

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO



**DISEÑO DE BIOSENSOR MAGNÉTICO FUNCIONAL TIPO $A_{1-x}B_xFe_2O_4$ PARA LA
DETECCIÓN DE LA PROTEÍNA E7 DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)**

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA

PRESENTA

SERGIO ADÁN BOJÓRQUEZ CHÁVEZ

DIRECTOR

DR. MARIO HUMBERTO FARIAS SÁNCHEZ

CODIRECTOR

DR. FRANKLIN DAVID MUÑOZ MUÑOZ

ENSENADA, B.C., A 27 DE OCTUBRE DE 2025



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
 FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO
 CAMPUS ENSENADA



“DISEÑO DE BIOSENSOR MAGNÉTICO FUNCIONAL TIPO $A_{1-x}B_xFe_2O_4$ PARA LA DETECCIÓN DE LA PROTEÍNA E7 DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)”

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA

PRESENTA

SERGIO ADÁN BOJÓRQUEZ CHÁVEZ

00368565

A quien el Comité de Tesis autoriza el trabajo terminal, después de haber efectuado una revisión minuciosa del mismo y de acuerdo con el Art. 19 del R. G. E. P. E. P, las y los señores profesores emiten los siguientes votos aprobatorios mediante rubrica:

 DR. MARIO HUMBERTO FARIAS SÁNCHEZ
 DIRECTOR

 DR. FRANKLIN DAVID MUÑOZ MUÑOZ
 CO-DIRECTOR

 DR. JAVIER ALONSO LÓPEZ MEDINA
 SINODAL

 DR. SERGIO ANDRÉS AGUILA PUENTES
 SINODAL

 DR. GUILLERMO AMAYA PARRA
 SINODAL

“Por la Realización Plena del Ser”

RESUMEN

El Virus del Papiloma Humano (VPH) representa una de las infecciones de transmisión sexual más prevalentes a nivel mundial y se encuentra estrechamente asociado con el desarrollo de cánceres cervicales, anogenitales y orofaríngeos. La detección temprana de biomarcadores virales, como la oncoproteína E7, es fundamental para el diagnóstico y tratamiento oportuno de la enfermedad. En este trabajo se sintetizaron nanopartículas magnéticas tipo espinela $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$ ($x = 0.25, 0.50, 0.75$) mediante el método de coprecipitación química, seguido de su recubrimiento con dióxido de silicio (SiO_2) y funcionalización con APTES, para generar superficies reactivas capaces de anclar covalentemente anticuerpos monoclonales anti-E7 del VPH.

Las nanopartículas fueron caracterizadas estructural, morfológica y magnéticamente mediante difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de barrido (SEM) y magnetometría de muestra vibrante (VSM). Estos análisis confirmaron su naturaleza superparamagnética, pureza estructural tipo espinela y estabilidad coloidal tras el recubrimiento. La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) permitió confirmar la inmovilización covalente del anticuerpo sobre la superficie funcionalizada, evidenciada por la aparición de la banda correspondiente al enlace N–H, demostrando la efectividad del acoplamiento EDC/NHS y la conservación de la integridad estructural del sistema híbrido.

Estos resultados validan el anclaje biomolecular exitoso y la viabilidad de las nanopartículas funcionalizadas como plataforma base para el desarrollo de biosensores magnéticos orientados al diagnóstico del VPH. Los próximos pasos incluirán la optimización del sistema electroquímico, la evaluación de sensibilidad y especificidad frente a la proteína E7 recombinante y la miniaturización del dispositivo hacia configuraciones portátiles tipo *Lab-on-Chip*, para construir biosensores de bajo costo y alta eficiencia para la detección temprana de enfermedades virales.

PALABRAS CLAVE

Nanopartículas magnéticas, Virus del Papiloma Humano (VPH), Biosensores, Proteína E7, Funcionalización con APTES, Espectroscopía FTIR.

ABSTRACT

Human Papillomavirus (HPV) is one of the most prevalent sexually transmitted infections worldwide and is closely associated with the development of cervical, anogenital, and oropharyngeal cancers. Early detection of viral biomarkers such as the E7 oncoprotein is crucial for timely diagnosis and treatment. In this work, $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$ ($x = 0.25, 0.5, 0.75$) spinel-type magnetic nanoparticles were synthesized by the chemical co-precipitation method, followed by silica (SiO_2) coating and APTES functionalization, to create reactive surfaces capable of covalently immobilizing anti-E7 monoclonal antibodies specific to HPV.

The nanoparticles were structurally, morphologically, and magnetically characterized using X-ray diffraction (XRD), transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM), and vibrating sample magnetometry (VSM). These analyses confirmed their superparamagnetic nature, spinel-type structural purity, and colloidal stability after coating. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) verified the covalent immobilization of the antibody through the appearance of the N–H stretching band, validating the effectiveness of the EDC/NHS coupling mechanism while maintaining the chemical integrity of the hybrid system.

These results validate the successful biomolecular anchoring and the viability of the functionalized nanoparticles as a base platform for the development of magnetic biosensors aimed at HPV diagnosis. Future steps will include the optimization of the electrochemical system, the evaluation of sensitivity and specificity against the recombinant E7 protein, and the miniaturization of the device towards portable *Lab-on-Chip* configurations, to build low-cost and high-efficiency biosensors for the early detection of viral diseases.

KEYWORDS

Magnetic nanoparticles, Human Papillomavirus (HPV), Biosensors, E7 protein, APTES functionalization, FTIR spectroscopy.

DEDICATORIA

A mis padres, Sergio Abel Bojórquez Miker y Georgina Chávez Espinoza por la confianza que han depositado en mí, por su amor incondicional, su esfuerzo incansable para ayudarme a cumplir todas mis metas y por enseñarme que la disciplina y la perseverancia abren caminos que parecían imposibles. Todo lo que soy y lo que he logrado, es gracias al ejemplo que me han dado.

A mis padrinos, porque a lo largo de mi trayectoria académica, siempre me han apoyado en cada proyecto que he realizado, así por más complicado que fuera. Gracias por todo su apoyo.

A mi familia, por su apoyo constante, por creer en mí siempre y ser parte de mi proceso en cada etapa, por su interés mostrado en mi trabajo, y por ser siempre mi mayor motivación para seguir adelante.

A quienes caminaron conmigo en este proceso, ofreciéndome palabras de aliento, compañía, apoyo y paciencia; su presencia hizo de este trayecto algo más ligero y significativo.

Para mi mejor amiga durante la carrera y todo este proceso, Ximena Baldenebro Osornio, por todo su apoyo y acompañarme en cada locura que hacía.

Gracias a todos por estar ahí.

AGRADECIMIENTOS

A los miembros del comité evaluador, por el tiempo dedicado a la lectura minuciosa de este trabajo y por las observaciones y recomendaciones que contribuyeron a fortalecer su contenido.

A la Universidad Autónoma de Baja California, por ofrecerme la formación académica, las aulas, laboratorios e instalaciones necesarias para mi desarrollo profesional durante la licenciatura.

Al Centro de Nanociencias y Nanotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (CNyN-UNAM), por permitirme llevar a cabo parte esencial de este proyecto en sus laboratorios y por el apoyo técnico brindado durante mi estancia.

A mi director de tesis, el Dr. Mario Farías, así como al Dr. Javier López, por su guía constante, su exigencia académica y su disposición para orientarme en cada etapa de este trabajo. Su acompañamiento fue fundamental para la consolidación de esta investigación.

A mi codirector, el Dr. Franklin Muñoz, por su orientación cercana, su apoyo en cada procedimiento experimental, y por resolver de manera clara y paciente todas mis dudas a lo largo del proceso. Su compromiso y acompañamiento fueron determinantes para avanzar con seguridad en cada paso del proyecto.

Al Dr. Carlos Belman, por su invaluable guía en el área de síntesis de materiales y por convertirse en una referencia académica y profesional durante la realización de este trabajo.

A mis amigos Josué, Carlos, Ximena, Eric, Marian y Cernas, por su compañía, apoyo y amistad dentro y fuera del laboratorio, y por hacer más llevaderos y significativos los momentos de trabajo durante este camino académico.

Agradecimiento a los proyectos DGAPA–UNAM **PAPIIT IN110424** Nanoestructuras Magneto-Controlables basadas en ferritas del tipo $A_{1-x}B_xFe_2O_4$ para su aplicación en Nanotecnología Y **PAPIIT IG101124** Estudio a escala atómica de materiales nanoestructurados de complejos híbridos inorgánicos-inorgánicos y orgánicos-inorgánicos con diversas aplicaciones nanotecnológicas. Quienes apoyaron financieramente este trabajo de investigación.

Agradezco al Dr. Camilo Vélez Cuervo de la Universidad de California, Irvine, por el acceso al magnetómetro de muestra vibrante VSM; así como al Dr. Pedro Pizá Ruiz del CIMAV Chihuahua, por su apoyo en el desarrollo de este trabajo.

Agradecemos a Luis Ángel De León Alanís y Samuel Flores García del programa PCeIM de la UNAM por el desarrollo y uso del *Applet de Thamm-Hesse*, empleado para determinar la interacción magnética entre partículas.

CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	9
2.	MARCO TEÓRICO	10
2.1.	NANOPARTÍCULAS	10
2.2.	NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS $A_{1-x}B_xFe_2O_4$	10
2.3.	CLASIFICACIÓN DE LOS MATERIALES MAGNÉTICOS	11
2.3.1.	DIAMAGNETISMO	11
2.3.2.	PARAMAGNETISMO	12
2.3.3.	FERROMAGNETISMO	12
2.3.4.	ANTIFERROMAGNETISMO	13
2.3.5.	FERRIMAGNETISMO	13
2.3.6.	SUPERPARAMAGNETISMO	14
2.4.	CURVAS M VS. H: ENTENDIENDO LAS PROPIEDADES MAGNÉTICAS DE LOS MATERIALES FERRIMAGNÉTICOS Y SUPERPARAMAGNÉTICOS	14
2.4.1.	CURVAS DE HISTÉRESIS	14
2.4.1.1.	CURVAS DE HISTÉRESIS: FERRIMAGNETISMO	15
2.4.1.2.	CURVAS DE HISTÉRESIS: SUPERPARAMAGNETISMO	15
2.5.	INMOVILIZACIÓN DE LA PROTEÍNA EN NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS	16
2.6.	VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)	17
2.7.	CICLO VIRAL	19
2.7.1.	MECANISMOS DE INFECCIÓN Y CARCINOGENÉISIS DEL VPH	20
2.7.1.1.	ONCOPROTEÍNA E7	21
2.7.1.2.	ONCOPROTEÍNA E6	21
2.8.	MÉTODOS DE DETECCIÓN	21
3.	ANTECEDENTES	22
3.1.	SISTEMA MAGNÉTICO FUNCIONAL	22
3.2.	DETECCIÓN DE ANTICUERPOS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	24
3.3.	LA BATALLA CONTRA EL VPH: AVANCES HACIA LA DETECCIÓN TEMPRANA	25
3.4.	SELECCIÓN DE LA PROTEÍNA E7 COMO BIOMARCADOR DE DETECCIÓN	26
4.	HIPÓTESIS	27
5.	OBJETIVO GENERAL	27
6.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
7.	METODOLOGÍA	27
7.1.	MATERIALES Y REACTIVOS	28
7.2.	PRIMERA ETAPA: SÍNTESIS DEL NÚCLEO MAGNÉTICO	28

7.3.	SEGUNDA ETAPA: RECUBRIMIENTO CON SiO_2	29
7.4.	TERCERA ETAPA (PARTE 1): FUNCIONALIZACIÓN DEL NÚCLEO MAGNÉTICO	30
7.5.	TERCERA ETAPA (PARTE 2): ANCLAJE DEL ANTICUERPO EN EL NÚCLEO MAGNÉTICO 31	
7.6.	CARACTERIZACIÓN	31
7.6.1.	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM).....	32
7.6.2.	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) Y ESPECTROSCOPIA DE RAYOS X DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS)	32
7.6.3.	DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX).....	32
7.6.4.	ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	32
7.6.5.	MAGNETÓMETRO DE MUESTRA VIBRANTE (VSM).....	33
8.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	33
8.1.	ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN, MORFOLÓGICO ESTRUCTURAL Y ESTADÍSTICO DE DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑOS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM), MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM) Y DISPERSIÓN DE ENERGÍA DE RAYOS X (EDS) 33	
8.2.	ANÁLISIS CRISTALOGRAFICO POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)	39
8.3.	ANÁLISIS DE COMPORTAMIENTO MAGNÉTICO MEDIANTE EL MAGNETÓMETRO DE MUESTRA VIBRANTE (VSM)	40
8.4.	ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	43
8.4.1.	DETECCIÓN DEL ANTICUERPO SOPORTADO SOBRE LA SUPERFICIE DEL MATERIAL FUNCIONALIZADO.	44
9.	CONCLUSIÓN	45
10.	PERSPECTIVAS Y TRABAJOS A FUTURO	46
11.	ANEXOS	47
11.1.	ELECTRODOS Y BIOSENSORES: ANÁLISIS DE ESTRATEGIAS Y APLICACIONES	47
11.2.	CUARTA ETAPA (PARTE 1): CREACIÓN DE ELECTRODOS DE ORO	48
11.3.	CUARTA ETAPA (PARTE 2): FUNCIONALIZACIÓN DE ELECTRODOS DE TRABAJO	49
11.4.	CUARTA ETAPA (PARTE 3): EVALUACION Y DETECCIÓN DE LA PROTEÍNA	49
12.	REFERENCIAS	50

1. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología ha transformado de manera profunda múltiples disciplinas científicas al ofrecer herramientas capaces de manipular la materia a escala nanométrica y, con ello, modificar sus propiedades fundamentales. El término “nano”, derivado del griego *nános* (enano), hace referencia a estructuras con dimensiones inferiores a los 100 nanómetros, donde los efectos cuánticos y la alta relación superficie/volumen otorgan a los materiales comportamientos físicos, ópticos y químicos distintos de sus equivalentes macroscópicos (Márquez et al., 2021). Dentro de este amplio campo, las nanopartículas magnéticas han cobrado especial relevancia debido a su capacidad para responder a campos magnéticos externos, permitiendo su manipulación, separación y funcionalización controlada en medios biológicos.

Las ferritas tipo espinela (MFe_2O_4 ; $M = Mn, Zn, Fe, Co, Ni$) representan una de las familias más estudiadas dentro de los materiales magnéticos, gracias a su versatilidad estructural y a sus propiedades superparamagnéticas cuando se sintetizan con tamaños inferiores a 50 nm (Cullity & Graham, 2009; Soufi et al., 2021). En particular, las ferritas mixtas, como es $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$, han demostrado propiedades magnéticas ajustables mediante la sustitución catiónica controlada, lo que permite modular su magnetización de saturación, coercitividad y respuesta a campos externos. Estas características, junto con su biocompatibilidad y estabilidad química, las convierte en materiales idóneos para aplicaciones biomédicas como hipertermia magnética, liberación dirigida de fármacos y plataformas de biosensado (Katz, 2020).

La integración de estas nanopartículas en sistemas híbridos funcionales requiere su recubrimiento con materiales inertes, como el dióxido de silicio (SiO_2), el cual provee una barrera protectora contra la oxidación, mejora su dispersión coloidal y ofrece grupos hidroxilo superficiales ($Si-OH$) que facilitan la posterior funcionalización química. Una de las rutas más utilizadas para la modificación superficial es la incorporación de (3-aminopropil)triétoxosilano (APTES), el cual introduce grupos amina ($-NH_2$) reactivos que permiten el anclaje covalente de biomoléculas mediante la activación carbodiimida (EDC/NHS). Este proceso es fundamental para el desarrollo de biosensores, ya que garantiza la estabilidad, orientación y actividad biológica del anticuerpo o proteína inmovilizada (Díaz et al., 2022).

En el presente trabajo, se sintetizaron nanopartículas magnéticas tipo $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$ ($x = 0.25, 0.5, 0.75$) mediante el método de coprecipitación química, seguidas de su recubrimiento con SiO_2 y posterior funcionalización con APTES, con el propósito de obtener una superficie activa y estable para la inmovilización de anticuerpos monoclonales anti-E7 del Virus del Papiloma Humano (VPH). La elección de la oncoproteína E7 como biomarcador se debe a su sobreexpresión sostenida en células infectadas, incluso en fases avanzadas del proceso tumoral, lo que la convierte en una diana confiable para el diagnóstico temprano (Zhang et al., 2025).

La caracterización estructural, morfológica y magnética de las nanopartículas permitió confirmar la formación de una fase espinela pura, con tamaños de cristalita compatibles con el rango superparamagnético, así como una notable estabilidad tras el recubrimiento con sílice. Posteriormente, el análisis por espectroscopía infrarroja (FTIR) confirmó la inmovilización covalente exitosa del anticuerpo mediante la aparición de la banda asociada al enlace N-H, siguiendo un procedimiento optimizado similar al descrito por Díaz et al. (2022).

El desarrollo de esta plataforma nanoestructurada representa un avance hacia la creación de biosensores magnéticos híbridos, capaces de integrar propiedades fisicoquímicas controladas con reconocimiento biológico específico. Aunque la validación electroquímica completa del sistema permanece pendiente, los resultados obtenidos demuestran la viabilidad del diseño funcional y abren la puerta a futuras implementaciones en diagnóstico rápido y de bajo costo, orientado a la detección temprana del VPH y otras enfermedades de origen viral.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. NANOPARTÍCULAS

El origen del prefijo "Nano" se remonta al griego (νάνος), que originalmente significaba "enano". En el español, este prefijo se utiliza para formar palabras y adjetivos que denotan algo "muy pequeño". En el ámbito de las nanociencias, representa la mil millonésima parte de algo. Por lo tanto, el término "Nanopartícula" describe aquellas partículas que son más pequeñas que 100 nanómetros (Márquez et al., 2021). Derivado de ello, las nanopartículas se clasifican según su tipo, estructura, forma, propiedades y dimensiones. Ejemplos de ellos son las micelas, liposomas, dendrímeros, nanopartículas de oro, puntos cuánticos, nanopartículas poliméricas, entre otras [Figura 1].

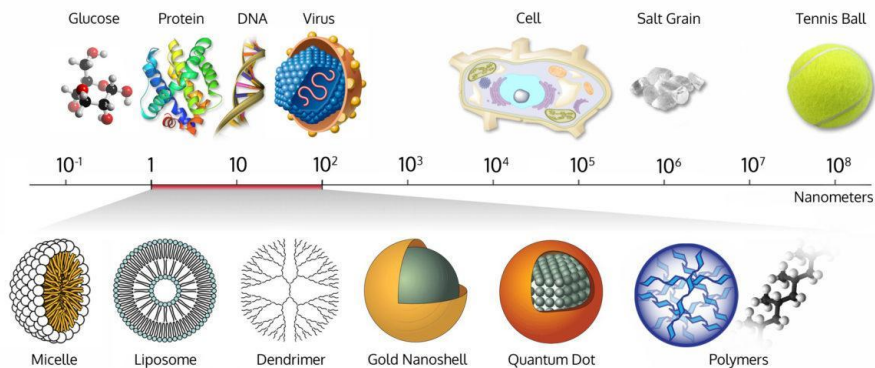


Figura 1. Comparación de tamaños en escala nanométrica. (Wich Research Lab, n.d.)

En esta escala, las propiedades de los materiales pueden diferir significativamente de sus contrapartes a macroescala. Esto se debe al incremento en la relación entre la superficie y el volumen, lo que conlleva a que los átomos en la superficie del material tengan un papel predominante en su comportamiento. Las nanopartículas, debido a su diminuto tamaño, exhiben una relación extremadamente alta entre superficie y volumen en comparación con los materiales a granel, como polvos o láminas. Esta característica singular permite que las nanopartículas manifiesten propiedades ópticas, físicas y químicas sorprendentes, gracias a la capacidad de confinar electrones y producir efectos cuánticos (Joudeh & Linke, 2022; King, et al., 2024).

2.2. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS $A_{1-x}B_xFe_2O_4$

La obtención de nanopartículas magnéticas con un tamaño inferior a 20 nm es de gran importancia debido a su amplio espectro de aplicaciones en la biomedicina. En este contexto, la síntesis química de nanopartículas basadas en ferritas tipo espinela (MFe_2O_4 ; M = Mg, Zn, Fe, Co, Ni, Mn) presentan propiedades magnéticas únicas. Estas propiedades surgen de la interacción entre los átomos del metal de transición en la estructura cristalina de la ferrita, lo que les permite actuar como pequeños imanes.

Sus principales vías de investigación se centran en el desarrollo de tratamientos de cáncer, diagnóstico temprano de enfermedades, terapia génica, purificación de cuerpos de agua, o almacenamiento de energía, entre otros [Figura 2]. En el área de la biomedicina se ha logrado el desarrollo de biosensores magnético-funcionales, buscando aprovechar forma desnuda o recubierta con algún material biocompatible, así como su aprovechamiento como vehículo para el acarreamiento de fármacos en el caso de la medicina dirigida (Shameran Jamal Salih & Mahmood, 2023).

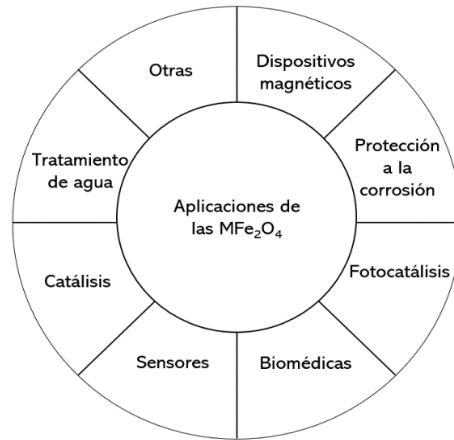


Figura 2. Aplicaciones potenciales de las ferritas magnéticas.

Los materiales magnéticos a escala nanométrica son de gran interés debido a la creciente demanda de dispositivos técnicos miniaturizados. Comprender las propiedades magnéticas a escala nanométrica es crucial para mejorar el rendimiento de los materiales magnéticos permanentes. Se sabe que factores como la forma, el tamaño, los efectos de la superficie, la anisotropía magnética y otros parámetros tienen un impacto significativo en las propiedades magnéticas de las nanopartículas (Lamouri, et al., 2020).

Comprender las propiedades magnéticas a escala nanométrica es la clave para desbloquear el potencial de estos materiales. A diferencia de sus homólogos a gran escala, las nanopartículas magnéticas exhiben un comportamiento magnético singular, influenciado por factores como:

- **Forma:** Donde la geometría de las nanopartículas, ya sean esféricas, cúbicas, cilíndricas o de otro tipo, determina en gran medida su magnetismo.
- **Tamaño:** Aquí, el tamaño de las nanopartículas juega un papel crucial en la configuración de sus propiedades magnéticas. A medida que el tamaño se reduce, la energía termal aumenta, lo que puede afectar la magnetización de la nanopartícula.
- **Efectos de superficie:** Donde la gran superficie relativa de las nanopartículas en comparación con su volumen aumenta la influencia de los átomos en la superficie, lo que puede conducir a efectos magnéticos únicos.
- **Anisotropía magnética:** Este fenómeno describe la facilidad con la que la magnetización de una nanopartícula puede cambiar de dirección en respuesta a un campo magnético externo.

