



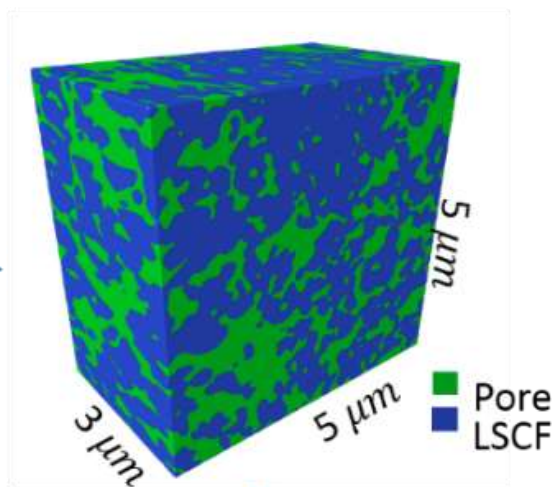
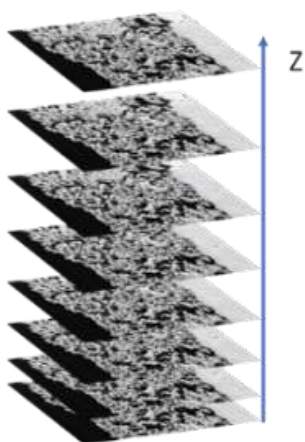
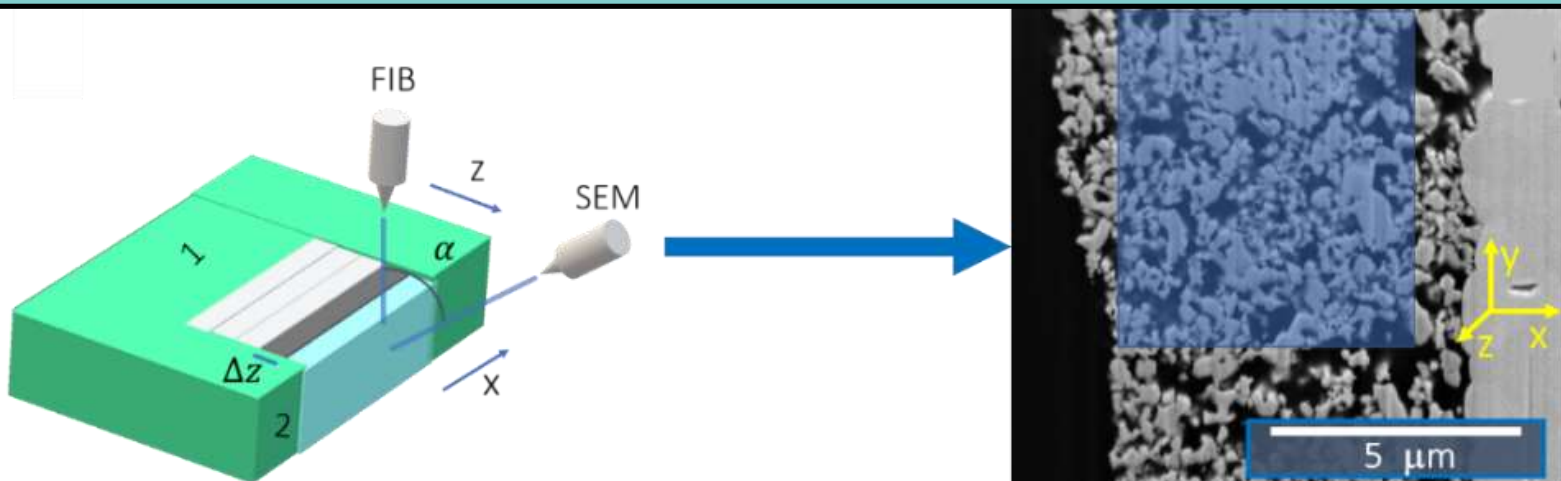
ASOCIACION ARGENTINA
DE MATERIALES

Revista SAM

www.materiales-sam.org.ar

Registro N° ISSN 1668-4788

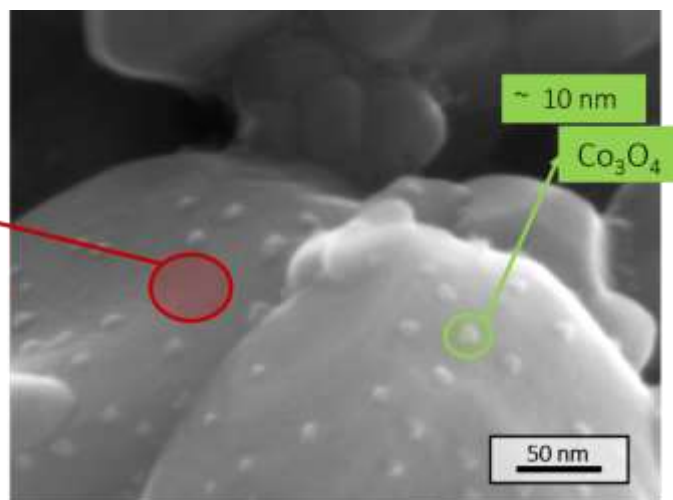
Volumen 1 – Año 2023



MICROESTRUCTURA

Tomografías FIB-SEM sobre cátodos de $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{Co}_{0.2}\text{Fe}_{0.8}\text{O}_{3-\delta}$ (LSCF) decorado con nanopartículas de Co_3O_4

Julián Ascolani-Yael & Liliana V. Moggi



Premios JIM 2023

Premios Sabato



Comisión Directiva de la SAM

Presidenta:

Sonia Brühl (Concepción del Uruguay)

Vice Presidenta:

Alicia Ares (Misiones)

Secretaría:

María Cecilia Marinelli (Rosario)

Pro Secretario:

Roberto Lucci (Córdoba)

Tesorera:

Ana Velia Druker (Rosario)

Pro Tesorera:

Eugenia Dalibon (Concepción del Uruguay)

Vocales Titulares:

Ana Florencia Forte Giacobone
(Buenos Aires)

Nora Pellegrí (Rosario)

Amadeo Daniel Sosa (Mar del Plata)

Vocales Suplentes:

Matías Ramírez (San Nicolás)

Josefina Dib (Rosario)

María Emilia Furno (Mar del Plata)

Revisor de Cuentas:

Claudio Arenas (Buenos Aires)

Revisor de Cuentas Suplente:

Silvana Sommadossi (Neuquén)

Revista SAM

Editora:

Elena Brandaleze (San Nicolás)

Comité Editorial:

Alicia Ares (Misiones)

Edgardo Benavidez (San Nicolás)

INDICE

● Editorial

Elena Brandaleze

● Trabajos Técnicos

El microscopio FIB-SEM y su uso en la reconstrucción de cátodos nanoestructurados de celdas SOFC. 1
J. Ascolani-Yael; L.V. Mogni.

Desarrollo de nanocompuesto bifuncional para aplicaciones en hipertermia magnética y sensible a la radiación ionizante. 14
N. Nuñez; M. Raineri; E. Lima Jr.; H.E. Troiani; D. Tobia; R.D. Zysler; E.L. Winkler.

Soldadura de Acero Maraging C250 en chapa fina: comparación entre procesos GTAW-Pulsado y Láser. 27
M. A. Duran, H. G. Svoboda.

Nanopartículas metálicas y de óxidos metálicos como soportes para la inmovilización enzimática: una visión general. 40
C.Y. Potiliski, P.D. Zapata, A.E. Ares.

Preparación de un sólido mesoporoso renovable para su aplicación como biocatalizador en la transesterificación de acetato de vinilo con alcohol isoamílico. 60
G. Carrillo; E. G. Vaschetto; G. O. Ferrero; G. A. Eimer.

Efecto del tamaño de grano en las temperaturas de transformación martensítica: Análisis mediante microscopía óptica. 67
G. Benítez

Resistencia a la corrosión de uniones soldadas de acero inoxidable austenítico para la industria alimenticia 78
F. Gómez; P. Altamirano; M. Peralta; H. Pérez

Adhesión y comportamiento al desgaste de recubrimientos cerámicos de Cr/CrN mono y multicapa depositados por PVD sobre acero AISI 4140 nitrurado. 86
J. Maskavizan; E. L. Dalibon; A. B. Márquez; S. P. Brühl.

