis—Y.P.; writing—P.G.A., M.A.G.G., Á.A.P., J.S.G., Y.P. and J.R.; investigation and development—P.G.A., M.A.G.G., Á.A.P. and J.S.G.; supervision and group direction: J.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Funding: This work was supported by the European Commission under the BOW project, (FETPROACT-EIC-05-2019, Grant 952183), and partially supported by the Spanish Ministry of Science and Innovation (PID2020-112626RB-C21), Modalities «Research Challenges» and «Knowledge Generation»,

and the Regional Consellería de Innovacion Program for the Grupos de Referencia Competitiva 2021—GRC2021 project of Xunta de Galicia.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: The authors would like to thank Susana Yañez Vilar for her help with the magnetic characterizations.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Binek, C.; Hochstrat, A.; Chen, X.; Borisov, P.; Kleemann, W.; Doudin, B. Electrically controlled exchange bias for spintronic applications. *J. Appl. Phys.* **2005**, *97*, 10. [CrossRef]
2. Wei, Z.; Sharma, A.; Nunez, A.S.; Haney, P.M.; Duine, R.A.; Bass, J.; MacDonald, A.H.; Tsoi, M. Changing Exchange Bias in Spin Valves with an Electric Current. *Phys. Rev. Lett.* **2007**, *98*, 116603. [CrossRef] [PubMed]
3. De Araujo, C.I.L.; Alves, S.G.; Buda-Prejbeanu, L.D.; Dieny, B. Multilevel Thermally Assisted Magnetoresistive Random-Access Memory Based on Exchange-Biased Vortex Configurations. *Phys. Rev. Appl.* **2016**, *6*, 024015. [CrossRef]
4. Skumryev, V.; Stoyanov, S.; Zhang, Y.; Hadjipanayis, G.; Givord, D.; Nogues, J. Beating the superparamagnetic limit with exchange bias. *Nature* **2003**, *423*, 850–853. [CrossRef] [PubMed]
5. Phan, M.H.; Alonso, J.; Khurshid, H.; Lampen-Kelley, P.; Chandra, S.; Stojak Repa, K.; Nemati, Z.; Das, R.; Iglesias, Ó.; Srikanth, H. Exchange Bias Effects in Iron Oxide-Based Nanoparticle Systems. *Nanomaterials* **2016**, *6*, 221. [CrossRef]
6. Nogues, J.; Lederman, D.; Moran, T.J.; Schuller, I.K. Positive Exchange Bias in FeF2-Fe Bilayers. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *76*, 4624–4627. [CrossRef]
7. Baltz, V.; Sort, J.; Landis, S.; Rodmacq, B.; Dieny, B. Tailoring Size Effects on the Exchange Bias in Ferromagnetic-Antiferromagnetic <100 nmNanostructures. *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *94*, 117201. [CrossRef]
8. Vasilakaki, M.; Trohidou, K.N. Numerical study of the exchange-bias effect in nanoparticles with ferromagnetic core/ferrimagnetic disordered shell morphology. *Phys. Rev. B* **2009**, *79*, 144402. [CrossRef]
9. Troitiño, N.F.; Rivas-Murias, B.; Rodríguez-González, B.; Salgueiriño, V. Exchange Bias Effect in CoO@Fe_3O4 Core–Shell Octahedron-Shaped Nanoparticles. *Chem. Mater.* **2014**, *26*, 5566–5575. [CrossRef]
10. Meiklejohn, W.H.; Bean, C.P. New Magnetic Anisotropy. *Phys. Rev.* **1957**, *105*, 904–913. [CrossRef]
11. Vázquez-Vázquez, C.; López-Quintela, M.A.; Buján-Núñez, M.D.C.; Rivas, J. Finite size and surface effects on the magnetic properties of cobalt ferrite nanoparticles. *J. Nanopart. Res.* **2011**, *13*, 1663–1676. [CrossRef]
12. Rinaldi-Montes, N.; Gorria, P.; Martínez-Blanco, D.; Fuertes, A.B.; Barquín, L.F.; Puente-Orench, I.; Blanco, J.A. Bridging exchange bias effect in NiO and Ni(core)@NiO(shell) nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.* **2016**, *400*, 236–241. [CrossRef]
13. Kachkachi, H.; Ezzir, A.; Noguès, M.; Tronc, E. Surface effects in nanoparticles: Application to maghemite -Fe O. *Eur. Phys. J. B* **2000**, *14*, 681–689. [CrossRef]
14. Fiorani, D.; Testa, A.M.; Tronc, E.; Lucari, F.; D'Orazio, F.; Nogués, M. Spin freezing in maghemite nanoparticle systems. *J. Magn. Magn. Mater.* **2001**, *226–230*, 1942–1944. [CrossRef]
15. Brice-Profeta, S.; Arrio, M.-A.; Tronc, E.; Menguy, N.; Letard, I.; Moulin, C.C.D.; Noguès, M.; Chanéac, C.; Jolivet, J.-P.; Sainctavit, P. Magnetic order in nanoparticles: A XMCD study. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *288*, 354–365. [CrossRef]
16. Dormann, J.; Cherkaoui, R.; Spinu, L.; Noguès, M.; Lucari, F.; D'Orazio, F.; Fiorani, D.; García-Santiago, A.; Tronc, E.; Jolivet, J. From pure superparamagnetic regime to glass collective state of magnetic moments in γ-Fe_2O_3 nanoparticle assemblies. *J. Magn. Magn. Mater.* **1998**, *187*, L139–L144. [CrossRef]
17. Goya, G.; Berquo, T.S.; Fonseca, F.C.; Morales, M.D.P. Static and dynamic magnetic properties of spherical magnetite nanoparticles. *J. Appl. Phys.* **2003**, *94*, 3520–3528. [CrossRef]
18. Dutta, P.K.; Pal, S.C.; Seehra, M.S.; Shah, N.; Huffman, G.P. Size dependence of magnetic parameters and surface disorder in magnetite nanoparticles. *J. Appl. Phys.* **2009**, *105*, 07B501. [CrossRef]
19. Zysler, R.; Winkler, E.; Mansilla, M.V.; Fiorani, D. Surface effect in the magnetic order of antiferromagnetic nanoparticles. *Phys. B Condens. Matter* **2006**, *384*, 277–281. [CrossRef]
20. Ghoshani, M.; Sánchez, E.H.; Lee, S.S.; Singh, G.; Yaacoub, N.; Peddis, D.; Mozaffari, M.; Binns, C.; De Toro, J.A.; Normile, P.S. On the detection of surface spin freezing in iron oxide nanoparticles and its long-term evolution under ambient oxidation. *Nanotechnology* **2021**, *32*, 065704. [CrossRef]
21. Shendruk, T.; Desautels, R.; Southern, B.W.; van Lierop, J. The effect of surface spin disorder on the magnetism of γ-Fe_2O_3 nanoparticle dispersions. *Nanotechnology* **2007**, *18*, 455704. [CrossRef]
22. Martínez, B.; Obradors, X.; Balcells, L.; Rouanet, A.; Monty, C. Low Temperature Surface Spin-Glass Transition in γ-Fe_2O_3 Nanoparticles. *Phys. Rev. Lett.* **1998**, *80*, 181–184. [CrossRef]

23. Ong, Q.K.; Wei, A.; Lin, X.-M. Exchange bias inFe/Fe_3O4 core-shell magnetic nanoparticles mediated by frozen interfacial spins. *Phys. Rev. B* **2009**, *80*, 134418. [CrossRef]
24. Sayed, F.; Labaye, Y.; Hassan, R.S.; Hassan, F.E.H.; Yaacoub, N.; Greneche, J.-M. Size and thickness effect on magnetic structures of maghemite hollow magnetic nanoparticles. *J. Nanopart. Res.* **2016**, *18*, 279. [CrossRef]
25. Khurshid, H.; Phan, M.-H.; Mukherjee, P.; Srikanth, H. Tuning exchange bias in Fe/γ-Fe_2O_3 core-shell nanoparticles: Impacts of interface and surface spins. *Appl. Phys. Lett.* **2014**, *104*, 072407. [CrossRef]
26. Khurshid, H.; Li, W.; Chandra, S.; Phan, M.-H.; Hadjipanayis, G.C.; Mukherjee, P.; Srikanth, H. Mechanism and controlled growth of shape and size variant core/shell FeO/Fe_3O4 nanoparticles. *Nanoscale* **2013**, *5*, 7942–7952. [CrossRef]
27. Hwang, Y.; Angappane, S.; Park, J.; An, K.; Hyeon, T.; Park, J.-G. Exchange bias behavior of monodisperse Fe_3O4/γ-Fe_2O_3 core/shell nanoparticles. *Curr. Appl. Phys.* **2012**, *12*, 808–811. [CrossRef]
28. Panagiotopoulos, I.; Basina, G.; Alexandrakis, V.; Devlin, E.; Hadjipanayis, G.; Colak, L.; Niarchos, D.; Tzitzios, V. Synthesis and Exchange Bias in γ-Fe_2O_3/CoO and Reverse CoO/γ-Fe_2O_3 Binary Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 14609–14614. [CrossRef]
29. Lak, A.; Kraken, M.; Ludwig, F.; Kornowski, A.; Eberbeck, D.; Sievers, S.; Litterst, F.J.; Weller, H.; Schilling, M. Size dependent structural and magnetic properties of FeO–Fe_3O4 nanoparticles. *Nanoscale* **2013**, *5*, 12286–12295. [CrossRef]
30. Sun, X.; Huls, N.F.; Sigdel, A.; Sun, S. Tuning Exchange Bias in Core/Shell FeO/Fe_3O4 Nanoparticles. *Nano Lett.* **2012**, *12*, 246–251. [CrossRef]
31. Kavich, D.W.; Dickerson, J.H.; Mahajan, S.V.; Hasan, S.A.; Park, J.-H. Exchange bias of singly inverted FeO/Fe_3O4 core-shell nanocrystals. *Phys. Rev. B* **2008**, *78*, 174414. [CrossRef]
32. Nemati, Z.; Khurshid, H.; Alonso, J.; Phan, M.H.; Mukherjee, P.; Srikanth, H. From core/shell to hollow Fe/γ-Fe_2O_3 nanoparticles: Evolution of the magnetic behavior. *Nanotechnology* **2015**, *26*, 405705. [CrossRef] [PubMed]
33. Ong, Q.K.; Lin, X.-M.; Wei, A. Role of Frozen Spins in the Exchange Anisotropy of Core−Shell Fe@Fe_3O4 Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 2665–2672. [CrossRef] [PubMed]
34. Khurshid, H.; Li, W.; Phan, M.H.; Mukherjee, P.; Hadjipanayis, G.C.; Srikanth, H. Surface spin disorder and exchange-bias in hollow maghemite nanoparticles. *Appl. Phys. Lett.* **2012**, *101*, 022403. [CrossRef]
35. Jaffari, G.H.; Ceylan, A.; Bui, H.P.; Beebe, T.P., Jr.; Ozcan, S.; Shah, S.I. Non-equilibrium cation distribution and enhanced spin disorder in hollow CoFe2O4nanoparticles. *J. Phys. Condens. Matter* **2012**, *24*, 336004. [CrossRef]
36. Jaffari, G.H.; Ceylan, A.; Ni, C.; Shah, S.I. Enhancement of surface spin disorder in hollow $NiFe_2O_4$ nanoparticles. *J. Appl. Phys.* **2010**, *107*, 13910. [CrossRef]
37. Cabot, A.; Alivisatos, A.P.; Puntes, V.F.; Balcells, L.; Iglesias, Ò.; Labarta, A. Magnetic domains and surface effects in hollow maghemite nanoparticles. *Phys. Rev. B* **2009**, *79*, 094419. [CrossRef]
38. Sayed, F.; Yaacoub, N.; Labaye, Y.; Hassan, R.S.; Singh, G.; Kumar, P.A.; Greneche, J.M.; Mathieu, R.; Hadjipanayis, G.C.; Agostinelli, E.; et al. Surface Effects in Ultrathin Iron Oxide Hollow Nanoparticles: Exploring Magnetic Disorder at the Nanoscale. *J. Phys. Chem. C* **2018**, *122*, 7516–7524. [CrossRef]
39. Iglesias, O.; Labarta, A.; Batlle, X. Exchange Bias Phenomenology and Models of Core/Shell Nanoparticles. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2008**, *8*, 2761–2780. [CrossRef]
40. Mumtaz, A.; Maaz, K.; Janjua, B.; Hasanain, S.; Bertino, M. Exchange bias and vertical shift in CoFe2O4 nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.* **2007**, *313*, 266–272. [CrossRef]
41. Wang, H.; Zhu, T.; Zhao, K.; Wang, W.N.; Wang, C.S.; Wang, Y.J.; Zhan, W.S. Surface spin glass and exchange bias in Fe_3O4 nanoparticles compacted under high pressure. *Phys. Rev. B* **2004**, *70*, 092409. [CrossRef]
42. Del Bianco, L.; Fiorani, D.; Testa, A.M.; Bonetti, E.; Signorini, L. Field-cooling dependence of exchange bias in a granular system of Fe nanoparticles embedded in an Fe oxide matrix. *Phys. Rev. B* **2004**, *70*, 052401. [CrossRef]
43. Peng, S.; Sun, S. Synthesis and Characterization of Monodisperse Hollow Fe_3O_4 Nanoparticles. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4155–4158. [CrossRef] [PubMed]
44. Brand, R.A. Normos Mössbauer Fitting Program. Univ.Duisburg. 2002. Available online: https://www.uni-due.de/~{}hm236ap/keune/deutsch/Bran/r.a.brand.homepage.htm#Normos (accessed on 21 January 2022).
45. Coker, V.S.; Bell, A.M.T.; Pearce, C.I.; Pattrick, R.A.; van der Laan, G.; Lloyd, J. Time-resolved synchrotron powder X-ray diffraction study of magnetite formation by the Fe(III)-reducing bacterium Geobacter sulfurreducens. *Am. Mineral.* **2008**, *93*, 540–547. [CrossRef]
46. Swanson, H.E.; McMurdie, H.F.; Morris, M.C.; Evans, E.H. *Standard X-ray Diffraction Powder Patterns*; U.S. Department of Commerce, National Bureau of Standards: Gaithersburg, MD, USA, 1967. [CrossRef]
47. Maity, D.; Choo, S.G.; Yi, J.; Ding, J.; Xue, J.M. Synthesis of magnetite nanoparticles via a solvent-free thermal decomposition route. *J. Magn. Magn. Mater.* **2009**, *321*, 1256–1259. [CrossRef]
48. Berti, I.O.P.D.; Cagnoli, M.V.; Pecchi, G.; Alessandrini, J.L.; Stewart, S.J.; Bengoa, J.F.; Marchetti, S.G. Alternative low-cost approach to the synthesis of magnetic iron oxide nanoparticles by thermal decomposition of organic precursors. *Nanotechnology* **2013**, *24*, 175601. [CrossRef]
49. Wang, L.; Bao, J.; Wang, L.; Zhang, F.; Li, Y. One-Pot Synthesis and Bioapplication of Amine-Functionalized Magnetite Nanoparticles and Hollow Nanospheres. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6341–6347. [CrossRef]

50. Singh, L.H.; Govindaraj, R.; Amarendra, G.; Sundar, C.S. Local structure and magnetic properties of cubic iron oxide nanoparticles formed in zeolite as deduced using Mössbauer spectroscopy. *Appl. Phys. Lett.* **2013**, *103*, 193104. [CrossRef]
51. Mikhaylova, M.; Kim, D.K.; Bobrysheva, N.; Osmolowsky, M.; Semenov, V.; Tsakalakos, T.; Muhammed, M. Superparamagnetism of Magnetite Nanoparticles: Dependence on Surface Modification. *Langmuir* **2004**, *20*, 2472–2477. [CrossRef]
52. Joos, A.; Rümenapp, C.; Wagner, F.E.; Gleich, B. Characterisation of iron oxide nanoparticles by Mössbauer spectroscopy at ambient temperature. *J. Magn. Magn. Mater.* **2016**, *399*, 123–129. [CrossRef]
53. Khurshid, H.; Lampen-Kelley, P.; Iglesias, O.; Alonso, J.; Phan, M.-H.; Sun, C.-J.; Saboungi, M.-L.; Srikanth, H. Spin-glass-like freezing of inner and outer surface layers in hollow γ-Fe_2O_3 nanoparticles. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 15054. [CrossRef] [PubMed]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

nanomaterials

MDPI

Supporting Information

Significant Surface Spin Effects and Exchange Bias in Iron Oxide-Based Hollow Magnetic Nanoparticles

Pelayo García Acevedo [1,*], Manuel A. González Gómez [1], Ángela Arnosa Prieto [1], Jose S. Garitaonandia [2], Yolanda Piñeiro [1] and José Rivas [1,*]

[1] NANOMAG Laboratory, Applied Physics Department, iMATUS Materials Institute, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain; manuelantonio.gonzalez@usc.es (M.A.G.G.); angela.arnosa@usc.es (Á.A.P.); y.pineiro.redondo@usc.es (Y.P.)

[2] Faculty of Science and Technology, University of the Basque Country (UPV/EHU), 48940 Leioa, Spain; js.garitaonandia@ehu.eus

* Correspondence: pelayo.garcia.acevedo@usc.es (P.G.A.); jose.rivas@usc.es (J.R.); Tel.: +34-881813097 (P.G.A.); +34-881813062 (J.R.)

1. Spin-Glass-like Behaviour

The magnetic dynamics for core/void/shell (C/V/S) MNPs and hollow MNPs were studied using real $\chi'(T)$ and imaginary $\chi''(T)$ components of the AC susceptibility. Figures S1 shows the temperature dependence of the real part $\chi'(T)$ (figure S1.a for C/V/S MNPs and Figure S1b for hollow MNPs) and the imaginary part $\chi''(T)$ (Inset in figure S1.a for C/V/S MNPs and inset in figure S1.b for hollow MNPs) of the ac susceptibility at different frequencies (10, 200, 500 and 1000 Hz). These curves show a maximum for both $\chi'(T)$ and $\chi''(T)$ components, defined as T'_{max} and T''_{max}. For $\chi'(T)$ component, a shift to higher temperatures when the frequency ω increases is observed, while the value of χ' decreases. It is typical in disordered systems such as spin glasses [1]. However, $\chi'(T)$ is frequency independent at $T>T'_{max}$, indicating a superparamagnetic behaviour for both MNPs. For $\chi''(T)$ component, a shift to higher temperatures is also observed, but the value of χ'' increases. The blocking temperature, T_B, is obtained as the temperature where the maximum happens in the $\chi'(T)$ curve. The T_B values obtained are 111.61 K (ω = 10 Hz), 118.72 K (ω = 200 Hz), 119.61 K (ω = 500 Hz) and 120.50 K (ω = 1000 Hz) for C/V/S MNPs and 100.00 K (ω = 10 Hz), 108.88 K (ω = 200 Hz), 109.77 K (ω = 500 Hz) and 111.55 K (ω = 1000 Hz) for hollow MNPs.

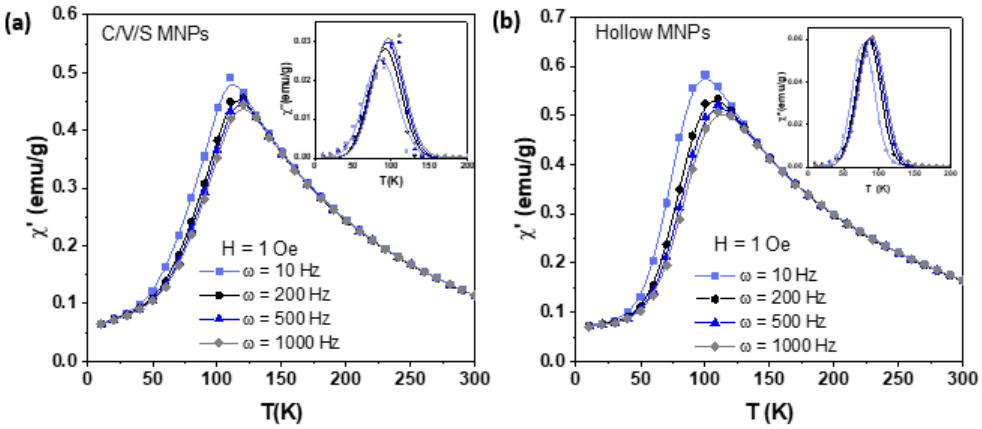

Figure S1. Temperature dependence of the real component $\chi'(T)$ of (**a**) C/V/S MNPs and (**b**) hollow MNPs at 1 Oe. Insets show the imaginary component $\chi''(T)$ of the magnetic susceptibility of C/V/S MNPs and hollow MNPs.

From AC measurements the spin-glass-like behavior of MNPs was obtained using the ϕ parameter from the relation [1]:

$$\Phi = \frac{\Delta T'_{max}}{T'_{max} \cdot \Delta \log(\omega)} \quad (S1)$$

Where $\Delta T'_{max}$ is the difference between the maximum values of T'_{max} in an interval $\Delta\log(\omega)$. Depending on the values obtained from Φ, it is possible to differentiate whether the MNPs behave as a spin-glass-like system (if Φ <0.06) [2]. In our case, values of Φ = 0.04 were obtained for C/V/S MNPs and Φ = 0.05 for hollow MNPs, suggesting a spin-glass-like surface behavior in both MNPs.

2. Hysteresis Loops under FC Conditions of Solid and Hollow Fe_3O_4 MNPs

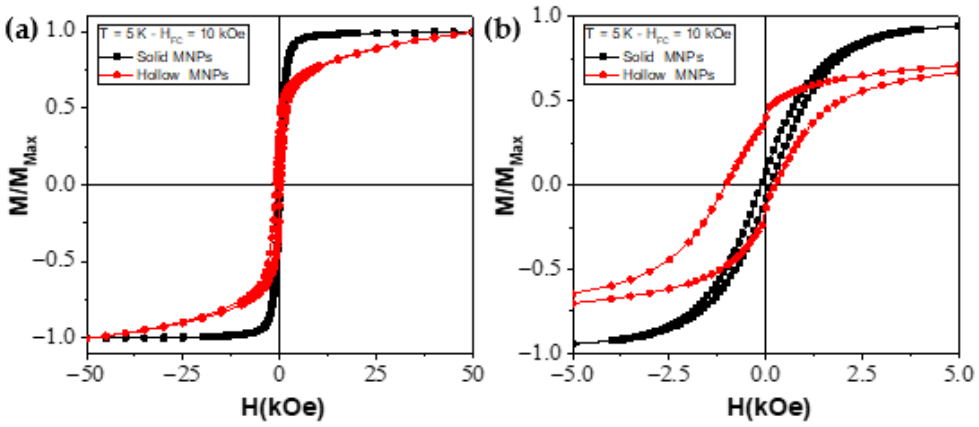

Figure S2. Hysteresis loops of solid iron oxide based MNPs (black points) and hollow iron oxide based MNPs (red points) at 5 K and with H_{FC} = 10 kOe in the range of (**a**) −50 and 50 kOe. For clarity the range between −5 and 5 kOe is shown in (**b**).

References

1. Masunaga, S.H.; Jardim, R.F.; Fichtner, P.F.P.; Rivas, J. Role of dipolar interactions in a system of Ni nanoparticles studied by magnetic susceptibility measurements. *Phys. Rev. B* **2009**, *80*, 184428, https://doi.org/10.1103/physrevb.80.184428.
2. Nemati, Z.; Khurshid, H.; Alonso, J.; Phan, M.H.; Mukherjee, P.; Srikanth, H. From core/shell to hollow Fe/γ-Fe2O3nano-particles: evolution of the magnetic behavior. *Nanotechnology* **2015**, *26*, 405705, https://doi.org/10.1088/0957-4484/26/40/405705.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Check for updates

ADVANCED SCIENCE Open Access
www.advancedscience.com

Role of Dipolar Interactions on the Determination of the Effective Magnetic Anisotropy in Iron Oxide Nanoparticles

Pelayo García-Acevedo, Manuel A. González-Gómez, Ángela Arnosa-Prieto, Lisandra de Castro-Alves, Yolanda Piñeiro,* and José Rivas*

Challenging magnetic hyperthermia (MH) applications of immobilized magnetic nanoparticles require detailed knowledge of the effective anisotropy constant (K_{eff}) to maximize heat release. Designing optimal MH experiments entails the precise determination of magnetic properties, which are, however, affected by the unavoidable concurrence of magnetic interactions in common experimental conditions. In this work, a mean-field energy barrier model (ΔE), accounting for anisotropy (E_A) and magnetic dipolar (E_D) energy, is proposed and used in combination with AC measurements to a specifically developed model system of spherical magnetic nanoparticles with well-controlled silica shells, acting as a spacer between the magnetic cores. This approach makes it possible to experimentally demonstrate the mean field dipolar interaction energy prediction with the interparticle distance, d_{ij}, $E_D \approx 1/d_{ij}^3$ and obtain the E_A as the asymptotic limit for very large d_{ij}. In doing so, K_{eff} uncoupled from interaction contributions is obtained for the model system (iron oxide cores with average sizes of 8.1, 10.2, and 15.3 nm) revealing to be 48, 23, and 11 kJ m^{-3}, respectively, close to bulk magnetite/maghemite values and independent from the specific spacing shell thicknesses selected for the study.

1. Introduction

Magnetic nanoparticles (MNPs) have been one of the most studied nanomaterials in recent decades, due to their versatility for applications in fields like biomedicine[1] or technology.[2] The use of MNPs in magnetic hyperthermia processes is especially important in healthcare therapies. In these treatments, MNPs, are exposed to an alternating magnetic field, absorb magnetic energy, and transform it into thermal energy through relaxation processes, consequently providing local heating to targeted cancer cells[3] and hard-to-reach tumors.[4] Generally, Néel (τ_N) and Brown (τ_B) relaxations[5] drive these processes and depend, respectively, on the volume and effective anisotropy constant (K_{eff}) of the MNPs and the properties of the surrounding media in which the MNPs are dispersed (viscosity and hydrodynamic volume). In real applications, it is not possible to modify crucial parameters governing the performance of magnetic hyperthermia, like the viscosity existing in certain biological entities[6] or the impossibility of MNPs to undergo physical rotation when anchored within solid matrices (implantable devices, scaffolds),[7] or introduced into cells or tissues.[8] Therefore, with a negligible contribution of the Brown relaxation, the enhancement of the hyperthermia performance requires the optimization of the Néel relaxation parameters that remain unaffected by the biological microenvironment.[9,10] Hence, in recent years, a great deal of effort has been made to design iron oxide-based MNPs such as nickel-substituted zinc ferrite,[11] core/shell iron oxide[12,13] or maghemite MNPs,[14] aiming to maximize heat generation by tailoring K_{eff}. This strategy requires the precise determination of K_{eff}, to correctly predict the magnetic response of MNPs[15] in magnetic hyperthermia applications.[16] Experimental conditions for the magnetic characterization of MNP systems, where samples are dried and closely encapsulated in hermetical holders, supresses mechanical rotation and restrict magnetic reversal only to the Néel mechanism, facilitating K_{eff} determination. However, the unavoidable concurrence of factors, such as sample polydispersity or magnetic interactions,[17] causes the imprecise determination of the magnetic properties, preventing a precise interpretation of the same and generating controversies in the field.

Thermal activation of magnetization relaxation between consecutive minimum energy configurations, for non-interacting MNPs, is achieved by surmounting the energy barrier (ΔE), $\Delta E = E_2 - E_1$, between two minima. When the thermal fluctuations are small compared to ΔE, the probability of switching is governed by the Arrhenius-Néel law[18]:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{\Delta E}{k_B T}\right) \quad (1)$$

P. García-Acevedo, M. A. González-Gómez, Á. Arnosa-Prieto, L. de Castro-Alves, Y. Piñeiro, J. Rivas
NANOMAG Laboratory
Applied Physics Department
Materials Institute (iMATUS)
Universidade de Santiago de Compostela
Santiago de Compostela 15782, Spain
E-mail: pelayo.garcia.acevedo@usc.es; y.pineiro.redondo@usc.es

The ORCID identification number(s) for the author(s) of this article can be found under https://doi.org/10.1002/advs.202203397

© 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

DOI: 10.1002/advs.202203397

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

The well-established static Stoner-Wohlfarth model and its combination with the Néel relaxation model, are the departing theoretical settings that connect this ΔE to the anisotropy energy (E_A) of the nanoparticle separating two consecutive magnetic configurations in a minimum energy state (magnetization parallel to easy axes): $\Delta E = E_A = K_A V_{NP}$. When T is sufficiently low, $E_T = K_B T < K_A V_{NP}$ holds for very small particles (small E_A) in diluted conditions (negligible interactions) and, grounds the extensive use of the τ_N to determine the value of K_{eff}, for a set of particles with a finite size distribution:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{E_A}{k_B T}\right) \quad (2)$$

where τ_0 is the characteristic relaxation time, k_B is the Boltzmann constant, T is the temperature, and E_A is the anisotropy barrier, given by $E_A = K_A V_{NP}$.

The relationship between τ_N, and the time of the measurement technique, τ_m, defines two regimes in the behavior of the assembly, namely the blocked and the superparamagnetic states, happening respectively, below and above the blocking temperature, T_B (for which $\tau_N = \tau_m$). This simple model (Equation (2)), has been exploited to infer experimentally $K_{eff\text{-}DC}$, from field-cooling zero field-cooling (FC-ZFC) DC measurements, noting that the ratio between τ_m and τ_0, $\ln(\tau_m/\tau_0)$, for DC measurement is typically close to 25[19–21]:

$$K_{eff\ DC} = \ln\left(\frac{\tau_m}{\tau_0}\right)\frac{k_B T_B}{V} \approx 25\frac{k_B T_B}{V} \quad (3)$$

However, the experimental conditions of magnetic measurement procedures strongly depart from the ideal assumption of noninteracting MNPs, which supports the validity of this approach. In fact, the conventional sample preparation for magnetometry measurements requires the tight encapsulation of moderate amounts of a powdered sample (m > 5 mg) of MNPs in a small sample holder. In this situation of close contact between MNPs, the interparticle distance, d_{ij}, may be very small, in the nanometric range, where the magnetic dipolar field that each MNPs exerts on its neighbor may be intense, modifying the energy barrier and the relaxation time that each particle experiences. This enforces the need to modify the Néel model in its simple version for non-interacting systems (Equation (2)) to account for magnetic interactions.

As demonstrated by the different and controversial models found in the literature, providing a theoretical framework for magnetic relaxation in highly concentrated systems is complex, and has not been solved since the seminal works of Dormann–Bessais–Fiorani, suggesting an increase of ΔE due to dipolar interactions,[22] and the Mørup-Tronc model, suggesting the opposite, a decrease of ΔE,[23] or complementary models derived from them.[24,25] According to the Dormann–Bessais–Fiorani model, τ_N is modified through the presence of other energy terms[26]:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{\Delta E^*}{k_B T}\right) \quad (4)$$

where the ΔE includes the contribution of E_A, the energy caused by external (E_H) and magnetic dipolar (E_D) fields present in the system: $\Delta E^* = E_A + E_H + E_D$. Therefore, although E_H can be lowered by applying extremely low fields (H < 10 Oe), the unavoidable concurrence of dipolar interaction is a persistent limitation to the use of Equation (3) as a valid formalism to obtain K_{eff} for concentrated systems, leading to incorrect anisotropy data[27] and remains an open question in the field of MNPs.

Also, with numerical simulations, different approaches have been pursued to gain insights into the magnetic properties of ensembles of interacting single-domain magnetic particles. In this regard, the approach of Garcia-Otero et al.,[28] in the same manner as the D-B-F model, considers ΔE as the sum of different energy terms:

$$E = \sum_i E_A^{(i)} + \sum_i E_H^{(i)} + \frac{1}{2}\sum_i \sum_{i \neq j} E_D^{(i,j)} \quad (5)$$

Here, a semi-classical approximation of μ_i, the magnetostatic moment is taken as a classical vector, and the uniaxial-type anisotropy of each i-particle is given by:

$$E_A^{(i)} = -KV_i\left(\frac{\vec{\mu}_i \cdot \vec{n}_i}{|\vec{\mu}_i|}\right)^2 \quad (6)$$

where K is the anisotropy constant and the unit vector $\vec{n_i}$ denotes the easy directions; the Zeeman energy of a MNP exposed to an external magnetic field H is given by:

$$E_H^{(i)} = -\vec{\mu}_i \cdot \vec{H} \quad (7)$$

and the magnetic dipolar interaction between two particles i and j separated by a distance d_{ij} given by:

$$E_D^{(i,j)} = \frac{\vec{\mu}_i \cdot \vec{\mu}_j}{d_{ij}^3} - \frac{3\left(\vec{\mu}_i \cdot \vec{d}_{ij}\right)\left(\vec{\mu}_j \cdot \vec{d}_{ij}\right)}{d_{ij}^5} \quad (8)$$

This model has recently made it possible to shed light on the role of dipolar interactions from Monte Carlo simulations in systems based on MNPs,[29–33] helping to optimize the performance of MNPs in magnetic hyperthermia processes, among others.