2.3. CLASIFICACIÓN DE LOS MATERIALES MAGNÉTICOS

La respuesta magnética de los materiales magnéticos se clasifica de acuerdo con el comportamiento de los espines de los electrones en los orbitales atómicos del mismo, cada uno posee sus propias características y comportamientos distintivos (Martinez, 2006):

2.3.1. DIAMAGNETISMO

Los materiales diamagnéticos tienen electrones completamente apareados, lo que significa que no tienen momentos magnéticos netos. Cuando se exponen a un campo magnético, su magnetización se opone a la dirección del campo aplicado y vuelve a su estado inicial una vez que se retira el campo. Ejemplos de materiales diamagnéticos incluyen el cobre, la plata, el berilio, la mayoría de las moléculas orgánicas y muchos polímeros. Las aplicaciones de estos materiales se limitan principalmente a los superconductores, que son una clase especial de materiales diamagnéticos "perfectos". La susceptibilidad magnética de los

superconductores se debe a corrientes macroscópicas que circulan en dirección opuesta al campo aplicado, en lugar del movimiento de los electrones en los orbitales (Ölçücü et al., 2025)

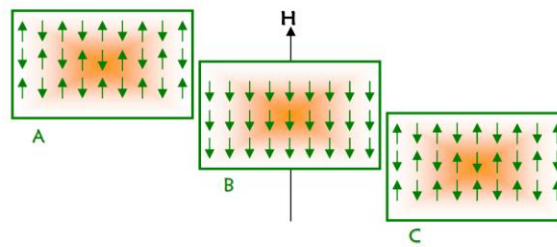


Figura 3. Efecto de la presencia de un campo magnético sobre los espines de los electrones de un material diamagnético A) antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético (Martinez, 2006).

2.3.2. PARAMAGNETISMO

Los materiales paramagnéticos contienen átomos con momentos magnéticos netos debido a la presencia de electrones desapareados. Antes de aplicar un campo magnético externo, estos momentos se encuentran desordenados y se anulan entre sí, resultando en una magnetización nula del material. Sin embargo, al aplicar un campo magnético externo, los espines de los electrones tienden a alinearse con la dirección del campo, aunque el movimiento térmico de los átomos impide una alineación perfecta. Una vez retirado el campo magnético, los espines de los electrones regresan a su estado inicial. Algunos ejemplos de materiales paramagnéticos incluyen el oxígeno líquido y gaseoso, el sodio atómico en estado gaseoso, el hidrógeno atómico, metales como el platino y el aluminio, y algunas sales como cloruros, sulfatos y carbonatos de manganeso, cromo, hierro y cobre (Ölçücü et al., 2025).

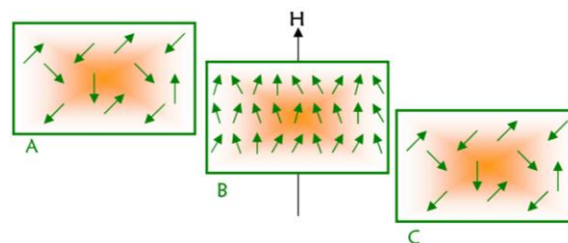


Figura 4. Efecto de la presencia de un campo magnético sobre los espines de los electrones de un material paramagnético A) antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético (Martinez, 2006).

2.3.3. FERROMAGNETISMO

El ferromagnetismo es un fenómeno magnético notable y ampliamente conocido. Según la teoría de Weiss, se forman pequeñas regiones llamadas dominios, magnetizadas espontáneamente, pero cuyas direcciones de magnetización se cancelan mutuamente, resultando en una magnetización neta cero para el material. Cuando se aplica un campo magnético, los dominios se alinean paralelamente, generando magnetización. Debido a la tendencia de los espines electrónicos en los átomos de materiales ferromagnéticos a permanecer alineados dentro de los dominios, los dominios conservan su alineación incluso después de retirar el campo magnético, manteniendo la magnetización del material. Este fenómeno es fundamental en la fabricación de imanes permanentes, conocidos como "imanes duros", y se encuentra en elementos como hierro, cobalto, níquel y algunas tierras raras. Los ferromagnetos tienen diversas aplicaciones tecnológicas, incluyendo la producción de imanes permanentes, fabricación de

transformadores, dispositivos electromagnéticos y materiales para grabado permanente (Ölçücü et al., 2025).

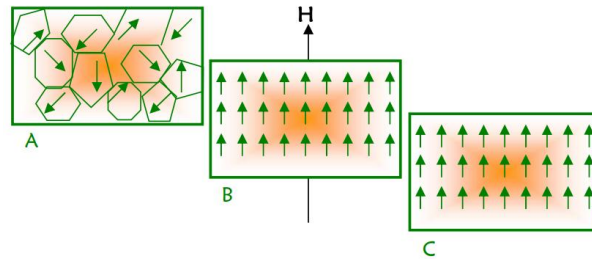


Figura 5. Efecto de la presencia de un campo magnético sobre los espines de los electrones de un material ferromagnético A) antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético (Martinez, 2006).

2.3.4. ANTIFERROMAGNETISMO

En estos materiales, los espines tienden a alinearse antiparalelamente, lo que resulta en la cancelación de los momentos magnéticos netos. Este fenómeno se debe al mecanismo de interacción conocido como "superintercambio", donde la transferencia de electrones de los iones de oxígeno a los átomos metálicos vecinos permite que los cationes magnéticos interactúen entre sí a través de los aniones. Ejemplos de materiales antiferromagnéticos incluyen el cromo, el manganeso y varios óxidos de metales de transición como MnO, FeO, CoO y NiO. La principal aplicación de estos materiales es en la fabricación de magnetoresistencias, las cuales consisten en capas de materiales antiferromagnéticos y ferromagnéticos que presentan una alta resistividad magnética cuando se combinan (Ölçücü et al., 2025).

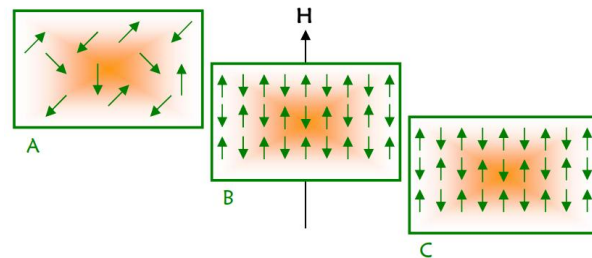


Figura 6. Efecto de la presencia de un campo magnético sobre los espines de los electrones de un material antiferromagnético A) antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético (Martinez, 2006).

2.3.5. FERRIMAGNETISMO

El ferrimagnetismo es una variante especial del antiferromagnetismo en la que la alineación antiparalela de los espines no es de la misma magnitud, lo que resulta en que sus momentos magnéticos netos no se cancelen. A nivel macroscópico, estos materiales se comportan de manera similar a los ferromagnetos, tanto es así que durante mucho tiempo fueron utilizados de manera intercambiable. Las ferritas son ejemplos comunes de ferrimagnetos, especialmente las ferritas con la fórmula general $MO \cdot Fe_2O_3$, donde M es un metal de transición divalente como manganeso, níquel, cobalto, zinc, entre otros. Estas ferritas son de gran interés tecnológico debido a su capacidad para magnetizarse fácilmente (alta permeabilidad) y su baja conductividad eléctrica, lo que las hace útiles en dispositivos de alta frecuencia y otras aplicaciones (Ölçücü et al., 2025)

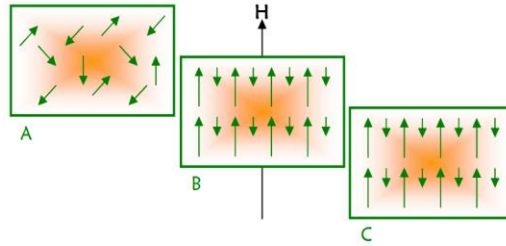


Figura 7. Efecto de la presencia de un campo magnético sobre los espines de los electrones de un material ferrimagnético A) antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético (Martinez, 2006).

2.3.6. SUPERPARAMAGNETISMO

El comportamiento superparamagnético se observa en materiales que cumplen dos condiciones:

- están formados por partículas ferrimagnéticas con tamaños de partícula muy pequeños, por debajo de un valor crítico específico para cada material, $\sim 5\text{-}50$ nm (Soufi et al., 2021)
- contienen partículas ferri o ferromagnéticas dispersas en un recubrimiento dieléctrico que impide la interacción entre partículas adyacentes.

En este fenómeno, la respuesta magnética de cada partícula es independiente de las demás. Cuando se aplica un campo magnético, los espines de los electrones en estos materiales se comportan de manera similar a los materiales ferri o ferromagnéticos, pero al retirar el campo, la magnetización desaparece, lo que significa que estos materiales no retienen memoria magnética (Ölçücü et al., 2025)

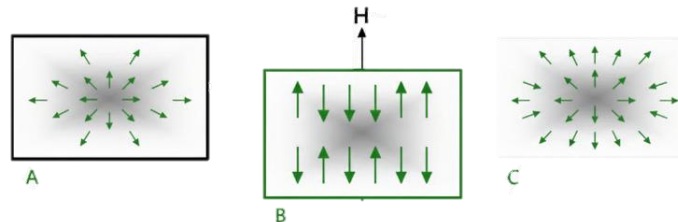


Figura 8. Efecto de la presencia de un campo magnético sobre los espines de los electrones de un material superparamagnético A) antes, B) durante y C) después de aplicar un campo magnético

2.4. CURVAS M VS. H: ENTENDIENDO LAS PROPIEDADES MAGNÉTICAS DE LOS MATERIALES FERRIMAGNÉTICOS Y SUPERPARAMAGNÉTICOS

En el mundo de los materiales magnéticos, las curvas M vs. H (Magnetización vs. Campo Magnético Aplicado) representan una herramienta invaluable para comprender y clasificar sus comportamientos magnéticos. Estas curvas proporcionan una representación gráfica de la magnetización (M) del material en función del campo magnético externo aplicado (H), revelando información crucial sobre la susceptibilidad magnética, la remanencia y la coercividad de un material (Ölçücü et al., 2025)

2.4.1. CURVAS DE HISTÉRESIS

La histéresis es un fenómeno de retraso o desfase entre dos cantidades relacionadas, como deformación y tensión, o campo e inducción magnéticos. El término proviene del griego y significa "quedarse atrás". La histéresis causa calentamiento en el material debido a la amortiguación de energía en propiedades magnéticas y mecánicas, siendo la histéresis magnética y la mecánica las formas más reconocidas de este fenómeno (Lamouri, et al., 2020).

2.4.1.1. CURVAS DE HISTÉRESIS: FERRIMAGNETISMO

La fuerza ejercida por un campo magnético sobre un material ferrimagnético puede describirse a nivel microscópico, considerando el giro de los espines electrónicos, o a nivel macroscópico, en términos de la magnetización del material. La integración de ambos conceptos se muestra en la figura 9. Inicialmente, el material está completamente desmagnetizado, con los espines electrónicos desordenados aleatoriamente (A). Al aplicar un campo magnético en una dirección X, los espines comienzan a girar en la misma dirección (B), alcanzando la saturación cuando todos están alineados con el campo (C). Al reducir el campo, los espines se desordenan nuevamente, dejando una magnetización remanente (D). Si se aplica un campo magnético inverso lo suficientemente intenso (coercitividad), el material se desmagnetiza (E). Aumentando el campo inverso, se alcanza la saturación en dirección opuesta al campo inicial (F). Luego, el proceso se invierte para completar un ciclo de histéresis (Ölçücü et al., 2025).

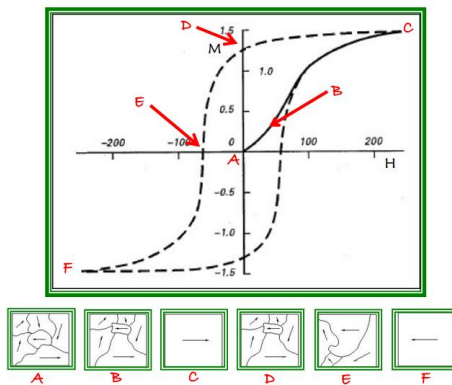


Figura 9. Análisis a nivel microscópico y macroscópico del comportamiento de un material ferrimagnético bajo la influencia de un campo magnético (Martinez, 2006).

2.4.1.2. CURVAS DE HISTÉRESIS: SUPERPARAMAGNETISMO

Los materiales con superparamagnetismo muestran una curva de magnetización sin histéresis, como se ilustra en la figura 10. Inicialmente, los espines electrónicos están desordenados, pero se orientan en la dirección del campo magnético aplicado (H). Cuando se retira el campo, la magnetización se pierde debido a la orientación estocástica de los momentos magnéticos de los electrones en la muestra. Aunque este comportamiento es similar al de los materiales paramagnéticos, se distingue por la forma de la curva de magnetización. En los materiales superparamagnéticos, la saturación magnética se alcanza a intensidades de campo moderadas, mientras que en los materiales paramagnéticos se requieren intensidades de campo muy alta (Ölçücü et al., 2025).

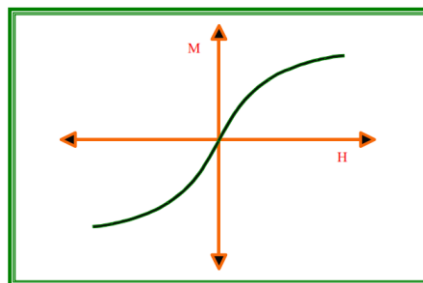


Figura 10. Curva de magnetización típica de un material superparamagnético (Martinez, 2006).

2.5. INMOVILIZACIÓN DE LA PROTEÍNA EN NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Como ya se estableció, las nanopartículas magnéticas son partículas diminutas con dimensiones entre 1 y 100 nanómetros; estas emergen como protagonistas con propiedades excepcionales que van más allá del magnetismo. Su facilidad para hacerlas biocompatibles, estabilidad fisicoquímica y bajo costo de producción las convierten en candidatas ideales para diversas aplicaciones, especialmente en el ámbito de la nanobiomedicina (Fu et al., 2024).

Las nanopartículas magnéticas, gracias a su combinación de propiedades magnéticas y físicas excepcionales, son candidatas ideales para el desarrollo de nanobiosensores. Estos dispositivos miniaturizados permiten la detección y cuantificación de biomoléculas, células y otros analitos de interés biológico con alta precisión y sensibilidad. Una de las principales formas en las que son aprovechadas son por medio de la funcionalización de la superficie de las nanopartículas magnéticas, un paso crucial para su aplicación en nanobiosensores. Este proceso implica la modificación de la superficie de las nanopartículas para unirles moléculas o biomoléculas específicas (Fu et al., 2024). Existen dos estrategias principales de funcionalización:

- **Modificación de la superficie de materiales orgánicos:** Esta estrategia utiliza moléculas orgánicas, como polímeros o ligandos, para modificar la superficie de las nanopartículas.
- **Modificación de la superficie de materiales inorgánicos:** Esta estrategia utiliza materiales inorgánicos, como óxidos metálicos o silicatos, para modificar la superficie de las nanopartículas.

En la mayoría de las aplicaciones prácticas, se ha demostrado que la capa protectora utilizada para funcionalizar la superficie de las nanopartículas magnéticas no solo permite la unión de moléculas o biomoléculas específicas, sino que también mejora su estabilidad y dispersabilidad en soluciones acuosas. Esta mejora es crucial para el buen funcionamiento de los nanobiosensores y otras aplicaciones biomédicas (Liu, et al., 2020).

En este sentido, la inmovilización de enzimas juega un papel crucial en el desarrollo de diversos procesos industriales y aplicaciones biomédicas. Este proceso consiste en fijar una enzima, una biomolécula con actividad catalítica, a un soporte sólido, lo que permite reutilizarla y mejorar su estabilidad. Existen dos enfoques principales para la inmovilización de enzimas: métodos físicos y métodos químicos [Figura 11] (Priyadarshi & Singhal, 2025).

- Los **métodos físicos** para la inmovilización de enzimas se caracterizan por interacciones débiles entre la enzima y el soporte, lo que permite mantener la actividad catalítica y la estructura tridimensional de la enzima.
- Los **métodos químicos** para la inmovilización de enzimas forman enlaces covalentes entre la enzima y el soporte, lo que genera una unión más fuerte y estable.

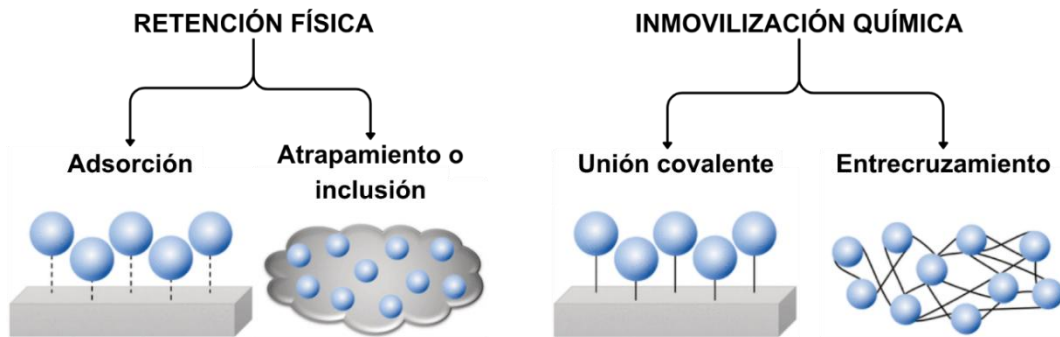


Figura 11. Ilustración de métodos físicos y químicos para la inmovilización de enzimas (Priyadarshi & Singhal, 2025)

La inmovilización covalente de biocatalizadores emerge como una técnica fundamental para el desarrollo de procesos industriales más eficientes y aplicaciones biomédicas innovadoras. Este proceso consiste en fijar una enzima, una biomolécula con actividad catalítica, a un soporte sólido mediante enlaces covalentes, creando una unión estable y reutilizable. Los grupos funcionales enzimáticos, como el grupo amino, el grupo carboxílico, el grupo fenólico, el grupo tiol, el grupo imidazol, el grupo indol y el grupo hidroxilo, juegan un papel crucial en la inmovilización covalente. Estos grupos actúan como puntos de anclaje, permitiendo la unión de la enzima al soporte sólido a través de enlaces covalentes (Vijayalakshmi et al., 2019).

La inmovilización enzimática no se limita a soportes convencionales; las nanopartículas han surgido como plataformas prometedoras para esta técnica. Las propiedades únicas de las nanopartículas, como su tamaño reducido, alta superficie y funcionalidad ajustable, las convierten en candidatos ideales para la inmovilización enzimática. Entre las ventajas de utilizar nanopartículas como soporte se encuentran: una mayor área superficial, versatilidad en la funcionalización, así como, en sus propiedades ópticas y magnéticas. Además, abre un abanico de posibilidades en el campo de los biosensores; los cuales son dispositivos que combinan la especificidad de reconocimiento de biomoléculas de las enzimas con la sensibilidad de detección de las nanopartículas. Estas herramientas miniaturizadas y altamente sensibles tienen el potencial de revolucionar diversos sectores.

2.6. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)

El virus del papiloma humano (VPH) pertenecen a cinco de 18 géneros de la familia *Papillomaviridae*: *alfa*, *beta*, *gamma*, *mu* y *nu* (Zhang et al., 2025); caracterizados por la simplicidad de su estructura pues carecen de membrana y su diámetro oscila los 45 – 55 nm. La forma de su cápside proteica es icosaédrica, compuesta por 72 capsómeros. Se dicen que son virus de DNA derivado que en el interior de la cápside se puede encontrar material genético en forma de DNA o RNA viral (Figura 12). Dicho material genético se puede encontrar en forma de cadena con aproximadamente 8000 pares de bases (Toro-Montoya & Tapia-Vela, 2021).

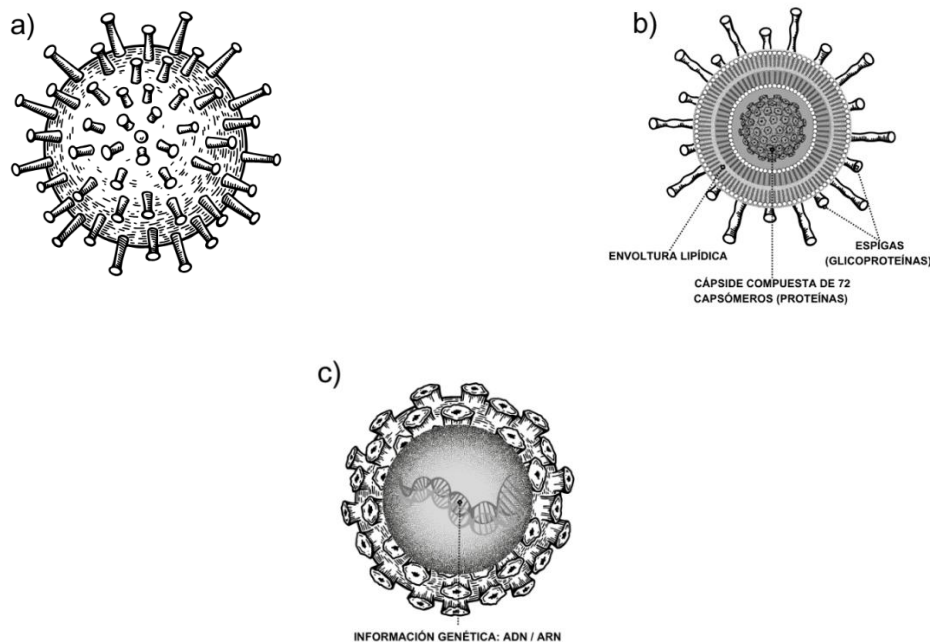


Figura 12: a) Representación de la estructura superficial del VPH; b) Corte transversal de la estructura del VPH [componentes internos]; c) Ubicación de la información genética dentro de la cápside.

Este tipo de virus son altamente específicos que infectan únicamente células epiteliales de diferentes tejidos en diversos vertebrados, incluyendo al ser humano. Esta especificidad se debe a la interacción precisa de proteínas virales con receptores específicos presentes en las células epiteliales (Guzmán-López, et al., 2010). En el 90% de los casos, el sistema inmunitario elimina la infección por sí solo. Según el reporte más actual de la OMS (2024), para marzo se ha registrado que la mayor prevalencia de infecciones por VPH en mujeres se encuentra en África Subsahariana (24%), seguida de América Latina y el Caribe (16%), Europa Oriental (14%) y Asia Sudoriental (14%).