● Comentarios

¿Qué entiende por "Biomaterial" la comunidad científica-académica internacional? 97
Gustavo A. Abraham

Desarrollo de nanocompuesto bifuncional para aplicaciones en hipertermia magnética y sensible a la radiación ionizante

Nahuel Nuñez^{*1,2,3}; Mariana Raineri¹; Enio Lima Jr.^{1,2}; Horacio E. Troiani⁴; Dina Tobia^{1,2}; Roberto D. Zysler^{1,2,3}; Elin L. Winkler^{1,2,3}

(1) Instituto de Nanociencia y Nanotecnología (CNEA-CONICET), Nodo Bariloche, Av. Bustillo 9500, 8400 S. C. de Bariloche, Argentina.

(2) Laboratorio de Resonancias Magnéticas, Gerencia de Física, Centro Atómico Bariloche, Av. Bustillo 9500, 8400 S. C. de Bariloche, Argentina.

(3) Instituto Balseiro, CNEA-UNCuyo, Av. Bustillo 9500, 8400 S. C. de Bariloche, Argentina.

(4) Laboratorio de Caracterización de Materiales y Óxidos No-Estequiométricos, Gerencia de Investigación Aplicada, Centro Atómico Bariloche, Av. Bustillo 9500, 8400 S. C. de Bariloche, Argentina.

* e-mail: nahuelnunez.utn@gmail.com

RESUMEN

En este trabajo se sintetizaron nanopartículas de ferrita de zinc, a partir de las cuales se fabricaron compuestos integrados por nanopartículas embebidas en hidroxiapatita carbonatada (NPsHAP). Tanto las nanopartículas como el compuesto NPsHAP fueron caracterizados morfológica y estructuralmente, determinando un diámetro medio de las nanopartículas de (18 ± 3) nm inmersas en una matriz de hidroxiapatita de tamaño micrométrico. A partir de ciclos M vs. H se determinó que las nanopartículas poseen una magnetización de saturación de (56 ± 2) A.m²/kg. Se realizaron mediciones de hipertermia magnética dispersando las muestras sintetizadas en medios de diferente viscosidad. Los resultados confirman que las nanopartículas son aptas para producir calentamiento por hipertermia magnética tanto en medios viscosos como no viscosos, indicando que la relajación del momento magnético está dominada por el mecanismo de Néel. Mediante resonancia paramagnética electrónica se estudió la sensibilidad de la hidroxiapatita al ser expuesta a rayos X y además se analizó el efecto del recocido previo a la irradiación en la estabilidad de los defectos generados. El radical CO_2^- es el principal defecto observado con la presencia de especies secundarias cuya intensidad varía según el tratamiento. El compuesto NPsHAP también presenta defectos paramagnéticos al ser irradiado los cuales provienen de la hidroxiapatita. Estos resultados demuestran la bifuncionalidad del nanocompuesto fabricado, lo cual es promisorio para avanzar en el desarrollo y aplicación de nuevos materiales para terapias oncológicas por hipertermia magnética y como sensores locales de radiación ionizante.

Palabras clave: Compuesto bifuncional; Nanopartículas magnéticas; Hipertermia magnética; Hidroxiapatita; Sensor de radiación.

ABSTRACT

In this study, zinc ferrite nanoparticles were synthesized, from which composites were fabricated by embedding the nanoparticles in carbonate hydroxyapatite (NPsHAP). Both, the nanoparticles and the NPsHAP composite, were morphologically and structurally characterized, revealing an average nanoparticle diameter of (18 ± 3) nm embedded in a micrometric hydroxyapatite matrix. Magnetic hysteresis loops (M vs H) analysis determined that the nanoparticles exhibit a saturation magnetization of (56 ± 2) A.m²/kg. Magnetic hyperthermia measurements were conducted by dispersing the synthesized samples in media with different viscosities. The results confirm that the nanoparticles are suitable for generating magnetic hyperthermia heating in both viscous and non-viscous media, indicating that magnetic moment relaxation is dominated by the Neel mechanism. Electron paramagnetic resonance (EPR) was employed to study the sensitivity of hydroxyapatite to X-ray exposure, and the effect of annealing prior to irradiation on the stability of the generated defects. The CO_2^- radical was identified as the primary defect observed, with the presence of secondary species whose intensity varied depending on the treatment. The NPsHAP composite also exhibits paramagnetic defects upon irradiation, originating from the hydroxyapatite component. These findings demonstrate the bifunctionality of the fabricated nanocomposite, which holds promise for advancing the development and application of new materials for oncological hyperthermia therapy and as local sensors for ionizing radiation.

Keywords: Bifunctional compound; Magnetic nanoparticles; Magnetic hyperthermia; Hydroxyapatite; Radiation sensor.

INTRODUCCIÓN

Al reducir el tamaño de los materiales a escala nanométrica se observan nuevas propiedades que amplían el rango de aplicaciones de los mismos [1]. En particular, las nanopartículas (NPs) de óxido de hierro son uno de los materiales más versátiles y prometedores para diferentes aplicaciones en el área biomédica. Su uso se encuentra ampliamente aceptado, por ejemplo, como agentes de aumento de contraste en imágenes por resonancia magnética nuclear. [2] Además al funcionalizar las nanopartículas con diferentes compuestos, las mismas pueden localizarse en el organismo con elevada especificidad, lo que permite el desarrollo de novedosos métodos de diagnóstico y tratamientos oncológicos, desde la localización de tumores [3] hasta la distribución de fármacos para quimioterapia [4]. Una técnica prometedora propuesta como tratamiento oncológico coadyuvante en combinación con radioterapia y quimioterapia es la hipertermia magnética. Esta técnica consiste en elevar la temperatura de una zona tumoral hasta los 41°C - 45°C, por la disipación de calor de un material magnético en presencia de un campo magnético externo lo que debilita y/o mata células tumorales con poco o ningún daño en el tejido sano [5]. Las nanopartículas magnéticas proveen un posible mecanismo para suministrar dicho calor, ya que al exponerse a un campo magnético alterno su respuesta magnética presenta histéresis, disipando energía. Actualmente, el tratamiento de hipertermia magnética con NPs se encuentra aprobado para unos pocos casos específicos y varios aspectos deben mejorarse, como su eficiencia e independencia de la viscosidad del medio, para que pueda ser ampliamente utilizado [6]. Por otro lado, el calor entregado radiosensibiliza las células tumorales por lo que se ha propuesto este método como coadyuvante en tratamientos de radioterapia [7]. La posibilidad de combinar fases o materiales con distintas propiedades en la nanoescala permite diseñar compuestos multifuncionales específicos para una dada aplicación. En este contexto, es de interés el desarrollo de materiales bifuncionales, capaces de disipar calor por hipertermia magnética y que puedan actuar como dosímetros en radioterapia.

La energía que disipan las NPs en procesos de hipertermia magnética se origina en el desfase entre el momento magnético de la nanopartícula y el campo magnético aplicado. A su vez, este desfase depende de dos mecanismos de relajación magnética que se consideran independientes [8]. El mecanismo de relajación magnético o de Néel consiste en la inversión del momento magnético respecto de la estructura cristalina, venciendo una barrera de anisotropía V_mK y no contempla la rotación de la NP. En nanopartículas monodominio, no interactuantes, con anisotropía uniaxial y en presencia de un campo externo con amplitud mucho menor que el campo de anisotropía, el tiempo característico de este proceso está dado por:

$$\tau_N = \tau_0 e^{\frac{V_m K}{k_B T}} \quad (1)$$

donde τ_0 es un tiempo característico del material (entre 10^{-9} y 10^{-12} s), V_m el volumen magnético, K la anisotropía magnética, k_B la constante de Boltzmann y T la temperatura del sistema. Por otro lado, el mecanismo de relajación mecánico o de Brown implica una rotación de la NP contra la viscosidad del medio con su momento magnético fijo en relación a esta y su tiempo característico puede expresarse como:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_{hid}}{k_B T} \quad (2)$$

donde η es la viscosidad del medio y V_{hid} el volumen hidrodinámico de las nanopartículas. En un caso general, el sistema relaja a través del mecanismo con menor tiempo característico. Para aplicaciones de nanopartículas en hipertermia, donde habrá cambios tanto en el volumen hidrodinámico como en la viscosidad del medio, es importante que las NPs logren producir hipertermia independientemente de la viscosidad del medio en el que se encuentren, por ello se busca optimizar al sistema para que tenga una relajación dominada por el mecanismo de Néel.