In addition, experimental approaches using different strategies have been essayed, trying to reduce or control MNP dipolar interactions, but reaching no consensus to date. In some cases, MNPs are either embedded and fixed within non-magnetic matrices[34–36] to determine K_{eff} in weakly interacting environments, or dispersed in different liquid media at known concentrations,[37,38] or measured in dried conditions by using non-magnetic functional coatings as spacer systems[39–43] to control and reduce exchange or dipolar interactions,[44] and, simultaneously improve the biocompatibility of MNPs.[45] More specifically, although magnetic studies performed with MNPs dispersed in liquids provide crucial insights into the Brownian and Néel relaxations in magnetic hyperthermia processes, they have limitations, like the lack of perfect colloidal stability of ferrofluids, and the formation of aggregates or precipitates, which occur to a non-measurable extent when exposed to alternating magnetic fields. The presence of inter- and intra-aggregate dipolar interaction effects, known to modify the heating efficiency of MNPs,[46] introduces a source of uncertainty in the determination of K_{eff},

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

given that there is no experimental control on the colloidal state of individual MNPs during the measurement procedure. This fact may be behind some of the contradictions between the observations performed using ferrofluids,[47] compared to MNPs supported in solid matrices or dusty preparations. K_{eff} values of 18, 16, 17, and 15 kJ m^{-3} have been determined in ferrofluids (MNPs with D = 11.9 nm)[47] at concentrations ≈1.24, 2.47, 4.95 and 9.89 v/v%, showing unclear trend of K_{eff} with concentration, where similar values, 18 and 17 kJ m^{-3}, are obtained for low and high concentrations (1.24 and 4.95 v/v%). Different trends are reported in other studies using FC-ZFC measurements to analyze lowly concentrated maghemite MNPs (D = 11.6 nm) dispersed in liquid systems (8.14, 4.65, 1.89 mg mL^{-1})[48] showing a decrease in T_B as concentration increases. However, for similar maghemite MNPs of ≈11 nm,[49] both trends are observed: T_B increases with interactions when in the high-packing regime (i.e., presence of high interactions) but decreases with increasing interactions in the low-packing regime (i.e., almost no interactions). By AC magnetometry at room T performed also on ferrofluids, K_{eff} has been obtained from the coercive field,[50] although the effect of dipolar interaction cannot be explicitly computed with this method. More recently, efforts have been made to obtain precise values of K_{eff}[51] by a similar strategy, determining the blocking frequency, from AC magnetometry, for a system of very dilute MNPs with the aim of reducing the dipolar interaction, but without a precise control over it.

The discrepancy of these results is not only the result of the strategy selected to determine T_B or K_{eff}, but also due to the fact that in none of these works magnetic interactions are explicitly decoupled from E_A or by the non-measurable presence of aggregates within the ferrofluid samples. This problem is partly solved by determining the E_A of powdered MNPs coated with non-magnetic shells that ensure the isolation of individual magnetic cores. In this regard, different powdered samples of MNPs have been studied using ZFC-FC curves to compute K_{eff}. Maghemite MNPs[52] with sizes between 6.2 and 11.5 nm coated with a thick shell (17–33 nm) of SiO_2 to avoid interactions have a K_{eff} of 20 and 50 kJ m^{-3} respectively. Also, magnetite MNPs using large SiO_2 shells and different shapes (spherical, cubic, and octahedral) have been shown to present K_{eff} values between 10–20 kJ m^{-3}.[53] However, besides the efforts made up to now, to avoid the effect of dipolar interaction on the determination of K_{eff} by measuring MNPs with large shells, the explicit experimental determination of the magnetic dipolar interaction in terms of the interparticle distance and magnetic moment is yet to be found. Therefore, the experimental verification of the relationship between E_D and d_{ij}, $E_D \approx 1/d_{ij}^3$, is not only relevant to confirm this mean-field prediction of a fundamental relationship in magnetism, analyzed by means of theoretical[24,25] or numerical approaches.[28] Moreover, noting the high thermal insulation capacity of SiO_2,[54] optimizing the thickness of silica shells in coated MNPs, with a convenient narrow size distribution, is especially important in magnetic hyperthermia applications to ensure a compromise between maximum heat release and dipolar interaction control, when required.

In this work, an experimental strategy for the accurate determination of K_{eff} has been proposed to identify the energy contributions of magnetic dipolar interactions by using a model system based on iron oxide magnetic cores coated with size-controlled silica shells acting as interspacing material. Externally applied magnetic fields were kept low to minimize the contribution of E_H. Spherical iron oxide MNPs with different sizes (8, 10, and 15 nm) were obtained using coprecipitation and thermal decomposition methods, and further functionalized with SiO_2 shells of different thicknesses, to ensure customized d_{ij}, spanning from $d_{ij} \approx 10$ nm to $d_{ij} \approx 45$ nm to gain control of dipolar interactions at an experimental level.

Through the experimental determination of the blocking temperature with DC and AC magnetometry, the ΔE was inferred from Equation (4), for all MNP sets, showing to decrease largely with the increment of the interparticle distance, as $\approx 1/d_{ij}^3$ in accordance with the contribution of magnetic dipole interaction. Following this experimental evidence, the ΔE is considered to be due to the contribution of E_A and E_D. Subsequently, the fitting of the experimental data of this model system MNPs to $\Delta E = E_{an} + E_D\ (1/d_{ij}^3)$ has allowed us to determine E_A from the asymptotic value of the energy barrier for the absent magnetic dipole interaction ($d_{ij} \rightarrow \infty$). This asymptotic determination of E_A makes it possible to decouple the anisotropy effects from the magnetic dipole interaction, ensuring a precise determination of K_{eff}. Dipolar interaction effects were further assessed by performing Henkel Plots on the MNPs separated by different SiO_2 shell thickness (equivalent to d_{ij}), and ΔE were determined by AC dynamic measurements under low fields (1 and 10 Oe) to reduce the externally applied magnetic energy contribution (E_A, $E_D >> E_H$). With this approach, K_{eff} was revealed to be, 42.6 and 48.4 (8 nm iron oxide MNPs); 23.2 and 18.3 (10 nm iron oxide MNPs); and 11.7 and 11.9 (15 nm iron oxide MNPs) kJ m^{-3}, close to bulk magnetite/maghemite values and showing a decrease of its value as the magnetic core size increases. These results mean it is possible to precisely determine K_{eff} and help to provide better predictions of the performance of MNPs in magnetic hyperthermia processes, which are crucial as tools for cancer treatments.

2. Results and Discussion

2.1. Preparation of Nanoparticle Systems

The model system is constituted by a set of MNPs with a core-shell structure, based on iron oxide as magnetic cores produced by co-precipitation and thermal decomposition methods, and SiO_2 coatings with a controlled thickness following a microemulsion method, described in the Experimental Section. The co-precipitation method was used to obtain magnetic cores of ≈8.1 ± 2.7 and 10.2 ± 3.9 nm, while the thermal decomposition method was used to produce magnetic cores of 15.3 ± 3.4 nm. Subsequently, following the microemulsion method, the magnetic cores were coated individually with a silica shell of well-defined thickness, obtaining a core-shell model system with a controlled center-to-center distance.

The samples have been denoted as MCa -SX, where "MC" determines the magnetic core (iron oxide magnetic core), "S" determines the non-magnetic material (SiO_2 shell), "a" determines the core size (8, 10, or 15 nm) and "X" the SiO_2 thickness in nm.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

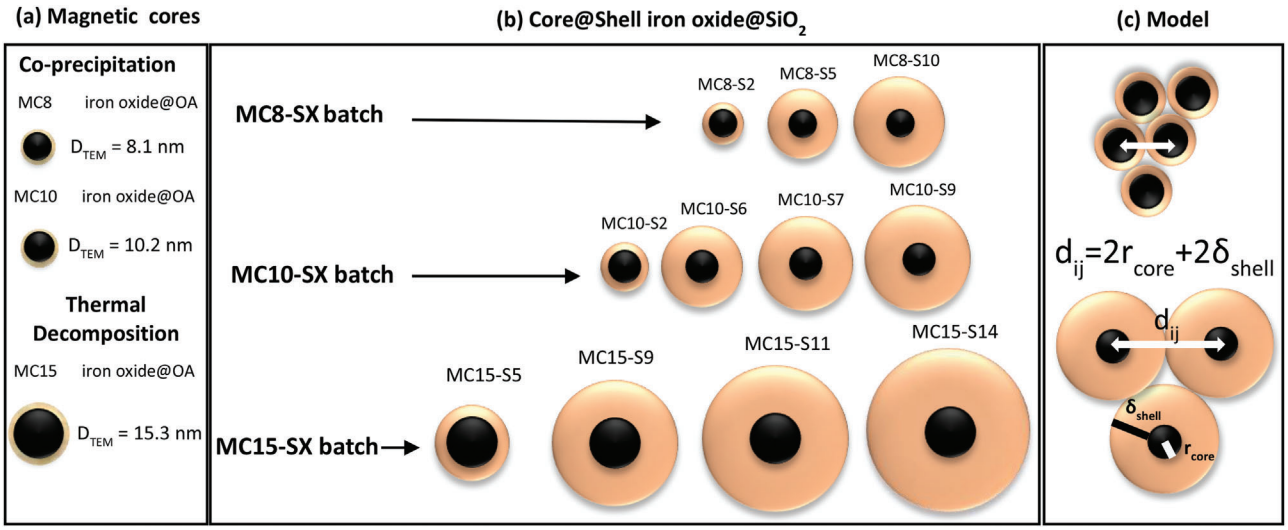

Figure 1. Schematic representation of the model system sets based on, a) magnetic iron oxide cores produced by co-precipitation and thermal decomposition methods to afford different sizes (8.1, 10.2, and 15.3 nm) and, b) core-shell MNPs with different shell thicknesses synthesized using the microemulsion method. c) With these structures it is possible to tune the distance between magnetic cores (d_{ij}) by increasing the shell thickness, allowing, in turn, to control the strength of the magnetic dipole interaction.

MC8-SX model systems depart from iron oxides of 8 nm as magnetic cores, with three core-shell samples MC8-S2, MC8-S5, and MC8-S10 (with X = 2, 5, and 10 nm). MC10-SX model systems depart from iron oxides of 10 nm as magnetic cores with four core-shell samples MC10-S2, MC10-S6, MC10-S7, and MC10-S9 (X = 2, 6, 7, and 9 nm). Finally, MC15-SX model systems depart from iron oxides of 15 nm as magnetic cores with four core-shell samples MC15-S5, MC15-S9, MC15-S11, and MC15-S14 (X = 5, 9, 11, and 14 nm).

The size distribution of the MNPs was determined from transmission electron microscopy (TEM) images (See Figures S1–S3, Supporting Information).

Figure 1 shows a schematic representation of the different samples produced with tailored core and shell sizes as a model system to study the effect of magnetic dipolar interaction in powdered samples, were the well-controlled silica shells act as an interspacing material.

2.2. Morphological and Structural Characterization

The morphological and structural properties of the synthesized MNPs were assessed using X-ray diffraction and TEM images. **Table 1** compiles relevant parameters thus obtained, such as the iron oxide core size (D_{core}) and SiO_2 shell thickness (D_{shell}) from TEM micrographs. From the relative positions and intensities of the X-ray diffractograms, observed in Figure S4 (Supporting Information), the crystalline phase of the synthesized MNPs, corresponding to magnetite or maghemite with an inverse spinel structure (ICSD card No. 98-015-8742),[55] could be obtained. Moreover, it can be observed that as the thickness of SiO_2 shell is increased, the broad peak corresponding to the presence of amorphous SiO_2, for low scattering angles, widens, confirming the correct coating procedure.

The morphology and size of iron oxide MNPs, characterized by TEM micrographs are shown in **Figure 2**. These images, show a selected set of core-shell MNPs obtained by the co-precipitation method (MC8-S10, (a), and MC10-S9 (b)) and the complete batch of MC15-SX produced by the thermal decomposition method: MC15-S5 (c), MC15-S9 (d), MC15-S11 (e) and MC15-S14 (f), clearly reveal the homogeneous silica coating, the quasi-spherical shape and the monodisperse size distribution of all samples.

From these data, the size and the shell thickness of all samples were determined, and Table 1 compiles the size of the uncoated magnetic cores (MC8, MC10, MC15) and their respective core-shell iron oxide@SiO_2 MNPs (MC8-SX, MC10-SX, and MC15-SX). Due to the synthetic procedures performed, it was possible to develop MNPs with SiO_2 shells that are sufficiently small for all MNP batches, ≈2.0 (MC8-S2), 2.3 (MC10-S2), and 4.7 nm (MC15-S5), and sufficiently large, ≈9.9 (MC8-S10), 9.2 (MC10-S9), and 14. 2 nm (M15-S14). This set of MNPs constitutes a model system with a controlled variation of the dipolar interactions, from strong interaction effects between close MNPs (d_{ij} < 5 nm) to weak dipolar interactions for MNPs separated by a considerable distance. Additionally, the polydispersity index (PDI) was determined from the size distribution to assess the differences in the dispersity between the different types of synthesis. PDI obtained for the magnetic cores was revealed to be similar for the MNPs synthesized by the co-precipitation method (PDI = 0.111 for the MC8 and PDI = 0.146 for the MC10) and slightly lower for the magnetic cores synthesized by the thermal decomposition method (PDI = 0.052 for the MC15), as expected.[56] In addition, PDI becomes smaller as the SiO_2 shell size increases in all batches, from 0.092 (MC8-S2) to 0.040 (MC8-S10), from 0.070 (MC10-S2) to 0.018 (MC10-S9), and from 0. 028 (MC15-S5) to 0.020 (MC15-S14), in agreement with a recently reported work in which the monodispersity of spions@SiO_2 MNPs increases with increasing SiO_2 thickness.[57]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

Table 1. Values of core size (D_{core}), total size (D_T), and shell size (D_{shell}) obtained from TEM micrographs by the size distribution of Figures S1–S3 (Supporting Information). The error is shown in Figures S1–S3 (Supporting Information). Blocking temperatures (T_B) obtained by the ZFC-FC curves of Figure 6. The error is <1 K for all MNPs. Magnetic saturation (M_S) from hysteresis loops at 300 K. The error is <1 emu g^{-1} for all the samples. Total energy term ($\Delta E/k_B$) obtained from the slope of the plot ln (f/f_0) versus $1/T_B$ depicted in Figure 8b and Figure S10a,b (Supporting Information) for the MC8-SX, MC10-SX, and MC15-SX set, respectively. The T_B for this plot was obtained from the maximum of the χ''(T) curve. Effective anisotropy constant obtained by the different methods presented in this work, from T_B of the ZFC-FC curves (K_{eff-DC}) and from the $\Delta E/k_B$ term obtained by AC magnetometry (K_{eff-AC}), considering the non-interaction approach ($\Delta E = E_A$), and by the dipolar interaction correction ($K_{eff-D.Correction}$) using the asymptotic limit based on Equation (15) and shown in Figure 10. The stars (*) indicate the anisotropy constant value obtained for the MNPs with the lowest effect of dipolar interactions in each batch, i.e., with the thickest SiO_2 shell thickness.

Sample core	D_{core} [nm]	Sample name	D_T [nm]	D_{shell} [nm]	T_B [K]	M_s [emu g^{-1}]	$\Delta E/k_B$ [K]		K_{eff-DC} [kJ m^{-3}]	K_{eff-AC} [kJm^{-3}]		$K_{eff-D.Correction}$ [kJ m^{-3}]	
							1 Oe	10 Oe		1 Oe	10 Oe	1 Oe	10 Oe
MC8	8.1	MC8-S2	12.2	2.0	89.52	67.96	3903	3168	115.2	186.5	151.4	42.62	48.36
		MC8-S5	18.3	5.1	59.52	69.60	1183	1485	76.6	56.5	70.9		
		MC8-S10	27.9	9.9	51.73	66.30	1142	1205	66.6*	54.6*	57.6*		
MC10	10.2	MC10-S2	14.7	2.3	136.91	72.38	4220	3963	90.2	104.8	98.4	23.17	18.28
		MC10-S6	22.7	5.9	106.45	71.83	1765	1635	70.1	43.8	40.6		
		MC10-S7	24.5	6.8	93.31	71.50	1576	1271	61.5	39.1	31.5		
		MC10-S9	28.7	9.2	61.20	72.60	1374	1203	40.3*	34.1*	29.9*		
MC15	15.3	MC15-S5	24.7	4.7	195.49	75.15	6334	5990	38.2	49.5	46.8	11.74	11.87
		MC15-S9	32.3	8.5	165.09	75.73	2870	4799	32.2	22.4	37.5		
		M15-S11	36.6	10.7	158.67	75.02	2599	2463	31.0	20.3	19.2		
		M15-S14	43.7	14.2	154.74	75.63	2124	2045	30.2*	16.6*	16.0*		

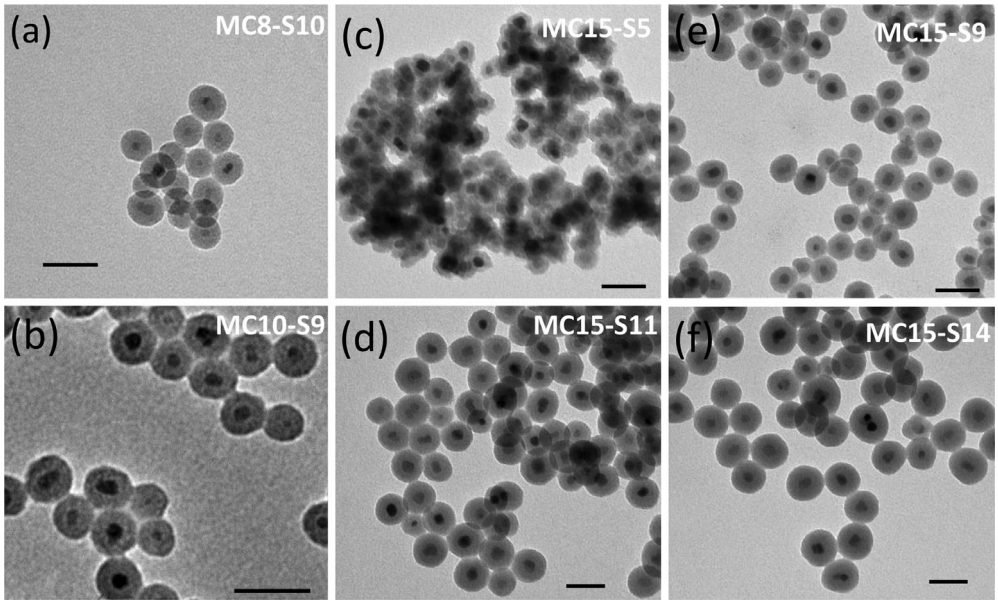

Figure 2. TEM micrographs of selected MNPs produced by: co-precipitation [a) MC8-S10 and b) MC10-S9] and thermal decomposition [MC15-SX MNPs: c) MC15-S5, d) MC15-S11, e) MC15-S9 and f) MC15-S14]. Scale bars: 50 nm.

2.3. DC Magnetic Characterization

2.3.1. Hysteresis Loops

The DC magnetic properties of MNPs were studied from magnetization curves obtained using a superconducting quantum interference device (SQUID) magnetometer between −25 kOe and +25 kOe at 300 K. **Figure 3** depicts the hysteresis loops of the co-precipitation (MC8-SX (Figure 3a) and MC10-SX (Figure 3b)) and thermal decomposition (MC15-SX MNPs (Figure 3c)) samples. The magnetization of all MNPs was normalized to the magnetic mass present in the sample. The saturation magnetization (M_S) values for all samples, compiled in Table 1, are comprised between 67–75 emu g^{-1}. Batches MC8-SX and MC10-SX produced by co-precipitation show M_S between 69 and 71 emu g^{-1}, while batch MC15-SX, obtained by thermal decomposition, has

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

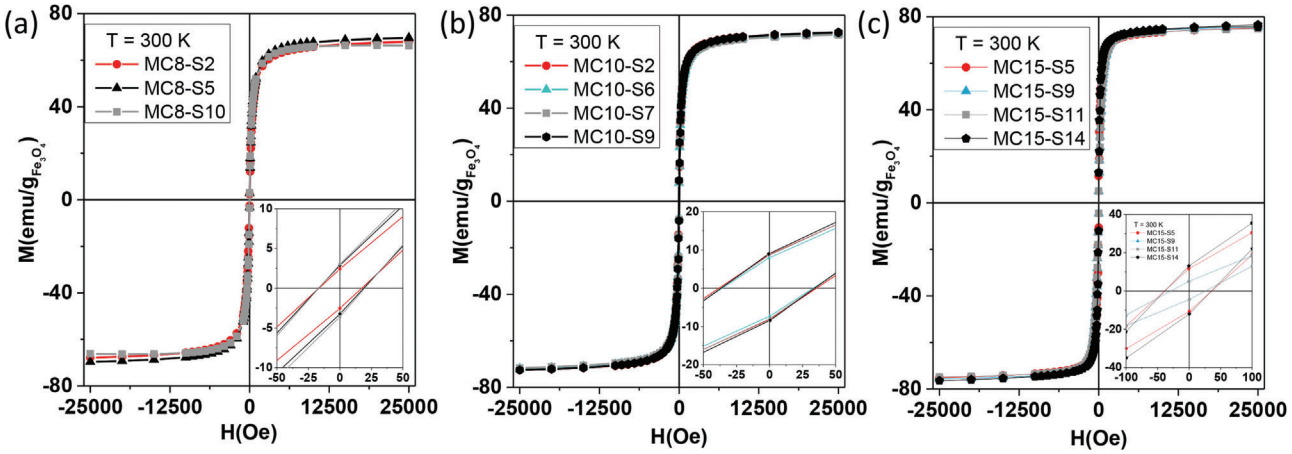

Figure 3. Hysteresis loops of a) MC8-SX, b) MC10-SX, and c) MC15-SX MNPs at 300 K. Insets: Scale amplification in hysteresis loops. The hysteresis loops were normalized to the mass of magnetic material (iron oxide) in the total assembly.

a slightly larger M_S with a value of ≈75 emu g^{-1}, closer to the saturation corresponding to bulk magnetite (M_S^{bulk} = 92 emu g^{-1}). These differences may be attributed to the contribution of a surface dead magnetic layer (proportionally larger for smaller particles), which leads to a reduction of the magnetization of the material,[58] and due to the synthetic methods used in each case, producing slight differences in the oxidation state or crystalline quality of the ensembles. In this sense, the co-precipitation method, an easy and cost-effective procedure using low temperatures ($T \approx 60$ °C), cannot provide samples with a crystalline quality as high as those obtained using thermal decomposition methods, performed at higher temperatures (300 °C), which, in turn, allows to improve the magnetization of the MNPs.[56]

2.3.2. Determination of Dipolar Interactions

One of the most widespread strategies for the study of interactions between MNPs is the Henkel plots (δM), obtained from remanence studies on DC measurements.[59] This technique is mainly based on the study of magnetic remanence through two curves known as isothermal remanent magnetization (IRM, or MR(H)) and DC demagnetization (DCD, or MD(H)) whose main difference, from the experimental point of view, lies in the initial saturation of the sample. While, in IRM curves, the remanence is measured in a non-saturated state, in DCD curves the sample is initially saturated, and remanence is subsequently measured. In this work, IRM curves were obtained by applying a positive magnetic field and recording the remanence of the sample once the field was removed. The IRM curve was completed by repeating this process incrementing the field intensity until the saturation state was reached. On the other hand, to obtain the DCD curve, first, a magnetic field was applied to saturate the sample and then the remanence was measured after the application and removal of progressively increasing reverse fields.[59,60] IRM and DCD curves are connected by the Wohlfarth relationship[61]:

$$M_D\ (H) = M_{RS} - 2M_R\ (H) \tag{9}$$

Where M_D is the DC demagnetization, M_{RS} is the saturation remanence, M_R is the isothermal remanence magnetization and H is the applied magnetic field.

From M_D and M_R, it is possible to obtain the δM plots by:

$$\delta M\ (H) = M_D\ (H) - \left[M_{RS} - 2M_R\ (H)\right] \tag{10}$$

From the positivity or negativity of the dip in the δM curves, it is possible to assess the presence of exchange interactions[62] or dipole interactions,[63] respectively. Furthermore, the absence of the dip in the δM curve is characteristic of a non-interacting MNPs system.[64]

Figure 4a shows the IRM (black points), DCD (gray points), and the δM (blue points) plots of the MC8 MNPs, the magnetic core of the MC8-SX set. The negative dip is the feature that demonstrates the existence of dipole interactions rather than exchange interactions, which can be explained by the fact that iron oxide cores were coated with a narrow layer of oleic acid ($\delta \approx 1$ nm), to prevent direct contact between the iron oxide grain and, thus, exchange interactions. Figure 4b shows the δM curves of the core-shell sets MC8-SX MNPs (bottom): MC8-S10 (black pattern), MC8-S5 (red pattern), and MC8-S2 (gray pattern) and MC10-SX MNPs (top): (MC10-S2 (black pattern), MC10-S6 (red pattern), MC10-S7 (gray pattern) and MC10-S9 (blue pattern) performed at 10 K. From these curves it can be observed that none of the sets experience exchange interactions (positive dip). Only dipolar interaction is present, that accordingly shows to have a strength (dip depth) that decreases with the growth of the MNPs SiO_2 thickness which is acting as a spacer. **Figure 5** shows the IRM, DCD, and δM curves of both extremes of set MC15-SX, a) the iron oxide core of MC15 (smallest interparticle distance with OA coating of ≈1 nm), and b) MC15-S14 MNPs (sample with greater SiO_2 thickness, $\delta = 14$ nm), revealing a strong reduction of the dip intensity for the core-shell sample, corresponding to a drastic reduction of dipolar interaction strength.

Generally, an increment of the shell width (δ) provokes a reduction of the dip depth in δM, which is in concordance with the fact that the magnetic dipolar interaction decreases when the interparticle distances increase ($d_{ij} = 2\delta$). In all cases the reduction

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

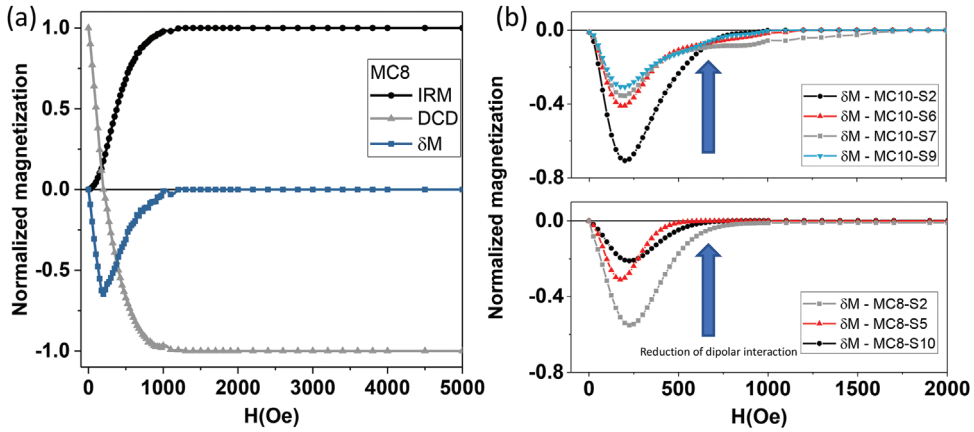

Figure 4. a) Normalized isothermal remanence (IRM), DC demagnetization remanence (DCD), and δM curves of MC8 MNPs at 10 K. b) δM curves of MC8-SX MNPs (Bottom): MC8-S2 (gray pattern), MC8-S5 (red pattern) and MC8-S10 (black pattern) and MC10-SX MNPs (top): MC10-S2 (black pattern), MC10-S6 (red pattern), MC10-S7 (gray pattern) and MC10-S9 (blue pattern) at 10 K. The blue arrow indicates the reduction of dipole interactions with decreasing Henkel plot intensity.

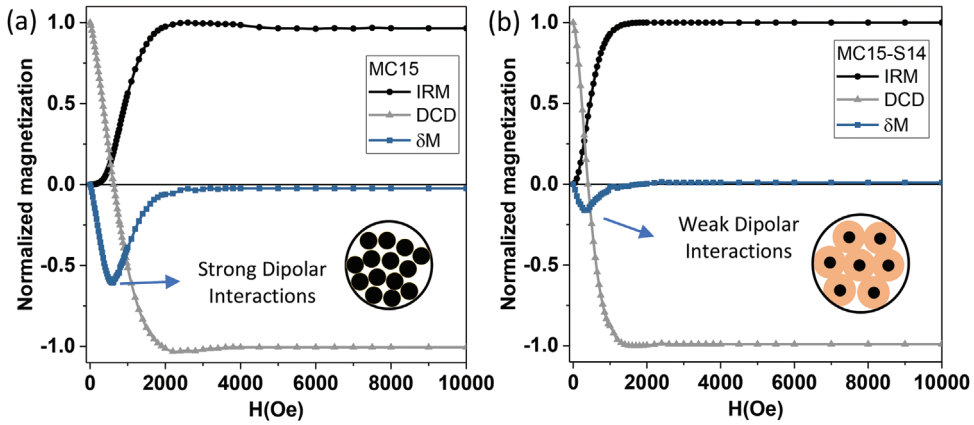

Figure 5. a) IRM, DCD, and δM curves of MC15 MNPs (the magnetic core of MC15SX set) at 10 K and b) MC15-S14 MNPs (MNP with largest SiO_2 thickness of MC15-SX set).

of dipole interactions (dip depth) correlates with large d_{ij}, that is, for set MC8-SX, the dip intensity becomes reduced to a half from −0.55 (MC8-S2 with $\delta \approx 2$ nm) to −0.20 (MC8-S10 with $\delta \approx 10$ nm); for set MC10-SX, from -0.72 (MC10-S2 with $\delta \approx 2$ nm) to −0.34 (MC10-S9 with $\delta \approx 9$ nm) or, for set MC15-SX from −0.60 (MC15 with $\delta \approx 1$ nm) to −0.15 (MC15-S14 with $\delta \approx 14$ nm).

Moreover, to study the possible presence of exchange interactions in very small distance ranges, i.e., for the MNPs with thinner SiO_2 thickness and even for the magnetic cores coated with OA, exchange bias field (H_{EB}) was determined measuring hysteresis loops at $T = 5$ K under the cooling field of $H_{FC} = 25$ kOe (See Figure S5 (Supporting Information) for H_{EB} values). Almost a negligible shift of the loops was obtained in all cases (<4 Oe), and, most remarkably, no significant differences were observed between the MNPs irrespective of their shell composition (OA, or SiO_2) or their thicknesses. It can be observed that the loop shift for the silica-coated MNPs with the thickest silica layer (where the presence of exchange interaction is clearly ruled out), is similar to the OA-coated magnetic cores or the silica-coated MNPs with thin layers, where dipolar interaction may be stronger. Thus, these similarities in the shifts of the hysteresis loops reveal the marginal role of the interparticle exchange interactions in our model system, and the small values obtained can be attributed to the presence of disordered surface spins.

2.4. Determination of Anisotropy Constant

2.4.1. Determination of Anisotropy Constant by DC magnetometry ($K_{eff\text{-}DC}$)

To further assess the influence of the magnetic dipolar interaction, ZFC-FC curves were determined with a SQUID magnetometer between 10 and 350 K using a magnetic field of 100 Oe. **Figure 6** depicts the ZFC-FC curves obtained for the different system model sets (MC8-SX (a), MC10-SX (b), and MC15-SX (c) MNPs). All these curves present a maximum in temperature (T_{Max}) in the ZFC curve, which, as in other works related with the anisotropy determination,[53] has been chosen as the method to determine the T_B (although other conventions are also in operation such as the inflection point between the ZFC-FC curves or the derivative of the difference between the FC and ZFC curves

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

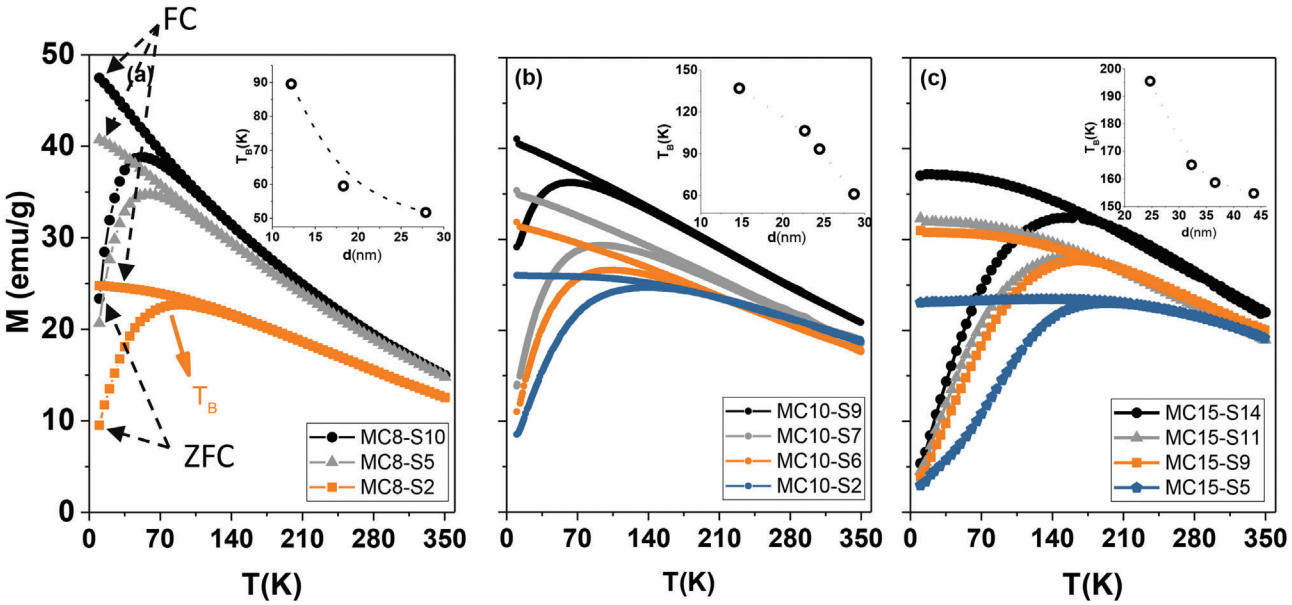

Figure 6. Zero-field-cooled (ZFC) and field-cooled (FC) measurements of a) MC8-SX MNPs, b) MC10-SX, and c) MC15-SX MNPs at 100 Oe. The blocking temperatures, observed in the insets below as a function of total nanoparticle size, i.e., the distance between magnetic cores, were obtained from the maximum of the ZFC curve and the numerical values obtained are compiled in Table 1.

with temperature,[65] being a topic of debate in the field[66]). T_B(K) for all model systems, which represents the transition from a blocked state ($T < T_B$) to a superparamagnetic state (for $T > T_B$), happens below T = 200 K, ensuring superparamagnetic behavior at room temperature and are plotted in the insets of Figure 6, as a function of the silica shell or equivalently the interparticle distance. As previously observed through the Henkel plots, the increase of dipolar interactions as the interparticle distance decreases has its clear correspondence in T_B. For all sets, regardless of their preparation route, small SiO_2 shell and spacing, related to strong interactions, show a large increment in T_B(K), in some cases reaching ≈200 K. On the opposite, a thick SiO_2 shell (large spacing) is related to no or scarce interactions and very low T_B(K) up to 50 K.