Solo en 2019, el VPH causó aproximadamente 620 000 nuevos casos de cáncer en mujeres y 70 000 nuevos casos en hombres (de Martel, et al., 2020). Convirtiéndola en una de las principales neoplasias¹ malignas que afecta a las mujeres en el mundo y en nuestro país (México); para el 2020, el cáncer cervicouterino (CACU) se convirtió en el segundo más diagnosticado y la segunda causa de muerte en mujeres, con un estimado de 9 mil 439 nuevos casos y 4 mil 335 muertes (Medrano, 2022). El CACU fue la cuarta causa de cáncer y muerte en mujeres en 2022, con alrededor de 660 000 nuevos casos y 350 000 muertes a nivel mundial (OMS, 2024).

Con lo anterior, se observa una tendencia en crecimiento de las tasas de incidencia de VPH tanto a nivel nacional como mundial. Esto principalmente en hombres y mujeres con una vida sexualmente activa, pues esta es la enfermedad vírica del aparato reproductor más frecuente (10-60% de la población general), por lo que se esperaría que esta parte de la población la padeciera en algún momento de su vida o en repetidas ocasiones (Hablemos de salud, 2024).

Durante el embarazo y el parto, las mujeres pueden transmitir infecciones, a sus hijos, en un proceso conocido como transmisión vertical. Este fenómeno no solo puede ocurrir durante la gestación y el proceso de dar a luz, sino también después del nacimiento del bebé (Ardekani et al., 2022). En ese mismo sentido, el VPH no solo es una ETS prevalente, sino que también representa una considerable carga de enfermedad y mortalidad entre la población joven. Junto con el VIH, se posiciona como una de las ETS con mayor costo en términos de gastos médicos directos (Chesson et al., 2021). La mayoría de las infecciones por VPH son de bajo riesgo y suelen desaparecer por sí solas, causando pocas o ninguna secuela. Las verrugas anogenitales [VPH-6 y VPH-11] son un ejemplo de una complicación de VPH de bajo riesgo (PAHO, 2015). Algunos subtipos del VPH son de alto riesgo y pueden persistir en el organismo, lo que aumenta el riesgo de desarrollar displasia de bajo grado, cambios celulares precancerosos y, en última instancia, cáncer cervicouterino de alto grado (American Cancer Society, 2021).

En ese sentido, según el genotipo de VPH presente en cada caso, se puede clasificar su respuesta o potencial de malignidad en alto o bajo riesgo. De acuerdo con Sanjosé, et al. (2018) existen doce tipos (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59), también conocidos como tipos de alto riesgo, que se han clasificado como cancerígenos para los seres humanos según el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer [Tabla 1].

Tabla 1. Clasificación de papilomavirus según su riesgo oncogénico o enfermedad asociada. Adaptada de (Toro-Montoya & Tapia-Vela, 2021)

Papilomavirus Humano	Genotipo	Enfermedad asociada
Alto riesgo oncogénico	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	Cáncer cervical, anal, vaginal, vulvar, orofaríngeo y lesiones precursoras asociadas
Bajo riesgo	6, 11	Verrugas genitales, papilomatosis respiratoria recurrente

¹ Cualquier crecimiento descontrolado de células o tejidos anormales en el organismo. (Instituto Nacional del Cáncer, 2024)

Probablemente carcinogénico*	68	Cáncer cervical
Posiblemente carcinogénicos*	5,8	Carcinoma de células escamosas de la piel en pacientes afectados por epidermodisplasia verruciforme
	26, 30, 34, 53, 66, 67, 70, 73, 82, 85, 97	Incierto

* Según la evaluación de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC)

2.7. CICLO VIRAL

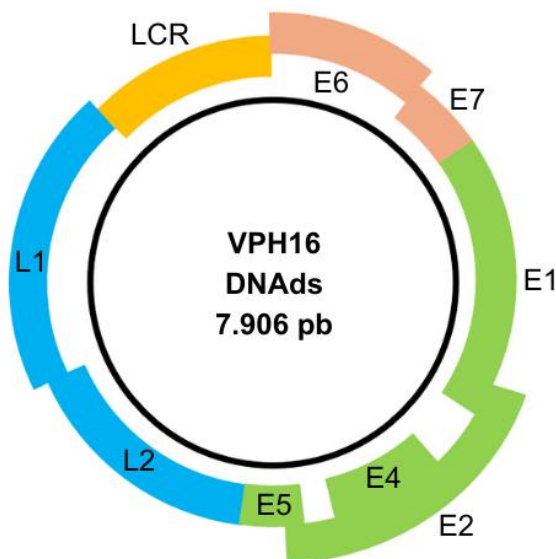
El genoma del Virus del Papiloma Humano (VPH) funciona como una compleja orquesta molecular, dividida en dos secciones principales: los genes tempranos y los genes tardíos. Cada sección desempeña una función crucial en el ciclo de vida viral y la interacción con la célula huésped [Figura 13].

Según Toro-Montoya & Tapia-Vela (2021) los genes tempranos:

- **E1, E2 y E4:** Estos genes controlan el ritmo de la infección viral. Son responsables de la replicación del ADN viral, la regulación de la expresión génica y la evasión del sistema inmunológico de la célula huésped.

Por otro lado, los genes tardíos:

- **E5, E6 y E7:** Estas son las protagonistas. Se trata de oncoproteínas que alteran el funcionamiento normal de la célula huésped, promoviendo su crecimiento descontrolado y la evasión de la apoptosis (muerte celular programada). Esta transformación celular es un paso clave en el desarrollo de cánceres asociados al VPH.
 - Los genes tempranos E6 y E7 codifican para las oncoproteínas de 160 y 100 aminoácidos, respectivamente. Estas proteínas son las responsables clave de la malignización celular, ya que desregulan el ciclo celular, provocan la inmortalización y el crecimiento desmedido del queratinocito (Contreras & Venegas, 2015).
- **L1 y L2:** Estas proteínas estructurales forman la cápside, la cubierta externa del virus. Son esenciales para el ensamblaje del virus y su reconocimiento por las células huésped.



LCR: Origen de la replicación, sitios de unión a factores de transcripción y control de la expresión génica

L1: Proteína mayor de la cápside

L2: Proteína menor de la cápside

E1: Replicación y transcripción del ADN viral

E2: Replicación del ADN viral, apoptosis e inhibidor de la transcripción de E6/E7

E4: Replicación del ADN viral

E5: Proliferación celular, alteración de las rutas de señalización, reconocimiento inmune y apoptosis

E6: Degradación de p53, alteración de la regulación del ciclo celular, resistencia a la apoptosis, inestabilidad cromosómica e inmortalización celular

E7: Degradación de pRb, reentrada a la fase S del ciclo celular, sobreexpresión de p16, inestabilidad cromosómica

Figura 13. Estructura del genoma viral del VPH16 (Toro-Montoya & Tapia-Vela, 2021)

Reconociendo que los VPH no se comportan de manera homogénea y considerando su clasificación según el potencial, los tipos 16 y 18, son considerados los más virulentos y responsables de aproximadamente el 70% de los casos de cáncer cervical invasor, la forma más grave de esta enfermedad (Sanjosé, et al., 2018).

2.7.1. MECANISMOS DE INFECCIÓN Y CARCINOGENÉISIS DEL VPH

El proceso de infección del Virus del Papiloma Humano (VPH) inicia en el estrato basal del epitelio, donde el virus debe llegar para establecer una infección productiva. Las proteínas de la cápside viral (L1) reconocen y se unen a receptores específicos en la superficie de las células epiteliales. Sin embargo, el acceso del virus a este estrato requiere una disrupción o microtrauma en el tejido, ya que un epitelio intacto actúa como barrera efectiva. Por ello, regiones como la cavidad oral y la orofaringe son particularmente vulnerables, debido a su exposición a microlesiones derivadas de actividades fisiológicas cotidianas o de prácticas sexuales oro-genitales, lo que facilita la entrada y repetida exposición al virus (Zhang et al., 2025).

Una vez que el VPH entra en contacto con la célula huésped, su ADN viral es transportado al núcleo, donde puede permanecer en forma episomal (latente) o integrarse al genoma del hospedero, iniciando la transcripción activa. Dado que el virus no codifica su propia maquinaria de replicación, depende completamente de los mecanismos mitóticos y enzimáticos de la célula huésped para replicar su genoma (Skof et al., 2023). Esta dependencia hace que el VPH haya evolucionado proteínas especializadas para manipular los procesos regulatorios del ciclo celular humano, entre las cuales destacan las oncoproteínas E6 y E7, responsables de la transformación maligna.

En el proceso de carcinogénesis inducida por el VPH, las oncoproteínas E6 y E7 son las principales responsables de la pérdida del control celular. Tras la integración del ADN viral al genoma del hospedero, se produce la pérdida del gen E2, encargado de regular la transcripción de los genes virales tempranos. Esta pérdida conlleva la sobreexpresión de E6 y E7, lo que desencadena la interrupción de los mecanismos de regulación del ciclo celular y la inhibición de la apoptosis mediada por proteínas supresoras de tumores [Figura 14] (Sapp et al., 2005).

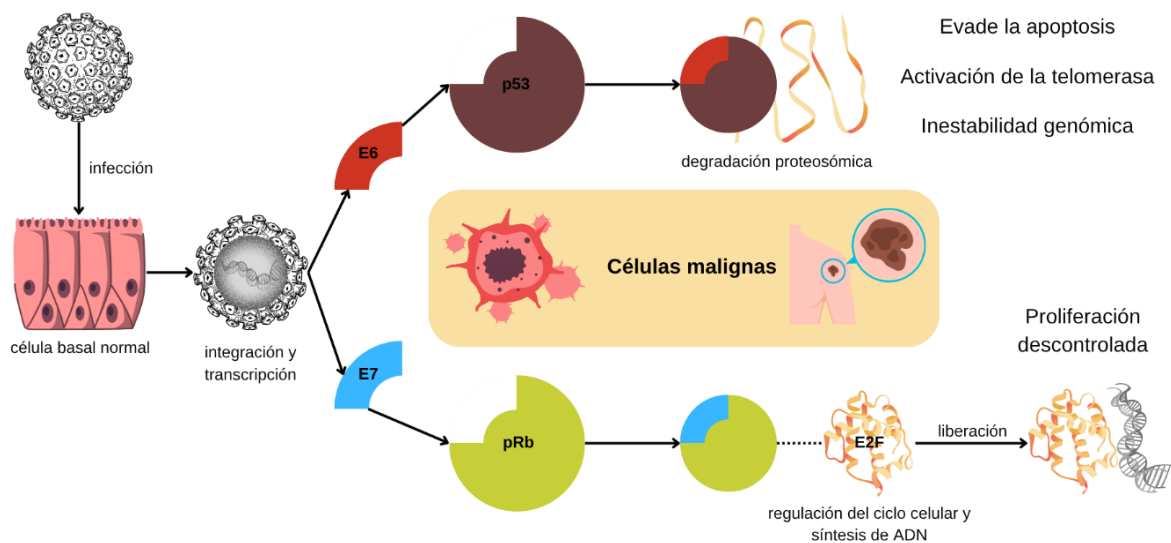


Figura 14. Mecanismo de acción carcinogénica del VPH de alto riesgo

2.7.1.1. ONCOPROTEÍNA E7

La proteína E7, con un peso molecular aproximado de 13 kDa, se localiza principalmente en el núcleo celular y actúa interfiriendo en la transición G1-S del ciclo celular. Esta proteína se une a la proteína del retinoblastoma (pRb), inactivándola y provocando la liberación del factor de transcripción E2F, el cual induce la expresión de genes asociados con la síntesis de ADN y la proliferación celular (Skof et al., 2023; Zhang et al., 2025; Galati et al., 2022).

Además, E7 induce una sobreexpresión anómala de p16^{INK4a}, un marcador característico de infección por VPH de alto riesgo. Normalmente, p16^{INK4a} mantiene a pRb en su estado hipofosforilado, deteniendo el ciclo celular. Sin embargo, la acción de E7 impide este control, favoreciendo la proliferación desregulada de las células infectadas (Skof et al., 2023).

2.7.1.2. ONCOPROTEÍNA E6

Por su parte, la proteína E6, de aproximadamente 18 kDa, promueve la transformación celular al formar un complejo con la proteína supresora de tumores p53 mediante una ubiquitina-ligasa, lo que conduce a su degradación proteasomal. De esta manera, E6 evita la detención del ciclo celular y la apoptosis que normalmente induciría p53 en respuesta a daños genómicos (Galati et al., 2022).

E6 también inhibe la actividad de las acetiltransferasas de histonas, interfiriendo en la estabilización de p53, y se asocia con diversas proteínas celulares involucradas en la transcripción, reparación de ADN, polaridad y motilidad celular, así como en la adhesión y estructura del citoesqueleto (IARC). Además, E6 puede activar indirectamente la telomerasa (hTERT), promoviendo la inmortalización celular (Galati et al., 2022).

2.8. MÉTODOS DE DETECCIÓN

Según la Organización Panamericana de la Salud, PAHO (2015) la precisión en la detección del virus del papiloma humano (VPH) varía según el método utilizado, destacando la sensibilidad y especificidad de cada uno. Entre los diversos métodos disponibles se encuentran la colposcopia, estudios histológicos, microscopía electrónica de lesiones verrugosas, hibridación del ADN y la inspección visual de tejidos [Tabla 2].

Tabla 2. Ensayos vigentes para detección de VPH (PAHO, 2015)

METODO DE DETECCIÓN	PRECISIÓN	COSTO APROXIMADO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Citología (Papanicolaou)	Media	Medio (~1800 MXN)	Amplia disponibilidad	Puede no detectar infecciones tempranas
Prueba de ADN del VPH (PCR)	Alta	Alto (~2500 MXN)	Alta sensibilidad y detección temprana	Costoso y requiere laboratorio
Colposcopia	Alta	Medio (~1000 MXN)	Permite evaluación visual	Invasivo y requiere equipo especializado
Biopsia	Muy alta	Alto Medio (~3500 MXN)	Diagnóstico definitivo	Procedimiento invasivo

La detección visual de lesiones verrugosas en genitales externos u otras áreas cutáneas puede ser evidente, pero carece de fiabilidad y especificidad. Por otro lado, la colposcopia², que emplea ácido acético en el cuello uterino, revela lesiones no visibles a simple vista al generar un patrón blanco brillante con límites irregulares. Sin embargo, puede resultar difícil identificar el patrón a menos que existan cambios condilomatosos³.

La microscopía electrónica, aunque capaz de mostrar partículas virales en raspados de verrugas exofíticas, rara vez se utiliza debido a la escasez de partículas virales completas. En contraste, los análisis de ADN representan una opción más satisfactoria, aunque no son adecuados para pruebas clínicas de rutina debido a sus limitaciones.

Dada la detección frecuente del virus en etapas tardías del cáncer, es imperativo desarrollar métodos nuevos altamente eficientes y de bajo costo que reemplacen las opciones invasivas, permitiendo así un tratamiento adecuado y oportuno para los pacientes.

3. ANTECEDENTES

3.1. SISTEMA MAGNÉTICO FUNCIONAL

Las ferritas son compuestos iónicos del tipo MFe_2O_4 , donde M es un ion metálico divalente. Son materiales magnéticos de gran importancia debido a su alta resistividad eléctrica, bajas corrientes parásitas y pérdidas dieléctricas. Estas características las hacen ideales para aplicaciones en diversas áreas, como dispositivos de microondas, chips de memoria en computadoras, medios de grabación magnética y ferrofluidos (Thakur et al., 2020).

Las ferritas, como compuestos iónicos, han sido objeto de estudio e interés durante siglos debido a sus propiedades magnéticas únicas. Su historia se remonta a la antigüedad, con la magnetita (Fe_3O_4) como el primer material magnético conocido. Los antiguos chinos la utilizaban como brújulas primitivas para el feng shui desde el año 600 a. C. Con el tiempo, la comprensión y el uso de los materiales magnéticos evolucionaron. Las ferritas, en particular, se convirtieron en materiales cruciales en diversas aplicaciones debido a sus propiedades específicas. Ejemplo de ello fue su uso para el desarrollo de núcleos de transformadores y bobinas de radiofrecuencia, además de antenas, medio de grabación magnética, chips de memoria en computadoras o incluso como ferrofluidos. (Arana & Bercoff; 2011)

En años recientes, las nanopartículas de ferrita han ganado interés en aplicaciones biomédicas, incluyendo la terapia fototérmica, la administración de fármacos, y la hipertermia para el tratamiento del cáncer (Thakur et al., 2020; Belman, 2019).

Como antecedente directo a esta investigación, Bucio (2023) desarrolló un biosensor electroquímico con la ferrita de níquel ($NiFe_2O_4$), para la detección de proteínas específicas para SARS-CoV-2. Su pequeño tamaño, biocompatibilidad y propiedades magnéticas permiten la inmovilización de anticuerpos y la detección de proteínas específicas mediante técnicas electroquímicas.

Específicamente, las ferritas de Mn-Zn (sistema con el que se trabajará aquí) son un tipo de ferrita ampliamente utilizado en diversas aplicaciones debido a sus propiedades magnéticas y eléctricas particulares.

Este tipo de ferritas, se distinguen por ser materiales magnéticamente blandos. Exhiben una alta permeabilidad magnética, facilitando su magnetización ante campos externos débiles, así como una elevada inducción de saturación, permitiendo una respuesta magnética robusta por unidad de volumen. Además, su baja coercitividad implica que requieren mínima energía para desmagnetizarse, característica

² Procedimiento para examinar detenidamente el cuello del útero, la vagina y la vulva en busca de signos de enfermedades.

³ Verrugas genitales y son de los tipos más comunes de infecciones de transmisión sexual.

ideal para dispositivos que operan con ciclos magnéticos reversibles, como los sensores (Thakur, Chahar, Taneja, et al., 2020).

Respecto a las propiedades eléctricas, las ferritas de Mn-Zn tienen una alta resistividad eléctrica, lo que minimiza las pérdidas de energía por corrientes parásitas. También, exhiben bajas pérdidas dieléctricas, lo que significa que disipan poca energía en forma de calor cuando se someten a campos eléctricos alternos (Arana & Bercoff; 2011).

Sumado a lo anterior, las fuentes indican que las ferritas de Mn-Zn son preferidas por su bajo costo y amplia gama de aplicaciones. Se utilizan en diversas áreas, incluyendo la electrónica, biomedicina, para el desarrollo de sensores y catalizadores. (Thakur, Chahar, Taneja, et al., 2020; Arana & Bercoff; 2011)

Este tipo de ferritas presenta una amplia versatilidad de metodologías; si de síntesis y procesamiento se habla, se pueden sintetizar mediante diferentes métodos, como el método sol-gel, la coprecipitación química, la técnica cerámica convencional, el método hidrotermal, microondas, entre otros. Esta variedad de métodos permite la producción de ferritas de Mn-Zn con diferentes tamaños de grano, morfologías y propiedades, ampliando aún más su gama de aplicaciones (Thakur, Chahar, Taneja, et al., 2020; Slavu et al., 2021).

Cabe añadir que, con este tipo de ferritas, donde uno de los metales es el Zn, se ha reportado un fenómeno llamado "*Canting*". Este fenómeno se refiere a un desalineamiento de los momentos magnéticos en la subred B de la estructura espinela, lo que resulta en una disminución de la magnetización total del material. Este fenómeno se observa cuando la concentración de Zn en la ferrita es relativamente alta.

El "*canting*" se produce debido a la competencia entre diferentes interacciones de intercambio en la estructura espinela cuando se introduce Zn. A bajas concentraciones de Zn, éste tiende a ocupar los sitios tetraédricos (A), desplazando algunos iones Fe^{3+} a los sitios octaédricos (B). Este desplazamiento aumenta la magnetización en la dirección de la subred B, ya que los iones Fe^{3+} tienen un momento magnético mayor que los iones Zn^{2+} , que son no magnéticos (Chen et al., 2024).

Sin embargo, a medida que la concentración de Zn aumenta, el acoplamiento A-B se debilita debido a la menor cantidad de iones Fe^{3+} en los sitios A. Al mismo tiempo, la interacción B-B, que también es ferromagnética, comienza a prevalecer. Como resultado, algunos espines en la subred B se desalinean, contrarrestando la magnetización de la subred B y produciendo una disminución en la magnetización total de la ferrita [Figura 15].

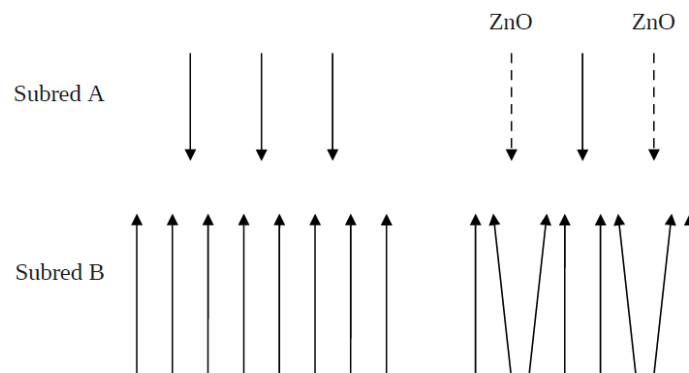


Figura 15. Efecto *Canting*. (Arana & Bercoff; 2011)

El "*canting*" es un fenómeno complejo que depende de la composición específica de la ferrita y de las condiciones de síntesis. En algunos estudios, se ha observado que la magnetización de saturación aumenta linealmente con la concentración de Zn en la región de bajo contenido de Zn, pero luego se aparta de esta tendencia a medida que el contenido de Zn aumenta (Arana & Bercoff; 2011).

Es importante tener en cuenta que la distribución catiónica en las ferritas mezcladas puede variar dependiendo del método de síntesis y del tratamiento térmico aplicado. En algunos casos, se ha observado una migración de iones Zn^{2+} a los sitios octaédricos (B), lo que puede influir en el fenómeno de "canting" (Arana & Bercoff, 2011; Chen et al., 2024).

A pesar de que las ferritas de Mn-Zn y otros tipos de ferritas han captado interés, debido a sus notables propiedades magnéticas y su potencial en aplicaciones biomédicas, existe una clara tendencia a mejorar la funcionalidad y biocompatibilidad de las ferritas mediante la modificación de sus superficies.

En principio las nanopartículas de ferrita, en su forma pura, pueden presentar problemas de biocompatibilidad y toxicidad en sistemas biológicos. Recubrirlas con materiales biocompatibles, como sílice (SiO_2), polietilenglicol (PEG) o albúmina de suero bovino (BSA), crea una barrera entre el núcleo de ferrita y el entorno biológico, lo que minimiza las interacciones no deseadas. Este recubrimiento reduce la toxicidad y facilita el uso seguro de las nanopartículas de ferrita en aplicaciones de diagnóstico y terapias biomédicas (Materón et al., 2021; Belman, 2019; Bucio, 2023).