Las NPs de óxido de hierro se encuentran entre los materiales aprobados por agencias internacionales de regulación para aplicaciones biomédicas [9]. En particular, la magnetita (Fe_3O_4) es un material ferrimagnético (FiM) a temperatura ambiente ($T_C = 770K$ [10]), con una magnetización de saturación de $M_S = 90 \text{ Am}^2/\text{kg}$ y anisotropía magnética $K = 13 \text{ kJ/m}^3$. Al doparla con zinc, $Zn_xFe_{3-x}O_4$, la magnetización de saturación aumenta y presenta un máximo para $x = 0,4$ [11] a la vez que disminuye la anisotropía K , lo que conlleva una disminución de τ_N . Por lo tanto, ajustando el tamaño y estequiometría de la ferrita de zinc, es posible optimizar las propiedades magnéticas de las NPs en procesos de hipertermia magnética, ya que permite aumentar la M_S a la vez que se favorece una relajación magnética dominada por Néel.

Por otro lado, la hidroxiapatita (HAP, $Ca_5(PO_4)_3OH$) es un compuesto inorgánico biocompatible presente en el esmalte dental y los huesos, usado en prótesis y como material para la regeneración ósea [12]. Se ha reportado que sus propiedades se ven fuertemente afectadas dependiendo de la naturaleza de las impurezas que contiene, por ejemplo, la HAP dopada con silicio mostró un efecto positivo en aplicaciones de regeneración ósea [12]. Si la hidroxiapatita se encuentra carbonatada, presenta defectos paramagnéticos luego

de ser expuesta a radiación ionizante [13]. Dichos defectos consisten en radicales libres estables, los cuales son fácilmente identificados por resonancia paramagnética electrónica (EPR) y se mantienen detectables por años [14]. Esto posibilitó el uso de la hidroxiapatita para detectar alimentos irradiados, datar muestras geológicas, o como dosímetro [15].

En este trabajo se presenta el desarrollo de un compuesto bifásico formado por nanopartículas de ferrita de zinc, de estequiometría nominal $Zn_{0.4}Fe_{2.6}O_4$, embebidas en una matriz de hidroxiapatita carbonatada (NPsHAP). Las NPs se sintetizaron a partir de una ruta química por descomposición a alta temperatura de los precursores organometálicos. La hidroxiapatita se sintetizó a partir de una solución fisiológica biomimética a baja temperatura (37 °C). Se analizaron las propiedades estructurales y magnéticas, y se realizaron experimentos de hipertermia magnética de ambos sistemas, i.e. las NPs de $Zn_{0.4}Fe_{2.6}O_4$ y el compuesto NPsHAP, dispersos en diferentes medios. Se estudió la respuesta de la HAP al ser sometida a rayos X, así como la estabilidad de los defectos paramagnéticos en función del recocido en distintas atmósferas. Luego se realizó la correspondiente caracterización del compuesto NPsHAP al exponerlo a radiación ionizante. Los resultados que se presentan muestran la factibilidad del uso de este compuesto como sensor de radiación y para producir calentamiento por hipertermia magnética.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Para la síntesis de las nanopartículas de ferrita de zinc se dispuso de los siguientes reactivos: acetilacetonato de hierro (III) (Sigma-Aldrich, 97%), acetilacetonato de zinc hidratado (Sigma-Aldrich, 99,995%), éter bencílico (Sigma-Aldrich, 98%), 1,2-octanodiol (Sigma-Aldrich, 98%), ácido oleico (Sigma-Aldrich, 99%) y oleilamina (Sigma-Aldrich, 70%). Para sintetizar la hidroxiapatita se usaron los siguientes reactivos: NaCl (Sigma-Aldrich, 99,5%), $NaHCO_3$ (Biopack, 99,7%), KCl (Biopack, 99,0%), Na_2HPO_4 (Biopack, 99,0%), $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (Anedra, 99%), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (Anedra, 99%), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (Anedra, 99%), Tris base (Biobasic, 99,0%), HCl (Anedra, 37,9%).

Síntesis de nanopartículas de ferrita de zinc

Las nanopartículas se sintetizaron a alta temperatura siguiendo el protocolo presentado por De Almeida et al. [16]. Se disolvieron 0,9222 g de acetilacetonato de hierro y 0,1099 g de acetilacetonato de zinc en 60 mL de éter bencílico. Se agregaron surfactantes orgánicos (0,9 mL oleilamina y 2,9 mL ácido oleico) y un alcohol de cadena larga (2,4 mL 1,2-octanodiol) y la solución se mantuvo a 100 °C por ~ 1 h, con agitación mecánica y bajo un flujo de N_2 para eliminar la humedad del sistema. Luego se elevó la temperatura a 200 °C, donde se mantuvo por 1 h para la descomposición del precursor organometálico y la nucleación de las semillas de NPs, y posteriormente se llevó el sistema a la condición de reflujo (~ 250 °C) por 2 h para el crecimiento y cristalización de las nanopartículas. El material obtenido se lavó repetidas veces con una solución de acetona, alcohol etílico y tolueno, y se secó a 40 °C por 48 h. Luego de la síntesis, las NPs se encuentran recubiertas con una capa de surfactantes orgánicos.

Síntesis de Hidroxiapatita

La hidroxiapatita se sintetizó a 37 °C usando una solución fisiológica biomimética (SFB) y siguiendo el protocolo presentado por Leena et al. [17]. Para ello se disolvieron 1,6383 g de NaCl, 0,5683 g de $NaHCO_3$, 0,0935 g de KCl, 0,0353 g de Na_2HPO_4 , 0,0520 g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 0,0715 g de $CaCl_2$, 1,6380 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ y 1,5150 g de Tris base en 250 mL de agua milli Q. La solución se llevó a pH = 7,4 con HCl y se separó en dos partes de 15 mL y 235 mL, respectivamente. Se agregaron 0,2140 g de $CaCl_2$ a la solución de 15 mL y 0,1246 g de Na_2HPO_4 a los 235 mL restantes. Se añadió por goteo la solución de 15 mL al resto de la solución, proceso que duró ~ 30 min con agitación constante. Luego se mantuvo la solución agitándose durante 3 h a 37 °C. Con el objetivo de aumentar la carbonatación de la hidroxiapatita se expuso la solución SFB a un flujo de CO_2 introducido por burbujeo durante las 3 h que duró la síntesis. Una vez terminado el proceso de síntesis se dejó reposar la solución 24 h y se filtró el material crecido. La muestra resultante se secó a 80 °C durante 48 h.

Síntesis del compuesto bifásico

Para la síntesis del compuesto bifásico hidrofóbicas, por lo tanto, es necesario remover el surfactante que las recubre para poder dispersarlas en agua. Con este fin las NPs se dispersan en metanol y se mantienen 8 h con ultrasonido intermitente, se precipitan magnéticamente, se redispersan en acetona y se mantienen 24 h a 40°C. Este proceso se repite varias veces. Además, considerando la afinidad del Fe con los grupos fosfato, las nanopartículas se funcionalizaron con grupos fosfato para favorecer el crecimiento de la hidroxiapatita sobre las NPs. El proceso de funcionalización consistió en dispersar y mantener las NPs en buffer fosfato a pH = 7

durante 48 h. Las nanopartículas funcionalizadas se incorporaron a los 235 mL de SFB previo a la etapa de goteo, y se continuó con el proceso de síntesis de la hidroxiapatita descrito previamente. Finalmente se filtró la solución y se realizó una separación magnética para eliminar el material no adherido a las NPs. La muestra resultante se secó a 80 °C durante 48 h.

Caracterización de las muestras

La estructura cristalina de las muestras sintetizadas se caracterizó a partir de difracción de rayos X utilizando el difractor Bruker Advance D8 (radiación Cu K α , $\lambda = 0,15406$ nm). El tamaño y morfología de las NPs y del compuesto bifásico se estudió mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). Se realizó un análisis composicional del compuesto NPsHAP mediante espectroscopía de energía dispersiva (EDS) en el TEM. Las mediciones se realizaron en un microscopio Philips CM-200 trabajando a 200 kV. La incorporación de impurezas carbonato en la hidroxiapatita se verificó mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), para lo cual se utilizó el espectrómetro uATR PerkinElmer Spectrum Two en el rango de 450–4000 cm^{-1} .

La magnetización DC de las muestras se estudió con un magnetómetro de muestra vibrante (VSM) LakeShore 7300 y el dispositivo superconductor de interferencia cuántica (SQUID) Quantum Design MPMS-5S. Se adquirieron ciclos de magnetización vs campo aplicado a temperatura ambiente con el VSM hasta ± 1 T. Se realizaron experimentos de magnetización en función de la temperatura en el SQUID siguiendo los protocolos FC (Field Cooling) y ZFC (Zero Field Cooling), usando un campo máximo de 0,005 T y trabajando en el rango de temperatura 5 K - 320 K. Los experimentos de hipertermia magnética se realizaron en el equipo nB-NanoScale Biomagnetics D5-F1, con un campo de amplitud 0,022 T y frecuencia 575 kHz.