As expected, a reduction of T_B for non-interacting systems[39] is observed, although in the present study, depending on the core size, a unique minimum T_B is not attained for the largest SiO_2 spacings (see insets in Figure 6). In all cases, the strong reduction of T_B with a reduction of interactions is evident, from the strongly interacting sets $T_{B\text{-}Max}$ = {89.52, 136.91, 195.49} K, to the lowest dipolar interaction state $T_{B\text{-}Min}$ = {51.73, 61.20, 154.74} K for batches MC8-SX, MC10-SX, and MC15SX, respectively. Moreover, it can be observed that T_B increases as the size of the magnetic core increases.

Another interesting feature obtained from the ZFC-FC curves (Figure 6) is the signature of the interactions between MNPs that clearly appears on the FC curve shape in the irreversibility region (below the T_B). As SiO_2 thickness increases, the slope of the FC curve gradually increases and becomes steeper (weaker interactions), but as SiO_2 thickness decreases, the FC curve tends to flatten (stronger interactions).[67,68] This gradual trend shows that the customization of SiO_2 shells makes it possible to gain control on the interaction effects; more specifically, this flattening of the FC curve can be quantified in relation to the magnetization value for T_{Max}, i.e., for T_B, through the equation $FC_{rise} = (M_{plateau} - M_{TMAX})/M_{TMAX}$ enabling the estimation of the collective or individual behavior of systems based on MNPs.[69] The trends obtained, observed in Figure S10 (Supporting Information), clearly reveal a collective behavior (low FC_{rise} values) for the MNPs that have a smaller distance between magnetic cores, i.e., smaller SiO_2 thickness, MC8-S2, MC10-S2, and MC15-S5, which generally decreases as the distance increases and the interaction effects are reduced. In this sense, focusing on the general trend of each of the batches, the one with the smallest magnetic core size, MC8-SX, presents a weaker collective behavior (higher FC_{Rise} value) while for batches MC10-SX and MC15-SX with larger magnetic core sizes and higher magnetization, it appears to be stronger, indicating that larger SiO_2 thickness is needed to achieve an individual behavior of the systems.

Applying the conventional approach based on Equation (3), from the T_B obtained using the ZFC-FC protocol, $K_{eff\text{-}DC}$ was obtained and its dependence with the interaction effects, i.e., with the increase or decrease of the distance between MNPs is observed in Figure 9 for the a) MC8-SX, b) MC10-SX, and c) MC15-SX MNPs (open black symbols). A clear decrease of $K_{eff\text{-}DC}$ is observed as the interparticle spacing increases and, in this sense, $K_{eff\text{-}DC}$ can be determined in the range of reduced dipole interactions for the thickest SiO_2 shells in each of the batches, obtaining the values of 66.6, 40.3, and 30.2 kJ m^{-3} for the MC8-S10, MC10-S9, MC15-S14 MNPs. The relevant effect of the reduction of the distance between MNPs is observed when the SiO_2 shell thickness is minimal, considering the high dipolar interaction region, whose $K_{eff\text{-}DC}$ values were revealed to be 115.2 and 90.2 kJ m^{-3} for the MC8-S2 and MC10-S2 MNPs (one order of magnitude higher than that of bulk magnetite, 13.5 kJ m^{-3}), and 38.2 kJ m^{-3} for the MC15-S5 MNPs. This result clearly shows the influence of the magnetic dipolar interactions in the $K_{eff\text{-}DC}$ determination with this approach.

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

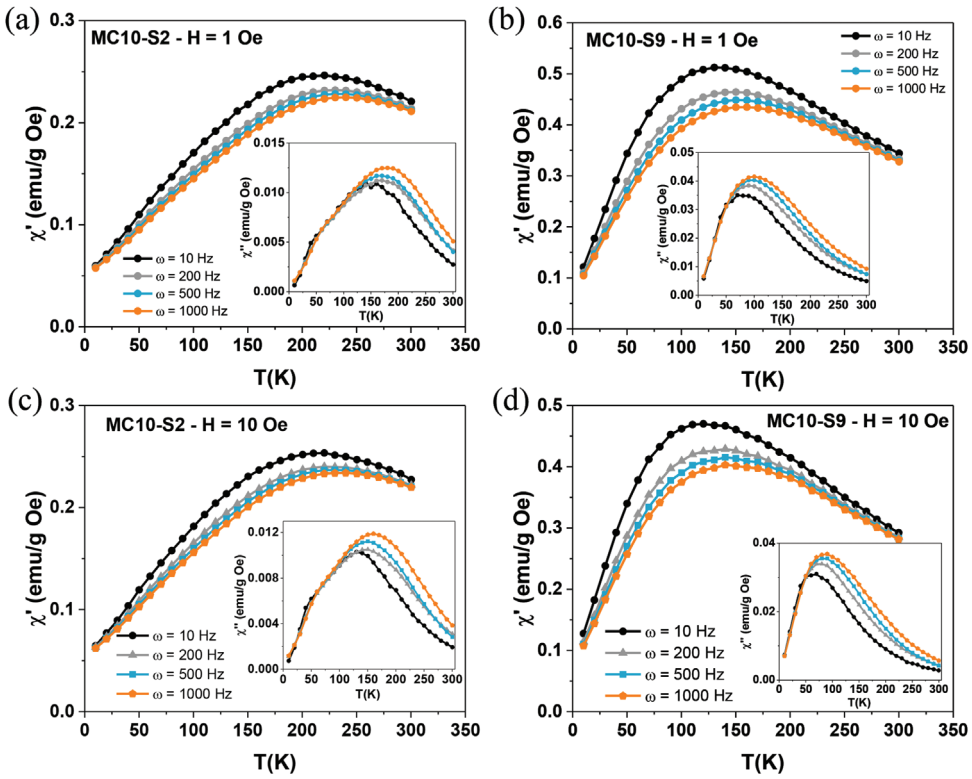

Figure 7. a) Temperature dependence of the real component χ' (T) and χ'' (T) of MC10-S2 MNPs at (a) 1 Oe and c) 10 Oe Hz and MC10-S9 MNPs at b) 1 Oe and d) 10 Oe Hz.

2.4.2. Determination of Anisotropy Constant by AC magnetometry ($K_{eff\text{-}AC}$)

From dynamic measurements, τ_m (or frequency $\tau_m = 1/f_m$) of each experimental technique determines the dynamic response of an ensemble of MNPs. Since the magnetic relaxation occurs through a thermally activated jump over E_A, Equation (1) can be used to determine the K_{eff} by AC magnetometry, denoted as $K_{eff\text{-}AC}$, with a more precise knowledge of the time window compared to the commonly used DC experimental approach. To this end, the dynamic magnetization, real χ'(T) and imaginary χ''(T) components of the AC susceptibility of all sets (MC8-SX, MC10-SX, and MC15-SX MNPs), was studied for a discrete set of frequencies f = {10, 100, 200, 1000} Hz and a range of temperatures T = [10, 300] K. **Figure 7** shows the temperature dependence of the real part χ'(T) and the imaginary part χ''(T) of AC susceptibility at different frequencies (10 (black), 200 (gray), 500 (blue), and 1000 (orange) Hz) for MC8-S2 MNPs at a) H = 1 and c) H = 10 Oe and MC8-S10 MNPs at b) H = 1 and d) H = 10 Oe. These curves show a maximum for both χ'(T) and χ''(T) components, defined as T'_{max} and T''_{max}. For the χ'(T) component, the intensity of the maximum χ'_{max} decreases for large frequencies, and a shift of the maximum to higher temperatures is observed. While χ''(T) becomes frequency independent at $T > T'_{max}$, indicating a superparamagnetic behavior of the MNPs.[70,71] On the other hand, for the χ''(T) component, the maximum χ''_{max} shifts toward first higher temperatures, but its intensity increases. In Figures S6–S9 (Supporting Information), complete data of χ'(T) and χ''(T) for both fields can be found for the remaining sets (MC10-SX, MC8-SX, MC15-SX). Temperature shifts enable the determination of different types of behaviors in dense MNPs systems, such as interaction regimes in concentrated ensembles of nanoparticles, interparticle spin-glass-like behavior due to the reduced size of the nanoparticles or the surface disorder, and collective spin-glass-like behavior.[72] For this purpose, the parameter ϕ links the shift of maximum temperatures in the susceptibility curves, T''_{max}, and the dynamic behavior, f, through the equation $\phi = (\Delta T''_{max})/(T''_{max} \times \Delta\log(f))$.[71] Accounting for the shifts of T''_{max} obtained from the χ''(T) curve, in the frequency interval used (1000–10 Hz), ϕ was computed for all sets, which generally varies from non-interaction ($\phi > 0.1$) and considerable interaction effects ($0.05 < \phi < 0.1$) to spin-glass-like behavior or high interaction effects ($\phi < 0.05$).[71] The values reached for the different batches of MNPs (in Figure S10b, Supporting Information), generally revealed a reduction of the interaction effects with increasing SiO_2 shell, from $\phi > 0.05$ for the MNPs with higher SiO_2 thickness, $\phi \approx 0.06$, 0.08, and 0.07, (MC8-S10, MC10-S9, and MC15-S14 MNPs, respectively) to $\phi < 0.05$ for the MNPs with lower SiO_2 shell thickness, $\phi \approx 0.04$, 0.04, and 0.05, (MC8-S2, MC10-S2, and MC15-S5 MNPs, respectively). This makes it possible to show the reduction of interaction effects in a complementary way to the more commonly used Henkel plots.

For all samples, T_B was obtained as the temperature where the maximum χ''_{max} occurs in the χ'' (T) curve, following some works reported in the field,[71] although the use of T'_{max} as T_B(K) from the curve χ' (T) is also in operation.[72] **Figure 8**a shows the dependence of $T_{B\text{-}AC}$ with the center-to-center distance between particles $d_{ij} = 2r_c + 2\delta$ of the MC10-SX MNPs for H_{app} = 10 Oe

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

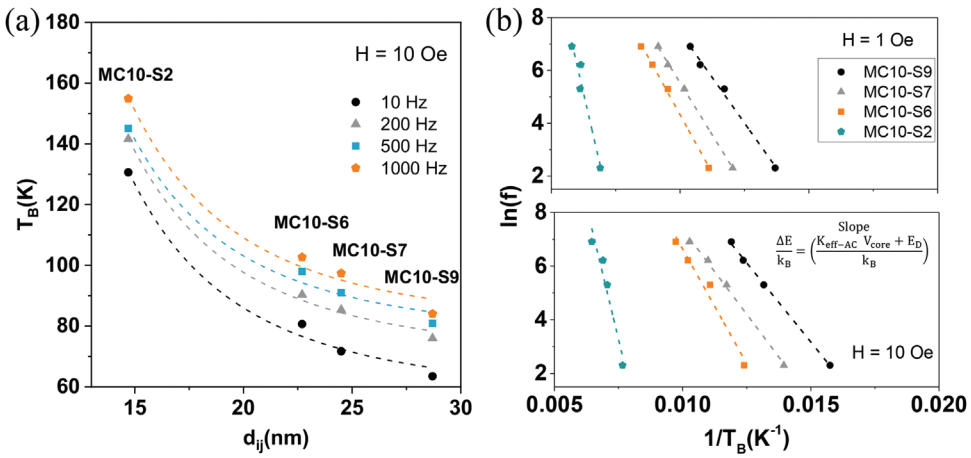

Figure 8. a) Dependence of $T_{B\text{-}AC}$ (obtained from the maximum of the χ''(T) curve) with an interparticle distance of the MC10-SX batch under the application of a magnetic field of 10 Oe. b) Semilog plot of the frequency versus the inverse of the blocking temperature (obtained by the χ''(T) curve) for MC10-SX MNPs at 1 and 10 Oe. Based on Equation (11) the slope of the graph makes it possible to obtain the value of the energy barrier, $\Delta E/k_B$, represented numerically in Table 1.

and all frequencies, clearly revealing the influence of dipolar interactions as observed for $T_{B\text{-}DC}$ (Figure 6). The same trend of the T_B dependence with the SiO_2 thickness is obtained for all samples (Figure S11, Supporting Information).

Equivalent to the ZFC-FC DC approach, where an approximation of τ_m ($\ln(\tau_m/\tau_0) \approx 25$) is used, by AC measurements, $K_{eff\text{-}AC}$ can be obtained from the experimental data of the blocking temperature $T_{B\text{-}AC}$ and τ_{N-exp}, noting that the ΔE can be determined through the linear relationship denoted in Equation (1), which is given by the slope of the plot $\ln(\tau_m/\tau_0)$ versus $1/T_B$:

$$\ln\frac{\tau_{N-exp}}{\tau_0} = \left(\frac{\Delta E}{k_B}\right)\frac{1}{T_B} \tag{11}$$

In Figure 8, the experimental data of $\ln(f_{exp}/f_0)$ against $1/T_B$, obtained from AC χ''(T) measurements for the MC10-SX set at 1 and 10 Oe (Figure S12a,b (Supporting Information) for MC8-SX and MC15-SX MNPs, respectively), follows a linear relationship in accordance with Equation (11). Using Equation (11), the ΔE *Values*, were computed and compiled in Table 1. If at this point, it is considered that the only contribution to the ΔE comes from the anisotropy term, $\Delta E = E_A$ (as it is commonly used in many works in the field, without considering other energy terms), K_{eff} can be computed noting that $E_A = K_A V_{NP}$. In doing so, different observations emerge: for short SiO_2 shells, the MNPs are strongly interacting, and large $K_{eff\text{-}AC}$ are obtained, for MC8-S2, $K_{eff\text{-}AC}$ = 186.5 kJ m^{-3} (at H = 1 Oe) and 151.4 kJ m^{-3}(at H = 10 Oe); for MC10-S2, $K_{eff\text{-}AC}$ = 104.8 kJ m^{-3} (at H = 1 Oe) and 98.4 kJ m^{-3} (at H = 10 Oe); and for MC15-S4, $K_{eff\text{-}AC}$ = 49.5 kJ m^{-3} (at H = 1 Oe) and 46.8 kJ m^{-3} (at H = 10 Oe). On the other hand, for thick SiO_2 shells, a drastic reduction of the dipolar interaction effects ($E_D \approx 0$) has its clear consequences on $K_{eff\text{-}AC}$, that for these cases becomes highly reduced: for MC8-S10, $K_{eff\text{-}AC}$ = 54.6 kJ m^{-3} (at H = 1 Oe) and $K_{eff\text{-}AC}$ = 57.6 kJ m^{-3} (at H = 10 Oe); MC10-S9, $K_{eff\text{-}AC}$ = 34.1 kJ m^{-3} (at H = 1 Oe) and 29.9 kJ m^{-3} (at H = 10 Oe); MC15-S14, $K_{eff\text{-}AC}$ = 16.6 kJ m^{-3} (at H = 1 Oe) and 16.0 kJ m^{-3} (at H = 10 Oe) kJ m^{-3} for the three samples with the highest SiO_2 thickness, MC8-S10, MC10-S9, and MC15-S14. This highlights the relevance and distortion of the dipolar interactions in the correct K_{eff} determination either with DC or AC approaches.

Figure 9 summarizes the values obtained using both DC (open symbols) and AC (closed symbols, orange for 1 Oe and grey for 10 Oe) methods and considering the typically used approach for non-interacting MNPs (that takes $\Delta E = E_A$), as the spacing between magnetic cores decreases by decreasing the SiO_2 thickness. These figures highlight the strong effect of dipolar interactions on the experimental determination of K_{eff} in dense assembled MNP systems and also, that different experimental approaches provide different K_{eff} which may lead to misinterpretations when designing experimental set-ups, especially important in the field of magnetic hyperthermia.

2.4.3. Determination of the Anisotropy Constant by Dipolar Interaction Correction ($K_{eff\text{-}D.Correction}$)

Although the use of sufficiently thick SiO_2 coatings in principle is expected to minimize the error caused by applying the commonly used approach of a ΔE with no interactions ($\Delta E = E_A$) in the determination of K_{eff}, accuracy is not strictly granted without a precise estimation of the intensity of magnetic dipole interactions. For this reason, this experimental approach, using a non-interaction ΔE, can be modified following the model proposed by Garcia Otero et al., which includes two new energy terms, E_H and E_D:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{E_A + E_H + E_D}{k_B T_B}\right) \tag{12}$$

Assuming that very low H_{app} are used (H_{app} = 1 Oe; 10 Oe), $E_H \approx 0$, for which only anisotropy and dipolar energies will be accounted for in a mean-field way, and from Equation (12), the ΔE can be assumed to be $\Delta E = K_{eff}\ V_{core} + E_D$:

$$\ln\frac{\tau_{N-exp}}{\tau_0} = \left(\frac{K_{eff}\ V_{core} + E_D}{k_B}\right)\frac{1}{T_B} \tag{13}$$

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

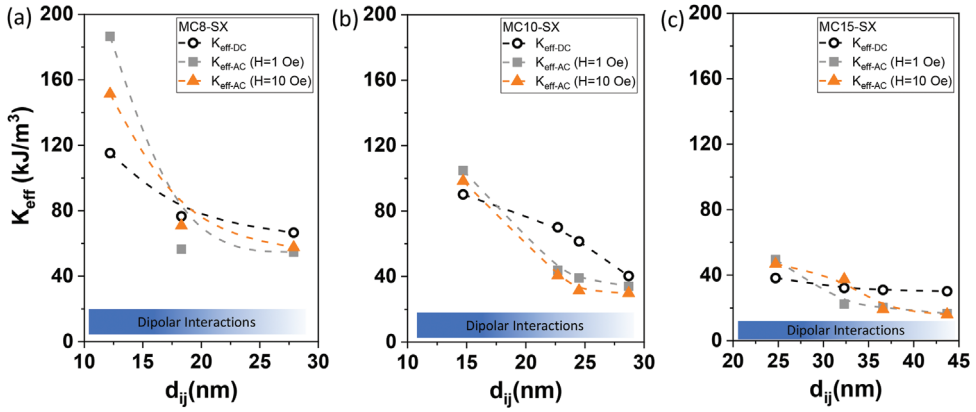

Figure 9. Dependence of the effective anisotropy constant on the distance between magnetic cores, that is, with increasing SiO_2 thickness obtained by the DC (K_{eff-DC}, open symbols) and AC methods (K_{eff-AC}, close symbols) of a) MC8-SX, b) MC10-SX and c) MC15-SX sets of MNPs. The dashed line represents a visual guide and the increase in the intensity of the blue color of the bar indicates the increase of the dipolar interaction strength with decreasing SiO_2 thickness. The numerical values of K_{eff} are compiled in Table 1.

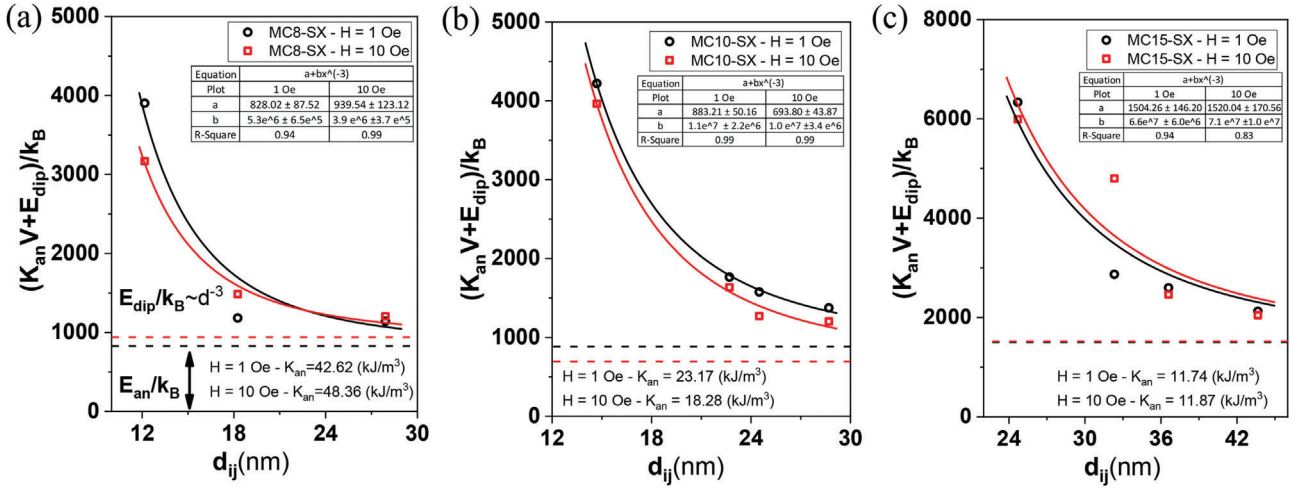

Figure 10. Dependence of the energy barrier formed by the sum of the anisotropy energy (E_A) and the magnetic dipole interaction energy (E_D) on the interparticle distance, d_{ij}, and thus on the strength of the dipole interactions of a) MC8-SX, b) MC10-SX, and c) MC15-SX MNPs at 1 Oe (black pattern) and 10 Oe (red pattern). The symbols represent the energy barrier values obtained by plotting $\ln(f/f_0)$ versus $1/T_B$ based on Equation (11) and compiled in Table 1. The solid lines represent the fit of the energy barrier with the inter-particle distance based on Equation (14). The inner box shows the values of "a" and "b" obtained in this fit, where "a" is the energy value obtained at the asymptotic limit ($d_{ij} \rightarrow \infty$), represented by the dashed lines, which makes it possible to determine $K_{eff-D.Correction}$ by decoupling the dipole interaction effects ($E_D = 0$).

Furthermore, by considering a mean-field approach, E_D for a system of identical superparamagnetic NPs, can be roughly approached by $E_D = \frac{\alpha\mu^2}{d^3}$, a function of the magnetic moment of the MNPs, μ, and the interparticle distance, d_{ij}.[73] The experimental determination of ΔE, enables the determination of K_{eff} and E_D by:

$$\Delta E_{exper.}/k_B = \left(K_{eff} V_{core} + \frac{\alpha\mu^2}{d_{ij}^3}\right)\frac{1}{k_B} = a + b\frac{1}{d_{ij}^3} \quad (14)$$

explicitly associating the ΔE to d_{ij} and making it possible to experimentally probe the magnetic dipolar interaction for those model systems in which d_{ij} is accessible.

In **Figure 10** the obtained experimental AC energy barriers $\frac{\Delta E_{exper.}}{k_B}$ (symbols), obtained from Equation (11), are plotted as a function of the center-to-center distance between particles, d_{ij}, for system models [Figure 10a MC8-SX, Figure 10b MC10-SX and Figure 10c MC15-SX MNPs at H = 1 Oe (black pattern) and H = 10 Oe (red pattern)]. By fitting the energy barrier data to Equation (14), a clear d_{ij}^{-3} dependence is obtained, thus experimentally confirming the contribution of a mean magnetic dipolar effect which makes it possible to decouple the interaction effect to obtain accurate K_{eff} values. Therefore, these results provide an experimental insight into the dependence of the dipolar energy term on the distance between MNPs, confirming the mean-field model of energy barrier described by Garcia Otero et al., which is crucial to accurately account for magnetic dipole interactions in the concentrated ensemble of MNPs.

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

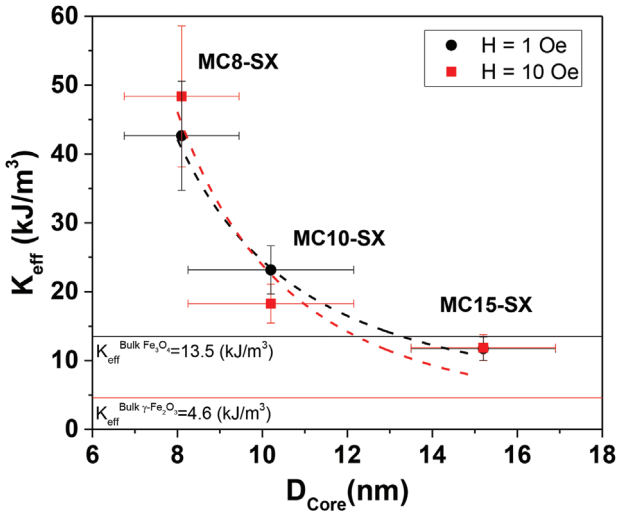

Figure 11. Effective anisotropy constant as a function of core size at 1 Oe (black pattern) and 10 Oe (red pattern) obtained from the dipolar interaction correction ($K_{\text{eff-D.Correction}}$). The horizontal and vertical bars represent the errors of the core size, obtained by the size distribution of the MNPs, and of the $K_{\text{eff-D.Correction}}$ was obtained based on the errors of the "a" term of the fit and of the particle volume. The solid and dashed lines represent the values of the magnetite (black) and maghemite (red) anisotropy constants of the bulk material and a visual guide to observe the decrease of $K_{\text{eff-D.Correction}}$ with particle size.

Accordingly, K_{eff} has been determined from data in Figure 10 as the asymptotic value of Equation (14) as a more precise way to obtain $K_{\text{eff-D.Correction}}$:

$$K_{\text{eff}-\text{D.Correction}} = \lim_{d_{ij}\to\infty}\left(K_{\text{eff}}\ V_{\text{core}} + \frac{\alpha\mu^2}{d_{ij}^3}\right)\frac{1}{k_B} = \lim_{d_{ij}\to\infty}\left(a + b\frac{1}{d_{ij}^3}\right) \quad (15)$$

where $d_{ij} \to \infty$ and the magnetic dipolar interactions become negligible.

Therefore, $K_{\text{eff-D.Correction}}$ computed as $K_{\text{eff}} = ak_B$ for the different MNPs: for set MC8-SX, $K_{\text{eff-D.Correction}}$ = 42.62 kJ m^{-3} (at H = 1 Oe) and, 48.36 kJ m^{-3} (at H = 10 Oe); for set MC10-SX, $K_{\text{eff-D.Correction}}$ = 23.17 kJ m^{-3} (at H = 1 Oe) and, 18.28 kJ m^{-3} (at H = 10 Oe); and for set MC15-SX, $K_{\text{eff-D.Correction}}$ = 11.74 kJ m^{-3} (at H = 1 Oe) and 11.87 kJ m^{-3} (at H = 10 Oe).

All $K_{\text{eff-D.Correction}}$ data are compiled in Table 1 and plotted in **Figure 11** as a function of the magnetic core (8.1, 10.2, and 15.3 nm). For both H_{app}, K_{eff} becomes larger for small particles, while for larger sizes, tends to the value of bulk magnetite (13.5 kJ m^{-3}) and bulk maghemite (4.6 kJ m^{-3}), as shown in Figure 11. This behavior is in agreement with the scaling law relationship of K_{eff}, $K_{\text{eff}} = K_b + 6K_s/D$,[74] that at nanoscale accounts for the bulk material anisotropy, K_b and surface anisotropy, K_S surface effects, depending on the particle size. In recent studies,[75] further modifications of this general relationship include additional terms accounting for the effect of a surface layer of disordered spins with thickness, d.

However, although the use of different syntheses (co-precipitation and thermal decomposition) allows us to test the validity of the method under different conditions, possible variations in crystalline quality and stoichiometry may lead to a variation in the bulk anisotropy constant in the different cores. This fact is more noteworthy as the surface anisotropy effect is larger, that is, as the nanoparticle size decreases. Thus, although the K_{eff} values clearly decrease with increasing magnetic core size, no scaling law fitting has been established (Note that the dashed lines in Figure 11 represent visual guiding). On the other hand, since different iron oxide phases could coexist (mainly magnetite and maghemite) within the same nanoparticle, for example, through oxidation of the outermost surface, both bulk anisotropy constants have been selected as reference, 13.5 kJ m^{-3} for magnetite (black line in Figure 11) and 4.6 kJ m^{-3} for maghemite (red line in Figure 11). Even though OA and SiO_2 coatings can prevent such oxidation compared to bare cores.[76] Moreover, $K_{\text{eff-D.Correction}}$, so obtained for all experimental sets, is lower than the one obtained from AC magnetometry ($K_{\text{eff-AC}}$) in the non-interacting regime when using a thick SiO_2 shell, showing that commonly used approaches, that take large coating shells as spacers, are generally not enough to strictly avoid magnetic dipole interactions. Therefore, the present method, taking K_{eff} as the mathematical limit of infinite spacing, for a complete set of samples, precisely determines the anisotropy uncoupled from the magnetic dipole contribution.

3. Conclusion

In summary, a dipolar interaction correction for the anisotropy constant determination was carried out experimentally employing a model system of MNPs with different size cores (8.1, 10.2, and 15.3 nm) and SiO_2 coating shells of different widths. The coating of magnetic cores with silica layers of different thicknesses has enabled the controlled reduction of interaction effects, making it possible to distinguish their contribution in the determination of the magnetic properties of MNPs. In all the developed model systems, the progressive reduction of the dipolar interactions with increasing interparticle distance was confirmed through the decrease of the intensity of the Henkel Plots dips. In the first approach, the anisotropy constant was determined from the blocking temperature obtained from DC and AC magnetometry considering the energy barrier caused only by anisotropy energy as it is typically employed for the determination of K_{eff} in nanoparticles with thick SiO_2 shells. Correspondingly, values denoted as $K_{\text{eff-DC}}$ and $K_{\text{eff-AC}}$ were obtained for the MNPs with the thickest SiO_2 shell obtaining values of 66.6, 40.2, and 30.2 kJ m^{-3} and 57.6, 29.9, and 16.9 kJ m^{-3}, for the 8.1, 10.2 and 15.3 nm magnetic cores, respectively. Furthermore, the effects of strong magnetic dipole interaction were revealed by reducing the SiO_2 thickness: small shells produce large values of K_{eff} due to the large contribution of magnetic dipole interaction energy. This fact highlighted the need to decouple the dipolar interaction energy from anisotropy energy, to determine precisely K_{eff}. Therefore, with AC measurements at extremely reduced fields, to minimize the Zeeman contribution, by adding a mean field magnetic dipole interaction energy term (E_D), its relationship with the interparticle distance (d_{ij}) was experimentally proven and could be decoupled from the energy barrier for the precise determination of the anisotropy constant. K_{eff} values of 42.62, 23.17, and 11.74 kJ m^{-3}

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

for MNPs with sizes of 8.1, 10.2, and 15.3 nm, respectively, decoupled from the contribution of magnetic dipole interaction were obtained and revealed to decrease with the nanoparticle size.

4. Experimental Section

Materials: Chemicals obtained from Sigma–Aldrich used for this study were, iron(III) chloride hexahydrate ($FeCl_3{\cdot}6H_2O$, 99%), iron(II) sulfate heptahydrate ($FeSO_4{\cdot}7H_2O$, 99%), iron(III) acetylacetonate ($Fe(C_5H_7O_2)_3$, 99.9%), 1,2-hexadecanediol ($C_{16}H_{34}O_2$, 90%), benzyl ether ($C_{14}H_{14}O$, 98%), hydrochloric acid (HCl, 37%), ammonium hydroxide (NH_4OH, 28%), oleic acid (OA, $C_{18}H_{34}O_2$, 90%) oleylamine ($C_{18}H_{37}N$, 70–80%), Igepal CO-520 (pure), tetraethyl orthosilicate (TEOS, 99%), cyclohexane (C_6H_{12}, ≥99.5%), ethanol (C_2H_6O, absolute) and isopropyl alcohol (IPA, C_3H_8O, ≥99.7%) and biological degree water, obtained from Corning, was used in all procedures.

Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles (MC8-SX – Co-precipitation Method): MNPs with a core size of 8 nm (MC8-SX batch) were obtained by a co-precipitation method, following the procedure described by Vargas-Osorio et al.[7] In a typical synthesis, $FeCl_3{\cdot}6H_2O$ (90 mmol) and $FeSO_4{\cdot}7H_2O$ (60 mmol) were dissolved in 200 mL of 0.01 M HCl aqueous solution and mechanically stirred. The mixture was heated up to 60 °C, then NH_4OH (430 mmol) and oleic acid (14.2 mmol) were added, and the reaction was carried out for 1 h. After that, the sample was transferred to a beaker and placed on a hot plate at 200 °C to enable precipitation. The precipitate containing iron oxide@OA MNPs was retained with a magnet and the supernatant was removed. The iron oxide@OA MNPs were washed three times with deionized water. Finally, the MNPs were redispersed in cyclohexane, and the remaining water was completely removed from the organic phase using a decantation funnel.

Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles (MC10-SX – Co-precipitation Method): MNPs with a core size of 10 nm coated with oleic acid were obtained by a co-precipitation procedure, following Massart's method[77] with some modifications. In a typical synthesis, $FeCl_3{\cdot}6H_2O$ (90 mmol) and $FeSO_4{\cdot}7H_2O$ (60 mmol) were dissolved in 200 mL HCl 0.01 M under mechanical stirring at 300 rpm and 60 °C. After 15 min, 60 mL NH_4OH (430 mmol) and oleic acid (14.2 mmol) were added, and the reaction was carried out for 1 h. The mixture color turned from brown to black. After that, the sample was transferred to a beaker and placed on a hot plate at 100 °C until flocculation occurred. The precipitate containing the MNPs was retained with a magnet and the supernatant was removed. The resulting MNPs were washed three times with deionized water and once with ethanol. Finally, the MNPs were redispersed in cyclohexane.

Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles (MC15-SX – Thermal Decomposition Method): MNPs with a core size of 15 nm coated with oleic acid were obtained by a thermal decomposition procedure. Briefly, iron acetylacetonate (12 mmol), 1,2-hexadecanediol (48 mmol), oleic acid (96 mmol), and oleylamine (24 mmol) were dissolved in benzyl ether (120 mL) at 50 °C for 20 min with mechanical stirring at 400 rpm under N_2 atmosphere. The mixture was heated up to 200 °C under reflux and without stirring. After 30 min, the temperature was raised to 300 °C and the reaction was left for 2 h. Once the mixture was cooled down to room temperature, the MNPs were magnetically isolated using a magnet and were washed 6 times with a mixture 1:1 of ethanol:acetone. The MNPs were redispersed in cyclohexane.

Synthesis of Silica Coating: The coating with a SiO_2 shell of the previously obtained iron oxide@OA MNPs was performed by using a microemulsion method, following the technique reported by Moldes et al.[78] with some modifications. Briefly, iron oxide@OA MNPs dispersed cyclohexane was added to a mixture of Igepal CO-520 and cyclohexane. The mixture was stirred at room temperature under mechanical stirring at 350 rpm for 30 min. Then, NH_4OH and TEOS were incorporated, and the mixture was covered with aluminium foil and stirred for 16 h at room temperature. The obtained MNPs were washed 4 times, using the following solvents in the presented order: 2-propanol, a mixture 1:1 of 2-propanol:ethanol, ethanol, and a mixture 1:1 of ethanol:H_2O. For each wash, the MNPs were retained with a magnet and the supernatant was removed. Finally, the MNPs were washed twice with H_2O and centrifuged at 9000 rpm for 10 min. The MNPs were redispersed in H_2O. The amount of NH_4OH and TEOS in each synthesis in order to obtain different SiO_2 layer thicknesses is shown in **Table 2**.

Table 2. Amount of NH_4OH and TEOS to obtain different SiO_2 layer thickness in M_8Si_X, $M_{10}Si_X$ and $M_{15}Si_X$ batches.

Magnetic core	Sample	NH_4OH [mmol]	TEOS [mmol]	SiO_2 layer [nm]
MC8	MC8-S2	15	10.7	2.0
	MC8-S5	27	18.8	5.1
	MC8-S10	19	13.4	9.9
MC10	MC10-S2	5	3.6	2.3
	MC10-S6	10	6.3	5.9
	MC10-S7	15	5.4	6.8
	MC10-S9	15	10.7	9.2
MC15	MC15-S5	0.35	0.22	4.7
	MC15-S9	0.71	0.45	8.5
	MC15-S11	1.13	0.72	10.7
	MC15-S14	2.03	1.07	14.2

Physicochemical, Magnetic Characterization of MNPs and Statistics: The characterization of the crystalline phases of the materials was performed by X-ray diffraction on powder samples with a Philips PW1710 diffractometer (Cu K_a radiation source, l = 1.54186 Å). Measurements were collected in the 2θ angle range between 10° and 80° with steps of 0.02° and 10 s per step. From the diffractograms, the crystalline phase of all MNPs was determined on the basis of the Inorganic Crystal Structure Database. The morphology of the materials was characterized by transmission electron microscopy (TEM) micrographs using a JEOL JEM-1011 microscope (100 kV). From these images the size distribution of the MNPs was determined using ImageJ software, fitting the values to a Distribution Fit using OriginPro 2016 software. For the determination of the MNP diameters, n > 100 particles were used. Iron content in the nanocomposite samples was determined by flame atomic absorption spectroscopy in a Perkin Elmer 3110 Atomic Absorption Spectrometer. DC magnetization curves of dried samples were measured using a Quantum Design SQUID magnetometer (Quantum Design, Darmstadt, Germany). Zero-field-cooled (ZFC) and field-cooled (FC) curves were taken at an applied magnetic field of 100 Oe from 10 to 350 K, using a sweeping rate of 2.5 K min^{-1}. In the ZFC protocol, the sample was initially cooled without the application of a magnetic field until a temperature of 10 K was reached. At this point, a magnetic field of 100 Oe was applied and the magnetization recorded as the temperature increased up to 350 K. The sample was then cooled again to 10 K under the application of a 100 Oe magnetic field and, once the temperature was reached, the magnetization was recorded again until 350 K, and the FC curve was obtained. The hysteresis loops were measured with an applied magnetic field between −25 KOe and 25 KOe at 300 K. The isothermal remanent magnetization (IRM) and the direct current DCD were measured at T = 10 K following thermal demagnetization. From these curves, the Henkel plots were computed. For the magnetic measurements, a considerable amount (at least 5 mg) of the nanocomposite was used and placed in a sample holder in a powdered state. AC magnetization curves of dried samples were measured using a Quantum Design Physical Property Measurement System in a temperature range of 10–300 K with steps of 10 K, an excitation field of 1 and 10 Oe, and driving frequencies varying from 10 to 1 KHz.

Figures 3–11 and all figures in the Supporting Information were obtained using Origin 2016 software. The size distribution data were given as (average ± standard deviation) for particle sizes. The errors obtained in the different fits were obtained by means of the fits through the Origin 2016 software (This is the case in Figure 8b and 10; S11, Supporting Information). The error of the $K_{\text{eff-D.Correction}}$ was determined by the indirect

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

measurement method from the previously obtained errors of volume and the parameter "a".

Supporting Information

Supporting Information is available from the Wiley Online Library or from the author.

Acknowledgements

This work was supported by the European Commission under the BOW project, (FETPROACT-EIC-05-2019, Grant 952183) and partially supported by the Spanish Ministry of Science and Innovation (PID2020-112626RB-C21), Modalities «Research Challenges» and «Knowledge Generation» and the Regional Consellería de Innovacion Program for the Grupos de Referencia Competitiva 2021 – GRC2021 project of Xunta de Galicia.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Keywords

dipolar interactions, iron oxide nanoparticles, magnetic anisotropy, magnetic hyperthermia, silica coating

Received: June 10, 2022
Revised: November 10, 2022
Published online: December 12, 2022

[1] J. Kudr, Y. Haddad, L. Richtera, Z. Heger, M. Cernak, V. Adam, O. Zitka, *Nanomaterials* **2017**, *7*, 243.
[2] H.-W. Zhang, Y. Liu, S.-H. Sun, *Front. Phys. China* 347, *5*, **2010**.
[3] M. Kettering, J. Winter, M. Zeisberger, S. Bremer-Streck, H. Oehring, C. Bergemann, C. Alexiou, R. Hergt, K. J. Halbhuber, W. A. Kaiser, I. Hilger, *Nanotechnology* **2007**, *18*, 175101.
[4] K. Mahmoudi, A. Bouras, D. Bozec, R. Ivkov, C. Hadjipanayis, *Int. J. Hyperthermia* **2018**, *34*, 1316.
[5] I. M. Obaidat, V. Narayanaswamy, S. Alaabed, S. Sambasivam, C. V. V. Muralee Gopi, *Magnetochemistry* **2019**, *5*, 67.
[6] Y. Piñeiro, Z. Vargas, J. Rivas, M. A. Lopez-Quintela, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, *2015*, 4495.
[7] Z. Vargas-Osorio, M. A. González-Gómez, Y. Piñeiro, C. Vázquez-Vázquez, C. Rodríguez-Abreu, M. A. López-Quintela, J. Rivas, *J. Mater. Chem. B* **2017**, *5*, 9395.
[8] D. Cabrera, A. Coene, J. Leliaert, E. J. Artés-Ibáñez, L. Dupré, N. D. Telling, F. J. Teran, *ACS Nano* **2018**, *12*, 2741.
[9] R. di Corato, A. Espinosa, L. Lartigue, M. Tharaud, S. Chat, T. Pellegrino, C. Ménager, F. Gazeau, C. Wilhelm, *Biomaterials* **2014**, *35*, 6400.
[10] D. Soukup, S. Moise, E. Céspedes, J. Dobson, N. D. Telling, *ACS Nano* **2015**, *9*, 231.
[11] R. D. R. Kahmei, P. Seal, J. P. Borah, *Nanoscale Adv.* **2021**, *3*, 5339.
[12] F. Fabris, E. Lima, E. de Biasi, H. E. Troiani, M. Vásquez Mansilla, T. E. Torres, R. Fernández Pacheco, M. R. Ibarra, G. F. Goya, R. D. Zysler, E. L. Winkler, *Nanoscale* **2019**, *11*, 3164.
[13] F. Fabris, J. Lohr, E. Lima, A. A. de Almeida, H. E. Troiani, L. M. Rodríguez, M. Vásquez Mansilla, M. H. Aguirre, G. F. Goya, D. Rinaldi, A. Ghirri, D. Peddis, D. Fiorani, R. D. Zysler, E. de Biasi, E. L. Winkler, *Nanotechnology* 065703, **2020**, *32*.
[14] Y. Prado, N. Daffé, A. Michel, T. Georgelin, N. Yaacoub, J. M. Grenèche, F. Choueikani, E. Otero, P. Ohresser, M. A. Arrio, C. Cartier-Dit-Moulin, P. Sainctavit, B. Fleury, V. Dupuis, L. Lisnard, J. Fresnais, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 10139.
[15] S. He, H. Zhang, Y. Liu, F. Sun, X. Yu, X. Li, L. Zhang, L. Wang, K. Mao, G. Wang, Y. Lin, Z. Han, R. Sabirianov, H. Zeng, *Small* **2018**, *14*, 1800135.
[16] G. Vallejo-Fernandez, K. Ogrady, *Appl. Phys. Lett.* **2013**, *103*, 142417.
[17] A. H. Morrish, *The Physical Principles of Magnetism 259–275*, Wiley-IEEE, Hoboken, NJ **2001**.
[18] L. Néel, *Ann. Geophys.* **1949**, *5*, 99.
[19] S. Yoon, *J. Korean Phys. Soc.* **2011**, *59*, 3069.
[20] R. Venugopal, B. Sundaravel, W. Y. Cheung, I. H. Wilson, F. W. Wang, X. X. Zhang, *Phys. Rev. B.* **2002**, *65*, 144181.
[21] P. Guardia, B. Batlle-Brugal, A. G. Roca, O. Iglesias, M. P. Morales, C. J. Serna, A. Labarta, X. Batlle, *J. Magn. Magn. Mater.* **2007**, *316*, e756.
[22] J. L. Dormann, L. Bessais, D. Fiorani, *J. Phys. C: Solid State Phys.* **2015**, *21*, 10.
[23] S. Mørup, E. Tronc, *Phys. Rev. Lett.* **1994**, *72*, 3278.
[24] M. F. Hansen, S. Mørup, *J. Magn. Magn. Mater.* **1998**, *184*, L262.
[25] J. L. Dormann, D. Fiorani, E. Tronc, *J. Magn. Magn. Mater.* **1999**, *202*, 251.
[26] N. Iacob, G. Schinteie, C. Bartha, P. Palade, L. Vekas, V. Kuncser, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2016**, *49*, 295001.
[27] G. F. Goya, M. P. Morales, *J. Metastable Nanocryst. Mater.* **2004**, *20–21*, 673.
[28] J. García-Otero, M. Porto, J. Rivas, A. Bunde, *Phys. Rev. Lett.* **2000**, *84*, 167.
[29] D. Serantes, D. Baldomir, C. Martinez-Boubeta, K. Simeonidis, M. Angelakeris, E. Natividad, M. Castro, A. Mediano, D. X. Chen, A. Sanchez, L. I. Balcells, B. Martínez, *J. Appl. Phys.* **2010**, *108*, 073918.
[30] M. Ulrich, J. García-Otero, J. Rivas, A. Bunde, *Phys. Rev. B* **2003**, *67*, 024416.
[31] D. Baldomir, D. Serantes, M. Pereiro, J. Botana, J. E. Arias, S. H. Masunaga, J. Rivas, in *J. Nanosci. Nanotechnol*, **2010**, *10*, 2717.
[32] D. Serantes, V. Vega, W. O. Rosa, V. M. Prida, B. Hernando, M. Pereiro, D. Baldomir, *Phys. Rev. B* **2012**, *86*, 104431.
[33] D. Serantes, M. Pereiro, R. Chantrell, D. Baldomir, *J. Magn. Magn. Mater.* **2018**, *460*, 28.
[34] V. L. Calero-Diaz Del Castillo, C. Rinaldi, *IEEE Trans. Magn.* **2010**, *46*, 852.
[35] D. Peddis, M. v. Mansilla, S. Mørup, C. Cannas, A. Musinu, G. Piccaluga, F. D'Orazio, F. Lucari, D. Fiorani, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 8507.
[36] C. Caizer, C. Savii, M. Popovici, *Mater. Sci. Eng., B* **2003**, *97*, 129.
[37] D. Farrell, Y. Cheng, R. W. McCallum, M. Sachan, S. A. Majetich, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 13409.
[38] C. C. A. M. Vieira, R. C. Gomes, F. G. Silva, A. L. Dias, R. Aquino, A. F. C. Campos, J. Depeyrot, *J. Phys.: Condens. Matter* **2019**, *31*, 175801.
[39] P. C. Rivas Rojas, P. Tancredi, O. Moscoso Londoño, M. Knobel, L. M. Socolovsky, *J. Magn. Magn. Mater.* **2018**, *451*, 688.
[40] N. Pérez, C. Moya, P. Tartaj, A. Labarta, X. Batlle, *J. Appl. Phys.* **2017**, *121*, 044304.
[41] J. A. de Toro, P. S. Normile, S. S. Lee, D. Salazar, J. L. Cheong, P. Muñiz, J. M. Riveiro, M. Hillenkamp, F. Tournus, A. Tamion, P. Nordblad, *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117*, 10213.
[42] M. Coskun, M. M. Can, O. D. Coskun, M. Korkmaz, T. Firat, *J Nanopart Res* **2012**, *14*, 1197.

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

[43] M. S. Andersson, J. A. de Toro, S. S. Lee, P. S. Normile, P. Nordblad, R. Mathieu, *Phys. Rev. B* **2016**, *93*, 054407.
[44] A. Tomitaka, T. Koshi, S. Hatsugai, T. Yamada, Y. Takemura, *J. Magn. Magn. Mater.* **2011**, *323*, 1398.
[45] S. Liu, B. Yu, S. Wang, Y. Shen, H. Cong, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2020**, 102165, https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102165.
[46] J. G. Ovejero, D. Cabrera, J. Carrey, T. Valdivielso, G. Salas, F. J. Teran, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 10954.
[47] S. Ota, Y. Takemura, *J. Phys. Chem. C* **2019**, *123*, 28859.
[48] A. Urtizberea, E. Natividad, A. Arizaga, M. Castro, A. Mediano, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 4916.
[49] A. Z. Abbasi, L. Gutiérrez, L. L. del Mercato, F. Herranz, O. Chubykalo-Fesenko, S. Veintemillas-Verdaguer, W. J. Parak, M. P. Morales, J. M. González, A. Hernando, P. de La Presa, *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 6257.
[50] K. Enpuku, S. Draack, F. Ludwig, T. Yoshida, *J. Appl. Phys.* **2021**, *130*, 183901.
[51] D. Cabrera, T. Yoshida, T. Rincón-Domínguez, J. L. F. Cuñado, G. Salas, A. Bollero, M. P. del Morales, J. Camarero, F. J. Teran, *Nanoscale* **2022**, *14*, 8789.
[52] M. S. Andersson, R. Mathieu, S. S. Lee, P. S. Normile, G. Singh, P. Nordblad, J. A. de Toro, *Nanotechnology* **2015**, *26*, 475703.
[53] H. Mamiya, H. Fukumoto, J. L. Cuya Huaman, K. Suzuki, H. Miyamura, J. Balachandran, *ACS Nano* **2020**, *14*, 8421.
[54] D. P. Joshi, G. Pant, N. Arora, S. Nainwal, *Heliyon* **2017**, *3*, e00253.
[55] V. S. Coker, A. M. T. Bell, C. I. Pearce, R. A. D. Patrick, G. van der Laan, J. R. Lloyd, *Am. Mineral.* **2008**, *93*, 540.
[56] Y. Piñeiro, M. G. Gómez, L. C. de Alves, A. A. Prieto, P. G. Acevedo, R. S. Gudiña, J. Puig, C. Teijeiro, S. Y. Vilar, J. Rivas, *Magnetochemistry* **2020**, *6*, 4.
[57] C. L. G. Harman, N. mac Fhionnlaoich, A. M. King, J. R. H. Manning, W. Lin, P. Scholes, S. Guldin, G.-L. Davies, *Mater. Adv.* **2022**, *3*, 6007.
[58] P. Kucheryavy, J. He, V. T. John, P. Maharjan, L. Spinu, G. Z. Goloverda, V. L. Kolesnichenko, *Langmuir* **2013**, *29*, 710.
[59] J. A. de Toro, M. Vasilakaki, S. S. Lee, M. S. Andersson, P. S. Normile, N. Yaacoub, P. Murray, E. H. Sánchez, P. Muñiz, D. Peddis, R. Mathieu, K. Liu, J. Geshev, K. N. Trohidou, J. Nogués, *Chem. Mater.* **2017**, *29*, 8258.
[60] C. Blanco-Andujar, D. Ortega, P. Southern, Q. A. Pankhurst, N. T. K. Thanh, *Nanoscale* **2015**, *7*, 1768.
[61] E. P. Wohlfarth, *J. Appl. Phys.* **1958**, *29*, 595.
[62] C. A. Iglesias, J. C. R. de Araújo, J. Xavier, R. B. da Silva, J. M. Soares, L. M. Silva, J. H. de Araújo, S. N. de Medeiros, P. B. Souza, C. C. P. Cid, M. Gamino, M. A. Correa, F. Bohn, in *a Collective System, arXiv*, Cornell University, Ithaca, NY **2021**.
[63] B. Aslibeiki, *Ceram. Int.* **2016**, *42*, 6413.
[64] J. García-Otero, M. Porto, J. Rivas, *J. Appl. Phys.* **2000**, *87*, 7376.
[65] J. S. Micha, B. Dieny, J. R. Régnard, J. F. Jacquot, J. Sort, *J. Magn. Magn. Mater.* **2004**, *272–276*, E967.
[66] I. J. Bruvera, P. Mendoza Zélis, M. P. Calatayud, G. F. Goya, F. H. Sánchez, *J. Appl. Phys.* **2015**, *118*, 184304.
[67] W. C. Nunes, F. Cebollada, M. Knobel, D. Zanchet, *J. Appl. Phys.* **2006**, *99*, 08N705.
[68] J. M. Vargas, W. C. Nunes, L. M. Socolovsky, M. Knobel, D. Zanchet, *Phys. Rev. B* **2005**, *72*, 184428.
[69] E. H. Sánchez, M. Vasilakaki, S. S. Lee, P. S. Normile, M. S. Andersson, R. Mathieu, A. López-Ortega, B. P. Pichon, D. Peddis, C. Binns, P. Nordblad, K. Trohidou, J. Nogués, J. A. de Toro, *Small* **2022**, *18*, 2106762.
[70] I. Prigogine, S. A. Rice, *Advances in chemical physics. Volume XCVIII*, J. Wiley, New York **1997**.
[71] S. H. Masunaga, R. F. Jardim, P. F. P. Fichtner, J. Rivas, *Phys. Rev. B* **2009**, *80*, 184428.
[72] C. Vázquez-Vázquez, M. A. López-Quintela, M. C. Buján-Núñez, J. Rivas, *J. Nanopart. Res.* **2011**, *13*, 1663.
[73] F. H. Sánchez, P. Mendoza Zélis, M. L. Arciniegas, G. A. Pasquevich, M. B. Fernández Van Raap, *Phys. Rev. B* **2017**, *95*, 134421.
[74] F. Bødker, S. Mørup, S. Linderoth, *Phys. Rev. Lett.* **1994**, *72*, 282.
[75] K. L. Pisane, S. Singh, M. S. Seehra, *Appl. Phys. Lett.* **2017**, *110*, 222409.
[76] S. H. Lee, D. H. Lee, H. Jung, Y. S. Han, T. H. Kim, W. Yang, *Curr. Appl. Phys.* **2015**, *15*, 915.
[77] R. Massart, *IEEE Trans. Magnetics* **1981**, *17*, 1247.
[78] Y. Moldes-Diz, G. Eibes, C. Vázquez-Vázquez, A. Fondado, J. Mira, G. Feijoo, J. M. Lema, M. T. Moreira, *J. Environ. Chem. Eng.* **2018**, *6*, 5950.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

 © 2022 The Authors. Advanced Science published by Wiley-VCH GmbH

21983844, 2023, 5, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202203397 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [15/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ADVANCED SCIENCE
Open Access

Supporting Information

for *Adv. Sci.*, DOI 10.1002/advs.202203397

Role of Dipolar Interactions on the Determination of the Effective Magnetic Anisotropy in Iron Oxide Nanoparticles

Pelayo García-Acevedo, Manuel A. González-Gómez, Ángela Arnosa-Prieto, Lisandra de Castro-Alves, Yolanda Piñeiro* and José Rivas*

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Supporting Information

Role of Dipolar Interactions on the Determination of the Effective Magnetic Anisotropy in Iron Oxide Nanoparticles

Pelayo García Acevedo, Manuel A. González Gómez, Ángela Arnosa Prieto, Lisandra de Castro Alves, Yolanda Piñeiro* and José Rivas*

I. Size Distribution

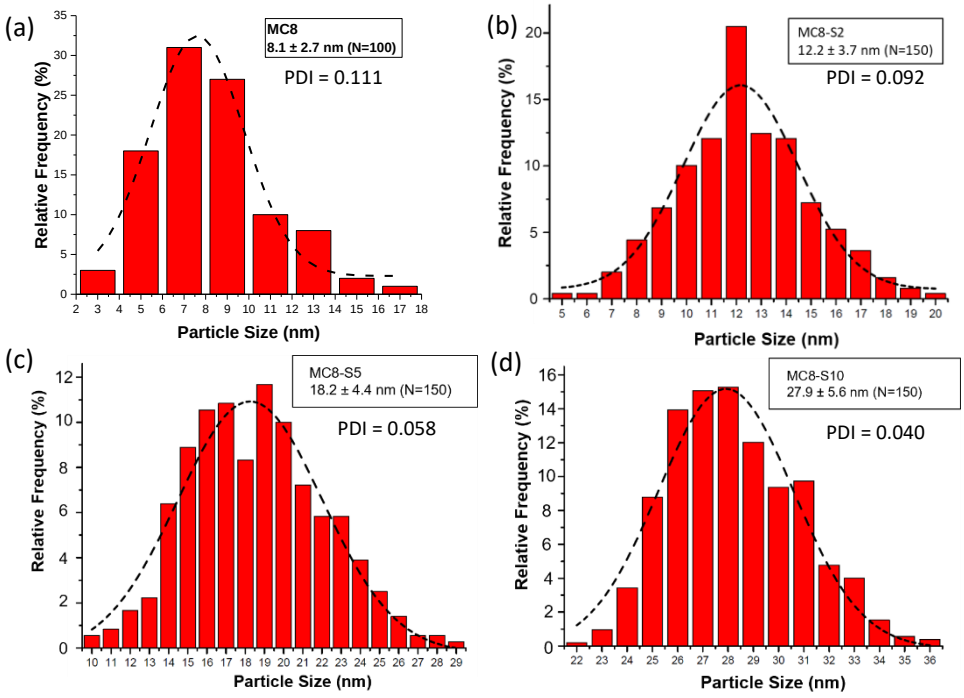

Figure S1. Size distribution histograms obtained by TEM micrographs of the MC8-SX batch: **(a)** MC8, **(b)** MC8-S2, **(c)** MC8-S5 and **(d)** MC8-S10. Size distribution was performed using Image J software.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

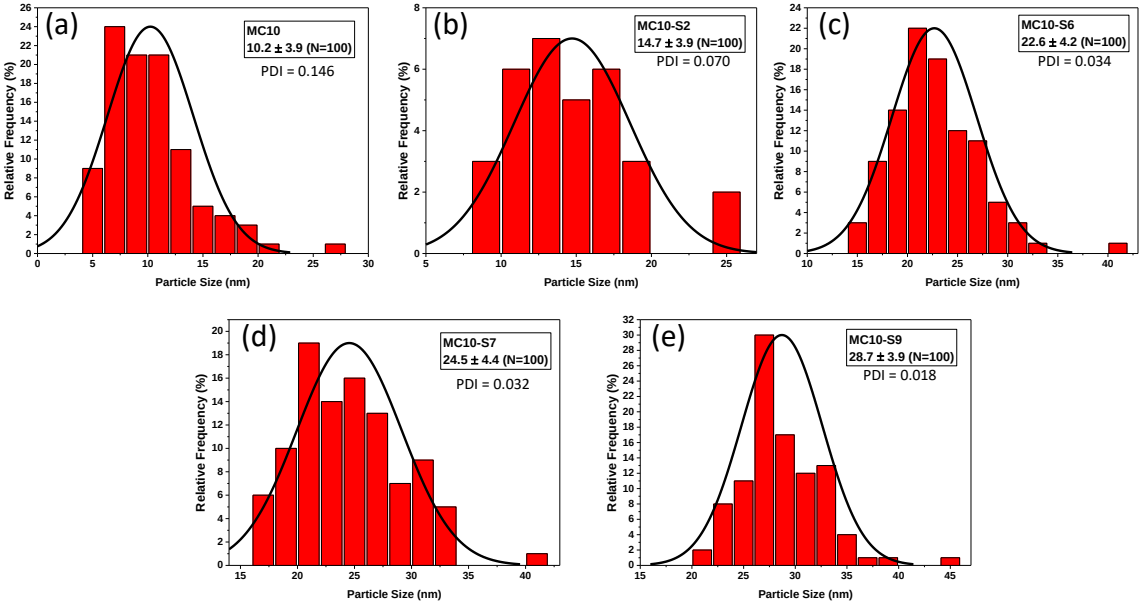

Figure S2. Size distribution histograms obtained by TEM micrographs of the M10-SX batch: **(a)** MC10, **(b)** MC10-S2, **(c)** MC10-S6, **(d)** MC10-S7 and **(e)** MC10-S9. Size distribution was performed using Image J software.

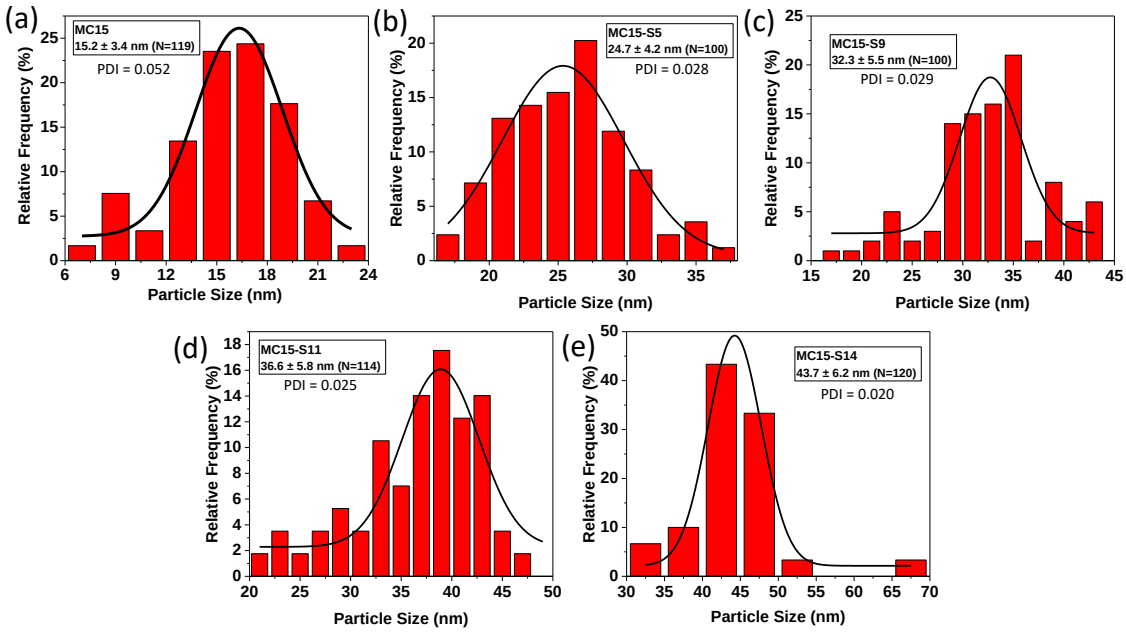

Figure S3. Size distribution histograms obtained by TEM micrographs of the M15-SX batch: **(a)** MC15, **(b)** MC15-S5, **(c)** MC15-S9, **(d)** MC15-S11 and **(e)** MC15-S14. Size distribution was performed using Image J software.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

II. XRD characterization

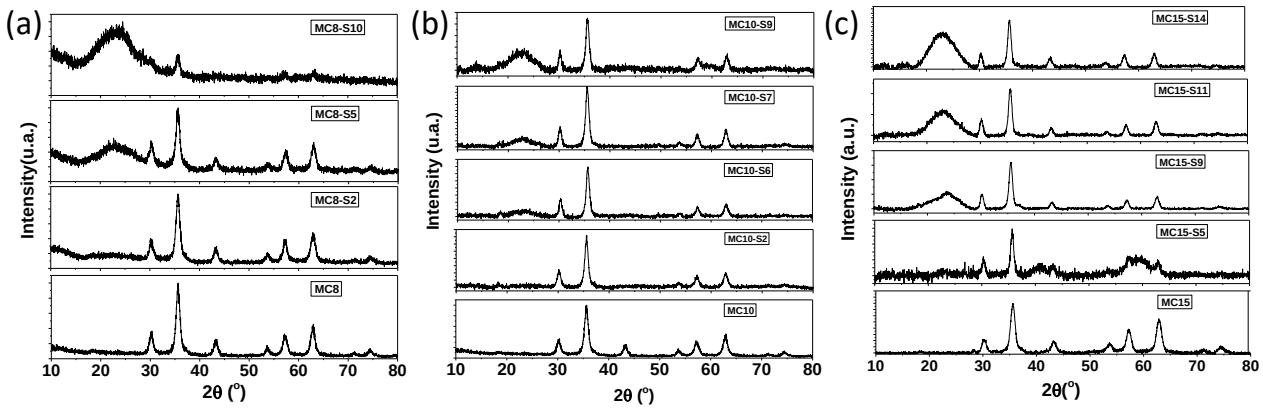

Figure S4. XRD pattern of **(a)** MC8-SX, **(b)** MC10-SX and **(c)** MC15-SX MNPs from the magnetic core without SiO_2 shell (top) to the thicker SiO_2 shell.