Las capas de recubrimiento protegen el núcleo de ferrita de la oxidación y la degradación en entornos biológicos, asegurando la integridad del material en el tiempo. Esto contribuye a la estabilidad en suspensión de las nanopartículas, previniendo su agregación y asegurando una distribución uniforme en medios líquidos (Jamal & Mahmood, 2023; Bucio, 2023).

El recubrimiento también ofrece una superficie adecuada para la funcionalización con moléculas específicas (p. ej., anticuerpos, ligandos o fármacos), lo que permite dirigir las nanopartículas de ferrita a sitios específicos del cuerpo, como tumores o células afectadas (Thakur et al., 2020).

Conjugarlas con anticuerpos, por ejemplo, convierte a las nanopartículas en herramientas útiles para la detección de proteínas o biomarcadores en aplicaciones de diagnóstico (Bucio, 2023).

Cabe añadir que el recubrimiento puede influir en el tamaño y la forma de las nanopartículas, lo cual afecta sus propiedades magnéticas y su comportamiento en sistemas biológicos. En los estudios relacionados al desarrollo de biosensores han explorado diversos materiales de recubrimiento (Bucio, 2023):

- **Sílice (SiO_2):** Se usa comúnmente para recubrir nanopartículas de ferrita de níquel ($NiFe_2O_4$), creando una superficie biocompatible que es fácilmente funcionalizable.
- **Albúmina de suero bovino (BSA):** Empleada para bloquear la superficie de las nanopartículas de ferrita de níquel después de la conjugación con anticuerpos, minimizando la unión no específica.

Principalmente, para el proceso de funcionalización, la mayor parte de los estudios enfocados al desarrollo de biosensores, retoman el uso de sistemas de tipo SiO_2 -APTES, dada la facilidad de anclar esta molécula sobre la superficie de la sílice, derivado de un proceso de silanización, usada como una estrategia común para funcionalizar nanopartículas de ferrita. Este proceso implica la formación de enlaces covalentes entre grupos silanol en la superficie de la ferrita y moléculas que contienen grupos amino o tiol. (Belman, 2019; Bucio, 2023). Estos mismos grupos se han comprobado por medio de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), dada la presencia de picos anchos en la región de $3310-3500\text{ cm}^{-1}$ que indica la presencia de grupos amino.

3.2. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS MEDIANTE ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se ha consolidado como una herramienta complementaria en la caracterización de sistemas biofuncionalizados, permitiendo la detección indirecta de biomoléculas ancladas sobre superficies modificadas. Su principal ventaja radica en la capacidad de identificar los grupos funcionales involucrados en la unión covalente entre el soporte nanométrico y las biomoléculas, como los anticuerpos (Díaz et al., 2022).

En sistemas donde las nanopartículas han sido previamente recubiertas con sílice y funcionalizadas con agentes silanos como el APTES (como es el caso), la aparición o desplazamiento de bandas características asociadas a los grupos $-NH$, $-C=O$ o $-Si-O-Si$, constituye una evidencia clara de que se ha producido el enlace covalente entre el grupo amino del APTES y el grupo carboxilo del anticuerpo (Reddy et al., 2018).

De acuerdo con lo reportado por Díaz et al. (2022), el análisis por FTIR permitió confirmar la inmovilización de biomoléculas sobre la superficie de nanopartículas al observar la disminución en la intensidad de las bandas correspondientes a los grupos aminos libres ($-NH_2$), junto con el surgimiento de nuevas bandas en la región de $1690-1550\text{ cm}^{-1}$ asociadas a las vibraciones amida I y amida II. Dichos cambios son característicos de la formación del enlace amida producto de la reacción entre el APTES y el anticuerpo. Para el caso reportado empleando APTES la banda se ubica entre los $1630-1697\text{ cm}^{-1}$

Esta metodología resulta especialmente útil cuando existen limitaciones experimentales para realizar pruebas electroquímicas o de fluorescencia, ya que no requiere marcadores adicionales y permite verificar la biofuncionalización directamente sobre el sólido. Además, su carácter no destructivo facilita el análisis posterior de las mismas muestras en otras técnicas complementarias (Lorenz-Fonfria, 2020).

3.3. LA BATALLA CONTRA EL VPH: AVANCES HACIA LA DETECCIÓN TEMPRANA

El Virus del Papiloma Humano (VPH) es una realidad que afecta a millones de personas en el mundo. No es una novedad que este virus, asociado con más de 70% de los casos de cáncer cervical, representa un problema de salud pública significativo. Lo que sí es una novedad son los avances tecnológicos que han revolucionado su detección, ofreciendo una oportunidad sin precedentes para combatir esta enfermedad desde sus etapas más tempranas.

El diagnóstico precoz se ha convertido en el mejor aliado para mitigar las consecuencias del VPH. Más allá de las pruebas tradicionales, como el Papanicolaou, la ciencia ha abierto nuevas puertas, permitiendo a médicos y pacientes abordar la infección de manera más precisa y efectiva.

En las últimas décadas, la investigación en biotecnología de la mano de la nanotecnología ha permitido el desarrollo de métodos innovadores para detectar el VPH, destacándose técnicas que combinan precisión, rapidez y adaptabilidad.

Algunas de estas técnicas que se han implementado son, por ejemplo, el uso de sensores electroquímicos que ofrecen una herramienta poderosa para la detección del ADN del VPH; donde, al monitorear los cambios eléctricos en un electrodo cuando el ADN viral se une a una sonda inmovilizada, los sensores electroquímicos logran una sensibilidad y especificidad excepcionales, incluso en muestras clínicas difíciles (Amrul, Parmin, Hashim, et al., 2020; Chekin, Bagga, Subramanian, et al., 2018; Rasouli, Shahnava, Jeffrey, et al., 2018).

Otro caso, es el uso de nanobiosensores, donde, a través del uso de nanopartículas de oro, permiten detectar secuencias genómicas del HPV-16, uno de los tipos de alto riesgo más comunes. Su capacidad para trabajar con muestras clínicas reales y detectar fragmentos largos de ADN es un paso adelante en comparación con métodos más convencionales (Azizah, Hashim, Gopinath, et al., 2017).

La q-PCR es una técnica que sigue siendo un estándar de oro en el laboratorio por su capacidad de detectar y cuantificar el ADN del VPH con una precisión sin precedentes. Aunque requiere equipos especializados, su sensibilidad es clave para un diagnóstico confiable (Mojtaba, Behbudi, Alireza, et al., 2021; Ramesh, Loong, Haarindradas, et al., 2019).

Y, finalmente, los ensayos serológicos que, aunque menos directos que las técnicas anteriores, estos evalúan la exposición al virus al identificar anticuerpos contra el VPH. Aunque útiles, pueden enfrentar limitaciones como el tiempo necesario para que los anticuerpos se desarrollen o posibles reacciones cruzadas con otros tipos virales (Azizah, Hashim, Gopinath, et al., 2017; Chekin, Bagga, Subramanian, et al., 2018).

Sumando a lo anterior, se ha realizado estudios particularmente sobre la proteína E7 que, más que una molécula viral, es un indicador temprano de peligro (Ramesh, Loong, Haarindrapasad, et al., 2019). Como oncoproteína, E7 interfiere con los mecanismos normales de regulación celular, promoviendo el desarrollo del cáncer cervical. Su importancia como objetivo para nuevos biosensores es evidente.

En principio, los investigadores han inmovilizado anticuerpos contra E7 en nanopartículas magnéticas, logrando detectar esta proteína de manera rápida y específica (Mojtaba, Behbudi, Alireza, et al., 2021).

Así mismo, el valor clínico de detectar E7 podría no solo confirmar la presencia del virus, sino también señalar su potencial oncogénico, ayudando a priorizar casos críticos para tratamiento (Bucio, 2023).

3.4. SELECCIÓN DE LA PROTEÍNA E7 COMO BIOMARCADOR DE DETECCIÓN

Dentro de las proteínas virales expresadas por el Virus del Papiloma Humano (VPH), las oncoproteínas E6 y E7 son las principales responsables de la transformación maligna de las células epiteliales infectadas. Ambas actúan interfiriendo con los mecanismos de control del ciclo celular mediante la inactivación de las proteínas supresoras de tumores p53 y pRb, respectivamente (McBride, 2021; Zhang et al., 2025). Sin embargo, al considerar su viabilidad como diana biomolecular para el desarrollo de biosensores de diagnóstico, la proteína E7 presenta ventajas notables sobre E6, tanto desde el punto de vista estructural como funcional.

En primer lugar, E7 se caracteriza por una mayor estabilidad y tiempo de vida intracelular, manteniéndose expresada de manera continua incluso en fases avanzadas de la infección y tras la integración del ADN viral en el genoma de la célula huésped. Esta característica permite detectar infecciones persistentes, ya que su expresión se mantiene activa en las células transformadas, mientras que la proteína E6 suele degradarse más rápidamente y depender del estado episomal del virus (Han et al., 2024).

Además, E7 se expresa en mayor cantidad que E6 durante la replicación viral. Este fenómeno se debe a que ambas proteínas son traducidas a partir de un ARNm bicistrónico (E6/E7), pero el marco de lectura de E7 posee una región de inicio de traducción más eficiente, lo que genera una producción más abundante (Zhang et al., 2025). Por consiguiente, la detección de E7 ofrece una señal analítica más intensa y reproducible, aspecto fundamental en biosensores donde las concentraciones de analito suelen encontrarse en niveles traza.

Desde el punto de vista funcional, E7 desempeña un papel más directo y sostenido en la proliferación celular descontrolada, al unirse a la proteína del retinoblastoma (pRb) y liberar el factor de transcripción E2F, promoviendo la entrada continua en fase S del ciclo celular y evitando la detención del crecimiento (McBride, 2021). Esta actividad persistente convierte a E7 en un marcador confiable de transformación neoplásica activa, a diferencia de E6, cuya función puede ser complementaria o transitoria en las etapas iniciales de la infección.

Estructuralmente, E7 posee epítomos más accesibles y definidos para el reconocimiento inmunológico, lo que facilita su detección mediante anticuerpos monoclonales en técnicas como ELISA, FTIR o biosensores electroquímicos (Klaes et al., 2001). En contraste, la proteína E6 presenta conformaciones menos estables y una mayor tendencia al plegamiento interno, dificultando el acceso de los anticuerpos y disminuyendo la eficiencia del reconocimiento molecular.

Diversos estudios clínicos han validado que la detección de E7 es un indicador más sensible y específico de infección oncogénica activa, correlacionándose con la presencia de lesiones intraepiteliales de alto grado y cáncer cervical (Stanley, 2012). Por ello, el diseño del presente biosensor se fundamenta en la detección selectiva de la proteína E7 del VPH-16, empleando nanopartículas magnéticas funcionalizadas con anticuerpos monoclonales anti-E7 como elemento bioreceptor.

4. HIPÓTESIS

La funcionalización de nanopartículas superparamagnéticas de $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$ mediante un recubrimiento de sílice y grupos amino (APTES) proporcionará una interfaz estable y de alta área superficial que permitirá el anclaje covalente orientado de anticuerpos anti-E7. Esto validará su uso como transductor de biorreconocimiento eficiente para la captura específica de biomarcadores del VPH.

5. OBJETIVO GENERAL

Diseñar y desarrollar un sistema nanoestructurado basado en nanopartículas magnéticas tipo $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$ recubiertas con sílice y funcionalizadas con APTES, que permita la inmovilización estable de anticuerpos monoclonales específicos contra el Virus del Papiloma Humano (VPH), validando su anclaje mediante espectroscopía infrarroja (FTIR) como etapa fundamental para el posterior desarrollo de un biosensor electroquímico orientado a la detección de la oncoproteína E7.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar nanopartículas magnéticas tipo $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$ mediante el método de coprecipitación química, optimizando las condiciones de síntesis para obtener propiedades estructurales y magnéticas adecuadas para su posterior funcionalización.
- Recubrir las nanopartículas obtenidas con una capa de sílice (SiO_2) y funcionalizarlas con APTES, generando grupos amino superficiales que permitan la inmovilización estable de biomoléculas.
- Caracterizar morfológicamente el material sintetizado mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía electrónica de barrido (SEM), para determinar la forma, tamaño y grado de aglomeración de las nanopartículas.
- Analizar la estructura cristalina del material fabricado mediante difracción de rayos X (DRX), para identificar las fases cristalinas presentes y calcular el tamaño promedio de cristalita utilizando la ecuación de Scherrer.
- Evaluar las propiedades magnéticas de las nanopartículas mediante Magnetometría de Muestra Vibrante (VSM), con el propósito de comprobar la presencia de comportamiento superparamagnético adecuado para su manipulación y separación.
- Preparar el medio de reacción del biosensor mediante la funcionalización química de las nanopartículas recubiertas con SiO_2 e inmovilizar anticuerpos monoclonales específicos contra la proteína E7 del VPH, garantizando una unión covalente entre el grupo amino del APTES y el grupo carboxilo del anticuerpo.
- Comprobar mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) la correcta funcionalización y anclaje del anticuerpo monoclonal sobre la superficie de las nanopartículas magnéticas, evidenciando la disminución de las bandas características de los grupos $-NH_2$ y la aparición de nuevas bandas de enlace amida ($C=O$, $N-H$).

7. METODOLOGÍA

Para lograr cumplir cada uno de los objetivos mencionados, se propuso dividir la metodología en cuatro etapas:

1. Síntesis de nanopartículas magnéticas del sistema $A_{1-x}B_xFe_2O_4$. En concreto, se realizarán experimentos con ferritas de manganeso-zinc a diferentes concentraciones ($Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$; $x=0.25, 0.5, 0.75$)
2. Recubrimiento de las nanopartículas con material biocompatible (SiO_2) para usarlas como andamio en la siguiente etapa.
3. Funcionalización de la nanopartícula y anclaje del anticuerpo (Ab) que interactuará con el analito de interés.
4. Funcionalización del electrodo y evaluación del anclaje del anticuerpo y detección de la proteína.

7.1. MATERIALES Y REACTIVOS

Tabla 3. Lista de reactivos implementados en los diferentes procesos

PROCESO	REACTIVOS
1. Síntesis de nanopartículas $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$ X= 0.25, 0.5, 0.75	<ul style="list-style-type: none"> • Nitrato de hierro nonahidratado ($Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, 98%, Sigma) • Nitrato de zinc hexahidratado ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, 98%, Sigma) • Nitrato de manganeso tetrahidratado $Mn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 98%, Sigma) • Ácido cítrico • Hidróxido de sodio ($NaOH$, Sigma) • Etanol (C_2H_5OH) • Agua desionizada
2. Recubrimiento de las nanopartículas con (SiO_2)	<ul style="list-style-type: none"> • TEOS ($Si(OC_2H_5)_4$, 98%, Sigma) • Solución de hidróxido de amonio (NH_4OH, 29%, Sigma) • Etanol (C_2H_5OH)
3. Funcionalización de la nanopartícula y anclaje del anticuerpo	<ul style="list-style-type: none"> • Anticuerpo monoclonal de proteína E7 de VPH (Ab_s) • (3-aminopropil)triétoxosilano [APTES] (Sigma) • Etanol (C_2H_5OH) • Agua desionizada • Clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida (EDC) • N-hidroxisuccinimida (NHS) • Solución salina de fosfato (PBS) • Albúmina de suero bovino (BSA)
4. Evaluación del anclaje y detección de la proteína	Se usaron los mismos reactivos de la etapa 3, además de: <ul style="list-style-type: none"> • Proteína E7 del VPH • Oro (Sigma)

7.2. PRIMERA ETAPA: SÍNTESIS DEL NÚCLEO MAGNÉTICO

Síntesis de nanopartículas de Manganeso-Zinc ($Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$)

La preparación de núcleo magnético se llevó a cabo por el método de coprecipitación química, en el cual se mezclaron los 3 nitratos metálicos en 100 mL de agua desionizada (DI) y el ácido cítrico en 50 mL de DI a 300 rpm por 20 min. Pasado el tiempo se aumentó la temperatura a 95°C y la agitación a 800 rpm. Se añadió por goteo una disolución de NaOH 4.8 M hasta obtener un pH 12 (aprox. 7.5-8.5 mL) y se mantuvo la reacción a 800 rpm y 95°C por 1 h, cuidando que no se evaporara toda el agua del medio para evitar la formación de un gel. Posterior a eso, se realizaron 7 lavados con DI y 7 lavados con etanol reactivo por decantación magnética. Se sugiere como mínimo esta cantidad de lavados con cada reactivo para evitar

altas concentraciones de sodio. El producto se trituro con mortero y pistilo y se recuperó utilizando acetato. En este punto, es importante evitar raspar el mortero para evitar contaminar la muestra con compuestos de silicio. Posteriormente, la ferrita se calcinó a 900°C por 5 horas utilizando la rampa de calentamiento. Nuevamente, las ferritas se trituraron y se prepararon para su posterior caracterización.

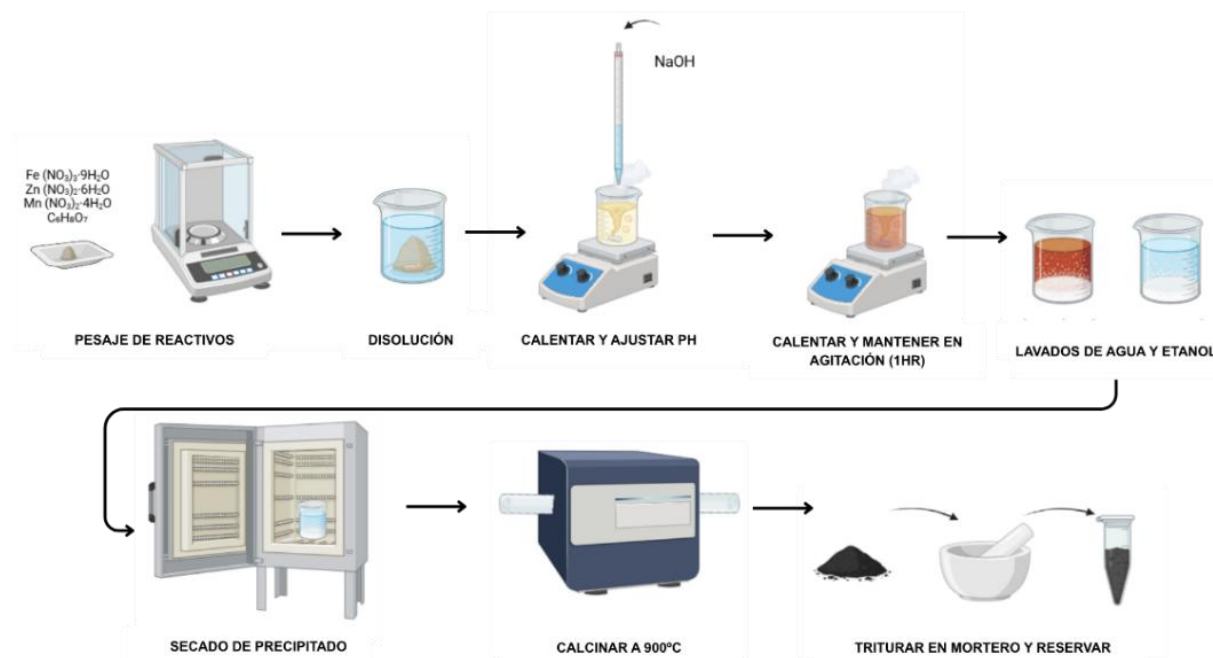


Figura 16. Esquema para la síntesis de nanopartículas de Manganeso-Zinc.

7.3. SEGUNDA ETAPA: RECUBRIMIENTO CON SiO_2

Los materiales magnéticos fueron recubiertos con SiO_2 por medio de una modificación al método de Stöber (Belman, 2019; Stöber et al., 1968):

Se tomaron 0.2 g del material previamente dispersado y se agregaron a una mezcla de 40 mL de etanol reactivo y 10 mL de DI. La mezcla se dispersó durante 40 min en baño sónico (solución 1). Por otro lado, se preparó una solución con 30 mL de etanol y 0.6 mL de hidróxido de amonio (NH_4OH), la cual se mantuvo en agitación durante 10 min (solución 2). Después, se añadió la solución 2 a la solución 1, y la mezcla se puso en agitación mecánica (con propela) a 800 rpm (o cercano, evitando derramar el producto); esto durante 30 min, para después ser dispersada por baño ultrasónico por 30 min más. A la mezcla se le añadió 110 μL de tetraetil ortosiliceto (TEOS) y se mantuvo en agitación mecánica a 800 rpm durante 4 h. Para detener la reacción, la muestra se lavó 3 veces con etanol reactivo por centrifugación a 5500 rpm durante 15 min. Enseguida, la muestra se secó a 60°C por 12 h y, por último, se le realizó un tratamiento térmico a 550°C durante 6 h.

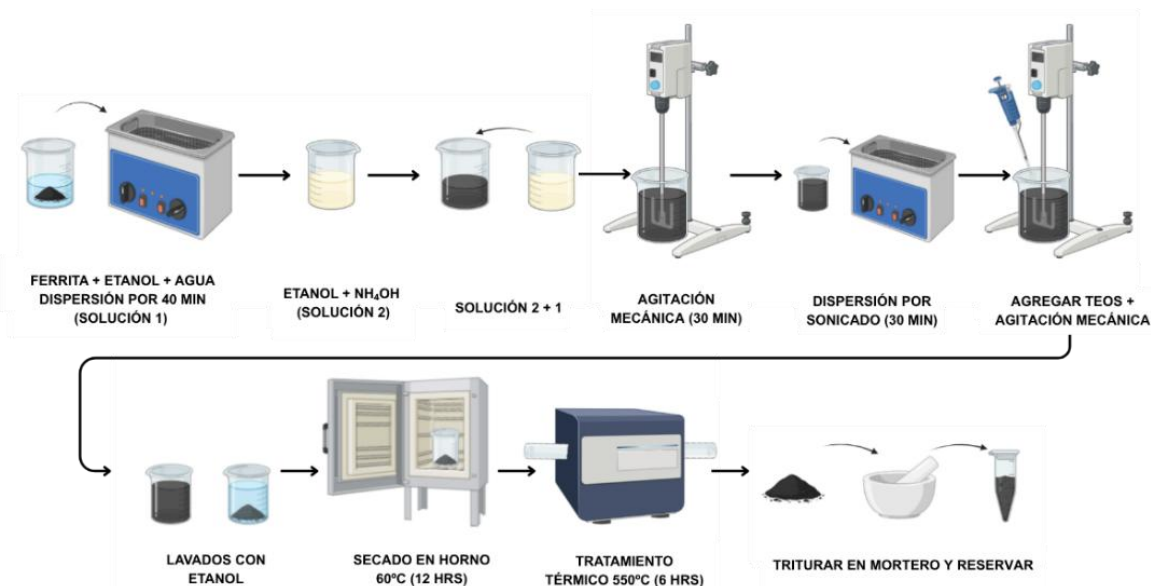


Figura 17. Esquema del recubrimiento con SiO₂

7.4. TERCERA ETAPA (PARTE 1): FUNCIONALIZACIÓN DEL NÚCLEO MAGNÉTICO

Los materiales magnéticos recubiertos con SiO₂ fueron funcionalizados según el método propuesto por Belman (2019):

Se tomaron 20 mg de las nanopartículas recubiertas con SiO₂. Éstas, se suspendieron en 30 mL de etanol, posteriormente se añadieron 20 µL de (3-aminopropil) trimetoxisilano (APTES) y la mezcla se puso en agitación por 12 h a temperatura ambiente. Pasadas las 12 h, la mezcla se calentó a 70 °C durante 1 h. En este tiempo se adicionaron alícuotas de etanol para mantener el volumen constante de la muestra. La mezcla se lavó tres veces por centrifugación a 5500 rpm, el sobrenadante se retiró y al término de los tres lavados, la muestra se suspendió, nuevamente, en 30 mL de etanol.