Las medidas de radio hidrodinámico por medio de dispersión de luz dinámica (DLS) fueron realizadas en un dispositivo Zetasizer zs90 de Malvern (con una longitud de luz incidente de 632,8 nm) a 293 K y en un ángulo de medida de 90°. Se utilizó una cubeta de vidrio para con una solución de cloroformo conteniendo las nanopartículas en muy baja concentración.

Las muestras de hidroxiapatita pura y el compuesto con nanopartículas se expusieron a una fuente de rayos X recibiendo una dosis aproximada de 3 kGy. Los defectos paramagnéticos generados por la radiación ionizante en hidroxiapatita se estudiaron mediante resonancia paramagnética electrónica (EPR), medidos en banda X ($\sim 9,5$ GHz) a temperatura ambiente con el espectrómetro BRUKER ELEXSYS II-E500.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nanopartículas de ferrita de zinc

En la Fig. 1a se presenta el difractograma correspondiente a las nanopartículas de ferritas de zinc sintetizadas, donde todos los picos observados corresponden a la estructura espínela esperada para la ferrita, con grupo espacial Fd-3m. A partir de la relación entre los índices de Miller (hkl) con la correspondiente distancia interplanar para una estructura cúbica de parámetro de red a ($\frac{1}{d_{hkl}^2} = \frac{h^2+k^2+l^2}{a^2}$) y usando la ley de Bragg: $n\lambda = 2d_{hkl} \text{sen}(\theta)$, se determinó $a = (0,841 \pm 0,001)$ nm. El parámetro de red calculado está en buena concordancia con los valores encontrados en la bibliografía para la ferrita de zinc [18], lo que confirma la obtención de la fase cristalina buscada.

La Fig. 1b muestra una imagen TEM representativa del sistema, donde se observan nanopartículas facetadas y de tamaño homogéneo. A partir de estas mediciones se determinó la distribución de tamaño de las NPs que se muestra en la Fig. 1c. El histograma resultante se ajustó con una distribución log-normal y se determinó un tamaño medio $d = 18 \pm 3$ nm.

La dependencia de la magnetización del sistema de NPs con el campo magnético, medido a temperatura ambiente, se muestra en la Fig. 2a. A partir de esta curva se observa que el sistema presenta un comportamiento reversible, cuando la medida se realiza con los tiempos característicos de la medida DC, consistente con el régimen superparamagnético del momento magnético de las NPs. Este comportamiento puede ajustarse con la función de Langevin: $M_{Lang}(H) = M_S L\left(\frac{\mu_{NP} H}{k_B T}\right) = M_S \left(\coth\left(\frac{\mu_{NP} H}{k_B T}\right) - \frac{k_B T}{\mu_{NP} H}\right)$, donde M_S y μ_{NP} son la magnetización de saturación y momento magnético del núcleo FiM ordenado de la NP. Por otro lado, se observa una contribución lineal de la magnetización con el campo magnético para altos campos, $M_{lin}(H) = mH$, la cual se atribuye al desorden de los espines superficiales de las NPs debido a la pérdida de simetría y ruptura de ligaduras en los átomos superficiales.

Del ajuste de los datos experimentales con la función $M(H) = M_{Lang}(H) + M_{lin}(H)$, se determinó una

$$M_S = (56 \pm 2) \frac{\text{Am}^2}{\text{kg}} \text{ y un } \mu_{NP} = (1,92 \pm 0,03) 10^{-19} \text{Am}^2.$$

Además, se estimó el volúmen magnético medio de las nanopartículas mediante la relación $\mu_{NP} = V_m M_s$, obteniéndose $V_m = (6,5 \pm 0,3)10^{-25}m^3$. Si se asumen partículas esféricas el volúmen magnético calculado corresponde a un diámetro $d_m = (10,7 \pm 0,2)nm$, que es menor al tamaño obtenido por TEM. Este resultado sugiere la presencia de una capa magnética desordenada en las nanopartículas, lo que es consistente con la contribución lineal observada en la magnetización.

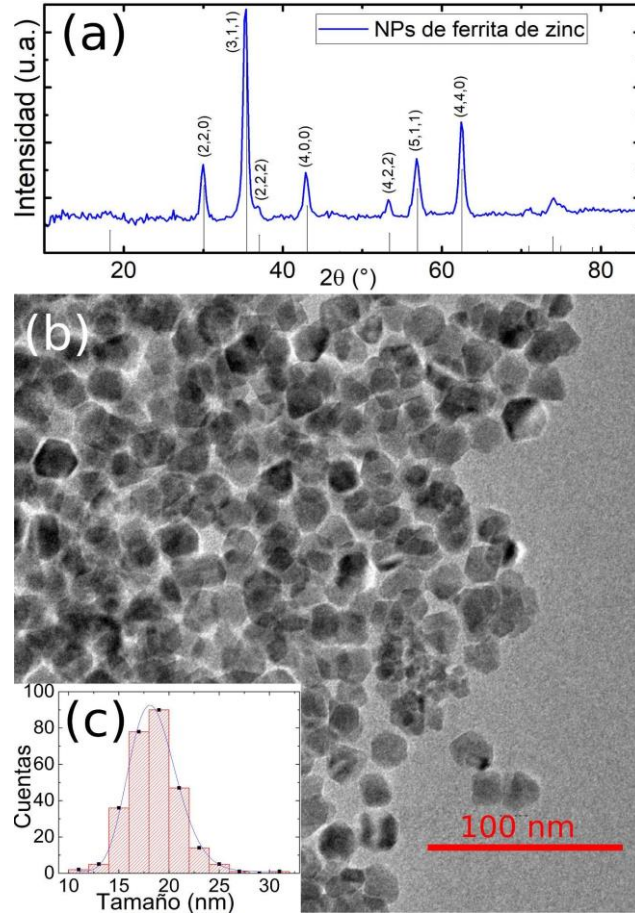


Figura 1. (a) Difractograma de rayos X de las NPs de Zn_{0.4}Fe_{2.6}O₄. (b) Imágen representativa de las NPs obtenida por TEM y (c) su correspondiente distribución de tamaño.

Para determinar la anisotropía magnética efectiva K_{ef} del sistema de nanopartículas se realizaron mediciones M vs T , siguiendo los protocolos ZFC y FC, que se muestran en la Fig. 2b. En dicha figura se presenta además la distribución de temperaturas de bloqueo $f_{TB}(T)$, determinada a partir de la relación $f_{TB}(T) \propto \frac{1}{T} \frac{d(M_{ZFC} - M_{FC})}{dT}$, donde el máximo de la distribución se encuentra en $T_B = (11,3 \pm 0,5)$ K. En un sistema de nanopartículas no interactuantes la anisotropía efectiva puede calcularse a partir de la relación $K_{ef} = \frac{K_B T_B}{V_m} \ln\left(\frac{t_m}{t_0}\right)$, donde $t_m = 60$ s es el tiempo característico de la medición. Usando el V_m obtenido del ciclo M vs H y la T_B resultante de las mediciones M vs T , se determinó una constante de anisotropía efectiva $K_{ef} = 6,5 \pm 0,3 \frac{kJ}{m^3}$. La eficiencia de disipación de energía de las nanopartículas depende de los mecanismos de relajación magnética del sistema. En particular, para tratamientos de hipertermia magnética es conveniente que el sistema tenga una relajación dominada por el mecanismo de Néel. Esto asegura que la disipación de energía de las nanopartículas sea independiente de la viscosidad del medio. El tiempo de relajación de Néel del sistema se calculó utilizando los valores obtenidos de los experimentos de magnetización DC, V_m y K_{ef} , y un valor $\tau_0 \approx 10^{-10}$ s característico para materiales FiM, obteniéndose $\tau_N \sim 3 \times 10^{-10}$ s.