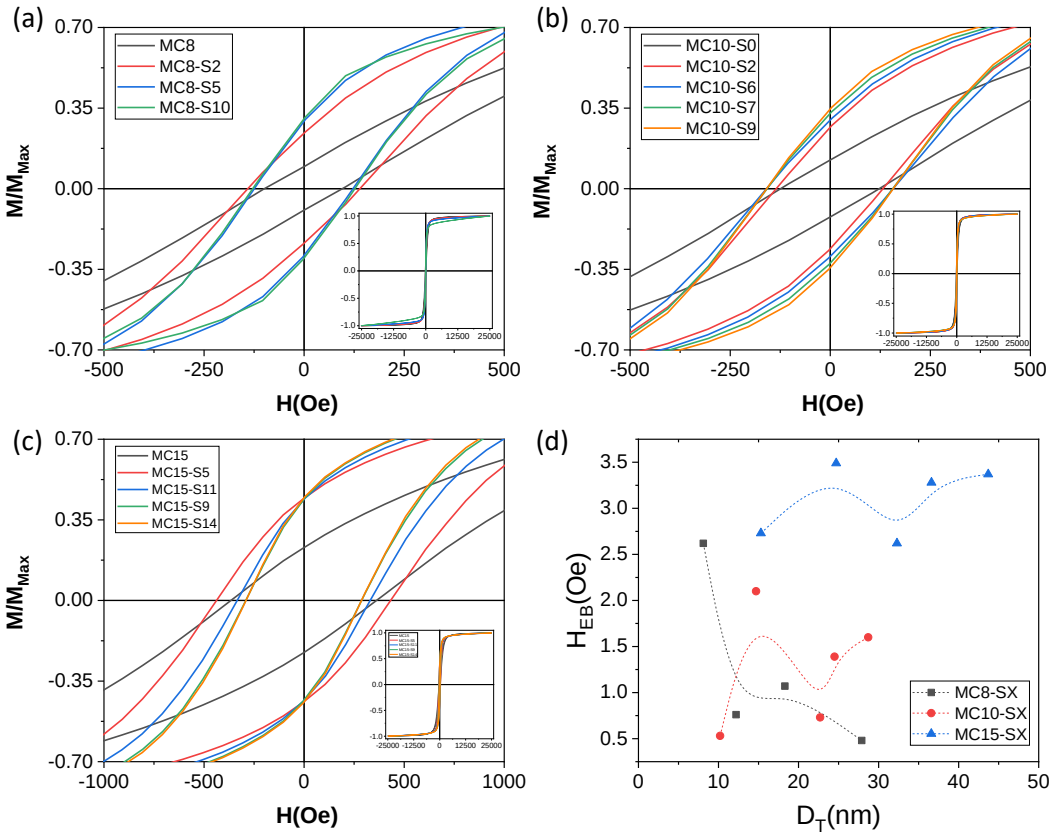

Figure S5. Hysteresis loops of **(a)** MC8-SX, **(b)** MC10-SX and **(c)** MC15-SX MNPs at 5 K cooled with H_{FC} = 10 kOe in the range of −25 kOe and 25 kOe. For clarity only the range between −0.5 kOe and 0.5 kOe is shown for the MC8-SX and MC10-SX sets and −1 kOe and 1 kOe for the MC15-SX set. Insets: Complete hysteresis loops. **(d)** H_{EB} values obtained for the different MNPs as a function of total nanoparticle size for the MC8-SX (gray), MC10-SX (red) and MC15-SX (blue) sets of MNPs. The dotted line represents visual guidance.

III. AC Magnetic Characterization

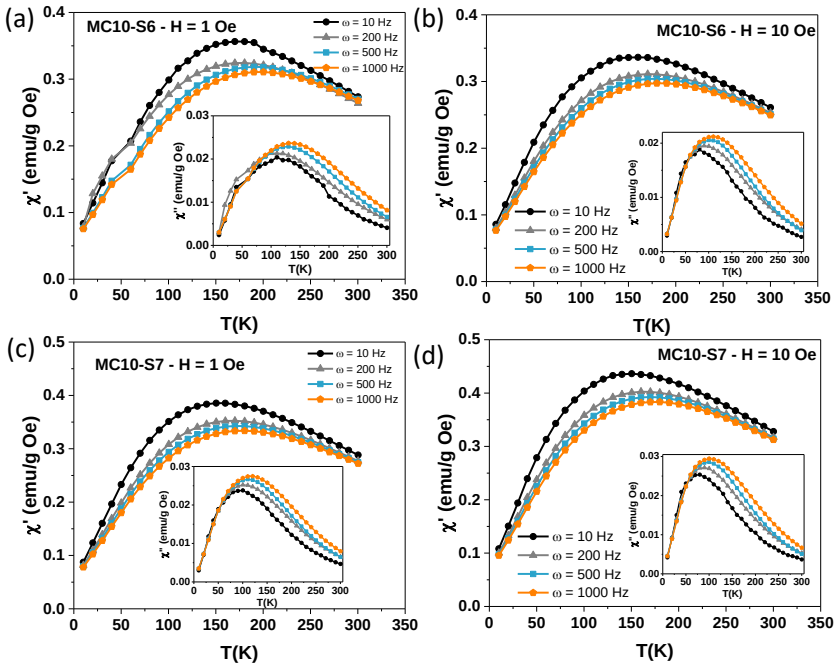

Figure S6. Temperature dependence of the real component χ'(T) and χ''(T) (inset) of MC10-S6 MNPs at **(a)** 1 Oe and **(b)** 10 Oe and MC10-S7 MNPs at **(c)** 1 Oe and **(d)** 10 Oe.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

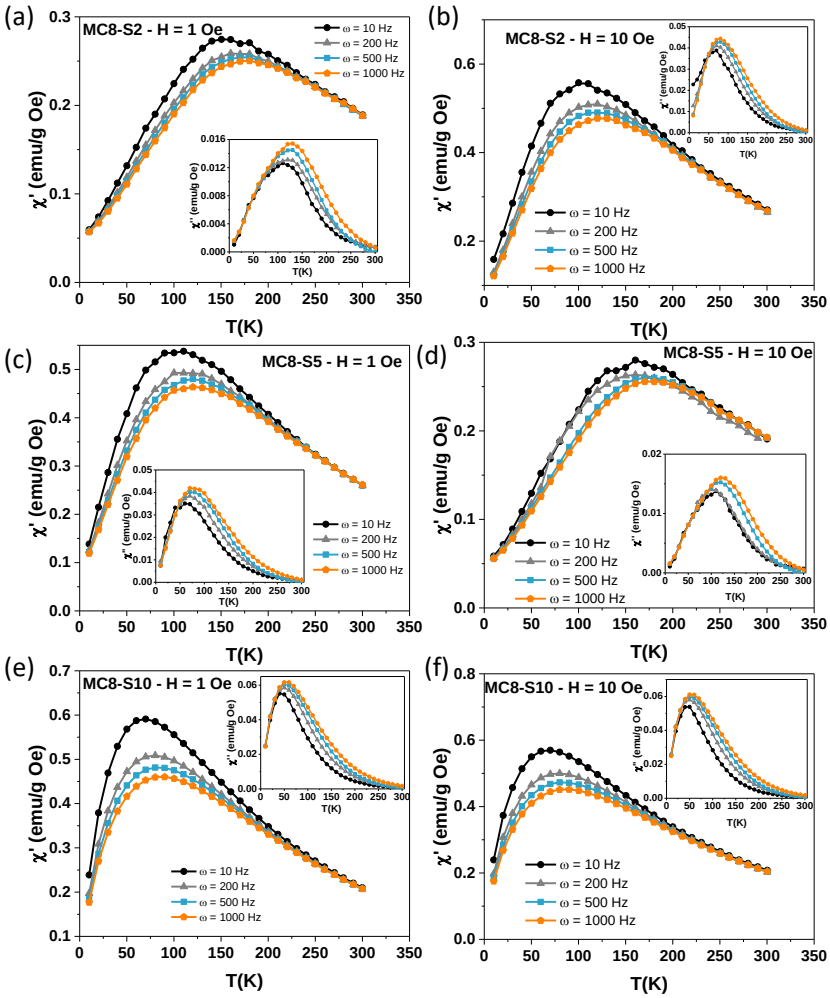

Figure S7. Temperature dependence of the real component χ'(T) and χ''(T) (inset) of MC8-S2 MNPs at **(a)** 1 Oe and **(b)** 10 Oe; MC8-S6 MNPs at **(c)** 1 Oe and **(d)** 10 Oe; and MC8-S10 MNPs at **(e)** 1 Oe and **(f)** 10 Oe.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

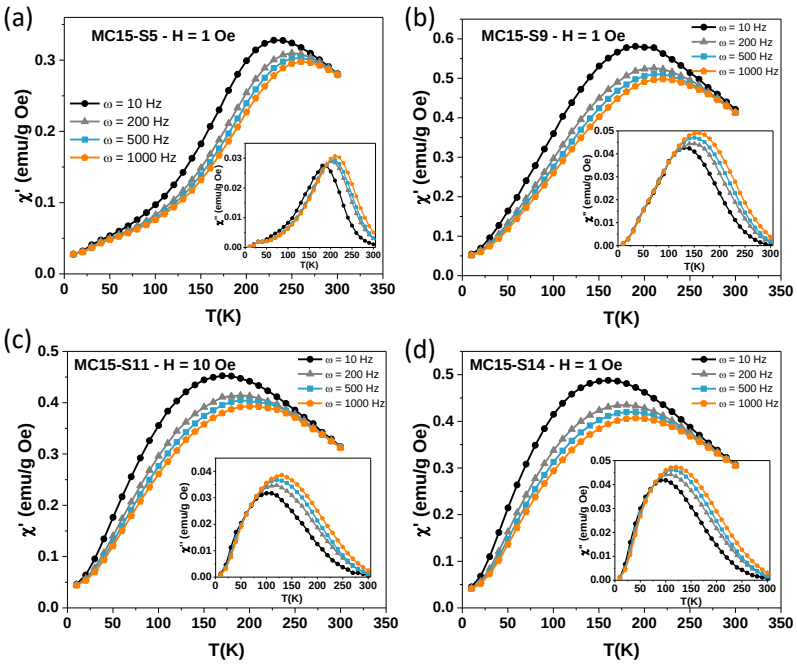

Figure S8. Temperature dependence of the real component χ'(T) and χ''(T) (inset) of **(a)** MC15-S5, **(b)** MC15-S9, **(c)** MC15-S11, **(d)** MC15-S14 MNPs at 1 Oe.

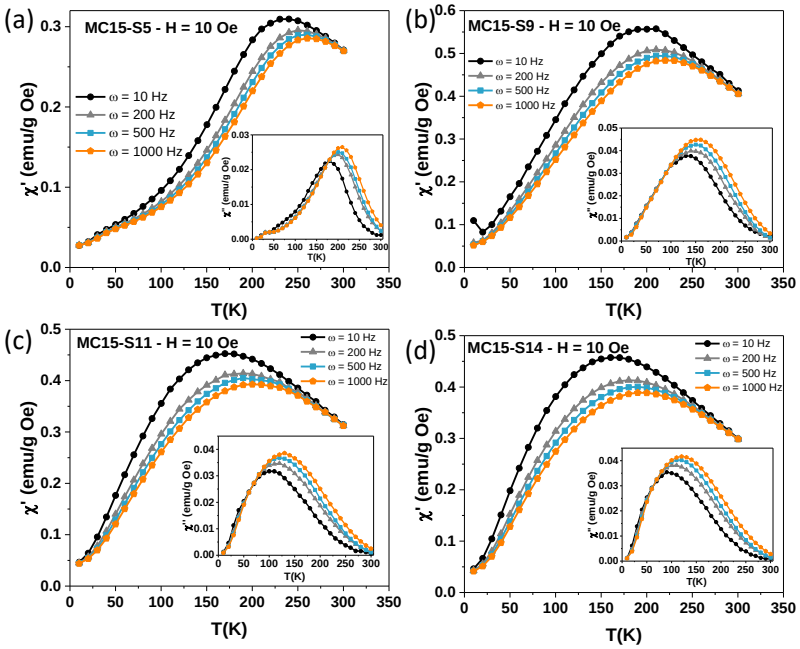

Figure S9. Temperature dependence of the real component χ'(T) and χ''(T) (inset) of **(a)** MC15-S5, **(b)** MC15-S9, **(c)** MC15-S11, **(d)** MC15-S14 MNPs at 10 Oe.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

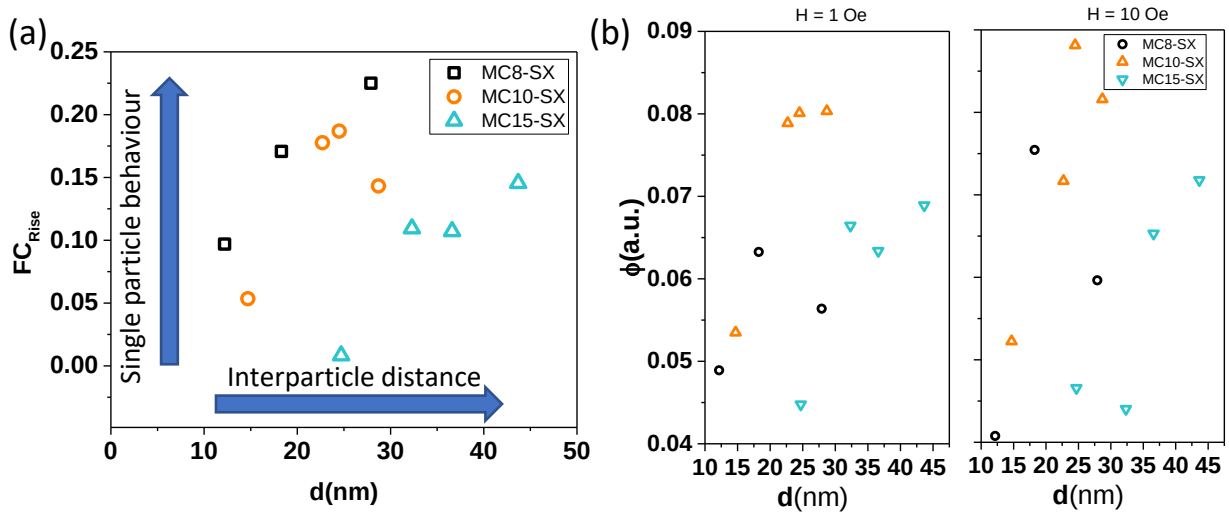

Figure S10. (a) Variation of FC_{rise}, which makes it possible to estimate the type of behaviour of dense systems of MNPs, as a function of the interparticle distance. The blue arrow on Y-axis indicates the transition from a collective to a single particle state. The blue arrow on the X-axis indicates the decrease of interactions between MNPs with increasing distance between magnetic cores. **(b)** Variation of the ϕ parameter with the distance between cores obtained through the shift in temperature with the frequency obtained by the χ"(T) curve.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

IV. Blocking Temperature Determination

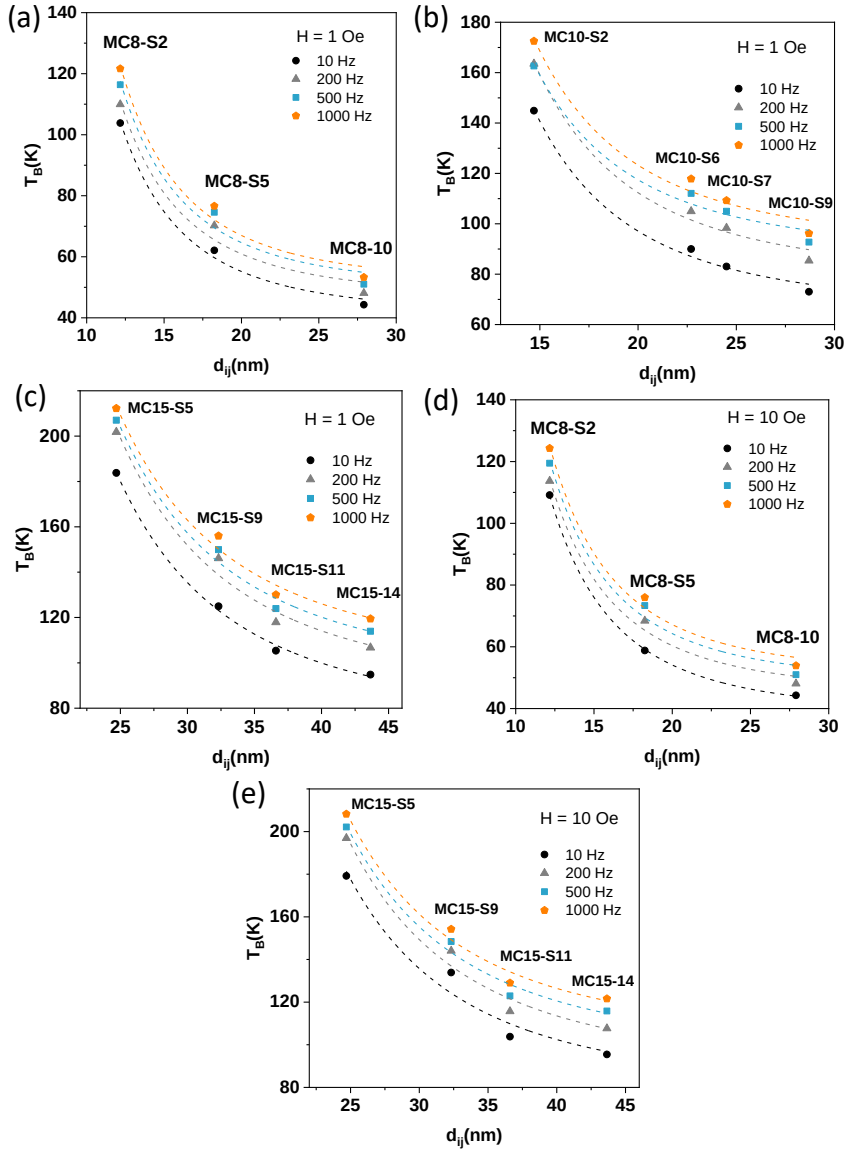

Figure S11. Blocking temperature (T_B) dependence with interparticle distance of **(a)** MC8-SX batch, **(b)** MC10-SX batch, **(c)** M15-SX batch at H=1 Oe and **(d)** MC8-SX and **(e)** M15-SX at H=10 Oe

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

V. Energy Barrier Determination

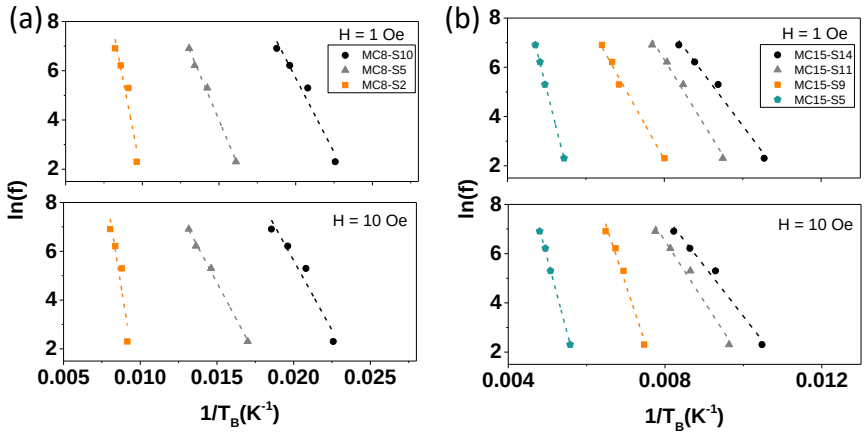

Figure S12. Semilog plot of the frequency versus the inverse of the blocking temperature of **(a)** MC8-SX MNPs and **(b)** MC15-SX MNPs at 1 Oe (top) and 10 Oe (bottom).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

magnetochemistry

MDPI

Article

Fluorescent Single-Core and Multi-Core Nanoprobes as Cell Trackers and Magnetic Nanoheaters

Pelayo García Acevedo *,†, Manuel A. González Gómez *,†, Ángela Arnosa Prieto, Lisandra De Castro Alves, Román Seco Gudiña, Yolanda Piñeiro and José Rivas

NANOMAG Laboratory, Applied Physics Department and iMATUS Materials Institute, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain; angela.arnosa@usc.es (Á.A.P.); lisandracristina.decastro@usc.es (L.D.C.A.); roman.seco@rai.usc.es (R.S.G.); y.pineiro.redondo@usc.es (Y.P.); jose.rivas@usc.es (J.R.)

* Correspondence: pelayo.garcia.acevedo@usc.es (P.G.A.); manuelantonio.gonzalez@usc.es (M.A.G.G.); Tel.: +34-881813097 (P.G.A. & M.A.G.G.)

† The authors contributed equally to this work.

Abstract: Iron oxide magnetic nanoparticles (MNPs) have been widely studied due to their versatility for diagnosis, tracking (magnetic resonance imaging (MRI)) and therapeutic (magnetic hyperthermia and drug delivery) applications. In this work, iron oxide MNPs with different single-core (8–40 nm) and multi-core (140–200 nm) structures were synthesized and functionalized by organic and inorganic coating materials, highlighting their ability as magnetic nanotools to boost cell biotechnological procedures. Single core Fe_3O_4@PDA, Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 and Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 MNPs were functionalized with fluorescent components with emission at different wavelengths, 424 nm (polydopamine), 515 (fluorescein) and 583 nm (rhodamine), and their ability as transfection and imaging agents was explored with HeLa cells. Moreover, different multi-core iron oxide MNPs (Fe_3O_4@CS, Fe_3O_4@SiO_2 and Fe_3O_4@Citrate) coated with organic (citrate and chitosan, CS) and inorganic (silica, SiO_2) shells were tested as efficient nanoheaters for magnetic hyperthermia applications for mild thermal heating procedures as an alternative to simple structures based on single-core MNPs. This work highlights the multiple abilities offered by the synergy of the use of external magnetic fields applied on MNPs and their application in different biomedical approaches.

Keywords: iron oxide magnetic nanoparticles; nanomagnetism; cell tracking; magnetic hyperthermia; nanowarming

check for updates

Citation: García Acevedo, P.; González Gómez, M.A.; Arnosa Prieto, Á.; De Castro Alves, L.; Seco Gudiña, R.; Piñeiro, Y.; Rivas, J. Fluorescent Single-Core and Multi-Core Nanoprobes as Cell Trackers and Magnetic Nanoheaters. *Magnetochemistry* **2022**, *8*, 83. https://doi.org/10.3390/magnetochemistry8080083

Academic Editor: Alexey Chubarov

Received: 30 June 2022
Accepted: 26 July 2022
Published: 29 July 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

The numerous advances produced in recent decades in the field of magnetic nanoparticles synthesis have provided several mature routes, such as coprecipitation, a simple and cost-effective procedure but with a production of lower crystallinity and higher polydispersity MNPs [1]; hydrothermal processes, based on the use of a water solvent but whose high temperature and pressure produce higher energetic costs [2]; the solvothermal method that allows morphological control from simple structures based on single-core MNPs [3] to complex structures formed by multiple cores [4]; or thermal decomposition, which allows the obtaining of monodisperse MNPs with high crystallinity and improved magnetic properties but whose disadvantages are higher production costs, long-time reactions and particles with hydrophobic surfaces [5]. This plethora of synthetic routes has allowed the design of MNPs with various morphologies, such as cubic, spherical or hexagonal shapes [6], and sizes, from ultra-small (<5 nm) [7] to large MNPs [8], with different architectures from single magnetic core to multi-core structures [9], with a direct control on their physicochemical properties, for on-demand applications. Moreover, the possibility of functionalizing MNPs with different coating materials, organic (polymers, such as polyethyleneimine (PEI), polydopamine (PDA), polyacrylic acid (PAA), etc.) and

inorganic (SiO_2, carbon or graphene) or with biological moieties (proteins, polypeptides, antibodies, etc.), allows the production of multi-functional nanostructures for an extended list of applications that goes beyond the use of their magnetic functionality of MNPs [10].

The most remarkable property of sufficiently small MNPs is superparamagnetism (SPM) [11], in which the multidomain structure of bulk ferromagnetic materials becomes a single magnetic domain, whose magnetic moment fluctuates with thermal energy, above the so known blocking temperature, T_B, presenting negligible coercivity and remanence values. If no magnetic field, H, is applied at temperatures above the T_B, SPM ensures the absence of magnetic interactions, avoiding the occurrence of embolism problems which is of outmost importance in in vivo uses. Moreover, the full magnetic control achieved by the MNPs switching on and off by applying an external H expands the applications of MNPs for different biomedical procedures and places them in a leading position in nanomedicine research [12].

Therefore, MNPs can be found as contrast agents in medical imaging processes either by magnetic resonance imaging (MRI), magnetic particle imaging (MPI) [13] or magnetic particle spectroscopy (MPS) [14,15]. Conventionally used gadolinium-based compounds as contrast agents in MRI, present toxicity and side effects [16] and opens the way for the development of iron oxides MNPs with improved performance as contrast agents [17,18] that can be supplemented, through the addition of fluorescent components such as polydopamine, fluorescein, or rhodamine, with optical properties for combined MRI and optical imaging. One of the main strategies to develop hybrid fluorescent MNPs is the design core-shell structures based on inorganic SiO_2 coatings as supporting material to anchor different fluorophores [19,20]. The incorporation of quantum dots (QDs) in the SiO_2 shell provides fluorescent nanomaterials with excellent optical properties [21], especially those based on carbon dots due to low toxicity [22,23]. Additionally, polymers can be grafted on the MNPs surface, being especially important in the use of MNPs conjugated with PDA, which is a current area of interest [24], allowing for the frugal designs of fluorescent nanoparticles [25,26] or nanorods [27] or even more complex structures, such as fluorescent mesoporous silica [28].

This hybrid strategy compensates the limitations of both imaging techniques, such as the low sensitivity of MRI or the low spatial resolution and low penetration depth of optical imaging techniques, with a penetration depth of MRI and the high sensitivity and cost-effectiveness of optical imaging techniques [29]. The benefits of combined imaging strategies for in vivo disease diagnosis, as well as the in situ monitoring of living cells [30], has boosted the design of multifunctional nanomaterials capable of acting as dual imaging agents [31].

In addition, MNPs can be used as heat sources at the nanoscale taking advantage of Néel and Brown relaxation processes, in magnetic hyperthermia processes for oncological therapies [32], that have led to a clinically applied solution for glioblastoma treatment (MAGFORCE). In the last times, magnetic hyperthermia has also emerged as a novel technique known as nanowarming, where the homogeneous heating produced by MNPs injected in organs submitted to cryopreservation makes it possible to rewarm large volumes of tissues preventing serious damages due to slow and nonuniform heating [33,34]. Especially interesting is the clustering of several MNPs as a potential way to improve the heating efficiency in hyperthermia processes compared to individually organized MNPs [35]. Different strategies have been reported to produce complex structures, such as nanoparticles clusters in a CTAB-mediated oil-in-water emulsion system [36], supernanoparticles [37], or silica coated magnetic nanocapsules [38]. In this regard, solvothermal methods [39], characterized by a one-step synthesis, allows the design of multi-core MNPs with tailored physicochemical properties by varying the reactive agents used. This has recently allowed the variation of the MNPs size from 125 to 539 nm by varying the surfactant concentration, allowing the improvement of the heating efficiency in magnetic hyperthermia processes. However, despite obtaining specific absorption rate (SAR) values close to 100 Wg^{-1} for the largest MNPs (359 and 539 nm), under the ap-

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

plication of a magnetic field of 24 kAm^{-1}, the SAR values decay when the nanoparticle size decreases up to 125 nm (SAR = 20.8 Wg^{-1}) and 180 nm (49.7 Wg^{-1}) [40]. Since the reported optimal nanoparticle size for cellular uptake is 50 nm and after observing a decrease in efficiency for larger MNPs (70–240 nm) [41], a reduction in the size of multi-core MNPs as nanoheaters without worsening their heating efficiency would be an advantage. Smaller iron oxide MNPs clusters with diameters of around 70–130 nm, 100 nm, or 158 nm were obtained presenting reduced SAR values of 10–35 Wg^{-1} [42], 22.8 Wg^{-1}) [43] and 60 Wg^{-1} [44], respectively, highlighting the correlation of heating efficiency and size. Composition can be also customized to increase SAR, as several studies demonstrate the analysis of the effect of Mn or Co in different ferrites: $MnFe_2O_4$ (D = 54 nm, SAR = 390 Wg^{-1}) [45], $MnFe_2O_4$ (D = 75 nm, SAR = 104 Wg^{-1}), $CoMn_2O_4$ (D = 95 nm, SAR = 223 Wg^{-1}) [46] or $MnFe_2O_4$ (D = 106 nm, SAR 332 Wg^{-1}) [47]. However, these last materials increase their SAR values at the expenses of higher toxicity compared to maghemite/magnetite-based MNPs, questioning their clinical applicability [48].

Therefore, versatility, cost-effectiveness, good magnetic response and biocompatibility of iron oxide MNPs, compared to other magnetic materials, explain their leading role in combination with other materials, such as biopolymers, hydrogels, inorganic nanostructures (mesoporous silica, aluminum hydroxide, etc.), for producing advanced formulations of scaffolds for tissue engineering, theragnostic agents or detection platforms [49].

In this work, the ability of iron oxide MNPs as magnetic nanotools to boost cell biotechnological procedures was shown by studying their applicability as cell trackers and nanoheaters for magnetic hyperthermia and nanowarming processes. By means of thermal decomposition, co-precipitation and solvothermal methods, magnetic cores with different physicochemical properties were obtained and coated with inorganic shells using Stöber and microemulsion methods to produce two batches of MNPs with single core and multi-core structure. Single core MNPs were functionalized using different techniques with fluorescent entities, such us polydopamine (λ_{em} = 424 nm), fluorescein (λ_{em} = 515 nm) and rhodamine (λ_{em} = 583 nm), providing fluorescent MNPs, Fe_3O_4@PDA, Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 and Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 MNPs in order to test their ability as magnetic tracers in a cellular isolation process assisted by external magnetic fields in HeLa cells was subsequently demonstrated. On the other hand, different strategies for the design of MNPs with multi-core structure were studied with the aim of comparing the clustering effects in magnetic hyperthermia processes, which is of current interest due to the improved efficiency versus simpler structures based on single MNPs. In this way, the heating capacity of multi-core MNPs (Fe_3O_4@CS, Fe_3O_4@Citrate and Fe_3O_4@SiO_2) of sizes between 140–200 nm was studied by applying external magnetic fields for their use in magnetic hyperthermia and nanowarming processes. In this case, SAR values up to 100 Wg^{-1} were obtained for Fe_3O_4@Citrate MNPs, significantly improving the values obtained using Fe_3O_4@CS, despite their smaller size. On the other hand, the encapsulation of Fe_3O_4@PEG MNPs in SiO_2 coatings allowed the obtaining of SAR values similar to those of Fe_3O_4@Citrate, being of special interest due to the lower energy cost of this type of synthesis compared to the solvothermal method.

2. Materials and Methods

2.1. Chemicals

All chemicals used in the synthetic processes were used as received without further purification. Iron(III) chloride hexahydrate ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 99%), iron(II) sulphate heptahydrate ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 99%), iron-oleate complex, polyethilenglycol (PEG, $C_{2n}H_{4n+2}O_{n+1}$, Mw: 300), sodium citrate dihydrate ($C_6H_9Na_3O_9 \cdot 2H_2O$, 98%), tetraethyl orthosilicate (TEOS, $SiC_8H_{20}O_4$, 98%), chitosan (CS, $C_{56}H_{103}N_9O_{39}$, deacetylated chitin, low molecular weight), dopamine hydrochloride ($C_8H_{11}NO_2 \cdot HCl$, 98%), polyvinylpyrrolidone (PVP, C_6H_9NO, Mw: 55,000), fluorescein isothiocyanate (FITC, $C_{21}H_{11}NO_5S$, 90%), rhodamine B isothiocyanate (RITC, $C_{28}H_{30}N_2SO$ mixture of isomers), 3-Aminopropyl-triethoxysilane (APTS, $C_9H_{23}NO_3Si$, 99%), ammonium hydroxide (NH_3 aq, 28%), sodium acetate (NaOAc, 99%),

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ethylene glycol (EG, $C_2H_6O_2$, 99%), hydrochloric acid (HCl, 37%), ethyl acetate ($C_4H_8O_2$, 99.8%), 1-octadecene (ODE, $C18H_{36}$, 90%), 2-propanol (IPA, C_3H_8O, 99.5%), cyclohexane (CHX, C_6H_{12}, 99.5%) and oleic acid (OA, $C_{18}H_{34}O_2$, 99%) were purchased from MERCK (Saint Louis, MO, USA). Ethanol (C_2H_5OH, absolute grade) was purchased from Panreac (Madrid, Spain). Phosphate-buffered saline (PBS) and high-glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) containing GlutaMax, fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin and trypsin were obtained from Gibco-Invitrogen (Gibco-Invitrogen^{TM}-Fisher, Carlsbad, CA, USA). Milli-Q (Millipore®, Burlington, MA, USA) deionized water was used in all the experiments.

2.2. Synthesis of MNPs

Depending on the synthesis route followed to produce the magnetic nanoprobes, single-core or multi-core structures can be obtained. In this work, magnetic cores were synthesized using bottom-up routes (co-precipitation, solvothermal and thermal decomposition methods), while the synthesis of core@shell MNPs were based on the Stöber and microemulsion methods. Surface modification with organic materials, like small fluorescent molecules (FITC or RITC), stabilizing agents (citrate or OA) or polymers (PDA, PEG or CS), and inorganic materials (SiO_2) was used in this work in order to modulate surface ionic charge activity, improving colloidal stability and biocompatibility and providing specific physicochemical properties, such as optical abilities for bioimaging. The synthesis routes used to prepare different samples is compiled in Figure 1.