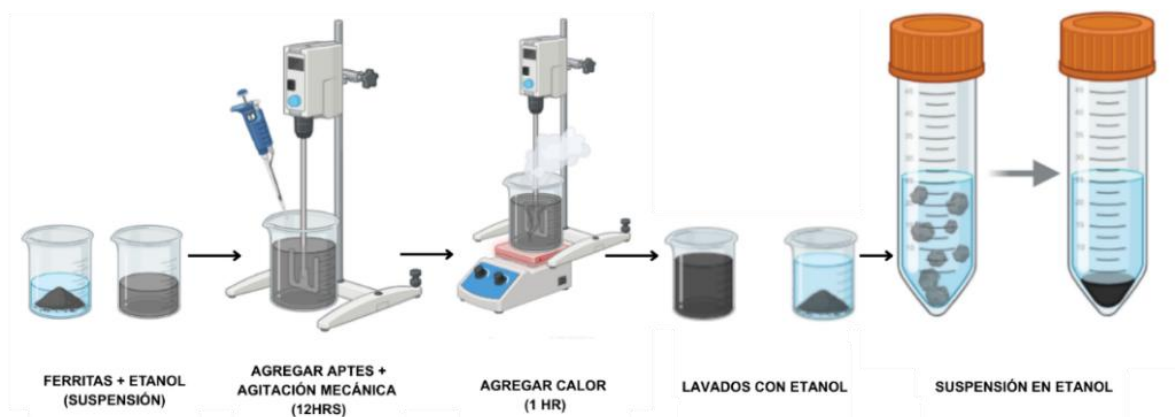


Figura 18. Esquema de la funcionalización del núcleo magnético con APTES.

7.5. TERCERA ETAPA (PARTE 2): ANCLAJE DEL ANTICUERPO EN EL NÚCLEO MAGNÉTICO

Se prepararon microtubos con 1 mL de solución de $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4@SiO_2$ -APTES y en cada uno se le realizó el siguiente procedimiento: Se agregaron 19 μ L de EDC 2.5×10^{-3} mol/L y 35 μ L de NHS 1×10^{-2} mol/L en agua ultrapura a la solución y se colocaron en agitación durante 20 min. Posteriormente, se retiraron 540 μ L del líquido, separándolo de las nanopartículas con ayuda de un imán y se colocaron 40 μ L de Abs diluido en 1:19 de Buffer PBS. Se dejó incubar durante toda la noche a 28°C. Nuevamente con ayuda del imán, se recuperaron las nanopartículas y se resuspendió en 200 μ L de PBS y 300 μ L de BSA al 0.5% a un porcentaje final de 0.2%. La solución se resuspendió dos veces más para eliminar el exceso de anticuerpos y se almacenó a 4 °C.

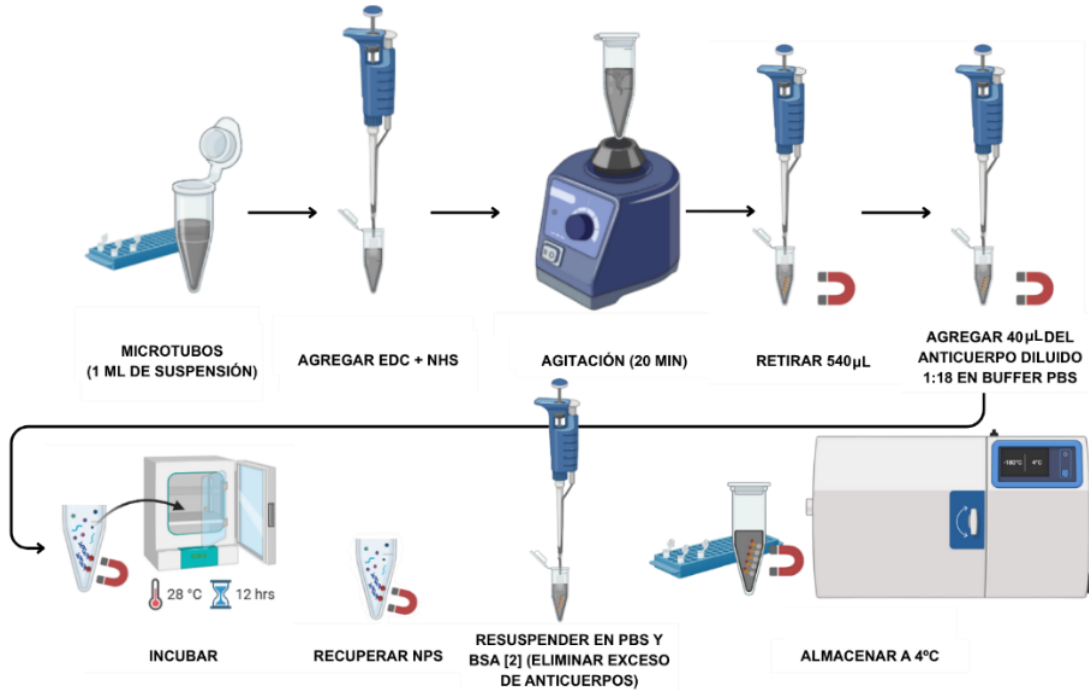


Figura 19. Esquema del anclaje del anticuerpo en el núcleo magnético.

7.6. CARACTERIZACIÓN

Con el fin de estudiar las propiedades físicas y químicas se aprovechó la infraestructura con la que se cuenta en el Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNYN), que, además, se ha complementado el trabajo con otras técnicas gracias a la universidad de UC Irving. Por parte del CNYN se ha aprovechado el microscopio electrónico de barrido (SEM), usando un sistema Philips XL30 ESEM que cuenta con el modo de electrones retrodispersados (BEC) y el de dispersión de energía (EDS). Además, se evaluaron los sistemas en cada una de las fases desde el recubrimiento, hasta la funcionalización y anclaje del anticuerpo haciendo uso de un espectrofotómetro de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) Tensor 27. Las caracterizaciones restantes, se realizaron en colaboración con UC Irving, donde se realizó la difracción de rayos X (DRX) para evaluar la estructura cristalina de la ferrita sintetizada, además se aprovechó el microscopio electrónico de transmisión (TEM) para evaluar la distribución de tamaño. Finalmente, se evaluaron las propiedades magnéticas de las nanopartículas mediante un sistema de medición de propiedades físicas (PPMS) de Quantum Design utilizando el modo magnetómetro de muestra vibrante (VSM). Los bucles de magnetización histéresis se midieron a temperatura ambiente variando el

campo aplicado en el rango entre -20000 y 20000 Oe. Finalmente, para estudiar el tipo de interacción predominante entre las partículas, se utilizó el método de Thamm-Hesse (THM) ajustando la magnetización en función de las curvas del campo aplicado.

7.6.1. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM)

La TEM es una técnica que permite obtener imágenes de alta resolución a escala nanométrica mediante el paso de un haz de electrones a través de una muestra ultradelgada. Esta técnica proporciona información sobre la morfología, tamaño de partícula, defectos cristalinos y distribución interna de fases en los nanomateriales (Williams & Carter, 2009). Para su análisis, las muestras se preparan disolviendo una pequeña cantidad del polvo en etanol o agua ultrapura, y depositando una gota sobre una rejilla de cobre recubierta con una película de carbono, dejándose secar al aire. Específicamente, fueron 5 mg de material ($Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$, $x = 0.5$), en 5 ml de etanol que se dispersó mediante baño ultrasónico por 30 min y se colocó sobre rejillas de cobre cubiertas con una película de carbono.

7.6.2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) Y ESPECTROSCOPIA DE RAYOS X DE ENERGÍA DISPERSIVA (EDS)

El SEM permite observar la morfología superficial y topografía tridimensional de los materiales mediante la detección de electrones secundarios. Combinado con EDS, se puede realizar análisis elemental puntual y mapeo de la distribución de elementos (Goldstein et al., 2017). Las muestras deben estar secas, y se fijan en *stubs* de aluminio con cinta de carbono.

7.6.3. DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)

La DRX es una herramienta esencial para la caracterización estructural de materiales cristalinos. Esta técnica permite identificar fases cristalinas presentes, calcular el tamaño de cristalita mediante la ecuación de Scherrer, y determinar parámetros de celda unitaria. Se basa en la interacción de un haz de rayos X con los planos atómicos del material, produciendo un patrón de difracción característico según la ley de Bragg ($n\lambda = 2d\sin\theta$) (Cullity & Stock, 2001). La intensidad y posición de los picos en el difractograma permiten conocer la composición y grado de cristalinidad del material. En este estudio, las muestras que ya se encontraban en polvo fueron finamente molidas en mortero y colocadas en un portamuestras plano de baja fluorescencia, para asegurar una adecuada difracción y minimizar el ruido de fondo.

7.6.4. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

La FTIR permite identificar grupos funcionales y enlaces químicos presentes en las nanopartículas, proporcionando información sobre procesos de recubrimiento (ej. SiO_2) o funcionalización (ej. APTES, anticuerpos). Se basa en la absorción de radiación infrarroja por las vibraciones moleculares, la relevancia de esta técnica radica en su sensibilidad derivado de la orientación, entorno químico o su conformación, que permite identificar como si fuera un escáner molecular, su estructura, grupos funcionales, y los enlaces. Además, que esta técnica permite determinar de manera cuantitativa el contenido de la muestra medida según la intensidad de la banda (Pavia et al., 2014). Las muestras pueden analizarse como polvo seco en reflectancia difusa o mezcladas con KBr en forma de pastilla para transmisión. En este estudio se utilizó el modo de transmisión, mediante la preparación de pastillas de KBr mezcladas con la muestra en polvo, lo cual permite una buena dispersión de los espectros infrarrojos y una mayor sensibilidad para compuestos sólidos. Para el caso de líquidos, se utilizó una pastilla de KBr para medición, colocando una gota sobre esta e incidiendo el haz sobre la muestra.

7.6.5. MAGNETÓMETRO DE MUESTRA VIBRANTE (VSM)

El VSM es un instrumento para una técnica utilizada en el estudio del comportamiento magnético de materiales, especialmente nanopartículas magnéticas. Funciona según la ley de inducción de Faraday, la cual establece que un campo magnético cambiante genera una corriente inducida en un conductor. En este método, la muestra se coloca bajo un campo magnético constante, que induce la magnetización del material alineando los dominios magnéticos o los espines individuales. Posteriormente, la muestra se hace vibrar a lo largo del eje vertical, generando un campo magnético alterno proporcional a su magnetización. Este campo alternante induce una corriente eléctrica en un sistema de bobinas de captación, cuya intensidad es directamente proporcional al momento magnético de la muestra (Maldonado-Camargo et al., 2017). Este análisis permite obtener curvas de histéresis que proporcionan parámetros clave como la magnetización de saturación (M_s), la coercitividad (H_c) y la remanencia magnética (M_r), fundamentales para evaluar si el material exhibe comportamiento superparamagnético. Para el análisis, pequeñas cantidades del polvo se encapsulan en cápsulas de gelatina o en tubos no magnéticos.

8. RESULTADOS Y DISCUSIONES

8.1. ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN, MORFOLÓGICO ESTRUCTURAL Y ESTADÍSTICO DE DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑOS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM), MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM) Y DISPERSIÓN DE ENERGÍA DE RAYOS X (EDS)

Con base en lo observado en la figura 20, correspondientes a micrografías de TEM de las nanopartículas de ferrita de Mn-Zn sin recubrimiento, se logró observar partículas mayormente esféricas con una dispersión moderada en tamaño. La imagen revela que las nanopartículas se encuentran mayoritariamente aisladas, sin formación de grandes aglomerados, lo cual es esencial para aplicaciones en medios biológicos. Se observan regiones de contraste más oscuro correspondientes al núcleo de ferrita y, en algunas partículas, se distinguen bordes definidos que sugieren una buena cristalinidad.

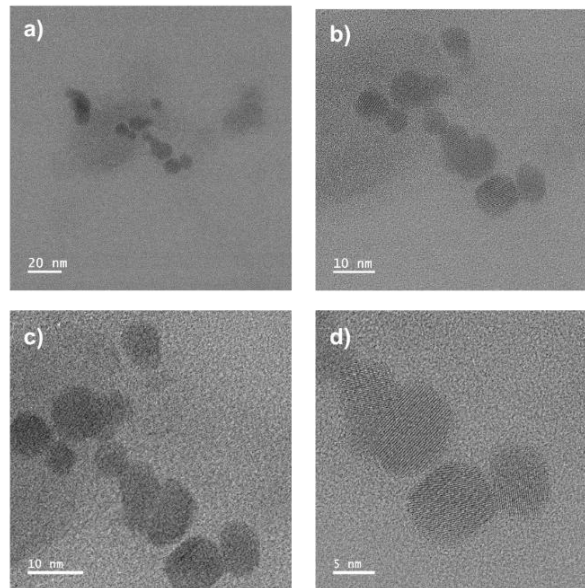


Figura 20. Micrografías de TEM de la ferrita de Mn-Zn; $x = 0.5$

A partir de las micrografías obtenidas por TEM, el análisis de distribución de tamaños mediante ImageJ reveló un diámetro promedio de 7.5 nm. Este valor se encuentra muy por debajo del radio de dominio crítico (~50 nm) para ferritas, condición necesaria para el comportamiento superparamagnético. Según múltiples estudios, como el elaborado por Thakur, Chahar, Taneja, et al. (2020), las ferritas tipo espinela (como $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$) muestran comportamiento superparamagnético cuando sus dimensiones caen por debajo de este umbral crítico, ya que los momentos magnéticos individuales pueden alinearse fácilmente bajo un campo magnético externo, pero pierden esta alineación térmicamente cuando el campo se retira, evitando la remanencia magnética y permitiendo una respuesta reversible.

El comportamiento superparamagnético es de alto interés en aplicaciones biomédicas, como la administración dirigida de fármacos y la detección magnética, ya que evita la agregación de partículas en ausencia de campo, favoreciendo una buena biodisponibilidad y biocompatibilidad (Martínez, 2006; Maldonado-Camargo et al., 2017).

Además, en varias de las imágenes de alta resolución TEM es posible observar franjas de difracción o planos reticulares [Figura 20 d)], que evidencian la estructura cristalina interna del material. Estas franjas son consecuencia de la interacción coherente del haz de electrones con los planos atómicos del cristal, lo que confirma que las partículas están compuestas por dominios monocristalinos o semicristalinos bien definidos (que serán discutidos más adelante). La presencia de estas franjas es un fuerte indicio de orden estructural, lo cual es consistente con materiales obtenidos mediante síntesis controlada y procesos de crecimiento orientado.

Este grado de cristalinidad puede influir positivamente en las propiedades magnéticas del sistema, ya que reduce los defectos estructurales que podrían generar centros de “*pinning*” o anisotropías indeseadas. Por ello, el análisis TEM no solo proporciona información morfológica, sino también funcional, al correlacionarse con el rendimiento del material en aplicaciones específicas.

Para analizar a profundidad las muestras, la figura 21, correspondiente al análisis por SEM de la ferrita, muestra claramente cómo varía la morfología de las partículas sintetizadas con diferentes concentraciones molares de precursores. En la imagen a), correspondiente a $x = 0.25$, se observa una morfología más irregular con aglomerados de partículas con forma esferoidal, pero sin una definición clara entre límites de grano. Esta estructura puede estar asociada con una cristalización incompleta o un menor grado de orden estructural, posiblemente debido a la disparidad de contenido de Zn y Mn, lo cual limita el crecimiento uniforme de cristales durante la síntesis.

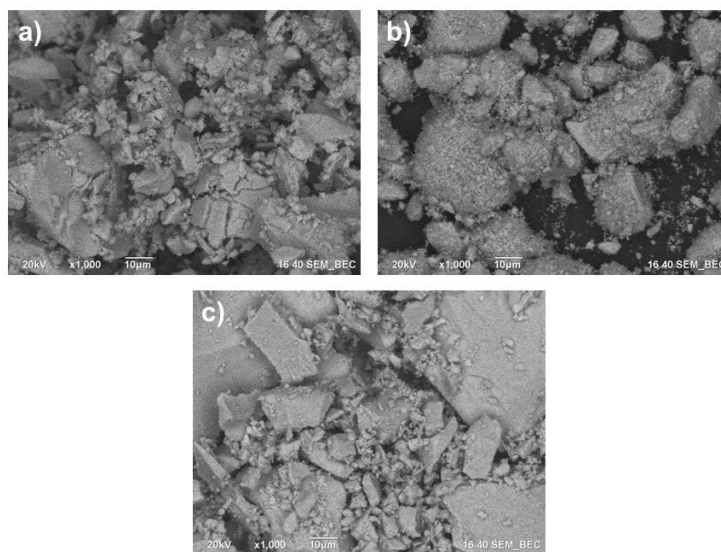


Figura 21. Micrografías de SEM de la ferrita de Mn-Zn; concentraciones $x = 0.25, 0.5, 0.75$.

a), b), c) correspondientemente.

La imagen b), correspondiente a $x=0.5$, revela partículas más homogéneas, con bordes más definidos y distribución de tamaños más controlada. La concentración 0.5 parece haber sido la más adecuada para lograr una morfología semi-esférica con menor aglomeración. Este comportamiento se ha asociado previamente con condiciones óptimas de nucleación y crecimiento durante la coprecipitación química.

La imagen c), correspondiente a $x=0.75$, evidencia una aglomeración más intensa, con cúmulos densos de nanopartículas. Esto puede deberse al exceso de material precursor que favorece la formación de núcleos de crecimiento muy cercanos, promoviendo la fusión parcial de partículas y la formación de agregados. El fenómeno de aglomeración en concentraciones elevadas ha sido ampliamente reportado en síntesis de ferritas, limitando su aplicabilidad en sistemas coloidales o biológicos.

De esta manera, se puede asumir una correlación existente entre la morfología y la concentración del precursor, donde la evolución morfológica sugiere una correlación directa entre la concentración de los precursores metálicos y la distribución de tamaño y forma de las partículas. Trabajos previos han demostrado que, a bajas concentraciones, puede haber una menor nucleación y, por tanto, partículas más grandes e irregulares; mientras que, a concentraciones muy altas, la sobresaturación favorece el crecimiento no controlado y la aglomeración.

Thakur et al. (2020), explican que las propiedades morfológicas y magnéticas de las ferritas están altamente influenciadas por la concentración de iones metálicos, siendo ideal una concentración intermedia para asegurar nucleación homogénea y partículas esféricas con baja tendencia a agregarse.

Cabe añadir que, durante el análisis morfológico mediante TEM y SEM, se observó que las nanopartículas presentan una distribución heterogénea, con regiones donde las partículas se encuentran agrupadas de manera irregular. Este fenómeno puede corresponder a dos procesos distintos, pero comúnmente confundidos en nanomateriales: aglomeración y agregación, cuya distinción es clave para interpretar adecuadamente la estabilidad y funcionalidad del sistema.

La aglomeración se refiere a la asociación física débil y reversible de partículas primarias mediante fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno o interacciones electrostáticas. Este tipo de interacción no implica fusión o enlaces químicos entre partículas, por lo que los aglomerados pueden dispersarse fácilmente mediante ultrasonido o agitación mecánica. La aglomeración es común en nanopartículas debido a su alta relación superficie-volumen y energía superficial, y se puede controlar mediante recubrimientos estabilizantes, como el recubrimiento de sílice en este sistema (Sharma et al., 2019).

En cambio, la agregación implica una unión irreversible y fuerte entre las partículas, frecuentemente por enlaces covalentes o sinterización parcial, lo cual da lugar a conglomerados de mayor tamaño con una pérdida significativa de área superficial activa. La agregación reduce la funcionalidad individual de las nanopartículas y afecta negativamente su rendimiento en aplicaciones como biosensores, ya que impide el reconocimiento molecular eficiente (Ibrahim et al., 2021).

En las imágenes TEM (Figura 22), las partículas presentan un patrón esférico individual definido, pero con cierta tendencia a formar racimos o cúmulos sin fusión aparente, lo que sugiere que el sistema presenta aglomeración, no agregación. Esto es coherente con lo observado en SEM (Figura 23), donde la textura superficial conserva porosidad y separación entre dominios, especialmente en las muestras con mayor contenido de Zn ($x = 0.75$).

La Figura 22 muestra un espectro obtenido mediante EDS, correspondiente a la concentración $x=0.5$ de ferrita de manganeso y zinc ($Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$). Esta técnica está acoplada a la microscopía electrónica de barrido (SEM), permite identificar la composición elemental de una muestra verificando la presencia de los elementos constitutivos esperados tras la síntesis del material.