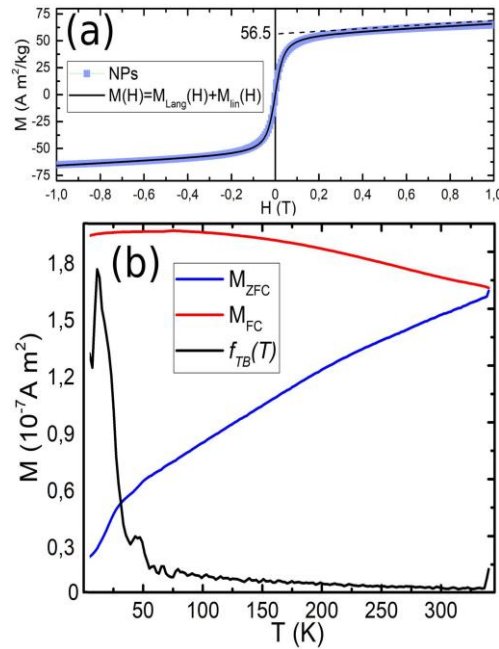


Figura 2. (a) Ciclo M vs H de la muestra de NPs de Zn_{0.4}Fe_{2.6}O₄. (b) Mediciones M vs T de las NPs siguiendo los protocolos FC y ZFC, junto a la correspondiente distribución de T_B.

Por otro lado, para calcular el tiempo de relajación de Brown se midió el volúmen hidrodinámico de las NPs dispersas en cloroformo por medio de medidas DLS y se obtuvo un $d_{hid} = 40 \pm 6$ nm, que corresponde al núcleo inorgánico de las partículas y su recubrimiento orgánico hidrofóbico. A partir de este valor y de la viscosidad reportada para el cloroformo: $\eta_{CHCl_3} = 5,6 \times 10^{-4}$ Pa.s (a 293 K) se obtuvo $\tau_B \approx 2 \times 10^{-4}$ s. El τ_B de las nanopartículas dispersas en cloroformo es órdenes de magnitud mayor al τ_N del sistema, confirmando que el mecanismo de relajación dominante corresponde al de Néel. Notar que la viscosidad del agua y la de los medios biológicos es mayor a la del cloroformo favoreciendo aún más el mecanismo de relajación magnética. Para evaluar la capacidad de las NPs de inducir hipertermia magnética en medios de diferente viscosidad se dispersaron las mismas en cloroformo y *clarified butter oil* ($\eta_{BO} = 0,174$ Pa.s a 20°C) con una concentración de $0,1 \% \frac{m_{NPs}}{m}$, y se midió el cambio de temperatura del sistema al aplicar un campo magnético alterno de 575 kHz y 0,022 T de amplitud. Medidas representativas se presentan en la Fig. 3, donde puede observarse la buena respuesta de las NPs ya que logran calentar ~ 10 K en unos pocos minutos.

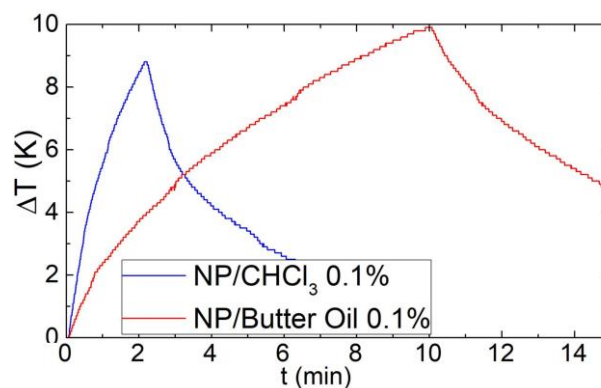


Figura 3. Evolución temporal de la temperatura en experimentos de hipertermia magnética de las NPs dispersas en cloroformo y *clarified butter oil*.

La eficiencia de calentamiento del sistema puede calcularse a partir de la absorción específica de potencia $SPA = \frac{c_p m}{m_{NPs}} \frac{dT}{dt}$, donde c_p y m son el calor específico y la masa del medio, m_{NPs} la masa de nanopartículas y dT/dt la velocidad de incremento de temperatura, tomada en los instantes iniciales del experimento para reducir los efectos de pérdidas térmicas por la condición semi-adiabática del sistema. En la Tabla 1 se

presentan los valores de SPA reportados para sistemas de NPs dispersas en cloroformo y clarified butter oil. Es notable que la eficiencia de calentamiento de las nanopartículas en ambos medios es similar, aun cuando la viscosidad cambia 3 órdenes de magnitud, lo que es consistente con una relajación dominada por Néel. Estos resultados sugieren que las nanopartículas sintetizadas son aptas para la aplicación planteada, ya que logran producir hipertermia magnética utilizando una concentración de 0,1 % en peso inclusive en medios de alta viscosidad, y es de esperar que su eficiencia se mantenga aun estando inmóviles en el compuesto con hidroxiapatita.

Tabla 1. Valores de SPA obtenidos a partir de experimentos de hipertermia magnética de las NPs y el compuesto NPsHAP dispersos en medios de distinta viscosidad.

Muestra/solvente	Concentración NPs [% en peso]	Viscosidad (η) a 20°C [Pa.s]	SPA [W/g]
NPs/cloroformo	0,1	$5,6 \times 10^{-4}$	111 (8)
NPs/butter oil	0,1	0,174	111 (15)
NPsHAP/agua	0,035	$1,002 \times 10^{-2}$	126 (19)

Hidroxiapatita

En la Fig. 4 se presenta el difractograma de rayos X de la muestra de HAP sintetizada en condiciones biomiméticas, siguiendo el protocolo presentado por Leena et al. [17]. La muestra de HAP presenta dos picos anchos y poco intensos ubicados en $\sim 26^\circ$ y $\sim 32^\circ$, que fueron identificados con los picos principales de la HAP cristalina. Además, se observa una “loma” que se extiende entre los 15° y 40° , característica de una fase amorfa, que se atribuye a HAP, precursores como fosfatos y carbonatos de calcio e impurezas. Con el objetivo de mejorar la cristalinidad del material se realizó un tratamiento térmico de a 350°C por 1 h en una atmósfera de aire, muestra denominada HAP350. Además, dado que la sensibilidad de la hidroxiapatita a la radiación ionizante depende directamente de las impurezas carbonato en su estructura, se decidió también realizar un recocido en una atmósfera rica en CO_2 , muestra denominada HAP350C. El tratamiento térmico promueve la cristalización de la HAP como se refleja en los difractogramas presentados en la Fig.4, donde además se observan picos angostos identificados con las fases $\text{Ca}(\text{CO}_3)$ y $\text{CaMg}_3(\text{CO}_3)_4$. La presencia de Mg proviene de los precursores usados en la síntesis de la hidroxiapatita ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

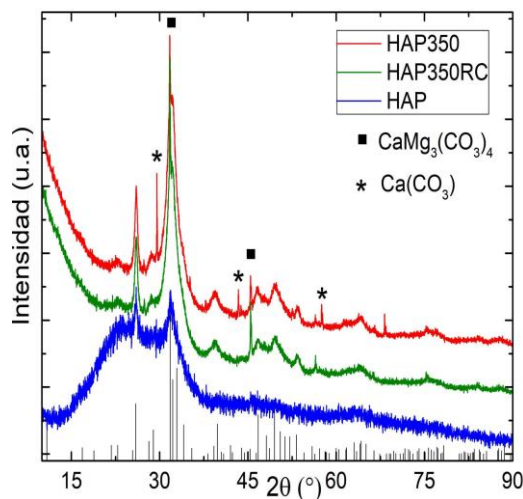


Figura 4. Difractogramas de rayos X de la muestra HAP y las muestras recocidas HAP350 y HAP350C.

Dado que la sensibilidad de la hidroxiapatita a la radiación ionizante se asocia con las impurezas carbonato, es importante conocer el grado de dopaje en el material. Con este objetivo se realizaron mediciones de FTIR de las muestras HAP, HAP350 y HAP350C. En la Fig. 5 se presentan dichas mediciones, normalizadas con el pico más intenso del espectro, donde además se presenta a modo de comparación el espectro FTIR de una muestra de hidroxiapatita comercial. Las absorciones de baja intensidad centradas en 3400 cm^{-1} y 1650 cm^{-1}

proviene de los modos de vibración del O-H *stretching* y del H-O-H *bending* de las moléculas H₂O adsorbidas; las bandas de absorción más intensas, ubicadas en 1000 cm⁻¹ y 600 cm⁻¹ corresponden a los modos de vibración de *stretching* y de *bending*, respectivamente, de los grupos PO₄; mientras que la incorporación de impurezas CO₃ se evidencia por las absorciones en 1400 cm⁻¹ y el hombro observado en torno a 1220 cm⁻¹, asociadas a los modos de vibración de *stretching* simétrico y asimétrico del CO₃, así como el pico en 870 cm⁻¹ y el hombro en torno a 700 cm⁻¹ relacionados a los modos de vibración de *bending* del CO₃. Es notable que la hidroxiapatita comercial también contiene impurezas carbonato, lo que puede explicarse mediante la adsorción irreversible de moléculas CO₂ por grupos OH⁻ superficiales ($2OH^- + CO_2 \rightarrow HCO_3^- + OH^- \rightarrow CO_3^{2-} + H_2O$) [19].