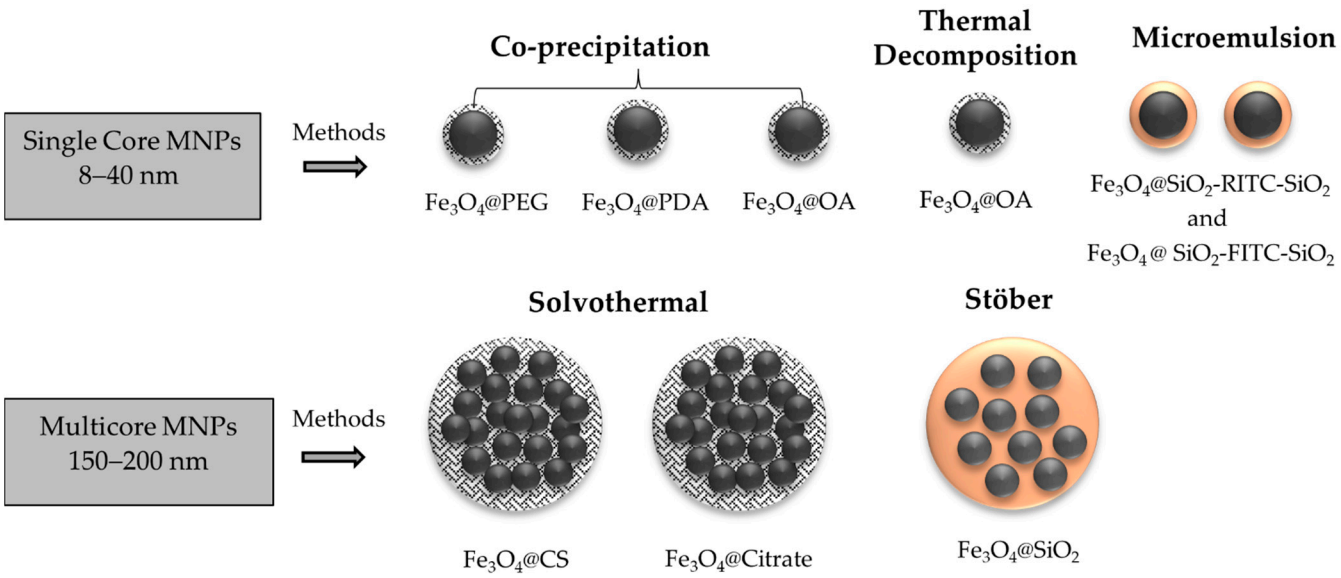

Figure 1. Schematic representation of the single-core MNPs synthesized by different methods—co-precipitation (Fe_3O_4@PEG, Fe_3O_4@PDA, Fe_3O_4@OA), thermal decomposition (Fe_3O_4@OA) and microemulsion (Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 and Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2)—and of the multi-core MNPs (down) synthesized by the solvothermal (Fe_3O_4@CS and Fe_3O_4@Citrate) and Stöber (Fe_3O_4@SiO_2) methods.

2.2.1. MNPs Prepared by Co-Precipitation Method

Polymer/stabilized-coated MNPs were obtained following Massart's procedure [50]. In a typical synthesis, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (45 mmol) and $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (30 mmol) were dissolved in 100 mL of 10 mM HCl aqueous solution through mechanical stirring. The mixture was heated at 60 °C, then NH_3 aq (770 mmol) and the desired biocompatible polymer or stabilizing agent (PDA, PEG or OA; 1.11 mmol) were added, and the reaction was carried out for 1 h. After that, the obtained MNPs were treated and washed differently depending on the hydrophilic/hydrophobic nature of their surface. Samples of Fe_3O_4 coated with PDA or PEG were acidified up to pH 5 with the incorporation of the HCl

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

solution at 9%. Magnetite NPs were separated from the reaction medium by a magnetic field and washed several times with Milli-Q water. Finally, Fe_3O_4@PDA and Fe_3O_4@PEG MNPs were redispersed in Milli-Q water. Samples of Fe_3O_4 nanoparticles coated with OA were transferred to a beaker and placed on a hot plate at 100 °C to allow flocculation. The precipitate containing Fe_3O_4@OA MNPs was separated from the reaction medium by a magnetic field and washed three times with Milli-Q water. Finally, Fe_3O_4@OA NPs were redispersed in CHX and the remaining water was completely removed from the organic phase by using a decantation funnel.

2.2.2. MNPs Prepared by Thermal Decomposition Method

OA-coated MNPs (Fe_3O_4@OA) were prepared following Zhou's procedure [51]. Typically, iron-oleate complex (3 mmol) and OA (1.5 mmol) were added to a flask containing ODE (50 mL). After being filled with nitrogen atmosphere, the reaction mixture was heated at 320 °C at a constant heating rate of 6 °C min^{-1} and then kept at that temperature for 120 min. MNPs were precipitated, magnetically separated and washed with ethanol (x4) and cyclohexane (x4). Finally, Fe_3O_4@OA NPs were resuspended in CHX.

2.2.3. MNPs Prepared by Microemulsion Method

Fluorescent single core@shell silica MNPs were prepared according to a water in cyclohexane reverse microemulsion process [52,53], modified to incorporate the fluorescent molecule (FITC or RITC) into a silicate matrix and the silica coating on the MNPs through a four-stage method. In this case, Fe_3O_4@OA MNPs previously synthesized by co-precipitation and thermal decomposition methods were used as magnetic cores for the design of Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 and Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 MNPs, respectively, following a microemulsion procedure.

RITC (0.037 mmol) was dissolved in a sample vial (previously covered with aluminum foil to avoid damage of the fluorescent molecule during all the procedure) in deoxygenated ethanol (35 mL) and kept under magnetic stirring (200 rpm) for 30 min. After that, APTS (150 µL) was added to the mixture and left for 16 h under the same magnetic shaking conditions to facilitate the coupling completely. After 16 h of incubation, the solvent was evaporated to obtain a final mixture volume of 1 mL. The obtained fluorescent complex (APTS-FITC or APTS-RITC) was stored at a low temperature (4 °C) and protected from light by an aluminum foil envelope until further use.

In a typical synthesis, Fe_3O_4@OA NPs (10 mg dispersed in CHX), Igepal CO-520 (3.6 mmol) and cyclohexane (18.7 mL) were mixed in a sample vial and orbital shaken using an incubator for 30 min. Finally, the addition of NH_3 aq (210 µL) and the tetraethyl orthosilicate, TEOS, was added in three stages to the reaction and kept under the same orbital conditions during the entire procedure. First, TEOS (112 mmol) was added to the synthesis and left 2h, followed by the addition of the desired fluorescent complex (30 µL). After 1h of incubation, TEOS (56 mmol) was added to the mixture and left for 1 h to facilitate crosslinking. Finally, TEOS (56 mmol) was introduced to the solution and the reaction required a further 16h at room temperature to complete the silica coating. After that, IPA was added to precipitate the fluorescent single core@shell MNPs, which were magnetically separated and extensively washed with IPA (four times) and water (four times). Finally, the fluorescent single core@shell MNPs were redispersed in Milli-Q water.

2.2.4. MNPs Prepared by Solvothermal Method

CS-coated multi-core MNPs (Fe_3O_4@CS) were obtained following Shen´s procedure [54]. $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (5.6 mmol), CS (0.5 g), NaOAc (44 mmol) and PVP (1 g) were added to 70 mL of ethylene glycol to give a transparent solution via vigorous stirring. This mixture was then transferred to a 125 mL Teflon-lined autoclave for treatment at 200 °C for 8 h. The obtained multi-core Fe_3O_4@CS NPs were extensively washed with Milli-Q water and separated by magnetic decantation for several times. Finally, MNPs were redispersed in Milli-Q water.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Citrate-coated multi-core MNPs (Fe_3O_4@Citrate) were prepared as reported by Jiang et al. [55]. Briefly, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (3.75 mmol) and sodium citrate (0.4 mmol) were dissolved in EG (30 mL) under magnetically stirring (200 rpm) for 30 min. Then, NaOAc (33 mmol) was added and kept under magnetically stirring until it was totally dissolved. The solution was transferred to a 45 mL Teflon-lined autoclave, which was sealed and maintained at 200 °C for 15 h. After the reaction, the autoclave was allowed to cool down to room temperature naturally. The obtained multi-core Fe_3O_4@Citrate MNPs were washed with Milli-Q water and ethanol several times and then redispersed in Milli-Q water.

2.2.5. MNPs Prepared by Stöber Method

Multi-core@shell silica MNPs (Fe_3O_4@SiO_2) were synthesized following Mohammad's procedure [56], with some modifications. In this section, the TEOS precursor was used for seed-mediated growth of silica on the surface of previously synthesized magnetite nanoparticles functionalized with PEG by the co-precipitation method [50]. First, 1 mL of Fe_3O_4@PEG (3.5 mg/mL) was dispersed in ethanol (5 mL) with a sonication bath for 15 min to ensure adequate dispersion. Then, NH_3 aq (114.6 µL) and TEOS (100 µL) were added to the mixture and orbitally stirred using an incubator at room temperature for 24 h. Afterwards, the multi-core@shell MNPs were magnetically separated, washed and redispersed in Milli-Q water.

2.3. Physicochemical Characterization

2.3.1. XRD Structural Characterization

The characterization of the crystalline phases was performed by X-ray diffraction (XRD) with powder samples using a Philips PW1710 diffractometer (Panalytical, Brighton, UK) with a Cu Kα radiation source, λ = 1.54186 Å. Measurements were collected in the 2θ angle range between 10° and 80° with steps of 0.02° and 10 s/step. The peak broadening of XRD patterns was used to obtain crystallite size using Scherer's equation [57]:

$$d = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta_{hkl}} \quad (1)$$

where d is the mean size of the crystallite (nm), k is the Scherrer constant (0.9, dimensionless), λ is the wavelength of the X-ray beam used (0.154060 nm), β is the full width at half maximum (FWHM, radians) of the peak and θ is the Bragg angle (degrees).

2.3.2. Microscopy Morphological Characterization

The morphology and size of the MNPs were studied by transmission electron microscopy (TEM) using a JEOL JEM-1011 microscope operating at 100 kV (JEOL, Tokyo, Japan). Samples were placed on copper grids with Formvar® films for analysis. The Image J program (distributed by NIH, USA) was used to measure the diameters of the MNPs.

2.3.3. Surface Chemistry Characterization

Fourier transform infrared (FTIR) spectra of the surface functional groups of the nanostructures were recorded with a Thermo Nicolet Nexus spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Madrid, Spain) using the attenuated total reflectance (ATR) method from 4000 to 400 cm^{-1}.

2.3.4. Hydrodynamic Particle Size and Zeta Potential Measurements

Measurements of hydrodynamic particle size and ζ-Potential of MNPs were routinely performed on the same instrument by a Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) equipped with a He–Ne laser (633 nm) and operating at a scattering angle of 173° and at room temperature. All analysis were performed in triplicate. All multifunctional magnetic nanoprobes were dispersed in Milli-Q water with an iron or magnetic material concentration of 0.4 mg/mL (approx.) and at pH 6.5.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Zeta potential measurements were carried out using a Malvern Nano ZS instrument (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) supplied by DTS Nano V7.11 software (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) when the functionalized nanoprobes were dispersed in Milli-Q water with an iron or magnetic material concentration of 0.4 mg/mL (approx.) and at pH 6.5. The Smoluchowski equation was used for zetametry measurements.

2.3.5. Compositional Characterization

The iron content of the MNPs samples was determined by flame atomic absorption spectroscopy (FAAS) performed with an Atomic Absorption Spectrometer (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA).

The composition of the samples was analyzed with a TGA Perkin Elmer model 7 (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA).

2.3.6. Optical Properties

The optical properties were measured using a Fluorescent Spectrophotometer (Varian Cary Eclipse).

Additionally, fluorescent MNPs imaging was performed with a fluorescence confocal multispectral imaging Confocal Laser microscope Leica TCS SP8 SMD. Technical specifications: resolution, 1024 × 1024; scan direction X, bidirectional; objective, HC PL APO CS 63×/1.40 OIL, using the 405 nm, 488 nm and 552 nm laser lines to PDA, FTIC and RITC fluorescent visualization, respectively.

Cell micrographs were imaged in a Leica DMI 6000 B microscope with the software LAS AF 1.0.0 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany).

2.3.7. DC Magnetic Characterization

Direct current (DC) magnetization curves of dried samples were measured using a vibrating sample magnetometer (VSM) (DMS, Lowell, MA, USA). In such a device, the measurement of magnetic hysteresis loops at room temperature was carried out under external magnetic fields from −10 to 10 kOe. Temperature dependence measurements of the MNPs magnetization were made in field-cooled (FC) and zero-field-cooled (ZFC) conditions using a Superconducting Quantum Interference Device (SQUID) Magnetometer (Quantum Design, Darmstadt, Germany).

2.3.8. AC Magnetic Characterization

AC magnetometry measurements were performed using a commercial inductive magnetometer (AC Hyster Series; Nanotech Solutions, Madrid, Spain) with the application of a magnetic field of 20 kAm^{-1} at a frequency of 200, 250, 300 and 350 kHz.

2.3.9. Magnetic Hyperthermia Characterization

Magnetic hyperthermia response of MNPs was measured using a commercially available setup (MagneTherm, Nanotherics, Warrington, UK) equipped with a fiber optic, operating at a fixed magnetic field of 20 kAm^{-1} and different frequencies.

3. Results and Discussion

3.1. X-ray Diffraction (XRD)

To determine the crystalline phases of the MNPs, X-ray diffraction was used, and powder X-ray patterns of all samples are shown in Figure 2. Diffractograms of fluorescent single-core MNPs (Fe_3O_4@PDA, Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 and Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2) and multi-core MNPs (Fe_3O_4@SiO_2, Fe_3O_4@CS and Fe_3O_4@Citrate) are shown in Figure 2a,b, respectively. The XRD characterization of the magnetic cores composed of Fe_3O_4@OA and Fe_3O_4@PEG MNPs, corresponding to Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2, Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 and multi-core Fe_3O_4@SiO_2 is shown in Figure S1. The diffraction peaks of all MNPs match the theoretical diffraction peaks at (1 1 1), (2 2 0), (3 1 1), (4 0 0), (4 2 2), (5 1 1), (4 4 0), (6 2 0) and (5 5 3), corresponding to the inverse spinel structure crystalline phase of magnetite from

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

the Inorganic Crystal Structure Database (ICSD card No. 98-015-8742) [58]. However, the presence of other iron oxide phases, such as maghemite, cannot be discarded. It is worth noting the presence of peaks corresponding to the functional inorganic coatings of the MNPs, as in the case of fluorescent single-core@shell and multi-core@shell (Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2, Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 and Fe_3O_4@SiO_2) with a broad band located between 15°–30°, indicating the amorphous nature of silica shell [59]. In addition, a broad band located at 18° is observed in the multi-core Fe_3O_4@CS pattern, which corresponds to the chitosan coating [60]. The crystallite size of single-core and multi-core MNPs, compiled in Table 1, was calculated using Scherrer's equation, Equation (1) and applied to the most intense peak (311). The crystallite sizes are almost the same or slightly smaller than the particle sizes, indicating that each particle consists of a single crystal.

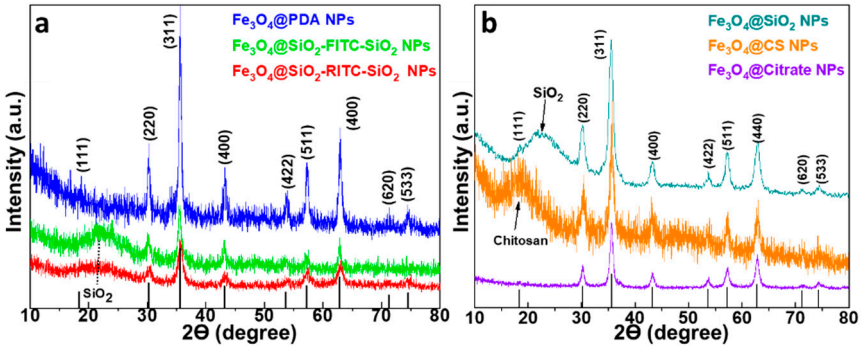

Figure 2. XRD patterns of (**a**) single-core MNPs, Fe_3O_4@PDA (blue pattern), Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 (green pattern) and Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 (red pattern), and (**b**) multi-core MNPs, Fe_3O_4@SiO_2 (dark cyan pattern), Fe_3O_4@CS (orange pattern) and Fe_3O_4@Citrate (violet pattern), compared to the XRD pattern of magnetite from the ICDS card No. 98-015-8742 data base.

Table 1. Non-magnetic content, hydrodynamic size (D_H), crystal size obtained by XRD characterization (D_{XRD}), TEM size obtained by TEM micrographs (D_{TEM}), polydispersity index (PDI) and zeta potential.

Core	Coating	Layer Content (wt %)	D_H (nm)	D_{XRD} (nm)	D_{TEM} (nm)	PDI	Zeta Potential (mV)
Single-Core	PDA	41.70	163.00 ± 131.50	12.27	14.90	0.445	(+) 28.70
	SiO_2-RITC	75.10	44.14 ± 19.73	9.28	22.50	0.195	(−) 38.00
	SiO_2-FITC	82.60	142.20 ± 50.47	8.59	40.09	0.265	(−) 45.50
Multi-Core	CS	34.10	201.20 ± 52.56	13.04	178.44	0.259	(+) 12.00
	Citrate	7.10	339.80 ± 218.00	13.25	145.96	0.233	(−) 50.50
	SiO_2	78.1	215.50 ± 61.91	9.82	197.27	0.146	(−) 45.93

The FTIR spectra, presented in Figure 3a for the single-core MNPs and Figure 3b for the multi-core MNPs, were used to assess the effective surface functionalization through the absorption bands. FTIR spectra of all samples show similar absorption bands at 3400 cm^{-1}, which is characteristic peak to the presence of hydroxyl groups from the adsorbed water molecules and attributed to O-H stretching [61], and at around 550 cm^{-1}, associated with the stretching vibration of the tetrahedral groups (Fe^{3+}–O^{2-}) for Fe_3O_4 [62]. For PDA coated Fe_3O_4 MNPs, the bands located at 3358, 2919, 2857, 1610, 1431 and 1290 cm^{-1}, associated at -NH stretching, -CH_2 (asymmetric and symmetric), -C-N stretching, -NH bending and -C-N-C stretching vibrations, respectively [63]. For single- and multi-core@shell MNPs FTIR spectra, silica coating can be confirmed by the appearance of three peaks at around 1050, 4793 and 463 cm^{-1}, corresponding to the stretching modes of Si-O-Si (asymmetric and symmetric) and the scissoring vibration of Si-O-Si, respectively [64]. Chitosan-coated Fe_3O_4 NPs show a weak peak at 3377 and 1610 cm^{-1} associated to the presence of amine groups (-NH stretching and -NH bending vibrations, respectively). The absorptions band at 2923,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2862 cm^{-1} are correlated to the asymmetric and symmetric CH_2 stretching of copolymer chitosan, respectively. In addition, two peaks appear around 1410 and 1034 cm^{-1}, which prove the presence of the amide group of chitosan (C-N and C-O-C stretching vibrations, respectively). Moreover, citrate-coated Fe_3O_4 FTIR spectra demonstrated the correct citrate coating by the presence of clearly observed absorptions bands at 1373, 1367 and 1060 cm^{-1}, which are attributed to the stretching mode (asymmetric COO-, symmetric COO- and $-CH_2$, respectively) groups of citrates [64]. The FITR characterization of the magnetic cores composed of Fe_3O_4@OA and Fe_3O_4@PEG MNPs, corresponding to Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2, Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 and multi-core Fe_3O_4@SiO_2 is shown in Figure S2.

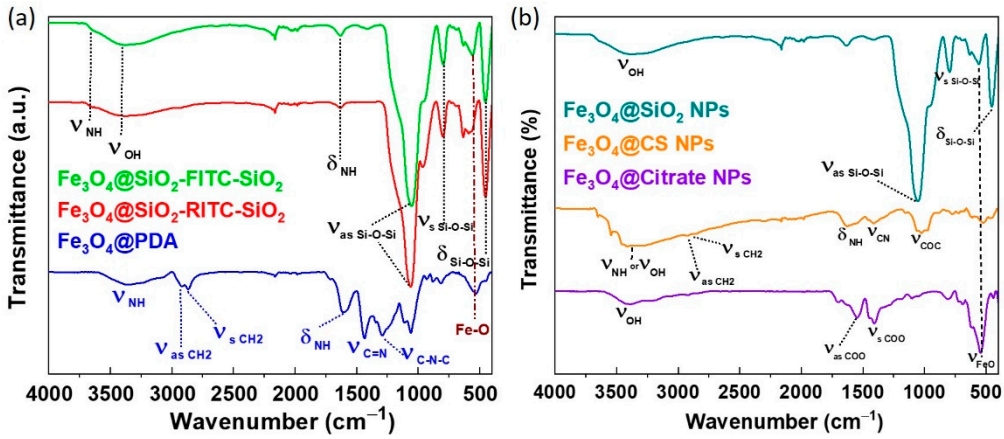

Figure 3. FTIR spectra of (**a**) single-core MNPs, Fe_3O_4@PDA (blue pattern), Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 (green pattern) and Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 (red pattern), and (**b**) multi-core MNPs, Fe_3O_4@SiO_2 (dark cyan pattern), Fe_3O_4@CS (orange pattern) and Fe_3O_4@Citrate (violet pattern).

3.2. Transmission Electron Microscopy (TEM)

The morphology and size of iron oxide MNPs, characterized by TEM micrographs, are shown in Figures 4 and 5 for single-core and multi-core MNPs, respectively. All MNPs show a quasi-spherical morphology and sizes, compiled in Table 1, between 14.90 nm (Fe_3O_4@PDA NPs) and 197.30 nm (Fe_3O_4@SiO_2 multi-core MNPs). Regarding the single-core MNPs, from these images it was possible to observe a higher agglomeration in the MNPs synthesized by the coprecipitation method (Fe_3O_4@PDA), compared to the MNPs synthesized by the microemulsion method (Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 and Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2), where magnetite cores (dark contrast) are individually embedded within the silica (light contrast) with averaged size of 22.50 nm and 40.09 nm, respectively. On the other hand, the TEM images of the multi-core MNPs revealed particle sizes an order of magnitude larger than the single-core MNPs: Fe_3O_4@CS (178.44 nm), Fe_3O_4@Citrate (145.96 nm) and Fe_3O_4@SiO_2 (197.27 nm). A clear structure formed by small magnetic cores was observed in the MNPs synthesized by the solvothermal method Fe_3O_4@CS (Figure 5a) and Fe_3O_4@Citrate (Figure 5b) and, for multi-core Fe_3O_4@SiO_2 MNPs synthesized by Stöber method (Figure 5c), a core@shell structure formed by the clustering of small MNPs covered by a thick SiO_2 shell with spherical shape can be observed.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

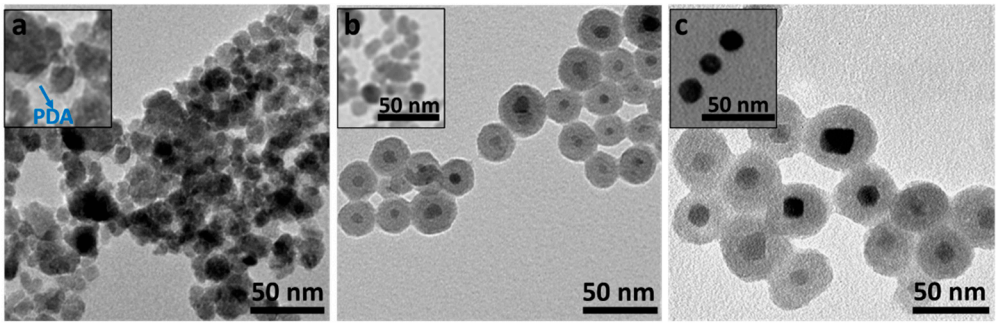

Figure 4. Representative TEM micrographs of the fluorescent MNPs: single-core Fe_3O_4@PDA (**a**), single-core@shell Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 (**b**), Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 (**c**). Insets of (**a**) show a zoom of the Fe_3O_4@PDA TEM micrographs and (**b**,**c**) magnetic cores prior to silica coating.

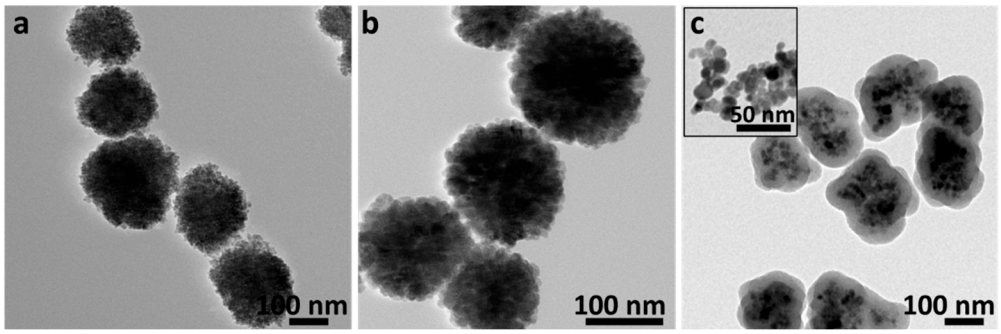

Figure 5. Representative TEM micrographs of the multi-core MNPs: Fe_3O_4@CS (**a**), Fe_3O_4@Citrate (**b**) and the core@shell Fe_3O_4@SiO_2 (**c**). Insets show magnetic cores prior to silica coating.

Thermogravimetry and FAAS analyses allowed the quantification of the amount of organic and inorganic content, respectively, contained in each MNPs. In this way, different values of the %w of the shell content, compiled in Table 1, were obtained, depending on the synthesis, with the multi-core Fe_3O_4@Citrate MNPs being the ones with the lowest percentage of organic content (7.14%) and the single-core Fe_3O_4@SiO_2-FITC MNPs the ones with the highest content (82.60%). Regarding the single-core MNPs, Fe_3O_4@PDA MNPs have the lowest organic content (41.70%) compared to the highest values revealed for Fe_3O_4@SiO_2-RITC (75.1%) MNPs. On the other hand, Fe_3O_4@CS present a higher percentage of organic content (34.12%) than multi-core Fe_3O_4@Citrate (7.14%) synthesized by the solvothermal method but much lower values than Fe_3O_4@SiO_2 multi-core MNPs (78.10%) synthesized by the Stöber method.

The colloidal stability of single- and multi-core MNPs was evaluated by hydrodynamic size and zeta potential analysis (Table 1). DLS measurements revealed that the fluorescent single core@shell (Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2) MNPs possess a relatively small hydrodynamic diameters, close to the particle size and their zeta potential (−45.50 mV), and PDI (0.195) indicates that the MNPs are stable and that the nanoparticle size distribution is relatively uniform compared to the single-core Fe_3O_4@PDA MNPs, where their PDI, greater than 0.4, indicates a moderate aggregation of the MNPs in aqueous medium [65] and its positive zeta potential (+28.70 mV) indicates the correct functionalization with PDA of the entire surface of the MNPs [66]. On the other hand, the PDI values of multi-core MNPs are lower than 0.4, which indicates a good dispersion in aqueous solution. From the results of zeta potential, listed in Table 1, it was found that the surfaces of CS-coated MNPs have positive charges (+12 mV), which is common due to the cationic characteristic of CS [67]. Moreover, negative charges were found in the surfaces of multi-core MNPs (Fe_3O_4@Citrate and Fe_3O_4@SiO_2), indicating the presence of carboxylic acid groups and silanol groups from citrate and silica layers, respectively [68,69].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.3. Optical Characterization of Fluorescent Single-Core MNPs

The optical characterization of the fluorescent activity of PDA- (Fe_3O_4@PDA), FITC- (Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2) and RITC (Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2)-functionalized MNPs, observed in Figure 6, reveals well-defined peaks, both excitation and emission, with maxima located at 424 nm (Fe_3O_4@PDA), 515 nm (Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2) and 583 nm (Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2) agreeing with those reported theoretically for each fluorophore [70–72]. To verify whether fluorescent single-core MNPs have a sufficient response to be used in microscopy images for biological studies, these were analyzed by confocal microscopy using laser excitation lines of 405, 488 and 522 nm, showing the images in Figure 6d,e, respectively, and allowing the visualization of PDA, FITC and RITC, respectively.

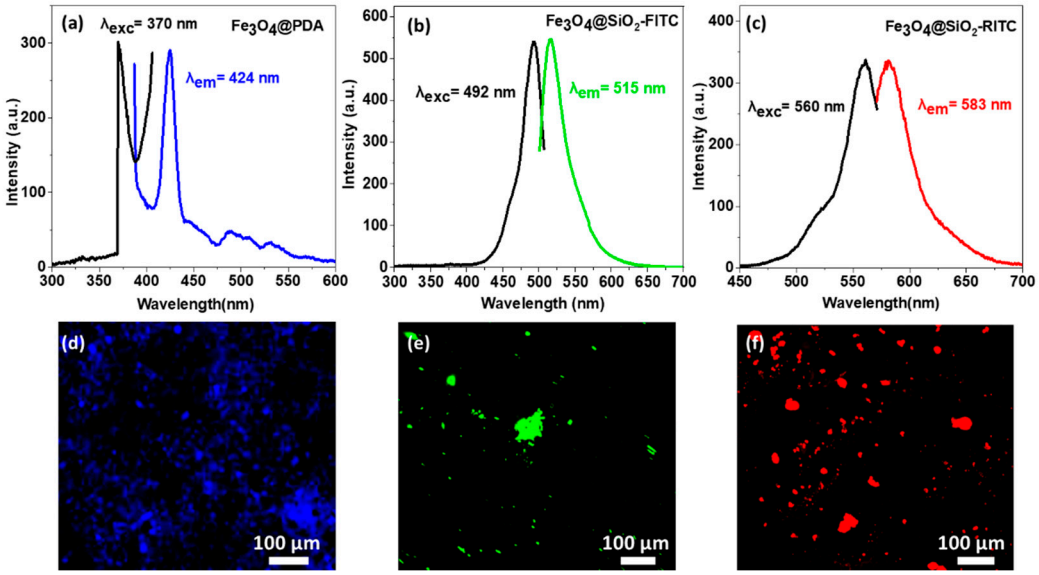

Figure 6. Photoluminescence spectra and confocal fluorescence microscope images of the fluorescent single-core MNPs, functionalized with fluorescent agent: PDA (**a**,**d**), FITC (**b**,**e**) and RITC (**c**,**f**), respectively.

3.4. Magnetic Characterization

To characterize the DC magnetic properties of the single core and multi-core MNPs, hysteresis loops, presented in Figure 7a,b, respectively, were performed at 300 K using a magnetic field between −10 and 10 kOe with a VSM magnetometer. The insets show the low-field region in more detail, where the coercivity (H_C) and remanence (M_R) of MNPs, compiled in Table 2, can be observed. The saturation magnetization (M_S) values obtained in single core MNPs differ from one MNP to another. On the one hand, the MNPs synthesized by the coprecipitation method, Fe_3O_4@PDA and Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 (formed by Fe_3O_4@OA magnetic core) MNPs, present similar M_S values, 65–70 emu g^{-1}; while Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 MNPs, (produced from Fe_3O_4@OA magnetic core by thermal decomposition method) show a reduced saturation magnetization around M_S = 50 emu g^{-1}. Regarding the MNPs produced with magnetic cores obtained from coprecipitation methods, the obtained M_S values are in the range of what is expected for this type of synthesis previously reported. However, the difference of about 5 emu/g between both (Fe_3O_4@PDA and Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2) can be ascribed to the effect of the coating material added in the synthesis (PDA and OA) that may modify the growth of the MNPs. On the other hand, the lower M_S of Fe_3O_4@SiO_2-FTC-SiO_2, whose core was synthesized by the thermal decomposition method, agrees with the results reported for MNPs obtained through this type synthesis and is ascribed to the spin-canting effect on the surface of the MNPs that considerably reduces the M_S [51]. This does not occur in the multi-core MNPs which, despite being formed by different methods, present similar M_S values: Fe_3O_4@CS (M_S = 67.35 emu g^{-1}), Fe_3O_4@Citrate (M_S = 67.45 emu g^{-1}) and Fe_3O_4@ SiO_2

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(M_S = 67.05 emu g^{-1}). The magnetization values obtained were lower than the value of bulk magnetite (M_S^{bulk} = 92 $emug^{-1}$) [73], which is concordance to the surface dead magnetic layer of magnetic nanoparticles that reduces their magnetization [74]. However, although the M_S values were revealed to be similar in the multi-core MNPs, differences are observed in the magnetization curves. The main difference is observed in the high-field region of the hysteresis loop, where the saturation process starts to be seen. For Fe_3O_4@SiO_2 MNPs, a steeper slope was observed, as was a less clear saturation (flattening of the curve), than in Fe_3O_4@CS and Fe_3O_4@Citrate. This phenomenon hints at a slightly higher paramagnetic contribution to the hysteresis loop that is related to a larger size of the spin dead layer [75]. This difference may be due to the different synthesis methods used to produce multi-core MNPs. While Fe_3O_4@CS and Fe_3O_4@Citrate were synthesized at high temperatures (above 200 °C) and present a large particle size (150–200 nm), Fe_3O_4@SiO_2 MNPs were formed by Fe_3O_4@PEG magnetic cores, previously synthesized by the coprecipitation method at lower temperatures (60 °C) and with a smaller size (10 nm). These may suggest that Fe_3O_4@CS and Fe_3O_4@Citrate MNPs have a better crystalline structure with magnetite/maghemite crystals in purer composition, which is reflected in the lower paramagnetic contribution in the hysteresis loops.