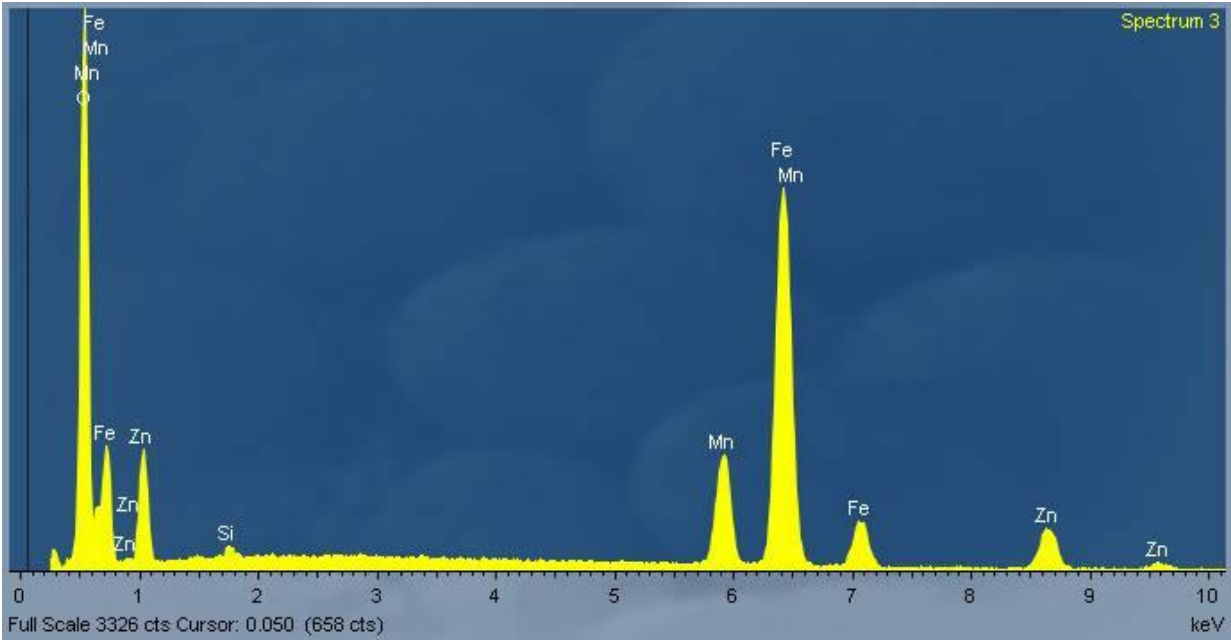


Figura 22. Espectro de EDS de la ferrita de Mn-Zn

En el espectro se observan picos claramente definidos correspondientes a los elementos:

- **Hierro (Fe):** Constituyente esencial de todas las ferritas del tipo espinela.
- **Manganeso (Mn) y Zinc (Zn):** Incorporados de manera controlada para modificar las propiedades magnéticas del material, obtenidos tras ajustar la proporción entre Mn^{2+} y Zn^{2+} en el sistema $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$.
- **Oxígeno (O):** Fundamental en la estructura tipo óxido de las ferritas espinela.

La presencia simultánea de estos elementos confirma que el producto de la síntesis contiene efectivamente las especies químicas correspondientes al sistema ferrita Mn-Zn. Este análisis también permite detectar la posible existencia de contaminantes o residuos no deseados, en este caso una pequeña presencia de silicio, que puede venir del propio vaso donde se llevó a cabo la reacción o del mortero al macerar la muestra; sin embargo, no presenta un problema, dado que el material se recubrió con óxido de silicio posteriormente.

La confirmación de la composición química por EDS es clave en la caracterización inicial de nanopartículas magnéticas. En este caso, los resultados respaldan exitosamente la incorporación de Zn y Mn en la red espinela del óxido de hierro, lo cual es fundamental para obtener las propiedades magnéticas deseadas, como el comportamiento superparamagnético, la saturación magnética optimizada o la baja coercitividad.

En estudios similares, la relación entre el contenido elemental y la respuesta magnética ha sido ampliamente documentada. Por ejemplo, Thakur et al. (2020) destacan que la variación en el contenido de Zn y Mn no solo altera la densidad de magnetización de saturación (M_s), sino también la distribución catiónica entre los sitios octaédricos y tetraédricos, lo cual influye directamente en el fenómeno del "canting" magnético.

La figura 23, correspondiente a las micrografías SEM de las ferritas de Mn-Zn recubiertas con sílice ($Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4@SiO_2$) para las tres concentraciones de Zn ($x = 0.25, 0.5, 0.75$), revela aspectos morfológicos críticos que reflejan tanto el efecto del recubrimiento como de la composición catiónica sobre la estructura superficial de las nanopartículas.

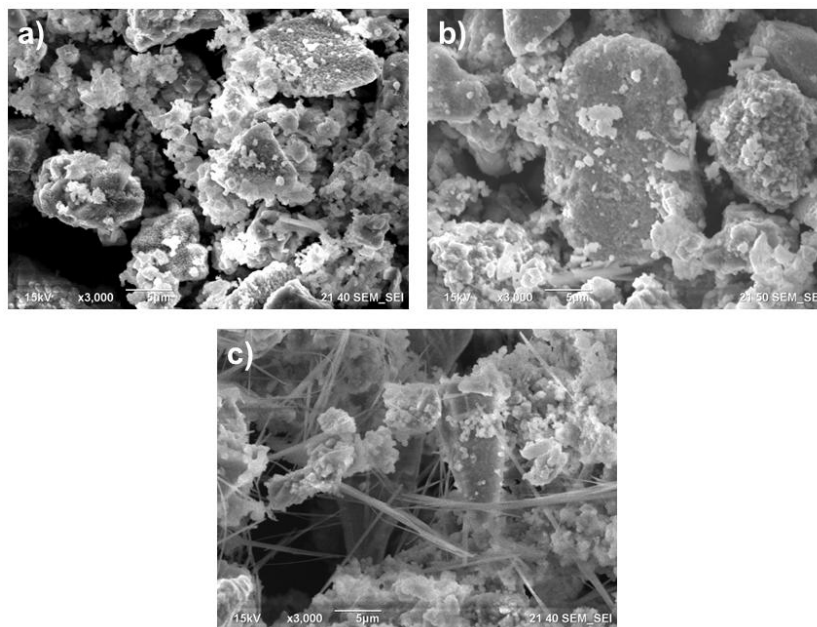


Figura 23. Micrografías de SEM de la ferrita de Mn-Zn@SiO₂; concentraciones $x = 0.25, 0.5, 0.75$. a), b), c) correspondientemente.

La imagen a), correspondiente a la concentración $x = 0.25$, permite observar partículas predominantemente esféricas, bien distribuidas, aunque con tendencia leve a la aglomeración. La superficie parece rugosa, probablemente debido a una cobertura parcial de sílice. Esta concentración baja de Zn favorece una morfología menos compacta y un crecimiento más irregular, lo cual puede estar relacionado con una menor densidad de nucleación del recubrimiento.

La imagen b), correspondiente a la concentración $x = 0.5$, permite observar una mejora en la cobertura superficial: las partículas se presentan más uniformes en forma y tamaño, con una superficie aparentemente más homogénea. Este comportamiento indica una mayor afinidad de la superficie ferrítica hacia la condensación del TEOS, lo que sugiere una mayor eficiencia en la formación de la capa de SiO₂ mediante el método de Stöber modificado. Este punto medio parece ser óptimo para lograr un equilibrio entre estabilidad coloidal y cobertura efectiva.

La imagen c), correspondiente a la concentración $x = 0.75$, evidencia una marcada tendencia a la aglomeración. Si bien el recubrimiento con sílice es visible, su distribución parece menos uniforme, se detecta una morfología mixta, con presencia de partículas esféricas recubiertas y estructuras alargadas tipo varilla o aciculares. Esto puede atribuirse a una sobresaturación de Zn en la estructura, que afecta tanto la carga superficial como la reactividad química de las nanopartículas. A concentraciones altas de Zn, se ha reportado que el exceso puede afectar negativamente el control morfológico debido a una alteración de los sitios de nucleación en la superficie.

La formación de varillas puede estar relacionada con un crecimiento anisotrópico favorecido por el exceso de Zn²⁺, el cual puede alterar el equilibrio cristalino de los sitios octaédricos y tetraédricos en la estructura espinela. Estudios previos indican que una concentración elevada de Zn promueve una segregación parcial de fases o el crecimiento orientado en ciertas direcciones cristalográficas (Jiang et al., 2019; Thakur et al., 2020).

Estas varillas también podrían estar asociadas a la polimerización incontrolada de la sílice, en condiciones locales de pH o temperatura no homogéneas, que promueven un crecimiento preferencial durante la fase de recubrimiento

De manera generalizada, los resultados morfológicos obtenidos son congruentes con estudios reportados en la literatura, donde se observa que el depósito controlado de sílice sobre nanopartículas magnéticas mejora su dispersión y reduce significativamente la aglomeración, especialmente cuando se mantiene un equilibrio adecuado entre la cantidad de precursor (TEOS), pH, y tiempo de reacción.

Así mismo, la eficiencia del recubrimiento también se relaciona con la carga superficial y el grado de oxidación de los cationes metálicos presentes. En estudios similares con ferritas dopadas, se ha reportado que una alta proporción de Zn^{2+} puede interferir con la formación de una capa uniforme de SiO_2 (Belman, 2019).

Cabe añadir, que, el posterior recubrimiento con SiO_2 , como se observa en la figura 23, cumple una función crítica al incrementar la estabilidad coloidal y minimizar la aglomeración, al generar una barrera física que reduce las fuerzas atractivas entre partículas. La diferencia entre agregación y aglomeración es particularmente relevante en este estudio, ya que influye directamente en las propiedades magnéticas, superficie funcional disponible para anclaje de anticuerpos y, por tanto, en la eficiencia final del biosensor diseñado.

La figura 24, correspondiente al espectro EDS de la concentración $x = 0.5$ de ferrita de Mn-Zn recubierta con SiO_2 , ofrece información clave sobre la composición elemental del material y la eficacia del recubrimiento con sílice. El espectro EDS confirma la presencia de los siguientes elementos:

- **Fe (Hierro):** componente principal del núcleo de ferrita.
- **Mn (Manganeso) y Zn (Zinc):** elementos dopantes en la estructura tipo espinela $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$.
- **Si (Silicio):** indica exitosamente el recubrimiento con sílice (SiO_2).
- **O (Oxígeno):** tanto del óxido metálico como de la sílice amorfa.

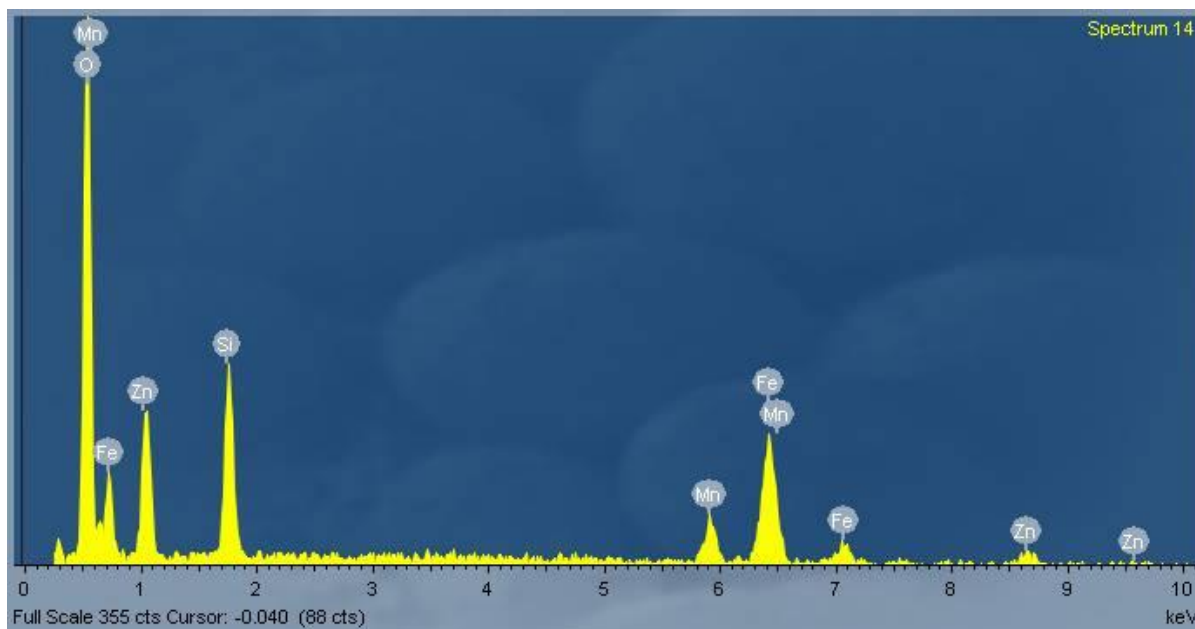


Figura 24. Espectro de EDS de la ferrita de Mn-Zn@ SiO_2

La presencia clara de picos asociados al silicio es una evidencia sólida de que el recubrimiento fue efectivo. La intensidad relativa del pico de Si también sugiere una cobertura homogénea y suficientemente gruesa como para ser detectada por EDS, técnica que tiene una profundidad de análisis de hasta $\sim 1-2 \mu m$, ideal para nanopartículas recubiertas.

De esta manera, se resalta la importancia de un recubrimiento de sílice uniforme para asegurar la estabilidad química y permitir una funcionalización controlada en biosensores. Tal es el caso reportado por Bucio (2023), donde se destaca que el recubrimiento de ferritas con SiO_2 no solo reduce la toxicidad, sino que también facilita la funcionalización mediante enlaces covalentes con APTES, estrategia usada también en este trabajo. Del mismo modo, con Belman (2019) reporta que los picos de Si detectados por EDS son indicadores confiables de una cobertura completa del núcleo magnético.

8.2. ANÁLISIS CRISTALOGRÁFICO POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)

Gracias al difractograma obtenido tras el análisis por DRX, se puede determinar la estructura cristalina, así como otros datos: parámetros de red y tamaño del cristal de cada muestra. La figura 25, presenta los espectros correspondientes a las muestras de ferrita tipo espinela con fórmula $\text{Mn}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$, sintetizadas con tres diferentes concentraciones de Zn: $x = 0.25$ (negro), $x = 0.5$ (rojo) y $x = 0.75$ (azul). Los difractogramas presentan picos bien definidos, correspondientes a los planos cristalográficos (111), (220), (311), (222), (400), (422), (511), (440), (533) y (731), lo cual indica una estructura espinela cúbica bien cristalina (Cullity & Stock, 2001).

Los datos de difracción se alinean con los valores reportados en la tarjeta JCPDS No. 74-2401 para ferritas tipo Mn-Zn, confirmando la formación de la fase deseada sin presencia de fases secundarias. Esto respalda la alta pureza estructural de los materiales sintetizados.

Se observa también, que, al incrementar la concentración de Zn, algunos picos experimentan un ligero desplazamiento hacia mayores valores de 2θ , lo que puede explicarse por el aumento en el parámetro de red, dado que el ion Zn^{2+} (0.74 Å) es más grande que el ion Mn^{2+} (0.67 Å), provocando una expansión de la celda unitaria (Gabal et al., 2013).

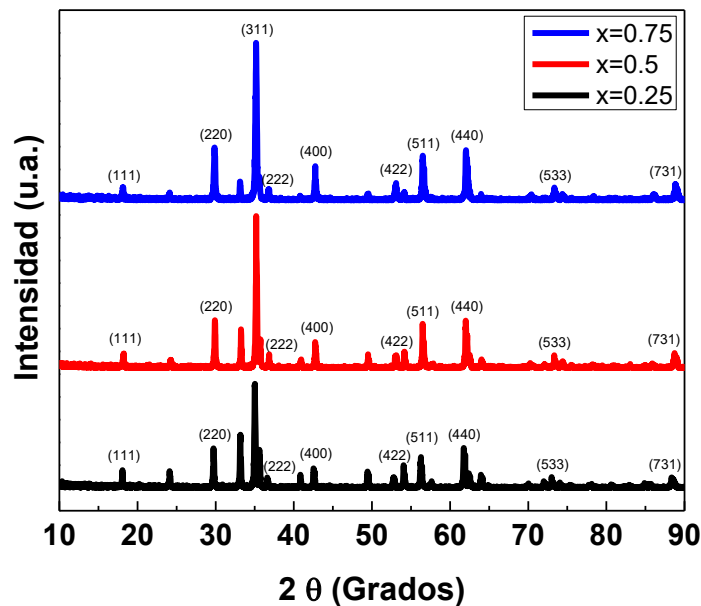


Figura 25. Espectros de DRX del núcleo magnético (ferrita de Mn-Zn)

El análisis del ancho completo a media altura (FWHM) del pico (311), mediante la ecuación de Scherrer (1) se obtuvo recurriendo al análisis con el software OriginPro-9 y se obtuvo el comportamiento gaussiano del pico representativo seleccionado:

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (1)$$

Entendiendo que D indica tamaño de cristalita (nm), K es la constante de forma (usualmente ≈ 0.9), λ es la longitud de onda del rayo X (para Cu $K\alpha$, $\lambda \approx 0.15406$ nm), β es el FWHM en radianes y θ es el ángulo de Bragg. Sustituyendo valores obtenemos:

$$D = \frac{0.9 (0.15406 \text{ nm})}{\left(\frac{0.25052\pi}{180}\right) \cos\left(\frac{35.17}{2}\right)} = 33.26 \text{ nm}$$

El cálculo arrojó un tamaño promedio de cristalito de aproximadamente 33.26 nm, lo cual indica una microestructura nanocristalina. Aunque este valor supera el umbral típico de 20 nm para el comportamiento superparamagnético, se debe considerar que el tamaño de cristalita no necesariamente corresponde al tamaño de partícula observado en TEM, ya que una partícula puede estar compuesta por múltiples dominios cristalinos.

La importancia de un tamaño reducido (<20 nm) en nanopartículas magnéticas radica en la posibilidad de alcanzar un comportamiento superparamagnético, donde los dominios magnéticos se comportan como momentos individuales susceptibles a un campo externo sin presentar histéresis (Wahajuddin & Arora, 2012). Aunque en este caso el tamaño de cristalita es mayor, otros factores como la distribución de cationes y el recubrimiento superficial también pueden influir en las propiedades magnéticas, como se observará en los resultados de magnetometría.

La nitidez y simetría de los picos además sugieren una buena cristalinidad y baja presencia de impurezas o fases secundarias. A medida que aumenta el contenido de zinc ($x = 0.25 \rightarrow 0.75$), se observa un ligero aumento en la intensidad de los picos y un posible ensanchamiento, lo que puede deberse a tensiones internas en la red o a una mayor dispersión del tamaño de cristalita (Pérez-Alonso et al., 2022).

8.3. ANÁLISIS DE COMPORTAMIENTO MAGNÉTICO MEDIANTE EL MAGNETÓMETRO DE MUESTRA VIBRANTE (VSM)

La figura 26 muestra las curvas de histéresis obtenidas para las ferritas $\text{Mn}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ (izquierda) y sus equivalentes recubiertos con sílice $\text{Mn}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ (derecha), en concentraciones de $x = 0.25, 0.5$ y 0.75 . En ambos casos se observa un comportamiento característico de materiales magnéticos blandos, con ciclos de histéresis estrechos y magnetización de saturación (M_s) moderada.

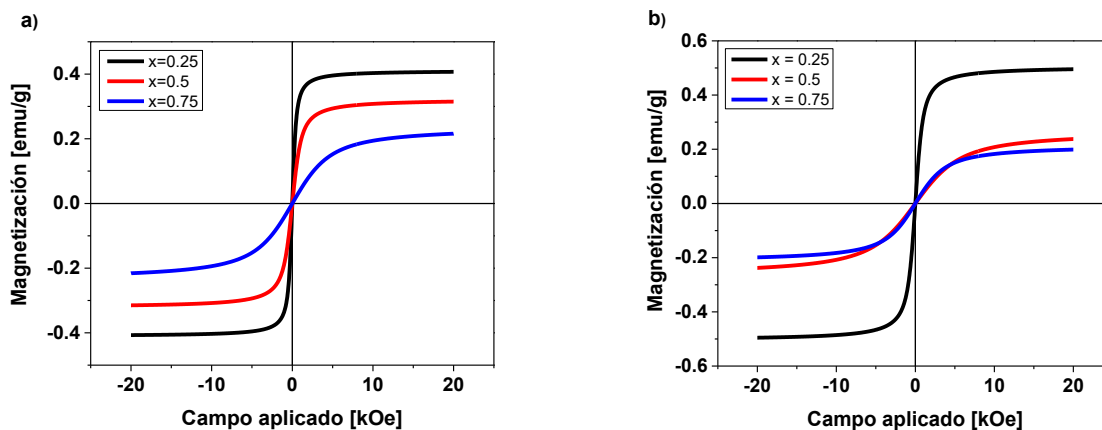


Figura 26. Curvas VSM de la ferrita sin recubrir a) y recubierta con SiO_2 b)

En las ferritas sin recubrimiento [figura 26 a)], la muestra con $x = 0.25$ presenta la mayor magnetización de saturación, seguida por $x = 0.5$ y finalmente $x = 0.75$. Esta tendencia es atribuible al hecho de que la sustitución progresiva de Mn^{2+} (ion magnético) por Zn^{2+} (ion no magnético) reduce la contribución al momento magnético total de la celda unitaria, ya que el Zn^{2+} prefiere ocupar sitios tetraédricos a octaédricos, debilitando el acoplamiento A–B (referente a su empaquetamiento) entre subredes y disminuyendo la magnetización neta (Vittoria, 2010).

Al recubrir las ferritas con sílice [figura 26 b)], se observa una disminución general en los valores de M_s para todas las concentraciones, lo cual se debe a la presencia de una capa no magnética de SiO_2 que diluye la densidad de espines magnéticos por unidad de masa del material. Este efecto ha sido reportado por Unni et al. (2017), quienes demostraron que el recubrimiento con sílice reduce la respuesta magnética sin alterar significativamente la estructura cristalina.

Si bien las curvas presentan una histéresis leve —particularmente marcada en la muestra con $x = 0.25$ —, tanto la coercitividad (H_c) como la remanencia (M_r) son pequeñas, indicando un comportamiento cercano al superparamagnetismo, especialmente en las muestras con mayor contenido de Zn ($x = 0.5$ y 0.75). Este fenómeno es característico de nanopartículas con tamaños menores a 50 nm, donde la energía térmica es suficiente para desordenar los momentos magnéticos cuando el campo aplicado desaparece (Soufi et al., 2021).

Aunque el tamaño de cristalito calculado por DRX fue de aproximadamente 33 nm, el análisis por TEM reveló partículas con dimensiones efectivas inferiores, lo que sugiere que una fracción significativa de la muestra podría presentar un comportamiento superparamagnético. La forma sigmoidea de las curvas M vs H y la ausencia de coercitividad notable en $x = 0.75$ refuerzan esta interpretación.

Para analizar con mayor precisión el comportamiento superparamagnético, los datos experimentales fueron ajustados mediante la ecuación de Langevin (2) utilizando el software OriginPro-9, que permite el ajuste no lineal de la magnetización (M) en función del campo aplicado (H) de la forma siguiente:

$$M(H) = M_s \left[\coth \left(\frac{\mu H}{kT} \right) - \frac{kT}{\mu H} \right] \quad (2)$$

Donde $M(H)$ es la magnetización a un campo aplicado H , M_s es la magnetización de saturación, μ es el momento magnético promedio por partícula, k_B es la constante de Boltzmann, y T es la temperatura absoluta (en Kelvin).