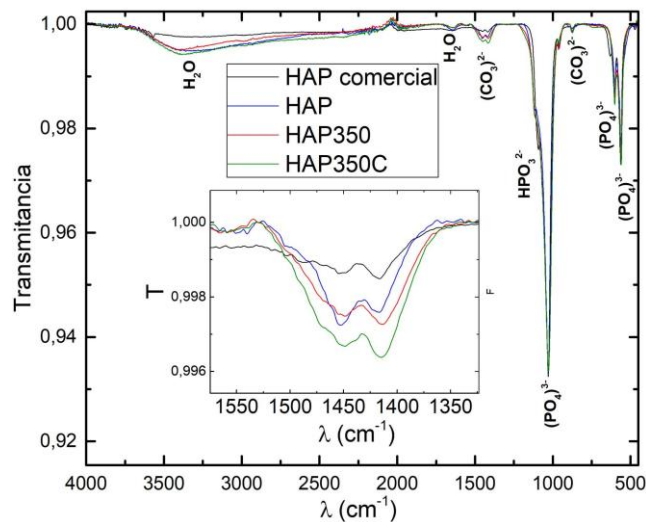


Figura 5. Espectros de transmitancia en infrarrojo de las muestras HAP, HAP350, HAP350R e hidroxiapatita comercial. En el recuadro se muestra en detalle la absorción del modo de vibración de *stretching* del grupo CO₃ usada para determinar el porcentaje de carbono en el material.

Una forma de estimar el grado de carbonatación del material es relacionando las absorciones de los grupos carbonato y fosfato del espectro de infrarrojo. Grunenwald et al. determinaron que el contenido en peso de carbonato en hidroxiapatita puede calcularse mediante la ecuación $\%CO_3 = 28,62 r_{c/p} + 0,0843$ [20]; donde $r_{c/p}$ es la relación entre las áreas de las bandas de absorbancia ubicadas en 1530-1330 cm⁻¹ y 1230-900 cm⁻¹, correspondientes a los grupos (CO₃)²⁻ y (PO₄)³⁻, respectivamente. Usando esta relación se procedió a estimar el contenido de carbonato en la hidroxiapatita sintetizada y sometida a distintos tratamientos. En el detalle de la Fig.5 se presenta la banda de absorción del grupo carbonato que se usó para el cálculo. Los porcentajes de carbonato de las muestras HAP, HAP350 y HAP350C, obtenidos a partir de las correspondientes relaciones $r_{c/p}$, están en el rango 1% - 2%, ver Tabla 2. Las relaciones $r_{c/p}$ aumentan en las muestras con el recocido (HAP350 y HAP350C) sugiriendo que el tratamiento térmico aumenta la cantidad de CO₃, y este aumento es mayor bajo una atmósfera rica en CO₂.

Tabla 2. Relaciones $r_{c/p}$ obtenidas para las muestra de hidroxiapatita HAP, HAP350 y HAP350C y el compuesto NPsHAP, junto al %CO₃ calculado con el modelo presentado en [20].

	HAP comercial	HAP	HAP350	HAP350C	NPsHAP
$r_{c/p}$	0,035	0,044	0,050	0,067	0,047
%CO ₃	1,1 (5)	1,3 (5)	1,5 (5)	2 (5)	1,4 (5)

Para evaluar la sensibilidad de la hidroxiapatita a la radiación ionizante, y el efecto del recocido en la misma, se expusieron las muestras HAP, HAP350 y HAP350C a una fuente de rayos X, recibiendo una dosis total de ~ 3 kGy. Los defectos paramagnéticos generados por la radiación incidente se estudiaron mediante EPR. En la Fig. 6 se muestran los espectros obtenidos luego de la irradiación, así como el espectro obtenido al medir la muestra HAP sin irradiar. En la muestra sin recocer, se observa principalmente una señal asimétrica

centrada en $\sim 0,336$ T. Esta señal fue estudiada y atribuida al defecto estable que forman las impurezas CO_2^- en la HAP bajo el efecto de radiación ionizante [21]. Además, cerca de dicha resonancia se observan otros defectos que pueden atribuirse a especies minoritarias CO_3^- , CO_3^{3-} , CO_2^- [22] las cuales no pudieron asignarse debido a la baja intensidad de estas resonancias. En esta figura se muestran también los espectros de las muestras irradiadas después de los tratamientos térmicos. Se observa que el recocido no tiene un impacto notorio en la señal principal correspondiente a la resonancia del grupo CO_2^- ; sin embargo, aumentó la estabilidad de los defectos secundarios observados. En particular la intensidad de la señal simétrica centrada en $\sim 0,335$ T, se vuelve comparable a la del CO_2^- , y a partir de su campo de resonancia se pudo identificar esta señal con la especie CO^- [23].

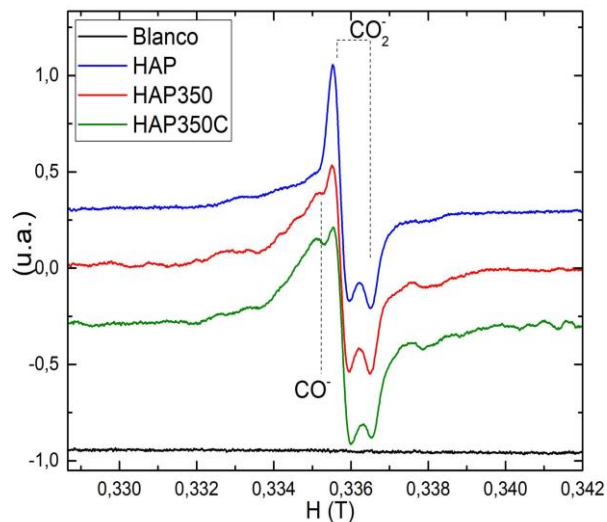


Figura 6. Señal EPR de las muestras HAP, HAP350, HAP350R irradiadas y de la muestra HAP sin irradiar (Blanco).

En conclusión, se observó que el tratamiento térmico previo a la irradiación aumenta la sensibilidad de la hidroxiapatita a la radiación ionizante. Sin embargo, la mayor parte de los defectos estabilizados son radicales secundarios, sin un aumento notorio de la altura pico-pico de la señal, lo que complejiza el análisis. Por tal motivo, y sumado a que el tratamiento térmico podría oxidar las nanopartículas disminuyendo su magnetización, se decidió no efectuar el recocido del compuesto NPsHAP.

Compuesto bifuncional NPsHAP

En la Fig. 7a se presenta el difractograma de rayos X del compuesto NPsHAP, donde los picos observados coinciden con la estructura de la hidroxiapatita. Es notable el mayor grado de cristalinidad de la HAP en el compuesto al contrastar su difractograma con los presentados en la Fig. 4 para muestras de HAP pura. Este resultado puede explicarse teniendo en cuenta que las nanopartículas pueden actuar como centros de nucleación durante la síntesis de HAP favoreciendo su cristalización. Por otro lado, no se observaron picos de difracción asociados a la fase espinela de las nanopartículas magnéticas, lo cual puede asociarse a la baja concentración de las mismas en el compuesto, como se analizará más adelante.

Para estudiar la morfología del compuesto sintetizado, y confirmar la incorporación de las nanopartículas, se realizaron mediciones de TEM del compuesto NPsHAP. En las Figs. 7b y 7c se presentan imágenes representativas de las mediciones realizadas. En las imágenes se aprecia un material mayormente amorfo, consistente con los resultados de DRX, con estructuras en forma de varillas o prismas alargados, característicos de la hidroxiapatita. Además, se observan regiones de contraste oscuro que, considerando su tamaño, se atribuyen a las nanopartículas en el compuesto. Para confirmar la composición de las diferentes regiones del compuesto se realizaron mediciones de EDS, las cuales se señalan en la Fig. 7c. En los espectros obtenidos, que se presentan en la Fig. 7d, se identificaron picos de absorción del O, P y Ca presentes en la HAP. Además, al centrar el haz en la región de contraste oscuro se distingue la presencia de Fe, asociado a las nanopartículas de ferrita de zinc. Las señales de Cu, C y Si se explican por la interacción de los electrones con el Cu y C de la grilla usada y el detector de rayos X de Si. Estos resultados confirman que el compuesto está conformado por nanopartículas de ferrita de zinc, de ~ 18 nm, embebidas en una matriz de hidroxiapatita de tamaño micrométrico. Mediante espectroscopía infrarroja se confirmó la presencia de impurezas carbonatos en la hidroxiapatita. En la Tabla 2 se reporta el % CO_3 del compuesto NPsHAP, estimado con el modelo presentado por Grunenwald et al. [20].