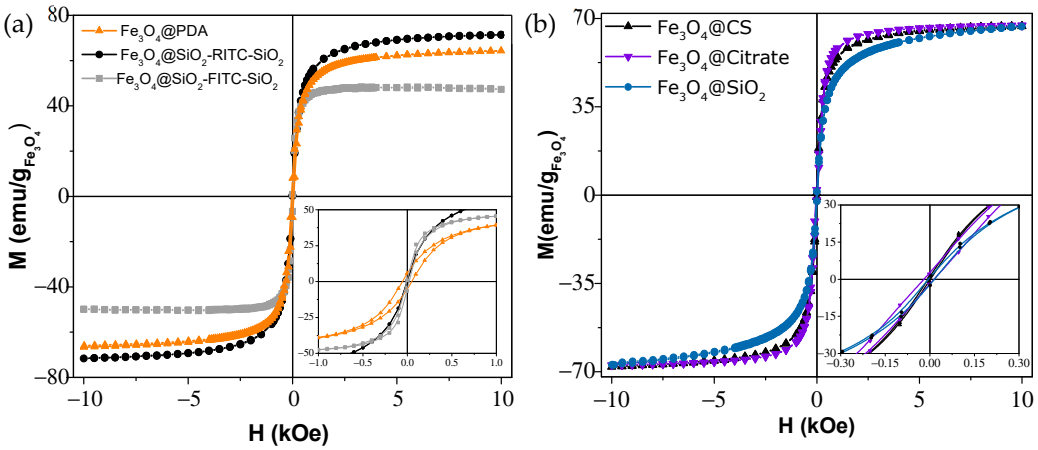

Figure 7. Magnetization curves at room temperature for the single-core (**a**) MNPs, Fe_3O_4@PDA (orange triangle), Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 (black dots) and Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 (gray dots), and multi-core (**b**) MNPs, Fe_3O_4@CS (black triangles), Fe_3O_4@Citrate (purple triangles) and Fe_3O_4@SiO_2 (blue dots).

Table 2. Saturation magnetization (M_S), coercivity (H_C), remanence (M_R) and blocking temperature (T_B) obtained by DC magnetometry.

	Coating	M_S ($emug^{-1}$)	M_R ($emug^{-1}$)	H_C (Oe)	T_B (K)
Single-Core	PDA	65.38	5.74	51.7	>350
	SiO_2-RITC	71.44	0.65	3.53	96
	SiO_2-FITC	49.89	3.35	13.45	216
Multi-Core	CS	67.35	0.70	3.85	>350
	Citrate	67.45	2.33	17.19	>350
	SiO_2	67.05	1.44	10.18	~350

On the other hand, the coercivity values are close to zero for all MNPs (H_C > 20 Oe), except for Fe_3O_4@PDA MNPs, whose coercivity increases up to 50 Oe, probably due to the larger nanoparticle size (D_{TEM} = 14.9 nm). The same behavior is observed in the remanence values where Fe_3O_4@PDA MNPs present the highest remanence value (M_R = 5.34 emu g^{-1}).

The temperature dependence of the magnetization, presented in Figure 8, was obtained by the ZFC-FC measurements from very low temperature (10 K) to room tempera-

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ture (350 K), revealing clearly differentiated behaviors. Regarding the single core MNPs, observed in Figure 8a, the Fe_3O_4@PDA MNPs (orange line) do not exhibit superparamagnetic behavior at room temperature, while the Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 (gray line) and Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 (black line) MNPs exhibit blocking temperatures, obtained as the maximum of the ZFC curve, of 96 K and 216 K, respectively, showing superparamagnetic behavior at room temperature. On the other hand, ZFC-FC curves of multi-core Fe_3O_4@CS (black line) and Fe_3O_4@Citrate (purple line) MNPs, presented in Figure 8b, synthesized by the solvothermal method, reveal T_B that is higher than 350 K, while in multi-core Fe_3O_4@SiO_2 MNPs (blue line), the corresponding T_B is around 350 K. These results suggest that magnetic interaction effects noticeably affect the overall behavior of the MNPs when they are agglomerated in a powder state to carry on measurements. Therefore, the use of functional SiO_2 coatings in the Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 and Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 single-core MNPs and in the Fe_3O_4@SiO_2 multi-core MNPs avoids the direct interaction between the magnetic cores, acting as spacers, and ensures the superparamagnetic behavior observed in these MNPs [76]. On the other hand, for the multi-core MNPs synthesized by solvothermal method, formed by small grouped MNPs, the interaction effects are strong and superparamagnetic behavior is inhibited.

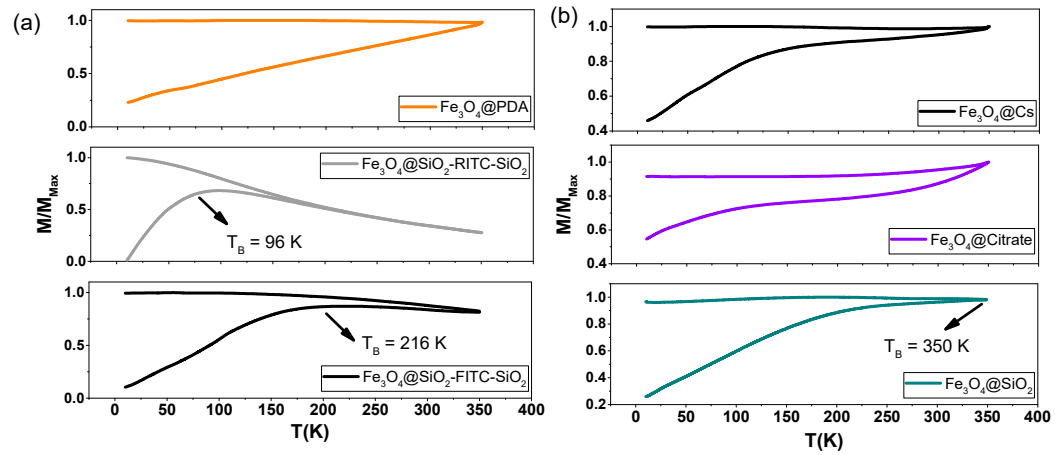

Figure 8. Zero-field-cooled (ZFC) and field-cooled (FC) measurements of (**a**) single core MNPs, Fe_3O_4@PDA (orange line), Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 (gray line) and Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 (black line), and (**b**) multi-core MNPs, Fe_3O_4@CS (black line), Fe_3O_4@Citrate (purple line) and Fe_3O_4@SiO_2 (blue line).

3.5. Magnetic Uptake and Cell Isolation with Fluorescence Single-Core MNPs

Single core MNPs with fluorescent properties were tested as multifunctional tools for the magnetic isolation of living cells using A HeLa cell line (ATCC® CCL-2™), as presented in Figure 9a. Cells were maintained in DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) containing 10% fetal bovine serum and 1% penicillin/streptomycin and were cultured with this complete medium under a humidified atmosphere containing 95% air and 5% of CO_2 at 37 °C. Next, MNPs were poured over the cells and a transfection process stimulated by the presence of external permanent magnets located underneath the culture plates was carried out with the aim of boosting the cellular uptake procedure [77]. For this, cells were seeded at a density of 10^4 cells/well in a 12 plate and were incubated at 37 °C containing 95% air and 5% CO_2 for 24 h. Then, 50 µL of fluorescence MNPs (100 µg/mL) were inoculated after 24 h with 80% confluency incubated for 15 min with a magnetic plate under the 12 well plate. After this time wells were washed with PBS to eliminate nanoparticle remains and medium to then trypsinize it.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

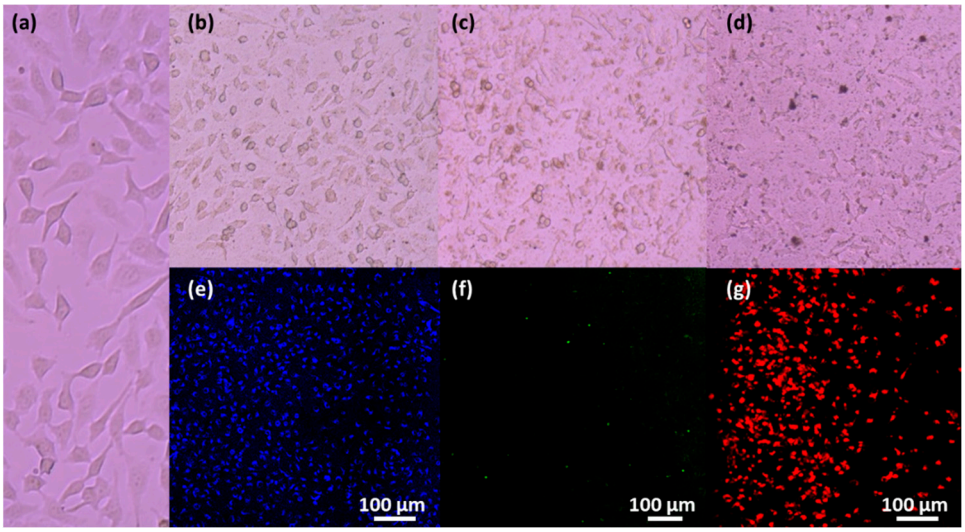

Figure 9. Microscope images of (**a**) Hela control cells and magnetic uptake (up) and confocal fluorescence micrographs (dow) of fluorescent single-core MNPs, functionalized with fluorescent agent: PDA (**b**,**e**), FITC (**c**,**f**) and RITC (**d**,**g**), respectively.

Afterwards, to test the magnetic cell isolation procedure, cells were detached and moved to a 15 mL tube. Then, with the help of an external magnetic field, cells transfected with magnetic nanoparticles were separated from non-transfected cells. The supernatant was discarded, and "magnetized" cells were seeded again in other plate. For the observation of the isolated cells a fluorescence microscope (Zeiss Axio Scope A1, Oberkochen, Germany) was used to check uptake efficiency of the fluorescent tagging with the single-core MNPs, allowing the demonstration of the correct separation by means of external magnetic fields.

Figure 9 shows the micrographs corresponding to the magnetic uptake of the MNPs by the cells after 15 min of incubation and the corresponding fluorescence images of the MNPs internalized in the HeLa cells, where the emissions corresponding to the different fluorescent entities can be observed: Fe_3O_4@PDA (Figure 9b,e), Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 (Figure 9c,f) and Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 (Figure 9d,g). Through fluorescence images, it can be observed that the magnetic internalization efficiency using Fe_3O_4@PDA and Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2 NPs seems similar, while fluorescent Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 NPs have lower internalization efficiency. This can be occasioned by the lower magnetization of FITC-MNPs compared to the other fluorescent single-core MNPs that experience a weaker attraction to the external magnets and are less efficient in cell transfection.

Moreover, the simultaneous transfection with different fluorescent MNPs was performed to assess the possibility to transfer different moieties for cell engineering in a single procedure. Figure 10 shows the transfection of HeLa cells with three different fluorescent MNPs in a single step as it can be corroborated by the emission signal produced by the different MNPs, Fe_3O_4@PDA (Figure 10a, λ = 424 nm), Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 (Figure 10b, λ = 512 nm) and Fe_3O_4@SiO_2-RITC (Figure 10c, λ = 583 nm), and the merged emission of the three fluorescent entities, as observed in Figure 10d, within the same HeLa cells. This proof of concept shows that magnetic uptake allows a not only a fast transfection procedure (15 min of magnetic incubation versus several hours in passive transfection) but also the transfection of multiple moieties within a single and fast step that allows cost-effective bio-engineering processes which may prevent the degradation of proteins, drugs and cells when exposed to long incubation times [78–80].

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

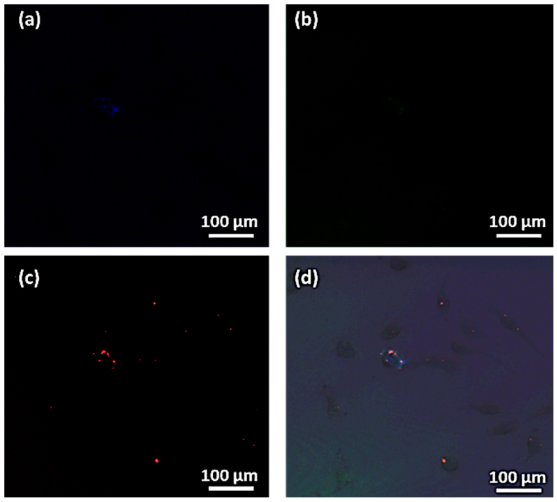

Figure 10. Representative image of confocal fluorescence micrographs of single core MNPs, (**a**) Fe_3O_4@PDA, (**b**) Fe_3O_4@SiO_2-FITC-SiO_2 and (**c**) Fe_3O_4@SiO_2-RITC-SiO_2, and (**d**) the merged emission of the three MNPs internalized in living cells after the cell magnetic isolation.

3.6. Heat Capacity of Multi-Core MNPs for Magnetic Hyperthermia and Nanowarming

The use of external magnetic fields, besides being used to improve transfection and cell isolation processes, can also be used to generate heat on the nanoscale using MNPs through relaxation processes. To show the heating capability of MNPs, multi-core MNPs were employed and their response under exposure to external magnetic fields was studied to explore their capacity as nanoheaters in magnetic hyperthermia and nanowarming processes, using AC magnetometry measurements by commercial inductive magnetometers (AC Hyster Series; Nanotech Solutions, Madrid, Spain) with the application of a magnetic field of 20 kA/m at a frequency of 350, 300, 250 and 200 kHz. From the hysteresis loops obtained under these conditions, the values of H_C, M_R and area, compiled in Table 3, were collected. To carry out the measurements, 40 µL of the multi-core MNPs dispersed in water at a concentration of 5 g_{Fe3O4}/L were used and their response was quantified by obtaining the specific absorption rate (SAR), denotes as $SAR_{AC} = A \cdot f$, where A is the magnetic area and f is AC magnetic field frequency.

Table 3. Coercivity (H_C), remanence (M_R) and maximum magnetization (M_{max}) obtained by AC magnetometry; SAR values obtained by AC magnetometry (SAR_{AC}) under the application of a magnetic field of 20 kAm^{-1} at a frequency of 350 kHz and by magnetic hyperthermia processes (SAR_{MH}); and temperature increases (from room temperature) obtained after 10 min under the application of a magnetic field of 20 kAm^{-1} at a frequency of 605 kHz.

Sample	$H_{C\text{-}AC}$ (kAm^{-1})	$M_{R\text{-}AC}$ (Am^2kg^{-1})	$M_{Max\text{-}AC}$ (Am^2kg^{-1})	Area ($mJkg^{-1}$)	SAR_{AC} (Wg^{-1})	SAR_{MH} (Wg^{-1})	ΔT (°C)
Fe_3O_4@Cs	1.4	3.1	36.9	181.4	63.2	19.56	16.54
Fe_3O_4@Citrate	1.8	4.7	47.8	302.2	105.2	34.13	27.24
Fe_3O_4@SiO_2	3.8	4.5	22.4	288.5	100.5	34.55	24.37

Figure 11 shows the hysteresis loops obtained at an applied field of 20 kAm^{-1} at four frequencies, 350, 300, 250 and 200 kHz, of the three multi-core MNPs: Fe_3O_4@CS (Figure 11a), Fe_3O_4@Citrate (Figure 11b) and Fe_3O_4@SiO_2 (Figure 11c). From these hysteresis loops, H_C, M_R, M_{Max} and area values were obtained, which allows the SAR_{AC} to be obtained, revealing differences between multi-core MNPs. On the one hand, the maximum magnetization values differ from a minimum value of 22.4 Am^2kg^{-1} (for Fe_3O_4@SiO_2 MNPs) to a maximum of 47.8 Am^2kg^{-1} (for Fe_3O_4@Citrate MNPs). Although the saturation values obtained by DC characterization at very high fields (10 kOe or 796 kAm^{-1})

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

revealed very similar M_S values in the multi-core MNPs, the maximum magnetization values and thus their response to lower field strengths (20 kAm^{-1}) differ from each other. This phenomenon may be because of precipitation and aggregation effects of the MNPs in liquid media during AC characterization processes, which, unlike DC measurements where the samples are in a powdered state, leads to a reduction in the magnetization of the MNPs [81,82]. The coercivity values revealed to be similar for the multi-core MNPs synthesized by the solvothermal method (1.4 and 1.8 kAm^{-1} for Fe_3O_4@CS and Fe_3O_4@Citrate) are higher for Fe_3O_4@SiO_2 (3.8 kAm^{-1}). However, despite the high coercivity value of the Fe_3O_4@SiO_2 MNPs, the lower magnetization (M_{MAX} = 22.4 Am^2kg^{-1}) means that the area obtained from these MNPs is not the highest of the three MNPs and, therefore, they do not have the highest SAR value (100.5 Wg^{-1}). Due to the higher magnetization of the Fe_3O_4@Citrate MNPs and, despite having a lower coercivity value than the Fe_3O_4@SiO_2 MNPs, the area obtained is the largest of the three multi-core MNPs (A = 302.2 Am^2kg^{-1}), also obtaining the highest SAR value (105.2 Wg^{-1}). The Fe_3O_4@CS, however, reveals the lowest SAR value (63.2 Wg^{-1}), which corresponds to the lower values of 1.4 kAm^{-1} and 3.1 kAm^{-1}, giving an area of 181.4 $mJkg^{-1}$. It is also observed that the coercivity values are higher than those obtained by DC magnetometry (0.3, 1.4 and 0.8 kAm^{-1}), which is in agreement with the increase of coercivity with increasing frequency [83]. The dependence of SAR_{AC} on the four frequencies used is shown in Figure 11d, where a decay of SAR with frequency is generally observed.

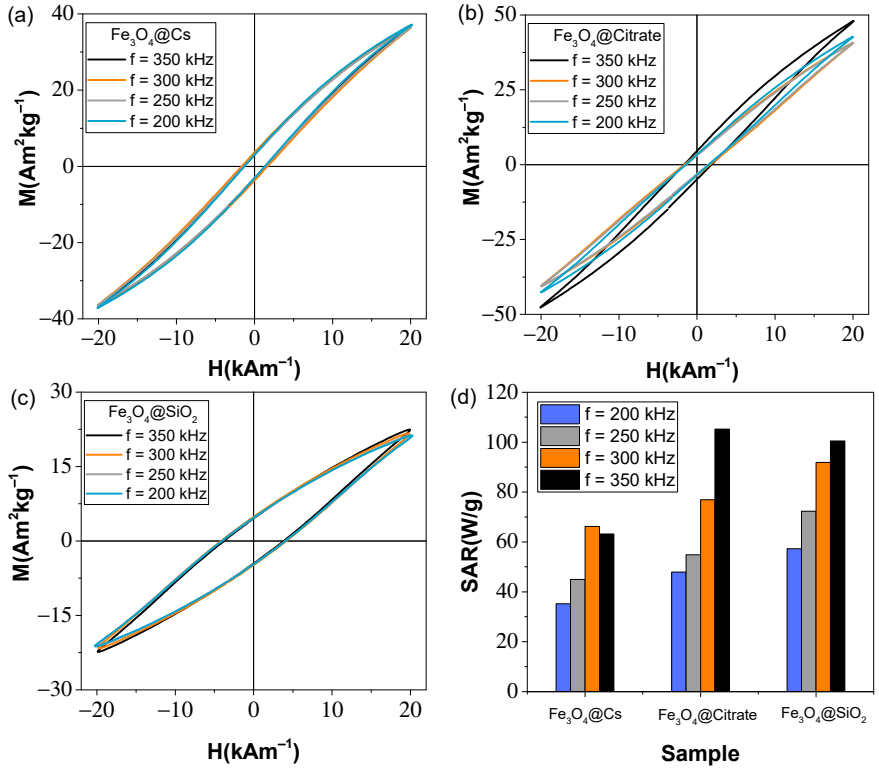

Figure 11. AC hysteresis curves under H_{AC} (20 kAm^{-1}) and four frequencies, 350 (black), 300 (orange), 250 (gray) and 200 (blue) kHz at room temperature for the multi-core MNPs: (**a**) Fe_3O_4@CS, (**b**) Fe_3O_4@Citrate and (**c**) Fe_3O_4@SiO_2. The iron oxide content was 5 g_{Fe3O4}/L for all measurements. (**d**) Specific absorption rate values were obtained by the AC hysteresis curves (SAR_{NTSOL}) at the different frequencies.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

The use of multi-core MNPs in magnetic hyperthermia processes has been explored using a commercially available setup (MagneTherm, Nanotherics) equipped with a fiber optic, operating at a fixed magnetic field of 20 kAm^{-1} and four different frequencies 605, 428, 252 and 168 kHz. Measurements were carried out by placing MNPs dispersed in

water (400 µL at a concentration of 5 mg/mL) in the sample holder in the midpoint of a water-cooled hollow coil (maximum of RF magnetic field) and recording the temperature increase versus time with a fiber-optic thermometer during 10 min of magnetic field on and 2 min of magnetic field off. Figure 12 shows the heating curves of the multi-core MNPs, Fe_3O_4@CS (Figure 12a), Fe_3O_4@Citrate (Figure 12b) and Fe_3O_4@SiO_2 (Figure 12c). The temperature increments at 10 min, recorded after the application of a 20 kAm^{-1} field at a frequency of 605 kHz (blue lines in Figure 12), compiled in Table 3, reveal increments of 16.54, 27.24 and 24.37 °C (from room temperature, 23 °C), for the samples Fe_3O_4@CS, Fe_3O_4@Citrate and Fe_3O_4@SiO_2, respectively, reaching temperatures valid for application of the multi-core MNPs in magnetic hyperthermia processes (42–45 °C) [84].

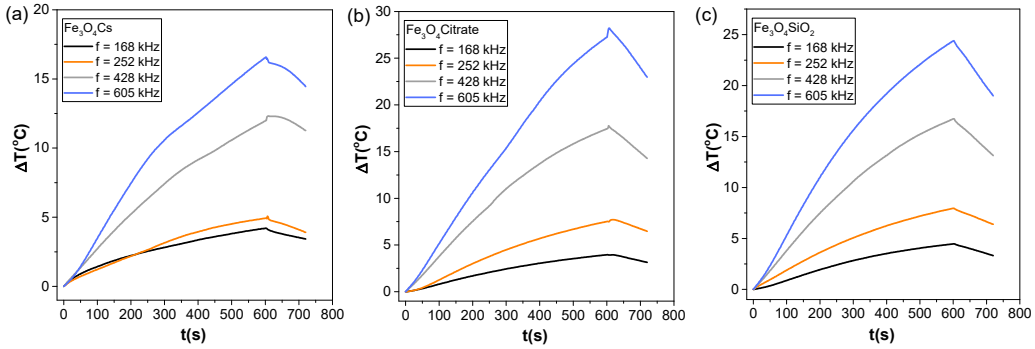

Figure 12. Heating curves of (**a**) Fe_3O_4@CS, (**b**) Fe_3O_4@Citrate and (**c**) Fe_3O_4@SiO_2 under the application of a 20 kAm^{-1} magnetic field at different frequencies, 168 kHz (black), 252 kHz (grey), 428 kHz (orange) and 605 kHz (blue), for 10 min at a MNPs. The iron oxide content was 5 g_{Fe3O4}/L for all measurements.

From the heating curves observed in Figure 12 it was possible to study the heating efficiency by determining the SAR:

$$\text{SAR} = \chi_0 H_0^2 \mu_0 \pi \frac{2\pi f^2 \tau}{1 + (2\pi f \tau)^2} \quad (2)$$

where χ_0 is the initial susceptibility, H_0 is the amplitude of the magnetic field, f is the frequency, and τ is the effective relaxation time accounts for a combination of Néel (τ_N) and Brown (τ_B) relaxation times. The SAR was obtained experimentally using the following expression:

$$\text{SAR} = \frac{P}{m_{NP}} = \frac{\frac{Q}{\Delta t}}{m_{NP}} = \frac{m_{NP}c_{NP} + m_{water}c_{water}}{m_{NP}} \left(\frac{\Delta T}{\Delta t}\right)_0 \quad (3)$$

where m_{NP} and m_{water} mass of iron oxide based MNPs and water were calculated from the total mass of each sample and, taking into account iron oxide weight percentage determined by FAAS or thermogravimetry analysis and c_{NP} = 0.746 ($Jg^{-1}K^{-1}$) and c_{water} = 4.18 ($Jg^{-1}K^{-1}$), are, respectively, the specific heat of magnetite and water. The SAR values of the different MNPs, obtained from Equation (3) and compiled in Table 3, revealed values of 19.56, 34.13 and 34.55 Wg^{-1} for the Fe_3O_4@CS, Fe_3O_4@Citrate and Fe_3O_4@SiO_2 MNPs. These values present the same trend as those obtained by AC magnetometry (SAR_{AC}) with the Fe_3O_4@Citrate and Fe_3O_4@SiO_2 MNPs presenting the highest values and the Fe_3O_4@CS sample presenting a lower value, although they are significantly lower than those obtained by AC magnetometry. This is probably due to the larger volume used in the magnetic hyperthermia processes (400 µL), which makes heating more difficult.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4. Conclusions

In this work, multifunctional single-core and multi-core MNPs, with average sizes from 8 to 200 nm, were synthesized using different bottom-up routes (co-precipitation,

solvothermal and thermal decomposition methods) functionalized by polymeric coatings, through in situ processes using synthesis methods, or by inorganic (SiO_2) coatings, using the micro-emulsion method to design MNPs with a single core structure or the Stöber method to organize the magnetic cores into multi-core structures. Structural, morphological, colloidal stability and the magnetic characterizations of all MNPs were carried out using different experimental techniques, XRD, FTIR, TEM, DLS, FAAS, TGA, VSM and SQUID magnetometry, to assess the overall physicochemical properties achieved by synthetic control.

Thus, single-core MNPs, functionalized with fluorescent agents with emissions at different wavelengths (PDA, FITC and RITC) were developed with optical properties for cell labelling and multi-core MNPs, based on clustering of MNPs, were prepared as optimized systems for a nanoscale heat emission approach. Fluorescent single-core MNPs were tested as efficient carriers in magnetic transfection procedures revealing by confocal microscopy imaging, that, with a magnetic incubation of only 15 min and after the magnetic isolation of HeLa cells, different MNPs efficiently internalize in cells. Moreover, simultaneous transfection with different fluorescent MNPs (with PDA, RITC or FITC moieties) can be achieved, demonstrating the suitability of magnetic transfection for complex bioengineering procedures.

On the other hand, the efficiency of multi-core MNPs in heating processes was demonstrated by AC magnetometry study and by the application of external magnetic fields, exploring the heating efficiency for magnetic hyperthermia and nanowarmimg processes. In this case, it was observed that the heating efficiency varies notably, using the same synthesis method, the solvothermal one, but varying the reactive agents (citrate and CS) as well as the temperature and time, obtaining SAR values up to 100 Wg^{-1}. On the other hand, it was shown that the Stöber method can be used for the grouping of MNPs in clusters as a synthesis method with lower energy cost than the solvothermal method and with similar heating efficiencies.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: https://www.mdpi.com/article/10.3390/magnetochemistry8080083/s1; Figure S1. XRD patterns of Fe_3O_4@PEG NPs (wine pattern), Fe_3O_4@OA NPs, synthesized by decomposition method, DT (dark yellow pattern) and Fe_3O_4@OA NPs, synthesized by co-precipitation method, COP (grey pattern), compared to the XRD pattern of magnetite from the ICDS card No. 98-015-8742 data base; Figure S2. XRD patterns of Fe_3O_4@PEG NPs (wine pattern), Fe_3O_4@OA NPs, synthesized by decomposition method, DT (dark yellow pattern) and Fe3O4@OA NPs, synthesized by co-precipitation method, COP (grey pattern), compared to the XRD pattern of magnetite from the ICDS card No. 98-015-8742 data base; Figure S3. Representative TEM micrographs of Fe_3O_4@OA NPs, synthesized by co-precipitation method, Fe_3O_4@OA NPs, synthesized by decomposition method and Fe_3O_4@PEG NPs [58,62,85–87].