El ajuste permitió estimar valores de M_s y μ que concuerdan con los obtenidos experimentalmente, confirmando el carácter superparamagnético de las ferritas sintetizadas. Según Kumar et al. (2013), este tipo de ajuste permite diferenciar el comportamiento ideal superparamagnético del ferromagnético, ya que las curvas experimentales se aproximan al modelo de Langevin cuando la anisotropía y la interacción entre partículas son mínimas.

El buen ajuste del modelo, evidenciado por un coeficiente de correlación $R^2 > 0.98$, confirma que las nanopartículas presentan una distribución de tamaño homogénea y que la magnetización está dominada por momentos individuales no acoplados, lo cual es deseable para su aplicación en biosensores magnéticos, donde se busca una respuesta reversible y sin retentividad.

Por otro lado, las curvas de Thammé-Hesse presentadas en la figura 27 corresponden a la representación de la diferencia de magnetización $\Delta M_{\text{Thammé-Hesse}}$ frente al campo aplicado, y se utilizan para evaluar las interacciones magnéticas interpartícula en sistemas nanoparticulados. Esta técnica, basada en el formalismo propuesto por Thammé y Hesse, permite discriminar entre interacciones atractivas o repulsivas que podrían afectar el comportamiento magnético colectivo del sistema (Thammé & Hesse, 1995).

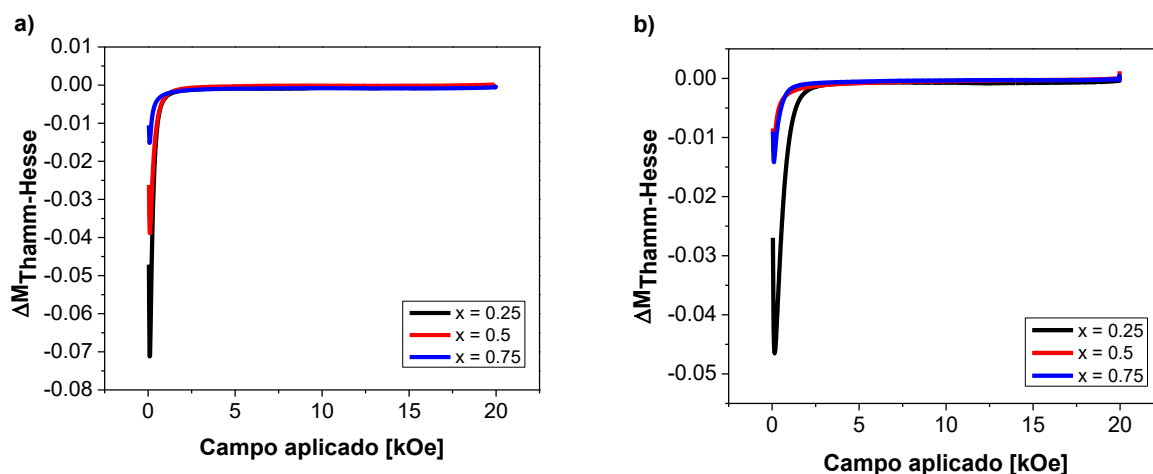


Figura 27. Curvas Thamm-Hesse de la ferrita sin recubrir a) y recubierta con SiO_2 b)

En ambas gráficas —tanto para $\text{Mn}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ [Figura 27 a)] como para $\text{Mn}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ [Figura 27 b)]— se distinguen dos regiones magnéticas con comportamientos diferenciados. En la región de bajo campo aplicado (0–1 kOe aproximadamente) se observan valores negativos de ΔM , lo que evidencia la presencia de interacciones dipolares de carácter repulsivo entre las nanopartículas. A medida que el campo magnético aumenta, el valor de ΔM tiende a cero, indicando la disminución de dichas interacciones y la predominancia de un comportamiento superparamagnético, donde los momentos magnéticos individuales responden de forma reversible al campo externo. Este fenómeno coincide con lo reportado por López-Medina et al. (2024) en sistemas de ferritas mixtas $\text{Ni}_{1-x}\text{Co}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$, donde las curvas Thamm–Hesse revelan un dominio dipolar en campos bajos y una transición hacia el acoplamiento superparamagnético conforme se incrementa la intensidad del campo aplicado, característica de materiales magnéticos blandos con baja coercitividad y alta magnetización reversible.

Para las ferritas sin recubrimiento, la muestra con $x = 0.25$ presenta una diferencia ΔM más pronunciada, lo que puede atribuirse a su mayor magnetización de saturación (M_s), que amplifica las interacciones magnéticas dipolares en el sistema.

A medida que aumenta el contenido de Zn ($x = 0.5$ y 0.75), la intensidad de ΔM disminuye, lo cual es coherente con la reducción de M_s observada en los ciclos de histéresis, confirmando que la sustitución de Mn^{2+} por Zn^{2+} atenúa las interacciones magnéticas.

En el caso de las muestras recubiertas con SiO_2 , todas las curvas muestran valores aún más reducidos de ΔM , en comparación con sus equivalentes sin recubrimiento. Esto puede explicarse por la acción del recubrimiento de sílice como una barrera física, que incrementa la distancia entre núcleos magnéticos y disminuye significativamente las interacciones interpartícula (Wu et al., 2008). Este efecto es deseable para aplicaciones biomédicas, ya que favorece la estabilidad coloidal y evita el aglomeramiento por atracción magnética.

La confirmación de interacciones dipolares repulsivas, junto con la baja coercitividad y remanencia observadas en las curvas de histéresis, refuerzan el comportamiento superparamagnético del sistema. Esto es crucial para el uso de estas nanopartículas como materiales base en biosensores magnéticos, ya que garantiza que las partículas no se aglutinen y que su respuesta a campos externos sea rápida y reversible (Katz, 2020).

8.4. ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

La FTIR permite identificar grupos funcionales presentes en la superficie de los nanomateriales, siendo una herramienta clave para confirmar procesos de recubrimiento y funcionalización química. La figura 28 presenta los espectros correspondientes a las ferritas recubiertas con sílice [Figura 28 a)] y funcionalizadas con APTES [Figura 28 b)], considerando tres concentraciones distintas de Zn ($x = 0.25, 0.5, 0.75$).

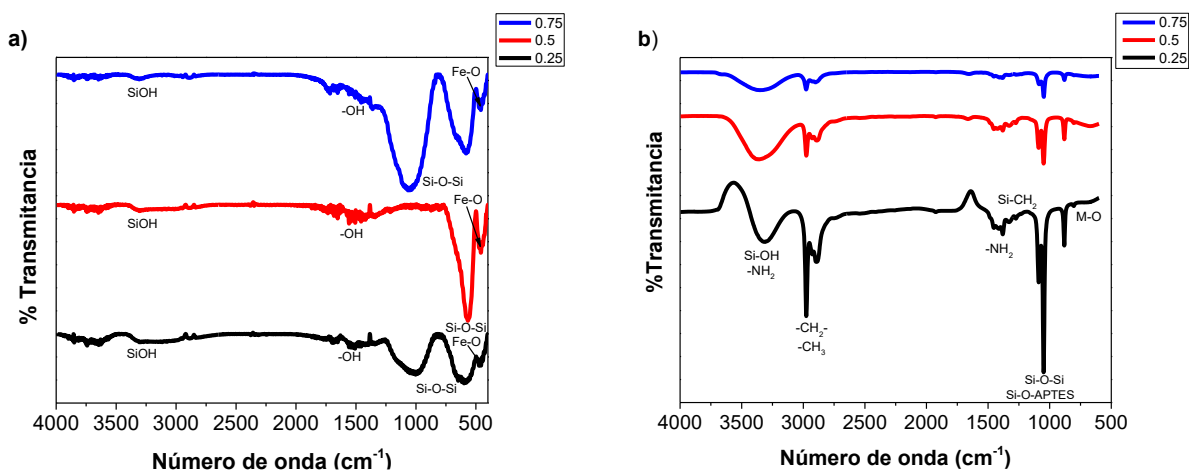


Figura 28. Espectroscopía por transformada de Fourier, ferrita recubierta a) y funcionalizadas con APTES b)

En la figura 28 a), se observa en todas las muestras una banda intensa entre $850\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$, atribuida a la vibración asimétrica de Si–O–Si, lo cual confirma la presencia del recubrimiento de sílice amorfa sobre las nanopartículas (Iqbal et al., 2012). Además, las señales alrededor de 1630 cm^{-1} se corresponden con las vibraciones de deformación del grupo OH del agua absorbida superficialmente o de grupos silanoles (Si–OH), mientras que las amplias bandas cerca de 3400 cm^{-1} indican estiramientos del grupo hidroxilo, también asociados al contenido superficial de humedad. Por otro lado, las bandas situadas por debajo de 600 cm^{-1} , particularmente en la región de 550 cm^{-1} , son características de las vibraciones del enlace Fe–O del núcleo espinela de la ferrita (Wang et al., 2009), confirmando que la estructura principal del óxido metálico se conserva tras el recubrimiento.

Los espectros de la figura 28 b) muestran diferencias significativas con respecto al espectro de la ferrita únicamente recubierta con sílice, evidenciando la exitosa funcionalización con APTES (3-aminopropiltriethoxisilano). Se identifican nuevas bandas en la región de $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$, atribuibles a los modos de estiramiento --CH_2 y --CH_3 del grupo propilo del APTES, ausentes en las muestras no funcionalizadas.

En la región cercana a los 1500 cm^{-1} , se presentan bandas asignadas a las vibraciones de deformación de los grupos --NH_2 (asimétricas y simétricas), lo cual confirma la presencia de grupos aminos disponibles para reacciones posteriores de bioconjugación (como el anclaje de anticuerpos).

Las bandas entre $1050\text{--}1150\text{ cm}^{-1}$, además del Si–O–Si, ahora se solapan con las señales de los enlaces Si–O–APTES, producto de la condensación del APTES sobre la capa de sílice.

Finalmente, las bandas en $500\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ correspondientes a Fe–O se mantienen, aunque con menor intensidad relativa, debido al apantallamiento de la señal por el recubrimiento orgánico.

Estos resultados permiten confirmar no solo el recubrimiento exitoso con sílice, sino también la efectiva funcionalización con APTES, lo que asegura la disponibilidad de grupos funcionales (--NH_2) sobre la superficie del nanomaterial, cruciales para el posterior anclaje covalente de biomoléculas en la construcción del biosensor.

La combinación de espectros en esta figura demuestra la evolución superficial de las nanopartículas en cada etapa del proceso. La presencia simultánea de bandas correspondientes a enlaces inorgánicos (Fe–O, Si–O–Si) y orgánicos (C–H, N–H) evidencia la hibridación inorgánico-orgánica lograda, un requisito fundamental para el éxito del biosensor, donde se requiere una interfaz compatible entre la nanopartícula y el medio biológico.

8.4.1. DETECCIÓN DEL ANTICUERPO SOPORTADO SOBRE LA SUPERFICIE DEL MATERIAL FUNCIONALIZADO.

En la figura 29 se presentan los espectros FTIR correspondientes al sistema magnético funcionalizado con APTES y posteriormente biofuncionalizado con el anticuerpo monoclonal anti-E7, para las distintas concentraciones de Zn ($x = 0.25, 0.5$ y 0.75). La banda negra en cada gráfico representa el espectro del material funcionalizado únicamente con APTES ($\text{Mn}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-APTES}$), mientras que las curvas superiores corresponden a las mediciones posteriores a la inmovilización del anticuerpo, designadas como Ab, Ab-1, Ab-2, etc., tomadas a diferentes tiempos con el objetivo de evaluar la estabilidad del enlace en fase líquida.

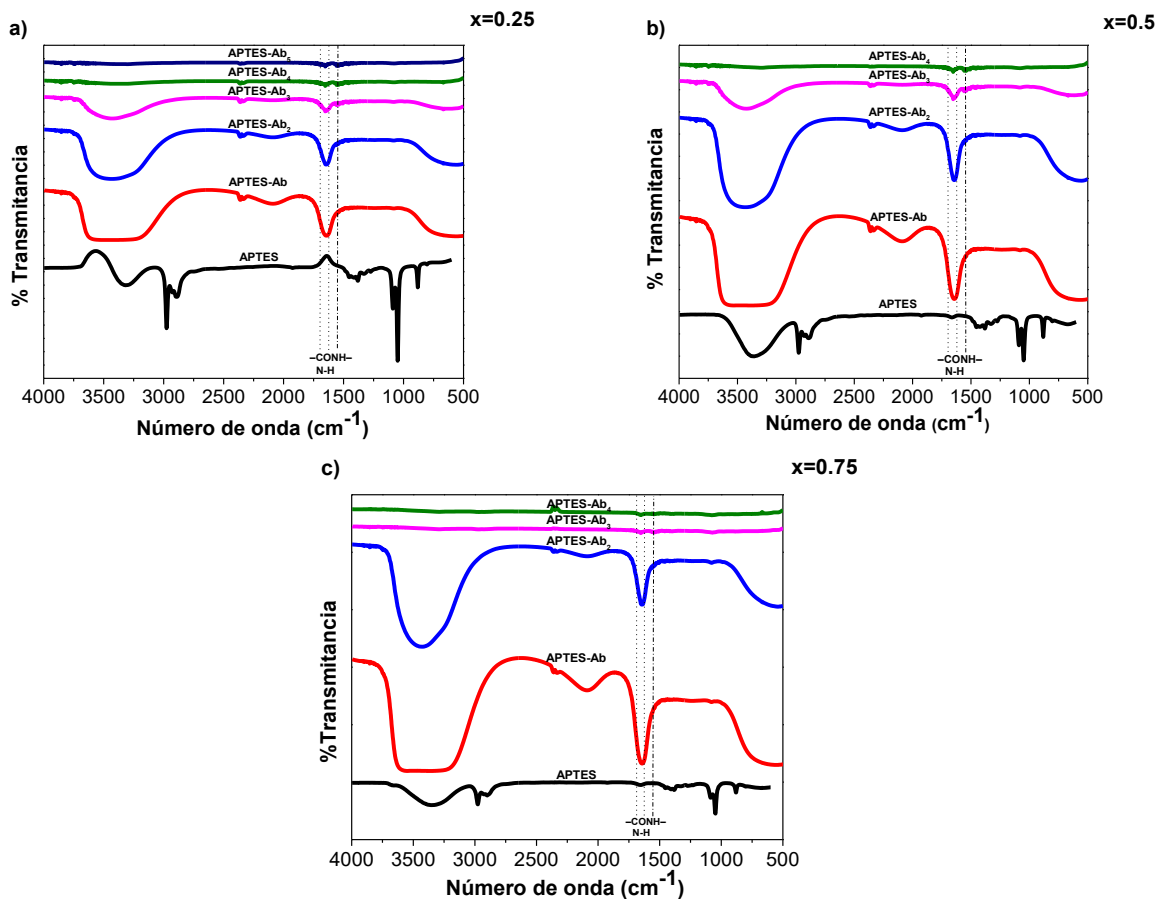


Figura 29. Espectroscopía por transformada de Fourier, sistema magnético biofuncionalizado con el anticuerpo anclado; a) $x=0.25$, b) $x=0.5$, c) $x=0.75$

La aparición y desplazamiento de las bandas asociadas al grupo N–H (alrededor de $1630\text{--}1697\text{ cm}^{-1}$) constituye la principal evidencia espectroscópica del anclaje covalente del anticuerpo sobre la superficie del material. En los espectros de los materiales funcionalizados únicamente con APTES (banda

negra), se observa la señal característica de los grupos -NH_2 libres provenientes del extremo terminal del APTES. Sin embargo, tras la reacción de activación llevada a cabo mediante EDC/NHS, se aprecia una disminución significativa en la intensidad de esta señal, acompañada de un leve corrimiento hacia frecuencias más bajas, atribuible a la formación de enlaces amida I y II (-CONH-) entre los grupos carboxilo del anticuerpo y los grupos amino del silano alrededor de los $1550\text{-}1635\text{ cm}^{-1}$ (Kandimalla et al., 2006; Díaz et al., 2022; Ferri et al., 2005).

La carbodiimida EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) actúa como agente activador de los grupos carboxílicos presentes en el anticuerpo, generando un intermediario O-acil-isourea de alta reactividad, mientras que el NHS (N-hidroxisuccinimida) estabiliza este intermedio, favoreciendo una reacción más eficiente con los grupos amino de la superficie APTES. El resultado es la formación de un enlace covalente tipo amida estable, que asegura la inmovilización del anticuerpo sin afectar su estructura nativa ni su capacidad de reconocimiento biológico (Hermanson, 2013).

Este comportamiento espectral coincide con lo reportado por Díaz et al. (2022) en su trabajo "*Optimized antibody immobilization on natural silica-based nanostructures for the selective detection of E. coli*", donde la aparición de la banda asociada al estiramiento N-H y la atenuación de la señal del -NH_2 se emplearon como indicadores directos de un anclaje covalente exitoso del anticuerpo sobre sustratos de sílice funcionalizados con APTES. De manera análoga, los resultados obtenidos en este estudio confirman la efectividad del proceso de bioconjugación sobre la superficie de las nanopartículas magnéticas recubiertas.

Asimismo, la persistencia de la banda N-H a lo largo de las diferentes mediciones temporales (Ab_1 , Ab_2 , Ab_3 , etc.) demuestra la estabilidad química del enlace formado, lo cual es fundamental en aplicaciones biosensoras donde se requiere mantener la integridad del bioconjugado durante múltiples ciclos de medición. La conservación del perfil espectral indica que no se produjo desorción significativa del anticuerpo en medio acuoso, lo que sugiere una fuerte unión covalente y una mínima pérdida por adsorción física reversible.

Cabe destacar que, además de las señales N-H, se observan ligeras variaciones en la región comprendida entre $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$, correspondientes al estiramiento Si-O-Si y Si-O-C, lo que podría atribuirse a pequeñas reorganizaciones estructurales en la capa superficial de APTES tras la conjugación. Este fenómeno es común en sistemas silanizados y no afecta la estabilidad global del material (Nisticò et al., 2017).

En conjunto, los resultados de FTIR evidencian de manera concluyente que el anticuerpo anti-E7 fue inmovilizado covalentemente sobre la superficie del nanomaterial $\text{Mn}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-APTES}$, logrando la obtención de un sistema magnético biofuncionalizado estable.

9. CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se logró la síntesis y la caracterización estructural, morfológica, magnética y funcional de nanopartículas magnéticas tipo espinela $\text{Mn}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ ($x = 0.25, 0.5$ y 0.75), con el objetivo de emplearlas como plataformas para el diseño de un biosensor orientado a la detección temprana de la proteína E7 del Virus del Papiloma Humano (VPH). Las nanopartículas fueron obtenidas mediante el método de coprecipitación química, recubiertas con sílice (SiO_2) y funcionalizadas con 3-aminopropiltriethoxisilano (APTES), lo que permitió posteriormente el anclaje covalente de anticuerpos monoclonales específicos mediante activación carbodiimida (EDC/NHS).

Las nanopartículas preparadas tienen morfología predominantemente esférica y tamaño nanométrico, con núcleos magnéticos promedio menores a 50 nm, lo que satisface un criterio esencial para alcanzar comportamiento superparamagnético. Se logró mejorar la estabilidad coloidal del sistema mediante el recubrimiento de las nanopartículas con sílice, con lo que se disminuyó la ligera aglomeración observada inicialmente, atribuida a interacciones dipolares.

Las nanopartículas contienen la composición elemental esperada de la ferrita, con presencia, mediante análisis EDS, de Fe, Mn, Zn y O, así como de Si tras el recubrimiento, confirmando la eficacia del proceso de silanización.

El estudio estructural mostró la formación de una fase espinela cúbica (grupo espacial Fd3m) sin presencia de fases secundarias, validando la pureza estructural del sistema. Los planos cristalográficos (111), (220), (311), (400), (422), (511), (440), entre otros, coincidieron con la ficha JCPDS correspondiente a ferritas de Mn-Zn. Se calculó el tamaño de cristalito, utilizando el ancho medio de línea (FWHM = 0.23) en el plano (311) y aplicando la ecuación de Scherrer, obteniendo un valor promedio de 33 nm, en concordancia con lo reportado para sistemas con comportamiento superparamagnético.

Las nanopartículas presentan un carácter superparamagnético de acuerdo con las curvas de histéresis estrechas y simétricas obtenidas, con valores de coercitividad (H_c) y remanencia (M_r) prácticamente nulos. La magnetización de saturación (M_s) disminuyó con el aumento del contenido de Zn, debido al remplazo de iones magnéticos Mn^{2+} por iones no magnéticos Zn^{2+} , fenómeno atribuido al debilitamiento del acoplamiento A-B entre subredes. Tras el recubrimiento con sílice, la magnetización se redujo levemente, sin alterar la fase cristalina ni el comportamiento magnético general.

El comportamiento superparamagnético se describió cuantitativamente mediante el ajuste de las curvas M-H al modelo de Langevin. Se obtuvo una concordancia satisfactoria entre los datos experimentales y teóricos, confirmando la presencia de una distribución homogénea de momentos magnéticos y reforzando la hipótesis de un sistema superparamagnético dominado por interacciones dipolares repulsivas, según las curvas de Thamm-Hesse, donde el valor negativo de ΔM indicó la predominancia de interacciones repulsivas y dispersión efectiva de las nanopartículas.

Se confirmó el anclaje de la capa de silano sobre la superficie de sílice mediante la presencia de las bandas características de los grupos Si-OH, Si-O-Si y -NH₂ del APTES, indicando la funcionalización química. Tras la biofuncionalización, se observó la aparición y desplazamiento de las bandas N-H, asociadas a la formación de enlaces amida (-CONH-) entre los grupos amino del APTES y los carboxilos del anticuerpo, evidenciando un anclaje covalente exitoso.

Las mediciones tomadas a distintos tiempos demostraron la estabilidad del enlace y la conservación de la señal N-H, indicando que el sistema mantiene su integridad estructural en medios líquidos, condición esencial para su aplicación biosensora.

Aunque la validación final por voltamperometría cíclica queda propuesta como trabajo futuro inmediato, este estudio logró exitosamente la fabricación completa del electrodo modificado, validando cada etapa de funcionalización química y bio-reconocimiento.

Finalmente, la hipótesis planteada en este trabajo se cumple satisfactoriamente, dado que se logró demostrar que la síntesis y funcionalización de nanopartículas magnéticas tipo $Mn_{1-x}Zn_xFe_2O_4$ recubiertas con sílice y modificadas con APTES permitió el anclaje covalente y estable de anticuerpos monoclonales anti-E7 del VPH.

El proceso de biofuncionalización activado por EDC/NHS facilitó la formación de enlaces amida (-CONH-) entre los grupos carboxilo del anticuerpo y los grupos amino del APTES, confirmándose experimentalmente mediante FTIR la aparición de la banda N-H y la disminución de la señal -NH₂ libre, lo cual evidencia la interacción covalente entre ambas entidades. Estos resultados validan la viabilidad del sistema nanoestructurado como plataforma base para biosensores magnéticos orientados a la detección de biomarcadores virales, en particular la oncoproteína E7 del VPH.