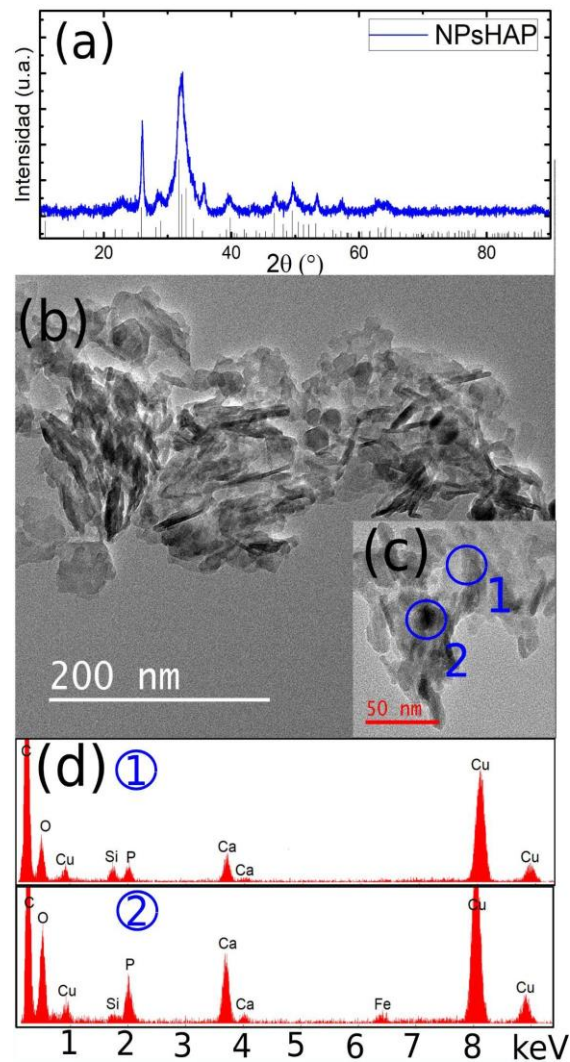


Figura 7. (a) Difractograma de rayos X del compuesto NPsHAP. (b) Imagen representativa de las NPs obtenida por TEM. (c) Imagen obtenida por TEM donde se especifican las regiones usadas en el análisis composicional por EDS cuyos espectros se presentan en (d).

Dado que las nanopartículas pueden oxidarse al introducirlas como semilla para crecer la hidroxiapatita, lo que puede influir en sus propiedades magnéticas, es importante caracterizar la respuesta magnética del compuesto bifásico. En la Fig. 8a se presenta la curva de magnetización en función del campo aplicado para el compuesto NPsHAP, donde se observa un comportamiento similar al presentado por las NPs dado por una contribución lineal y una superparamagnética. Del ajuste de M con la función $M(H) = M_{Lang}(H) + M_{lin}(H)$ se determinó una magnetización de saturación de $0,94 \pm 0,01 \text{ A.m}^2/\text{kg}$ del compuesto. Al relacionar esta magnetización con la obtenida para las nanopartículas de ferrita de zinc 56(2) $\text{A.m}^2/\text{kg}$, se determinó una concentración de $1,66 (9) \% \frac{m_{NP}}{m_{NPHAP}}$.

Para evaluar la capacidad del compuesto bifásico de disipar calor bajo la acción de un campo magnético alterno, se realizaron experimentos de hipertermia magnética del compuesto disperso en agua con una concentración de NPs de 0,035% en peso. Tal como se observa en la Fig. 8b las nanopartículas logran calentar el medio aun estando fijadas a la matriz de hidroxiapatita, lo que refuerza la conclusión de que las NPs poseen una relajación magnética dominada por Néel. A partir de estas mediciones se determinó un valor de SPA = $126 \pm 19 \text{ W/g}$, que coincide dentro de la incerteza reportada con el SPA calculado para las nanopartículas dispersas en cloroformo y *clarified butter oil*. Estos resultados muestran la factibilidad de diseñar nanopartículas magnéticas capaces de generar calentamiento local aun cuando se encuentran inmobilizadas, lo cual confirma que el compuesto bifásico es apto para procesos de hipertermia magnética.

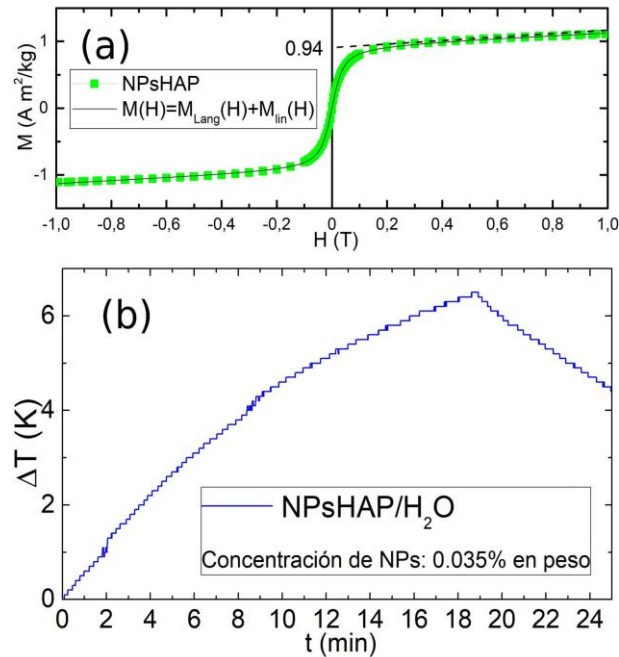


Figura 8. (a) Ciclo M vs T del compuesto NPsHAP y el correspondiente ajuste con el modelo $M(H) = M_{Lang}(H) + M_{lin}(H)$. (b) Evolución temporal de la temperatura en experimento de hipertermia del compuesto NPsHAP disperso en agua

Con el objetivo de evaluar la sensibilidad del compuesto bifásico a la radiación ionizante, el mismo se expuso a una fuente de rayos X, recibiendo una dosis aproximada de 3 kGy, y posteriormente se estudiaron los defectos paramagnéticos generados mediante EPR. En la Fig. 9a se presenta el espectro medido en el rango [0-1 T], donde se observa la señal de los defectos paramagnéticos superpuestos a la resonancia ferromagnética de las nanopartículas en el compuesto.

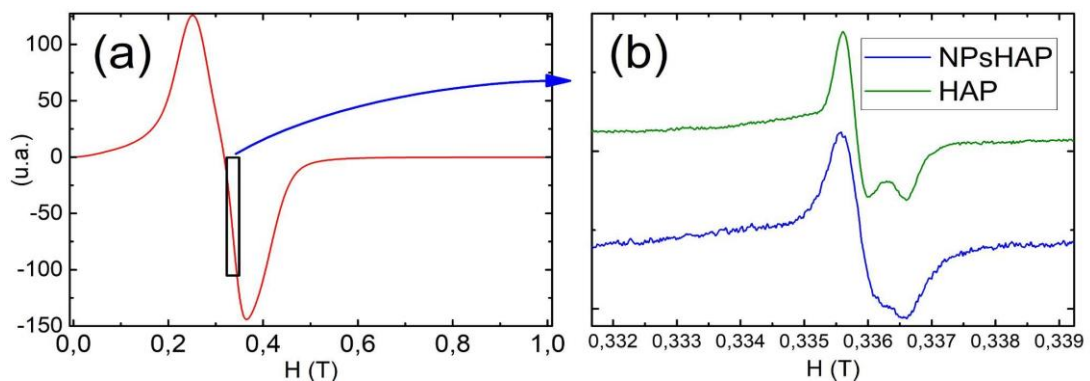


Figura 9. (a) Señal correspondiente a la resonancia ferromagnética de las nanopartículas de ferrita de zinc en el compuesto NPsHAP. (b) Señal paramagnética correspondiente a los defectos generados por la radiación en la muestra NPsHAP.

El espectro correspondiente a los defectos generados por la radiación se presenta en la Fig. 9b, donde se sustrajo la señal ferromagnética y se presenta a modo de comparación la señal medida en la muestra HAP. En dicha gráfica se observa una señal asimétrica, donde la posición de la línea de resonancia coincide con la observada en hidroxiapatita sin recocer. Por otro lado, se observa un ensanchamiento de la línea de EPR respecto a las muestras de hidroxiapatita pura, lo cual puede explicarse debido a la presencia de nanopartículas ferrimagnéticas en el compuesto las cuales crean inhomogeneidades en el campo magnético.