Author Contributions: Conceptualization—P.G.A., M.A.G.G. and Y.P.; supervision and formal analysis—Y.P.; writing—P.G.A., M.A.G.G., Á.A.P., L.D.C.A., R.S.G., Y.P. and J.R.; investigation and development—P.G.A., M.A.G.G., Á.A.P., L.D.C.A. and R.S.G.; supervision and group direction: J.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by the European Commission under the BOW project (FETPROACT-EIC-05-2019, Grant 952183); partially supported by the Spanish Ministry of Science and Innovation (PID2020-112626RB-C21), Modalities "Research Challenges" and "Knowledge Generation"; and the Regional Consellería de Innovacion Program for the Grupos de Referencia Competitiva 2021—GRC2021 project of Xunta de Galicia.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

References

1. Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; vander Elst, L.; Muller, R.N. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations and Biological Applications. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2064–2110. [CrossRef]
2. Arias, L.S.; Pessan, J.P.; Vieira, A.P.M.; de Lima, T.M.T.; Delbem, A.C.B.; Monteiro, D.R. Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: A Perspective on Synthesis, Drugs, Antimicrobial Activity, and Toxicity. *Antibiotics* **2018**, *7*, 46. [CrossRef] [PubMed]
3. Yáñez-Vilar, S.; Sánchez-Andújar, M.; Gómez-Aguirre, C.; Mira, J.; Señarís-Rodríguez, M.A.; Castro-García, S. A Simple Solvothermal Synthesis of MFe_2O_4 (M = Mn, Co and Ni) Nanoparticles. *J. Solid State Chem.* **2009**, *182*, 2685–2690. [CrossRef]
4. Chen, Y.; Zhang, J.; Wang, Z.; Zhou, Z. Solvothermal Synthesis of Size-Controlled Monodispersed Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Appl. Sci.* **2019**, *9*, 5157. [CrossRef]
5. Ajinkya, N.; Yu, X.; Kaithal, P.; Luo, H.; Somani, P.; Ramakrishna, S. Magnetic Iron Oxide Nanoparticle (Ionp) Synthesis to Applications: Present and Future. *Materials* **2020**, *13*, 4644. [CrossRef]
6. de Montferrand, C.; Hu, L.; Milosevic, I.; Russier, V.; Bonnin, D.; Motte, L.; Brioude, A.; Lalatonne, Y. Iron Oxide Nanoparticles with Sizes, Shapes and Compositions Resulting in Different Magnetization Signatures as Potential Labels for Multiparametric Detection. *Acta Biomater.* **2013**, *9*, 6150–6157. [CrossRef]
7. Song, C.; Sun, W.; Xiao, Y.; Shi, X. Ultrasmall Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Surface Modification, Assembly, and Biomedical Applications. *Drug Discov. Today* **2019**, *24*, 835–844. [CrossRef]
8. Li, S.; Zhang, T.; Tang, R.; Qiu, H.; Wang, C.; Zhou, Z. Solvothermal Synthesis and Characterization of Monodisperse Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.* **2015**, *379*, 226–231. [CrossRef]
9. Gutiérrez, L.; Costo, R.; Grüttner, C.; Westphal, F.; Gehrke, N.; Heinke, D.; Fornara, A.; Pankhurst, Q.A.; Johansson, C.; Veintemillas-Verdaguer, S.; et al. Synthesis Methods to Prepare Single- and Multi-Core Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 2943–2952. [CrossRef]
10. Liu, S.; Yu, B.; Wang, S.; Shen, Y.; Cong, H. Preparation, Surface Functionalization and Application of Fe3O4 Magnetic Nanoparticles. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2020**, *281*, 102165. [CrossRef]
11. Bean, C.P.; Livingston, J.D. Superparamagnetism. *J. Appl. Phys.* **1959**, *30*, S120–S129. [CrossRef]
12. Colombo, M.; Carregal-Romero, S.; Casula, M.F.; Gutiérrez, L.; Morales, M.P.; Böhm, I.B.; Heverhagen, J.T.; Prosperi, D.; Parak, W.J. Biological Applications of Magnetic Nanoparticles. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 4306–4334. [CrossRef]
13. Israel, L.L.; Galstyan, A.; Holler, E.; Ljubimova, J.Y. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles for Imaging, Targeting and Treatment of Primary and Metastatic Tumors of the Brain. *J. Control. Release* **2020**, *320*, 45–62. [CrossRef] [PubMed]
14. Zelepukin, I.V.; Yaremenko, A.V.; Ivanov, I.N.; Yuryev, M.V.; Cherkasov, V.R.; Deyev, S.M.; Nikitin, P.I.; Nikitin, M.P. Long-Term Fate of Magnetic Particles in Mice: A Comprehensive Study. *ACS Nano* **2021**, *15*, 11341–11357. [CrossRef] [PubMed]
15. Wu, K.; Su, D.; Saha, R.; Wong, D.; Wang, J.P. Magnetic Particle Spectroscopy-Based Bioassays: Methods, Applications, Advances, and Future Opportunities. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2019**, *52*, 173001. [CrossRef]
16. Ramalho, J.; Ramalho, M.; Jay, M.; Burke, L.M.; Semelka, R.C. Gadolinium Toxicity and Treatment. *Magn. Reson. Imaging* **2016**, *34*, 1394–1398. [CrossRef] [PubMed]
17. Gradinaru, L.M.; Barbalata Mandru, M.; Drobota, M.; Aflori, M.; Butnaru, M.; Spiridon, M.; Doroftei, F.; Aradoaei, M.; Ciobanu, R.C.; Vlad, S. Composite Materials Based on Iron Oxide Nanoparticles and Polyurethane for Improving the Quality of Mri. *Polymers* **2021**, *13*, 4316. [CrossRef]
18. Kader, A.; Kaufmann, J.O.; Mangarova, D.B.; Moeckel, J.; Brangsch, J.; Adams, L.C.; Zhao, J.; Reimann, C.; Saatz, J.; Traub, H.; et al. Iron Oxide Nanoparticles for Visualization of Prostate Cancer in MRI. *Cancers* **2022**, *14*, 2909. [CrossRef]
19. Wu, M.; Li, X.; Guo, Q.; Li, J.; Xu, G.; Li, G.; Wang, J.; Zhang, X. Magnetic Mesoporous Silica Nanoparticles-Aided Dual MR/NIRF Imaging to Identify Macrophage Enrichment in Atherosclerotic Plaques. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* **2021**, *32*, 102330. [CrossRef]
20. Ledda, M.; Fioretti, D.; Lolli, M.G.; Papi, M.; di Gioia, C.; Carletti, R.; Ciasca, G.; Foglia, S.; Palmieri, V.; Marchese, R.; et al. Biocompatibility Assessment of Sub-5 Nm Silica-Coated Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles in Human Stem Cells and in Mice for Potential Application in Nanomedicine. *Nanoscale* **2020**, *12*, 1759–1778. [CrossRef]
21. García, R.S.; Stafford, S.; Gun'ko, Y.K. Recent Progress in Synthesis and Functionalization of Multimodal Fluorescent-Magnetic Nanoparticles for Biological Applications. *Appl. Sci.* **2018**, *8*, 172. [CrossRef]
22. Molaei, M.J.; Salimi, E. Magneto-Fluorescent Superparamagnetic Fe_3O_4@SiO_2@alginate/Carbon Quantum Dots Nanohybrid for Drug Delivery. *Mater. Chem. Phys.* **2022**, *288*, 126361. [CrossRef]
23. Li, X.; Lin, H.; Li, Q.; Xue, J.; Xu, Y.; Zhuang, L. Recyclable Magnetic Fluorescent Fe3O4@SiO2Core-Shell Nanoparticles Decorated with Carbon Dots for Fluoride Ion Removal. *ACS Appl. Nano Mater.* **2021**, *4*, 3062–3074. [CrossRef]
24. Siciliano, G.; Monteduro, A.G.; Turco, A.; Primiceri, E.; Rizzato, S.; Depalo, N.; Curri, M.L.; Maruccio, G. Polydopamine-Coated Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: From Design to Applications. *Nanomaterials* **2022**, *12*, 1145. [CrossRef]
25. Lin, L.S.; Cong, Z.X.; Cao, J.B.; Ke, K.M.; Peng, Q.L.; Gao, J.; Yang, H.H.; Liu, G.; Chen, X. Multifunctional Fe3O4@polydopamine Core-Shell Nanocomposites for Intracellular MRNA Detection and Imaging-Guided Photothermal Therapy. *ACS Nano* **2014**, *8*, 3876–3883. [CrossRef] [PubMed]

26. Singh, N.; Sallem, F.; Mirjolet, C.; Nury, T.; Sahoo, S.K.; Millot, N.; Kumar, R. Polydopamine Modified Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles as Multifunctional Nanocarrier for Targeted Prostate Cancer Treatment. *Nanomaterials* **2019**, *9*, 138. [CrossRef]
27. Singh, N.; Millot, N.; Maurizi, L.; Lizard, G.; Kumar, R. Taurine-Conjugated Mussel-Inspired Iron Oxide Nanoparticles with an Elongated Shape for Effective Delivery of Doxorubicin into the Tumor Cells. *ACS Omega* **2020**, *5*, 16165–16175. [CrossRef]
28. Shi, M.; Zhang, J.; Li, J.; Fan, Y.; Wang, J.; Sun, W.; Yang, H.; Peng, C.; Shen, M.; Shi, X. Polydopamine-Coated Magnetic Mesoporous Silica Nanoparticles for Multimodal Cancer Theranostics. *J. Mater. Chem. B* **2019**, *7*, 368–372. [CrossRef] [PubMed]
29. Morato, Y.L.; Paredes, K.O.; Chamizo, L.L.; Marciello, M.; Filice, M. Recent Advances in Multimodal Molecular Imaging of Cancer Mediated by Hybrid Magnetic Nanoparticles. *Polymers* **2021**, *13*, 2989. [CrossRef]
30. Chekina, N.; Horák, D.; Jendelová, P.; Trchová, M.; Bene, M.J.; Hrubý, M.; Herynek, V.; Turnovcová, K.; Syková, E. Fluorescent Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 7630–7639. [CrossRef]
31. Lartigue, L.; Coupeau, M.; Lesault, M. Luminophore and Magnetic Multicore Nanoassemblies for Dual-Mode MRI and Fluorescence Imaging. *Nanomaterials* **2020**, *10*, 28. [CrossRef] [PubMed]
32. Piñeiro, Y.; Vargas, Z.; Rivas, J.; Lõpez-Quintela, M.A. Iron Oxide Based Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia Strategies in Biological Applications. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, *2015*, 4495–4509. [CrossRef]
33. Chiu-Lam, A.; Staples, E.; Pepine, C.J.; Rinaldi, C. Perfusion, Cryopreservation, and Nanowarming of Whole Hearts Using Colloidally Stable Magnetic Cryopreservation Agent Solutions. *Sci. Adv.* **2021**, *7*, eabe3005.
34. Gao, Z.; Ring, H.L.; Sharma, A.; Namsrai, B.; Tran, N.; Finger, E.B.; Garwood, M.; Haynes, C.L.; Bischof, J.C. Preparation of Scalable Silica-Coated Iron Oxide Nanoparticles for Nanowarming. *Adv. Sci.* **2020**, *7*, 1901624. [CrossRef]
35. Ovejero, J.G.; Spizzo, F.; Morales, M.P.; del Bianco, L. Nanoparticles for Magnetic Heating: When Two (or More) Is Better than One. *Materials* **2021**, *14*, 6416. [CrossRef]
36. Qiu, P.; Jensen, C.; Charity, N.; Towner, R.; Mao, C. Oil Phase Evaporation-Induced Self-Assembly of Hydrophobic Nanoparticles into Spherical Clusters with Controlled Surface Chemistry in an Oil-in-Water Dispersion and Comparison of Behaviors of Individual and Clustered Iron Oxide Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 17724–17732. [CrossRef]
37. Chen, O.; Riedemann, L.; Etoc, F.; Herrmann, H.; Coppey, M.; Barch, M.; Farrar, C.T.; Zhao, J.; Bruns, O.T.; Wei, H.; et al. Magneto-Fluorescent Core-Shell Supernanoparticles. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 5093. [CrossRef] [PubMed]
38. Kong, S.D.; Choi, C.; Khamwannah, J.; Jin, S. Magnetically Vectored Delivery of Cancer Drug Using Remotely On-off Switchable Nano Capsules. *IEEE Trans. Magn.* **2013**, *49*, 349–352. [CrossRef]
39. Elsaidy, A.; Vallejo, J.P.; Salgueiriño, V.; Lugo, L. Tuning the Thermal Properties of Aqueous Nanofluids by Taking Advantage of Size-Customized Clusters of Iron Oxide Nanoparticles. *J. Mol. Liq.* **2021**, *344*, 117727. [CrossRef]
40. Ranoo, S.; Lahiri, B.B.; Damodaran, S.P.; Philip, J. Tuning Magnetic Heating Efficiency of Colloidal Dispersions of Iron Oxide Nano-Clusters by Varying the Surfactant Concentration during Solvothermal Synthesis. *J. Mol. Liq.* **2022**, *360*, 119444. [CrossRef]
41. Foroozandeh, P.; Aziz, A.A. Insight into Cellular Uptake and Intracellular Trafficking of Nanoparticles. *Nanoscale Res. Lett.* **2018**, *13*, 339. [CrossRef] [PubMed]
42. Fu, R.; Yan, Y.; Roberts, C.; Liu, Z.; Chen, Y. The Role of Dipole Interactions in Hyperthermia Heating Colloidal Clusters of Densely-Packed Superparamagnetic Nanoparticles. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 4704. [CrossRef] [PubMed]
43. Skumiel, A.; Kertmen, A.; Nowaczyk, G. Investigation of the Magnetic Hyperthermia Effect in an Aqueous Dispersion of Colloidosomal Nanoparticle Clusters. *J. Mol. Liq.* **2019**, *283*, 91–95. [CrossRef]
44. Dutz, S.; Clement, J.H.; Eberbeck, D.; Gelbrich, T.; Hergt, R.; Müller, R.; Wotschadlo, J.; Zeisberger, M. Ferrofluids of Magnetic Multicore Nanoparticles for Biomedical Applications. *J. Magn. Magn. Mater.* **2009**, *321*, 1501–1504. [CrossRef]
45. Casula, M.F.; Conca, E.; Bakaimi, I.; Sathya, A.; Materia, M.E.; Casu, A.; Falqui, A.; Sogne, E.; Pellegrino, T.; Kanaras, A.G. Manganese doped-iron oxide nanoparticle clusters and their potential as agents for magnetic resonance imaging and hyperthermia. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 16848. [CrossRef]
46. Vamvakidis, K.; Mourdikoudis, S.; Makridis, A.; Paulidou, E.; Angelakeris, M.; Dendrinou-Samara, C. Magnetic Hyperthermia Efficiency and MRI Contrast Sensitivity of Colloidal Soft/Hard Ferrite Nanoclusters. *J. Colloid Interface Sci.* **2018**, *511*, 101–109. [CrossRef] [PubMed]
47. Liu, X.L.; Choo, E.S.G.; Ahmed, A.S.; Zhao, L.Y.; Yang, Y.; Ramanujan, R.V.; Xue, J.M.; di Fan, D.; Fan, H.M.; Ding, J. Magnetic Nanoparticle-Loaded Polymer Nanospheres as Magnetic Hyperthermia Agents. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 120–128. [CrossRef] [PubMed]
48. Shabatina, T.I.; Vernaya, O.I.; Shabatin, V.P.; Melnikov, M.Y. Magnetic Nanoparticles for Biomedical Purposes: Modern Trends and Prospects. *Magnetochemistry* **2020**, *6*, 30. [CrossRef]
49. Piñeiro, Y.; Gómez, M.G.; Alves, L.d.C.; Prieto, A.A.; Acevedo, P.G.; Gudiña, R.S.; Puig, J.; Teijeiro, C.; Vilar, S.Y.; Rivas, J. Hybrid Nanostructured Magnetite Nanoparticles: From Bio-Detection and Theragnostics to Regenerative Medicine. *Magnetochemistry* **2020**, *6*, 4. [CrossRef]
50. Massart, R. Preparation of Aqueous Magnetic Liquids in Alkaline and Acidic Media. *IEEE Trans. Magn.* **1981**, *17*, 1247–1248. [CrossRef]
51. Zhou, Z.; Zhu, X.; Wu, D.; Chen, Q.; Huang, D.; Sun, C.; Xin, J.; Ni, K.; Gao, J. Anisotropic Shaped Iron Oxide Nanostructures: Controlled Synthesis and Proton Relaxation Shortening Effects. *Chem. Mater.* **2015**, *27*, 3505–3515. [CrossRef]

52. Fang, Y.; Loc, W.S.; Lu, W.; Fang, J. Synthesis of In_2O_3@SiO_2 Core-Shell Nanoparticles with Enhanced Deeper Energy Level Emissions of In_2O_3. *Langmuir* **2011**, *27*, 14091–14095. [CrossRef]
53. Han, Y.; Jiang, J.; Lee, S.S.; Ying, J.Y. Reverse Microemulsion-Mediated Synthesis of Silica-Coated Gold and Silver Nanoparticles. *Langmuir* **2008**, *24*, 5842–5848. [CrossRef] [PubMed]
54. Shen, M.; Jia, W.; Lin, C.; Fan, G.; Jin, Y.; Chen, X.; Chen, G. Facile Synthesis of Folate-Conjugated Magnetic/Fluorescent Bifunctional Microspheres. *Nanoscale Res. Lett.* **2014**, *9*, 558. [CrossRef] [PubMed]
55. Jiang, X.; Wang, F.; Cai, W.; Zhang, X. Trisodium Citrate-Assisted Synthesis of Highly Water-Dispersible and Superparamagnetic Mesoporous Fe_3O_4 Hollow Microspheres via Solvothermal Process. *J. Alloys Compd.* **2015**, *636*, 34–39. [CrossRef]
56. Alavi Nikje, M.M.; Farahmand Nejad, M.A.; Shabani, K.; Haghshenas, M. Preparation of Magnetic Polyurethane Rigid Foam Nanocomposites. *Colloid Polym. Sci.* **2013**, *291*, 903–909. [CrossRef]
57. Saleh, T.A. Structural Characterization of Hybrid Materials. In *Polymer Hybrid Materials and Nanocomposites*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2021; pp. 213–240.
58. Coker, V.S.; Bell, A.M.T.; Pearce, C.I.; Patrick, R.A.D.; van der Laan, G.; Lloyd, J.R. Time-Resolved Synchrotron Powder X-Ray Diffraction Study of Magnetite Formation by the Fe(III)-Reducing Bacterium Geobacter Sulfurreducens. *Am. Mineral.* **2008**, *93*, 540–547. [CrossRef]
59. Chitra, K.; Annadurai, G. Fluorescent Silica Nanoparticles in the Detection and Control of the Growth of Pathogen. *J. Nanotechnol.* **2013**, *2013*, 509628. [CrossRef]
60. Kumar, S.; Dutta, P.K.; Koh, J. A Physico-Chemical and Biological Study of Novel Chitosan-Chloroquinoline Derivative for Biomedical Applications. *Int. J. Biol. Macromol.* **2011**, *49*, 356–361. [CrossRef] [PubMed]
61. Li, Y.S.; Church, J.S.; Woodhead, A.L. Infrared and Raman Spectroscopic Studies on Iron Oxide Magnetic Nano-Particles and Their Surface Modifications. *J. Magn. Magn. Mater.* **2012**, *324*, 1543–1550. [CrossRef]
62. Rajan, A.; Sharma, M.; Sahu, N.K. Assessing Magnetic and Inductive Thermal Properties of Various Surfactants Functionalised Fe3O4 Nanoparticles for Hyperthermia. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 15045. [CrossRef] [PubMed]
63. Cheng, W.; Fan, F.; Zhang, Y.; Pei, Z.; Wang, W.; Pei, Y. A Facile Approach for Fabrication of Core-Shell Magnetic Molecularly Imprinted Nanospheres towards Hypericin. *Polymers* **2017**, *9*, 135. [CrossRef] [PubMed]
64. Haddad, P.S.; Duarte, E.L.; Baptista, M.S.; Goya, G.F.; Leite, C.A.P.; Itri, R. Synthesis and Characterization of Silica-Coated Magnetic Nanoparticles. In *Surface and Colloid Science*; Progress in Colloid and Polymer Science; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2004; Volume 128, pp. 232–238.
65. Bhattacharjee, S. DLS and Zeta Potential—What They Are and What They Are Not? *J. Control. Release* **2016**, *235*, 337–351. [CrossRef] [PubMed]
66. Mazario, E.; Sánchez-Marcos, J.; Menéndez, N.; Herrasti, P.; García-Hernández, M.; Muñoz-Bonilla, A. One-Pot Electrochemical Synthesis of Polydopamine Coated Magnetite Nanoparticles. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 48353–48361. [CrossRef]
67. Wu, Y.; Yang, W.; Wang, C.; Hu, J.; Fu, S. Chitosan Nanoparticles as a Novel Delivery System for Ammonium Glycyrrhizinate. *Int. J. Pharm.* **2005**, *295*, 235–245. [CrossRef]
68. Sikora, A.; Shard, A.G.; Minelli, C. Size and ζ-Potential Measurement of Silica Nanoparticles in Serum Using Tunable Resistive Pulse Sensing. *Langmuir* **2016**, *32*, 2216–2224. [CrossRef] [PubMed]
69. Franco-Ulloa, S.; Tatulli, G.; Bore, S.L.; Moglianetti, M.; Pompa, P.P.; Cascella, M.; de Vivo, M. Dispersion State Phase Diagram of Citrate-Coated Metallic Nanoparticles in Saline Solutions. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 5422. [CrossRef] [PubMed]
70. Lin, Z.; Luo, S.; Xu, D.; Liu, S.; Wu, N.; Yao, W.; Zhang, X.; Zheng, L.; Lin, X. Silica-Polydopamine Hybrids as Light-Induced Oxidase Mimics for Colorimetric Detection of Pyrophosphate. *Analyst* **2020**, *145*, 424–433. [CrossRef]
71. Wu, S.; Li, Z.; Han, J.; Han, S. Dual Colored Mesoporous Silica Nanoparticles with PH Activable Rhodamine-Lactam for Ratiometric Sensing of Lysosomal Acidity. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 11276–11278. [CrossRef]
72. Vargas-Osorio, Z.; da Silva-Candal, A.; Piñeiro, Y.; Iglesias-Rey, R.; Sobrino, T.; Campos, F.; Castillo, J.; Rivas, J. Multifunctional Superparamagnetic Stiff Nanoreservoirs for Blood Brain Barrier Applications. *Nanomaterials* **2019**, *9*, 449. [CrossRef] [PubMed]
73. Kucheryavy, P.; He, J.; John, V.T.; Maharjan, P.; Spinu, L.; Goloverda, G.Z.; Kolesnichenko, V.L. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles with Variable Size and an Iron Oxidation State as Prospective Imaging Agents. *Langmuir* **2013**, *29*, 710–716. [CrossRef] [PubMed]
74. Ramos-Docampo, M.A.; Testa-Anta, M.; Rivas-Murias, B.; Salgueiriño, V. Clusters of Magnetite-Maghemite Nanocrystals with a Chemically-Tailored Average Diameter. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2019**, *19*, 4930–4937. [CrossRef] [PubMed]
75. Smolensky, E.D.; Park, H.Y.E.; Zhou, Y.; Rolla, G.A.; Marjańska, M.; Botta, M.; Pierre, V.C. Scaling Laws at the Nanosize: The Effect of Particle Size and Shape on the Magnetism and Relaxivity of Iron Oxide Nanoparticle Contrast Agents. *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 2818–2828. [CrossRef] [PubMed]
76. Rivas Rojas, P.C.; Tancredi, P.; Moscoso Londoño, O.; Knobel, M.; Socolovsky, L.M. Tuning Dipolar Magnetic Interactions by Controlling Individual Silica Coating of Iron Oxide Nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.* **2018**, *451*, 688–696. [CrossRef]
77. Bi, Q.; Song, X.; Hu, A.; Luo, T.; Jin, R.; Ai, H.; Nie, Y. Magnetofection: Magic Magnetic Nanoparticles for Efficient Gene Delivery. *Chin. Chem. Lett.* **2020**, *31*, 3041–3046. [CrossRef]
78. Ni, J.S.; Li, Y.; Yue, W.; Liu, B.; Li, K. Nanoparticle-Based Cell Trackers for Biomedical Applications. *Theranostics* **2020**, *10*, 1923–1947. [CrossRef] [PubMed]

79. Sajib, M.; Albers, E.; Langeland, M.; Undeland, I. Understanding the Effect of Temperature and Time on Protein Degree of Hydrolysis and Lipid Oxidation during Ensilaging of Herring (*Clupea harengus*) Filleting Co-Products. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 9590. [CrossRef]
80. Graf, C.; Gao, Q.; Schütz, I.; Noufele, C.N.; Ruan, W.; Posselt, U.; Korotianskiy, E.; Nordmeyer, D.; Rancan, F.; Hadam, S.; et al. Surface Functionalization of Silica Nanoparticles Supports Colloidal Stability in Physiological Media and Facilitates Internalization in Cells. *Langmuir* **2012**, *28*, 7598–7613. [CrossRef]
81. Cabrera, D.; Coene, A.; Leliaert, J.; Artés-Ibáñez, E.J.; Dupré, L.; Telling, N.D.; Teran, F.J. Dynamical Magnetic Response of Iron Oxide Nanoparticles Inside Live Cells. *ACS Nano* **2018**, *12*, 2741–2752. [CrossRef] [PubMed]
82. Ovejero, J.G.; Cabrera, D.; Carrey, J.; Valdivielso, T.; Salas, G.; Teran, F.J. Effects of Inter- and Intra-Aggregate Magnetic Dipolar Interactions on the Magnetic Heating Efficiency of Iron Oxide Nanoparticles. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 10954–10963. [CrossRef] [PubMed]
83. Shah, S.A.; Reeves, D.B.; Ferguson, R.M.; Weaver, J.B.; Krishnan, K.M. Mixed Brownian Alignment and Néel Rotations in Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticle Suspensions Driven by an Ac Field. *Phys. Rev. B Condens. Matter Mater. Phys.* **2015**, *92*, 094438. [CrossRef] [PubMed]
84. Dutz, S.; Hergt, R. Magnetic Nanoparticle Heating and Heat Transfer on a Microscale: Basic Principles, Realities and Physical Limitations of Hyperthermia for Tumour Therapy. *Int. J. Hyperth.* **2013**, *29*, 790–800. [CrossRef] [PubMed]
85. Wei, Y.; Han, B.; Hu, X.; Lin, Y.; Wang, X.; Deng, X. Synthesis of Fe_3O_4 Nanoparticles and Their Magnetic Properties. *Procedia Eng.* **2012**, *27*, 632–637. [CrossRef]
86. Yang, K.; Peng, H.; Wen, Y.; Li, N. Re-Examination of Characteristic FTIR Spectrum of Secondary Layer in Bilayer Oleic Acid-Coated Fe_3O_4 Nanoparticles. *Appl. Surf. Sci.* **2010**, *256*, 3093–3097. [CrossRef]
87. Gopal, S.V.; Chitrambalam, S.; Joe, I.H. Coherent Source Interaction, Third-Order Nonlinear Response of Synthesized PEG Coated Magnetite Nanoparticles in Polyethylene Glycol and Its Application. *Opt. Laser Technol.* **2018**, *98*, 84–91. [CrossRef]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

magnetochemistry

MDPI

Supporting Information of

Fluorescent Single-core and Multi-core Nanoprobes as Cell Trackers and Magnetic Nanoheaters

Pelayo García Acevedo[1,*,†], Manuel A. González Gómez [1,*,†], Ángela Arnosa Prieto[1], Lisandra de Castro Alves[1], Román Seco Gudiña[1], Yolanda Piñeiro [1] and José Rivas[1]

[1] NANOMAG Laboratory, Applied Physics Department and iMATUS Materials Institute, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain;
angela.arnosa@usc.es (Á.A.P.); lisandracristina.decastro@usc.es (L.C.A); roman.seco@rai.usc.es (R.S.G.); y.pineiro.redondo@usc.es (Y.P.); jose.rivas@usc.es (J.R.)

* Correspondence: pelayo.garcia.acevedo@usc.es (P.G.A.); manuelantonio.gonzalez@usc.es (M.A.G.G.)
Tel.: +34-881813097 (P.G.A. and M.A.G.G.)

† The authors contributed equally to this work.

Figure **S1** shows the diffractograms of magnetite cores NPs synthesized by co-precipitation method (Fe_3O_4@PEG and Fe_3O_4@OA) and the thermal decomposition method (Fe_3O_4@OA). All the diffraction peaks match the nine diffraction peaks at (1 1 1), (2 2 0), (3 1 1), (4 0 0), (4 2 2), (5 1 1), (4 4 0), (6 2 0) and (5 5 3) by comparison with Inorganic Crystal Structure Database (ICSD card No. 98-015-8742), which correspond with an inverse spinel structure crystalline phase of magnetite. [1]

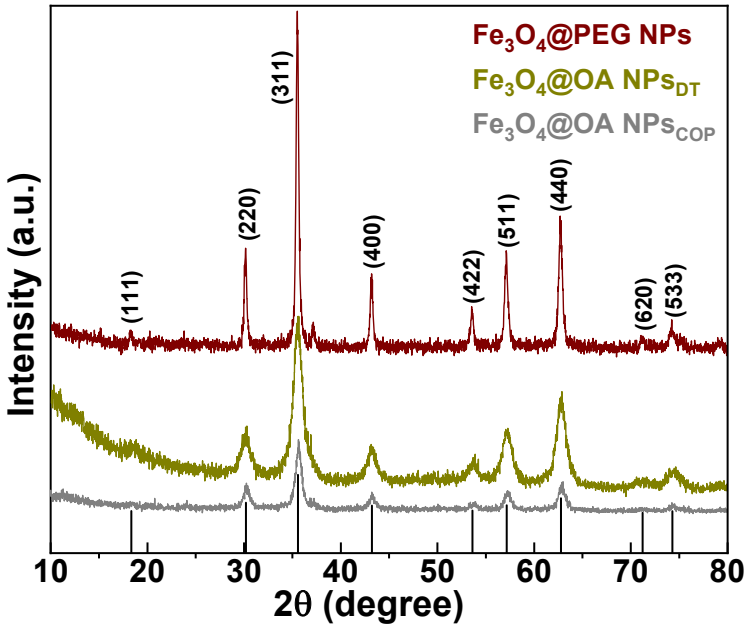

Figure S1. XRD patterns of Fe_3O_4@PEG NPs (wine pattern), Fe_3O_4@OA NPs, synthesized by decomposition method, DT (dark yellow pattern) and Fe_3O_4@OA NPs, synthesized by co-precipitation method, COP (grey pattern), compared to the XRD pattern of magnetite from the ICDS card No. 98-015-8742 data base.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

In figure S2, the FTIR spectra of coated MNPs synthesized by co-precipitation method (Fe_3O_4@PEG and Fe_3O_4@OA) and the thermal decomposition method (Fe_3O_4@OA) are shown. As it can be seen, all samples show similar absorption bands between 530-550 cm^{-1}, associated with the stretching vibration of the tetrahedral groups (Fe^{3+}–O^{2-}) for Fe_3O_4. [2] For both OA coated Fe_3O_4 NPs, two absorption peaks can be observed at 2925 and 2848 cm^{-1} , that can be attributed to the asymmetric and symmetric CH_2 stretching of the oleic acid, respectively. [3,4] Besides, two peaks appear around 1598 and 1521 cm^{-1} which correspond to the asymmetric and symmetric stretching vibrations of COO^- groups of this stabilizing agent[4]. In addition, the CH_2 bending mode of aliphatic chains appears around 1406 cm^{-1}[4]. In addition, PEG coated Fe_3O_4 NPs show a broad band around 3400 cm^{-1} associated to the presence -OH groups adsorbed on the nanoparticle surface. The absorptions bands at 2860 and 1469 cm^{-1} are correlated to the stretching modes of CH_2 and C=C groups, respectively, in the polymer. [5]

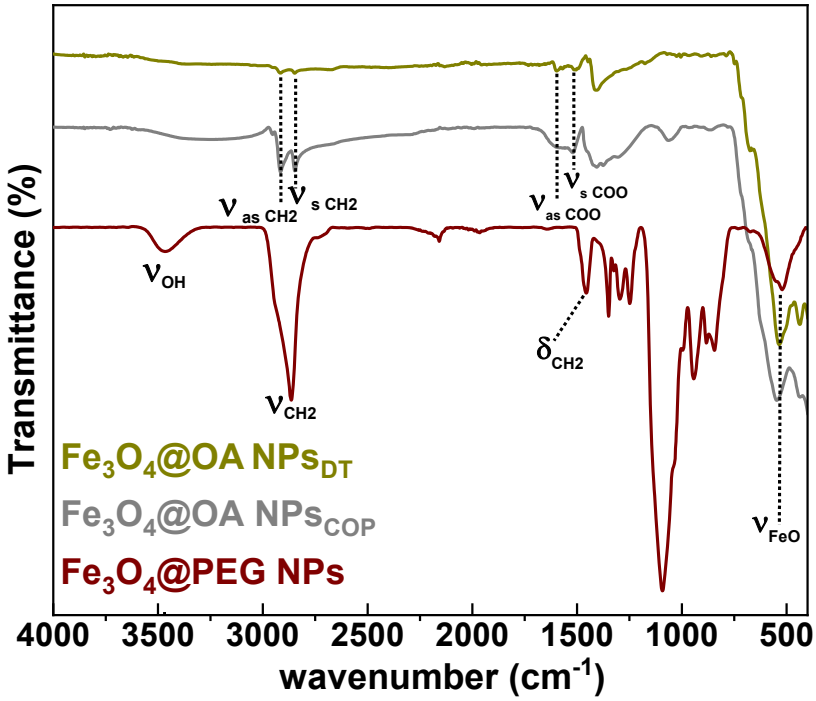

Figure S2. XRD patterns of Fe_3O_4@PEG NPs (wine pattern), Fe_3O_4@OA NPs, synthesized by decomposition method, DT (dark yellow pattern) and Fe3O4@OA NPs, synthesized by co-precipitation method, COP (grey pattern), compared to the XRD pattern of magnetite from the ICDS card No. 98-015-8742 data base.

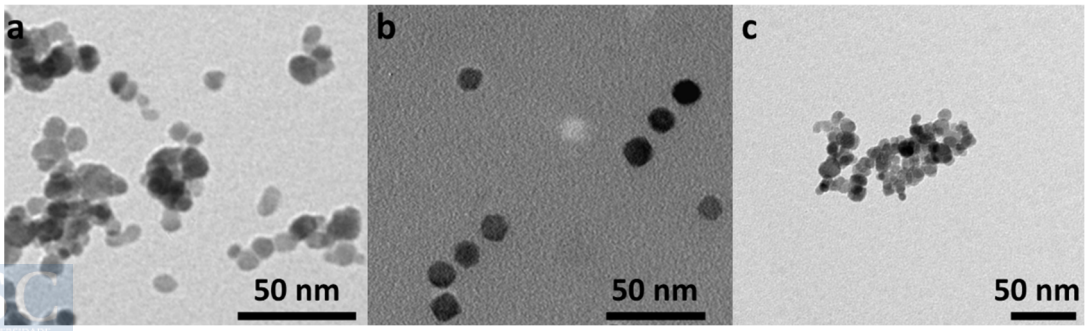

Figure S3. Representative TEM micrographs of Fe_3O_4@OA NPs, synthesized by co-precipitation method, Fe_3O_4@OA NPs, synthesized by decomposition method and Fe_3O_4@PEG NPs.

1. Coker, V.S.; Bell, A.M.T.; Pearce, C.I.; Patrick, R.A.D.; van der Laan, G.; Lloyd, J.R. Time-Resolved Synchrotron Powder X-Ray Diffraction Study of Magnetite Formation by the Fe(III)-Reducing Bacterium Geobacter Sulfurreducens. *American Mineralogist* **2008**, *93*, 540–547, doi:10.2138/am.2008.2467.
2. Rajan, A.; Sharma, M.; Sahu, N.K. Assessing Magnetic and Inductive Thermal Properties of Various Surfactants Functionalised Fe3O4 Nanoparticles for Hyperthermia. *Scientific Reports* **2020**, *10*, doi:10.1038/s41598-020-71703-6.
3. Wei, Y.; Han, B.; Hu, X.; Lin, Y.; Wang, X.; Deng, X. Synthesis of Fe3O4 Nanoparticles and Their Magnetic Properties. In Proceedings of the Procedia Engineering; Elsevier Ltd, 2012; Vol. 27, pp. 632–637.
4. Yang, K.; Peng, H.; Wen, Y.; Li, N. Re-Examination of Characteristic FTIR Spectrum of Secondary Layer in Bilayer Oleic Acid-Coated Fe 3 O 4 Nanoparticles. *Applied Surface Science* **2010**, *256*, 3093–3097, doi:10.1016/j.apsusc.2009.11.079.
5. Gopal, S.V.; Chitrambalam, S.; Joe, I.H. Coherent Source Interaction, Third-Order Nonlinear Response of Synthesized PEG Coated Magnetite Nanoparticles in Polyethylene Glycol and Its Application. *Optics and Laser Technology* **2018**, *98*, 84–91, doi:10.1016/j.optlastec.2017.07.047.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

En la presente tesis se ha investigado el papel de las interacciones de sistemas nanoestructurados magnéticos y su influencia tanto en aplicaciones tecnológicas como en biomédicas. Por un lado, se investigó la interacción de canje, mediante el efecto exchange bias, en sistemas de nanopartículas huecas. En segundo lugar, se diseñó un sistema modelo basado en nanopartículas magnéticas que permitió obtener la constante de anisotropía libre de interacciones dipolares, clave en procesos de hipertermia magnética. Por último, la variación en los parámetros de diseño y métodos sintéticos permitió explorar la aplicación de las nanopartículas magnéticas como agentes ópticos y agentes terapéuticos en hipertermia magnética.