Los resultados presentados muestran que es posible detectar los defectos paramagnéticos producidos por radiación X en hidroxiapatita carbonatada, aun cuando su señal se encuentra superpuesta a la resonancia ferromagnética de las NPs en el compuesto, lo cual comprueba la sensibilidad del material para ser utilizado como sensor de radiación.

CONCLUSIONES

En este trabajo se fabricó un compuesto constituido por nanopartículas de ferrita de zinc embebidas en una matriz de hidroxiapatita micrométrica, con el fin de desarrollar nuevos materiales con la capacidad de inducir calentamiento por hipertermia magnética y simultáneamente sensible a la radiación ionizante. En base al análisis morfológico y estructural realizado se concluyó que la concentración de NPs en el compuesto es de $1,66(9) \% \frac{m_{NPs}}{m_{NPsHAP}}$. Por otra parte, se observó que la nucleación heterogénea de la HAP sobre las NPs favorece la cristalización de la misma.

Se estudió la factibilidad de las nanopartículas y del compuesto NPsHAP para ser usados en procesos de hipertermia magnética. En primer lugar, se verificó que el mecanismo de relajación dominante de las NPs magnéticas corresponde al mecanismo de Néel. Este es un requisito fundamental para desarrollar el compuesto bifuncional ya que las NPs se encuentran fijas en la matriz y por lo tanto la relajación de Brown está inhibida. Para ello se comprobó que la tasa de calentamiento de las NPs sea independiente de la viscosidad del medio donde se encuentran dispersas, obteniéndose SPA ~ 111 W/g cuando las NPs se encuentran dispersas en cloroformo o *clarified butter oil*. Finalmente se verificó que el compuesto NPsHAP induce hipertermia magnética con una tasa de calentamiento SPA ~ 126 W/g comparable a los valores previos. Estos experimentos indican que el material fabricado es apto para producir calentamiento local por hipertermia magnética.

Mediante resonancia paramagnética electrónica se estudió la respuesta de la hidroxiapatita sintetizada y el compuesto NPsHAP al ser sometido a radiación ionizante. Inicialmente se analizó el grado de carbonatación de la hidroxiapatita sintetizada, ya que este parámetro determina la sensibilidad del material a la radiación. Se encontró que el burbujeo de CO₂ durante la síntesis aumenta el porcentaje de las impurezas de CO₃²⁻ relativas a PO₄³⁻ hasta un valor de 1,5 %. A partir de experimentos de EPR se determinó que el CO₂⁻ es el defecto principal generado al irradiar la hidroxiapatita con rayos X. Además, se observaron resonancias menores asociadas a especies secundarias, cuya intensidad varía según el tratamiento térmico de la muestra. Sin embargo, los tratamientos térmicos del material no inducen un aumento apreciable de la señal de EPR razón por la cual se descarta la implementación de los mismos, dado que podrían degradar las propiedades magnéticas de las NPs al promover su oxidación. Finalmente en el compuesto NPsHAP, se observaron los defectos paramagnéticos generados luego de la irradiación con rayos X, identificándose la señal al defecto CO₂⁻. En resumen, este trabajo proporciona evidencia de la factibilidad de desarrollar nuevos materiales bifuncionales de interés en el área de nanomedicina, que permiten generar calentamiento local en presencia de campos magnéticos alternos y, simultáneamente, pueden actuar como dosímetros para radiación ionizante.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por el apoyo financiero a través de los subsidios PICT-2019-02059 y PICT-2018-02565, y a la Universidad Nacional de Cuyo por el apoyo a través de 06/C604 y 06/C605.

REFERENCIAS

- [1] Georgia C. Papaefthymiou; Nanoparticle magnetism; Nano Today; 4; 5; 438-447; 2009
- [2] Avasthi A, Caro C, Pozo-Torres E, et al.; Magnetic Nanoparticles as MRI Contrast Agents; Top Curr Chem (Cham); 40; 3; 378; 2020.
- [3] Slavko K., Matija R., Janko K., Darko M.; Targeting EGFR-overexpressed A431 cells with EGF-labeled silica-coated magnetic nanoparticles; Journal of Nanoparticle Research; 15; 5; 2013.
- [4] Thirunavukkarasu GK, Cherukula K, et al.; Magnetic field-inducible drug-eluting nanoparticles for image-guided thermochemotherapy; Biomaterials; 180; 240-252; 2018.
- [5] Hildebrandt B., Wust P., Ahlers O., Dieing A., et al.; The cellular and molecular basis of hyperthermia; Critical reviews in oncology/hematology; 43; 08; 33-56; 2002.
- [6] Rubia-Rodriguez I, Santana-Otero A., et al.; Whither Magnetic Hyperthermia? A tentative Roadmap; Materials; 14; 4; 1-37; 2021.
- [7] Kampinga H.H., Dikomey E., et al.; Hyperthermic radiosensitization: mode of action and clinical relevance; International Journal of Radiation Biology; 77; 399-408; 2001.
- [8] Fabris F., Lohr J., et al., Controlling the dominant magnetic relaxation mechanisms for magnetix hyperthermia in bimagnetic core-shell nanoparticles; Nanoscale; 11; 7; 3164-3172; 2019.
- [9] Bobo D., Robinson K, et al.; Nanoparticle-based medicines: A review of FDA-approved materials and clinical trials to date; Pharmaceutical Research; 33, 10;2373-2387; 2016.

- [10] Levy D., et al.; Structure of magnetite (Fe_3O_4) above the Curie temperature: A cation ordering study; *Physics and Chemistry of Minerals*; 39; 169-176; 2012.
- [11] Modaresi N., et al.; Magnetic Properties of $\text{Zn}_x\text{Fe}_{(3-x)}\text{O}_4$ nanoparticles: a competition between the effects of size and Zn doping level; *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*; 482; 206-218; 2019.
- [12] Qiu Z., et al.; Silicate-doped hydroxyapatite and its promotive effect on bone mineralization; *Frontiers of Materials Science*; 7; 40-50; 2013.
- [13] Schramm D., Rossi A.; Electron spin resonance studies of CO_2 radicals in irradiated a and b type carbonate containing apatites; *Applied Radiation and Isotopes*; 52; 1085-1092; 2000.
- [14] Nuñez N, Raineri M., et al; Zinc ferrite nanoparticles embedded in hydroxyapatite for magnetic hyperthermia and sensitive to ionizing radiation; *Journal of Alloys and Compounds*; 920; 4; 165887; 2022.
- [15] Liu Y., et al.; Study of new practical ESR dosimeter based on carbonated hydroxyapatite and its dosimetric properties; *PLOS ONE*; 13; 5; 1-13; 2018.
- [16] De Almeida A.A., et al.; Magnetic hyperthermia experiments with magnetic nanoparticles in clarified butter oil and paraffin: a thermodynamic analysis; *J. Phys. Chem. C*; 124; 50, 27709-27721; 2020.
- [17] Leena M., et al.; Accelerated synthesis of biomimetic nanohydroxyapatite using simulated body fluid; *Materials Chemistry and Physics*; 180; 166-172; 2016.
- [18] Lemine O.M., et al.; Synthesis, structural, magnetic and optical properties of nanocrystalline ZnFe_2O_4 ; *Phys.B Condens. Matter*; 406; 10, 1989-1994; 2011.
- [19] Cheng Z.H., et al.; FTIR study of adsorption CO_2 on nonstoichiometric calcium hydroxyapatite; 14; 23, 6681-6686; 1998.
- [20] Grunenwald A., et al.; Revisiting carbonate quantification in apatite (bio)minerals: A validated FTIR methodology; *Journal of Archaeological Science*; 49; 134-141; 2014.
- [21] Ishchenko S., et al.; C-13 Hyperfine interactions of CO_2^- in irradiated tooth enamel as studied by EPR; *Applied Radiation and Isotopes*; 26;6, 815-819; 2002.
- [22] Callens V., et al.; EPR or carbonate derived radicals: applications in dosimetry, dating, and detection of irradiated food; *Appl. Magn. Reason.*; 14; 235-254; 1998.
- [23] Vanhaelewyn G., et al.; X-band and Q-band electron paramagnetic resonance of CO_2 in hydroxyapatite single crystals; *Radiation Research*; 154; 4, 467-472; 2000.