10. PERSPECTIVAS Y TRABAJOS A FUTURO

Como proyección de trabajo futuro, se plantea optimizar el montaje electroquímico mediante la implementación de una referencia Ag/AgCl fabricada in situ o el uso de pseudoelectrodos estables, con el fin de realizar mediciones voltamétricas reproducibles y precisas. Una vez establecido este sistema, será

posible evaluar la respuesta electroquímica frente a la proteína E7 recombinante, determinando parámetros clave como la sensibilidad, especificidad y límite de detección del biosensor propuesto. Asimismo, se propone la microintegración del sistema en plataformas portátiles tipo LFA (*Lateral Flow Assay*) o Lab-on-Chip, orientadas al diagnóstico rápido y accesible, lo cual ampliaría su aplicabilidad clínica. Finalmente, será esencial explorar la especificidad cruzada con otras proteínas virales estructuralmente relacionadas y evaluar la estabilidad del anticuerpo anclado en el tiempo, garantizando la reproducibilidad y vida útil del sistema biosensor a nivel experimental y preclínico.

11. ANEXOS

11.1. ELECTRODOS Y BIOSENSORES: ANÁLISIS DE ESTRATEGIAS Y APLICACIONES

La literatura analizada detalla el uso de diversas plataformas de electrodos y estrategias innovadoras para el diseño de biosensores, principalmente en aplicaciones biomédicas. Algunos tipos son:

1. **Electrodos de Carbono Vítreo (GC):**

- Caracterizados por su buena conductividad y estabilidad química, estos electrodos son ampliamente modificados para aplicaciones específicas.
- **Ejemplo:** La modificación con óxido de grafeno reducido poroso (prGO) y sulfuro de molibdeno (MoS₂) potencia la respuesta electroquímica al incrementar el área superficial y las propiedades electrónicas. Este enfoque ha sido utilizado para detectar la proteína L1 del Virus del Papiloma Humano (HPV). (Mihaela Tertiş et al., 2019; Mojtaba, Behbudi, Alireza, et al., 2021).

2. **Electrodos de Oro:**

- Reconocidos por su excelente conductividad y facilidad para funcionalizar con biomoléculas como aptámeros y anticuerpos.
- **Aplicaciones destacadas:**
 - Desarrollo de un biomicrosistema con 98 biosensores de oro para la detección del HPV 16. (Urrego, Lopez, Ramirez, et al., 2015). Aquí se desarrolló un biomicrosistema con **98 biosensores de oro**, cada uno diseñado para detectar genotipos específicos del VPH mediante anticuerpos monoclonales inmovilizados. Utilizando la interacción tiol-oro para fijar estos anticuerpos en la superficie del electrodo, este sistema permite realizar pruebas simultáneas y detectar múltiples genotipos de VPH en una sola ejecución. Además, se usó la técnica empleada para la detección, basada en **resistencia e impedancia electroquímica (EIS)**, permitiendo una identificación precisa de la presencia del virus mediante cambios en la impedancia, lo que aumenta la exactitud en muestras complejas.
 - Modificación con polímeros conductores como PEDOT para mejorar la señal eléctrica en la detección de la proteína S del SARS-CoV-2. (Bucio, 2023)
 - Funcionalización con aptámeros para la detección de ADN viral.

3. **Electrodos Serigrafiados:**

- Fabricados de forma económica, son ideales para aplicaciones portátiles y de bajo costo.
- **Ejemplo:** Modificación con nanopartículas de óxido de cerio dopado con estaño para la detección del fármaco anticancerígeno dacarbazina. (Gulati et al., 2023; Thakur et al., 2022)

4. **Electrodos de Pasta de Carbono:**

- Ofrecen flexibilidad en la modificación química, siendo útiles para aplicaciones específicas. Su contraparte es la alta resistividad que presenta, por lo que su uso se reserva según el aparato que se emplee para medir.
- **Ejemplo:** Su modificación con nanopartículas de óxido de indio permitió la detección del inhibidor de la aromataso formestano. (Švancara, et al., 2001)

Sumado a lo anterior, existen algunas estrategias para el desarrollo de biosensores, como lo es la funcionalización de la superficie del electrodo, lo que permitirá la inmovilización de biomoléculas específicas, como aptámeros, anticuerpos y nanopartículas, aumentando la selectividad y sensibilidad hacia los analitos de interés. (Bucio, 2023)

Así mismo, la inmovilización de enzimas, que mejora la estabilidad y reutilización del biosensor al fijar enzimas en la superficie del electrodo, lo que permite la detección de analitos específicos mediante reacciones enzimáticas controladas. (Urrego, Lopez, Ramirez, et al., 2015)

Los principales usos que se le ha dado, en el estudio de biosensores, han sido para lograr la caracterización de la superficie de electrodos de trabajo, crucial para comprender cómo la superficie del electrodo interactúa con las biomoléculas y cómo afecta la señal del biosensor; el estudio de la inmovilización de biomoléculas, donde el cambio en la señal electroquímica después de la inmovilización proporciona información sobre la cantidad de biomoléculas inmovilizadas y la eficiencia del proceso (Urrego, Lopez, Ramirez, et al., 2015); la evaluación de la interacción entre el analito y el bioreceptor, derivado del cambio en la señal electroquímica cuando el analito se une al bioreceptor, lo que permite la detección y cuantificación del analito (Rasouli, Shahnavaz, Jeffrey, et al., 2018); así como el monitoreo de procesos bioelectroquímicos, usado para monitorear procesos bioelectroquímicos que ocurren en la superficie del electrodo, como la actividad enzimática o la hibridación de ADN. (Chekin, Bagga, Subramanian, et al., 2018)

Un claro ejemplo de su aplicación fue en el trabajo de Bucio (2023), donde se usaron nanopartículas magnéticas de ferrita de níquel (NiFe_2O_4) recubiertas con SiO_2 y funcionalizadas con anticuerpos monoclonales para detectar la proteína S del virus SARS-CoV-2. Se utilizó la Voltamperometría Cíclica (VC) para caracterizar la superficie del electrodo de oro modificado con el polímero conductor PEDOT y las nanopartículas magnéticas funcionalizadas. Se observó una disminución en la señal de corriente debido al apantallamiento de la superficie del electrodo por los grupos carboxílicos cargados negativamente provenientes de la etapa de funcionalización.

Después de la inmovilización de los anticuerpos, la VC se utilizó para evaluar la interacción entre el anticuerpo y la nanopartícula funcionalizada. Posterior a eso, se realizaron mediciones de voltametría de onda cuadrada (SWV) para mejorar la sensibilidad del biosensor y eliminar la corriente capacitiva. Se observó un aumento en la señal de corriente cuando la proteína S se unió a los anticuerpos, lo que indica la detección de la proteína.

Debido a tiempos de llegada no se logró obtener la referencia necesaria para la realización de los ensayos de voltamperometría cíclica (CV) y voltamperometría de onda cuadrada (SWV). Sin embargo, se propone el procedimiento para su posterior realización puesto en el apartado de metodología como la parte 3 de la cuarta etapa. Aun así, se describe proceso consecuente para trabajos a futuro.

11.2. CUARTA ETAPA (PARTE 1): CREACIÓN DE ELECTRODOS DE ORO

Inicialmente, se realizó una plantilla de electrodos en chip serigrafiados en AutoCAD, que, posteriormente, se imprimió en un Ultimaker 3 Extended. Posteriormente, se depositó una capa un metal conductor por 10 min (en este caso oro), obteniendo un espesor de entre 100 y 200 nm mediante evaporación térmica, esto sobre un sustrato de elección, que, para este caso, se recurrió al acetato. Finalmente, luego de remover las plantillas, los electrodos obtenidos se separaron y se posicionaron en un adaptador (diseñado en Fusion) para poder realizar evaluaciones electroquímicas sin la necesidad de utilizar un equipo especializado para la lectura de electrodos en chip.

Nota: El electrodo de trabajo y contraelectrodo tienen base de oro, por lo que no se necesita un tratamiento adicional a estos. No obstante, el electrodo de referencia deberá ser compuesto de una capa de pintura de Ag/AgCl . Los electrodos se conectan mediante una pintura dieléctrica, además de que los

caminos eléctricos de oro pueden ser reforzados y amplificados en señal mediante el recubrimiento con cintas de cobre o algún polímero conductor (NAFION, PVP, etc.). Lo anterior también permite una mejor interacción y evita fracturas en el dispositivo.

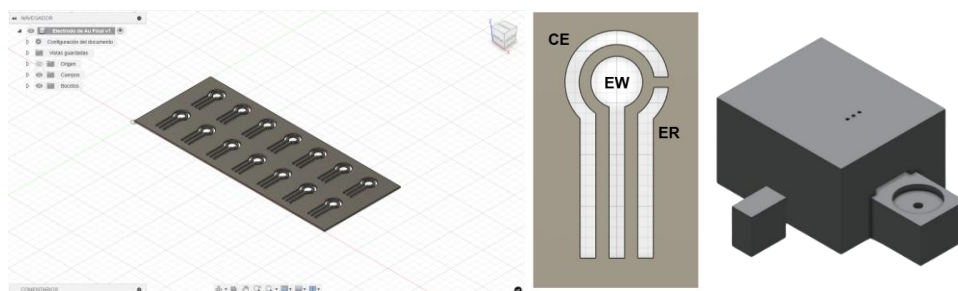


Figura 30. (a) Diseño del molde para electrodos; (b) Estructura de los electrodos; (c) Base diseñada para mediciones *in situ*

11.3. CUARTA ETAPA (PARTE 2): FUNCIONALIZACIÓN DE ELECTRODOS DE TRABAJO

Los electrodos de trabajo secos se funcionalizaron con EDC/NHS de la misma forma que en la sección anterior y se dejaron incubar por 20 min. Tras un lavado con buffer PBS, se colocaron 8 μL de solución de Abs y se incubaron a temperatura ambiente durante 2 horas. Pasado este tiempo se realizaron mediciones de voltamperometría cíclica (CV).

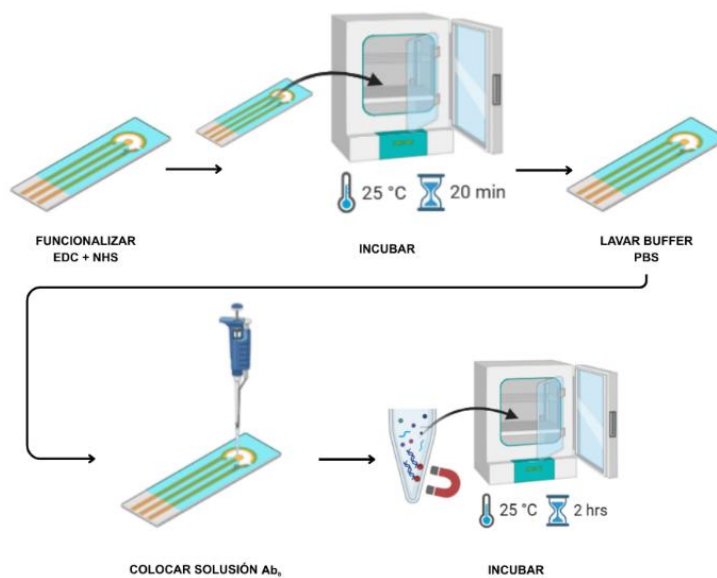


Figura 31. Esquema del anclaje del anticuerpo y preparación de los electrodos

11.4. CUARTA ETAPA (PARTE 3): EVALUACION Y DETECCIÓN DE LA PROTEÍNA

En esta etapa, se prepararon diluciones de proteína E7 en buffer PBS partiendo desde una concentración de 1 μL de proteína por cada mililitro y llegando hasta 0.00005 $\mu\text{L}/\text{ml}$ [Revisar tabla 4].

Tabla 4. Tabla de relaciones para las diluciones realizadas

CONCENTRACIÓN DESEADA	PREPARACIÓN
0.05 $\mu\text{L}/\text{mL}$	50 μL stock + 950 μL PBS
0.005 $\mu\text{L}/\text{mL}$	100 μL de anterior + 900 μL PBS
0.0005 $\mu\text{L}/\text{mL}$	Igual: 1:10 de la anterior
0.0000005 $\mu\text{L}/\text{mL}$	Igual: 1:10 de la anterior

A cada tubo se le adicionaron 20 μL de solución de nanopartícula con Ab. Se colocó una cantidad suficiente para cubrir el electrodo de trabajo. Para poder realizar mediciones tanto para la proteína como a sus disoluciones mediante voltamperometría de onda cuadrada (SWV) y voltamperometría cíclica (CV), se deposita una solución redox (ferricianuro/ferrrocianuro en PBS): Aproximadamente 80 μL de esta solución sobre el electrodo. Esta es la solución de medición, que responde electroquímicamente a los cambios en la superficie causados por la unión proteína-anticuerpo.

12. REFERENCIAS

- American Cancer Society. (2021). *VPH y cáncer*. <https://www.cancer.org/es/cancer/prevencion-del-riesgo/vph/vph-y-cancer.html>
- Amrul, A; Parmin, N; Hashim, U; et al. (2020). Gold Nanoparticles Enhanced Electrochemical Impedance Sensor (EIS) for Human Papillomavirus (HPV) 16 Detection E6 region. *IOP Conference Series Materials Science and Engineering*, 864(1), 012165–012165. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/864/1/012165>
- Arana, M & Bercoff, P. (2011). Preparación y caracterización de ferritas de Mn-Zn para diferentes aplicaciones. *Unc.edu.ar*. <http://hdl.handle.net/11086/60>
- Ardekani, A., Taherifard, E., Mollalo, A., Hemadi, E., Roshanshad, A., Fereidooni, R., Rouholamin, S., Rezaeinejad, M., Farid-Mojtahedi, M., Razavi, M., & Rostami, A. (2022). Human Papillomavirus Infection during Pregnancy and Childhood: A Comprehensive Review. *Microorganisms*, 10(10), 1932. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10101932>
- Azizah, N., Hashim, U., Gopinath, S. C. B., & Nadzirah, S. (2017). A direct detection of human papillomavirus 16 genomic DNA using gold nanoprobe. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 571–575. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.060>
- Belman, C. (2019). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de Au y materiales luminiscentes para aplicaciones biomédicas*. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.
- Bucio, M. (2023). *Inmovilización de un anticuerpo en nanopartículas magnéticas de tipo MFe₂O₄ para la detección de la proteína E7 del virus del papiloma humano (VPH)*. Uabc.mx; Universidad Autónoma de Baja California. <https://repositorioinstitucional.uabc.mx/items/ebc34512-e815-4c26-be42-aecf838b702e>
- Chekin, F; Bagga, K; Subramanian, P; et al. (2018). Nucleic aptamer modified porous reduced graphene oxide/MoS₂ based electrodes for viral detection: Application to human papillomavirus (HPV). *Sensors and Actuators B Chemical*, 262, 991–1000. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.02.065>

- Chen, Z., Li, T., Wang, A., Shi, M., & Han, B. (2024). The latest research progress on MnZn ferrite and their applications. *Open Ceramics*, 21, 100732. <https://doi.org/10.1016/j.oceram.2024.100732>
- Chesson, H. W., Spicknall, I. H., Bingham, A., Brisson, M., Eppink, S. T., Farnham, P. G., Kreisel, K. M., Kumar, S., Laprise, J., Peterman, T. A., Roberts, H., & Gift, T. L. (2021). The estimated direct lifetime medical costs of sexually transmitted infections acquired in the United States in 2018. *Sexually Transmitted Diseases*, 48(4), 215–221. <https://doi.org/10.1097/olq.0000000000001380>
- Contreras, W., & Venegas, B. (2015). *Virus Papiloma Humano en Cáncer Oral y Orofaringeo: Revisión de la Literatura*. *International Journal of Odontostomatology*, 9(3), 427–435. <https://doi.org/10.4067/s0718-381x2015000300012>
- Cullity, B. D., & Graham, C. D. (2009). *Introduction to Magnetic Materials*. Wiley-IEEE Press.
- Cullity, B. D., & Stock, S. R. (2001). *Elements of X-ray Diffraction*. Prentice Hall.
- De Martel, C., Georges, D., Bray, F., Ferlay, J., & Clifford, G. M. (2020). *Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis*. *The Lancet. Global health*, 8(2), e180–e190. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30488-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30488-7)
- De Sanjose, S; Brotons, M & Pavon, M. (2018). *The natural history of human papillomavirus infection*. *Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology (Online)*, 47, 2–13. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.08.015>
- Díaz, A., Kristiani, A., Randy, A., Manurung, R., et al. (2022). *Surface functionalization and bio-recognition studies using FTIR and UV–Vis spectroscopy for biosensor development*. <https://doi.org/10.1039/D2RA03143D>
- Ferri, C. P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y., Jorm, A., Mathers, C., Menezes, P. R., Rimmer, E., & Sczufca, M. (2005). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de hierro funcionalizadas con derivados de amylovis*. *Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study*. *The Lancet*, 366(9503), 2112–2117. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)67889-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67889-0)
- Fu, Y., Liu, T., Wang, H., Wang, Z., Hou, L., Jiang, J., & Xu, T. (2024). *Applications of nanomaterial technology in biosensing*. *Journal of Science Advanced Materials and Devices*, 9(2), 100694. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2024.100694>
- Galati, L., Chiocca, S., Duca, D., Tagliabue, M., Simoens, C., Gheit, T., Arbyn, M., & Tommasino, M. (2022). HPV and head and neck cancers: Towards early diagnosis and prevention. *Tumour Virus Research*, 14, 200245. <https://doi.org/10.1016/j.tvr.2022.200245>
- Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Joy, D. C., Lyman, C. E., Echlin, P., Lifshin, E., Sawyer, L., & Michael, J. R. (2017). *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis*. Springer.
- Gulati, P., Singh, A. K., Yadav, A. K., Kiran Pasbola, Pandey, P., Sharma, R., Thakar, A., & Solanki, P. R. (2023). Nano-modified screen-printed electrode-based electrochemical immunosensors for oral cancer biomarker detection in undiluted human serum and saliva samples. *Nanoscale Advances*, 6(2), 705–721. <https://doi.org/10.1039/d3na00682d>

- Hablemos de salud. (2024). *¿Sabes que es el Virus de Papiloma Humano?* Gob.mx. <https://www.gob.mx/promosalud/es/articulos/sabes-que-es-el-virus-de-papiloma-humano#:~:text=Para%20empezar%20es%20importante%20que,como%20verrugas%20genitales%20y%20c%C3%A1nceres>.
- Han, F., Guo, X., Jiang, M., Xia, N., Gu, Y., & Li, S. (2024). *Structural biology of the human papillomavirus*. *Structure*, 32(11), 1877–1892. <https://doi.org/10.1016/j.str.2024.09.011>
- Ibrahim, S. A., et al. (2021). Controlled aggregation of iron oxide nanoparticles and their impact on magnetic hyperthermia. *ACS Applied Nano Materials*, 4(1), 186–197. <https://doi.org/10.1021/acsanm.0c02461>
- Instituto Nacional Del Cáncer. (2024). *Diccionario de cáncer del NCI*; Cancer.gov. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/neoplasia>
- Iqbal, J., et al. (2012). Synthesis, characterization and antimicrobial properties of silica coated magnetic nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 32(4), 1030–1037.
- Jamal, S., & Mahmood, W. M. (2023). Review on magnetic spinel ferrite (MFe₂O₄) nanoparticles: From synthesis to application. *Heliyon*, 9(6), e16601–e16601. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16601>
- Joudeh, N., & Linke, D. (2022). *Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists*. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>
- Katz, E. (2020). Magnetic Nanoparticles. *Magnetochemistry*, 6(1), 6. <https://doi.org/10.3390/magnetochemistry6010006>
- King, S; Jarvie, H & Dobson, P. (2024). *Nanoparticles*. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/nanoparticle>
- Klaes, R., Friedrich, T., Spitkovsky, D., Ridder, R., Rudy, W., Petry, U., Dallenbach-Hellweg, G., Schmidt, D., & von Knebel Doeberitz, M. (2001). Overexpression of p16(INK4a) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *International Journal of Cancer*, 92(2), 276–284.
- Kumar, L., Kumar, P., & Manoranjan, K. (2013). Structural, magnetic and dielectric properties of Mn–Zn ferrite nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 344, 156–162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jallcom.2012.10.009>
- Lamouri, R; Mounkachi, O; Salmani, E; Hamedoun, M; Benyoussef, A & Ez-Zahraouy, H. (2020) *Size effect on the magnetic properties of CoFe₂O₄ nanoparticles : a Monte Carlo study*, *Ceram. Int.* 46 (6) 8092–8096
- Liu, S., Yu, B., Wang, S., Shen, Y., & Cong, H. (2020). *Preparation, surface functionalization and application of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles*. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 281, p. 102165). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102165>

- Lopez-Medina, J. a. L., Domínguez, D., Tarabay, N., Velez, C., Ruiz, P. P., Aguila, S. A., Sanchez, J. G., Sharma, S., Farías, M. H., Herrera, G. S., & Perez, R. P. (2024). Magnetic, structural, and morphological properties behavior of $Ni_{1-x}Co_xFe_2O_4$ magnetic nanoparticles: Theoretical and experimental study. *Materials Characterization*, 216, 114296. <https://doi.org/10.1016/j.matchar.2024.114296>
- Lorenz-Fonfria, V. A. (2020). Infrared Difference Spectroscopy of Proteins: From Bands to Bonds. *Chemical Reviews*, 120(7), 3466–3576. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00449>
- Maldonado-Camargo, L., Unni, M., & Rinaldi, C. (2017). *Magnetic characterization of iron oxide nanoparticles for biomedical applications*. In *Biomedical Nanomaterials* (pp. 47-71). Springer.
- Márquez, E., David, D., Moreno, H., Prado, M., Santiyán, M., Soler Rodríguez, F., Pérez, M., & Índice, L. (2021). *Las nanopartículas y sus aplicaciones biomédicas*. <https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/11784/1/978-84-09-25218-3.pdf>
- Martinez, S. (2006). *Materiales magnéticos puros, compuestos e híbridos Su síntesis mediante un proceso de Pechini modificado y su caracterización magnética, estructural y morfológica*. [Archivo PDF] <https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/93/1/Tesis%20doctorado%20Sagrario%20Montemayor.pdf>
- Materón, E. M., Miyazaki, C. M., Carr, O., Joshi, N., Picciani, P. H., Dalmaschio, C. J., Davis, F., & Shimizu, F. M. (2021). Magnetic nanoparticles in biomedical applications: A review. *Applied Surface Science Advances*, 6, 100163. <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2021.100163>
- McBride, A. A. (2021). Human papillomaviruses: diversity, infection and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 20(2), 95–108. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00617-5>
- Medrano, R. (2022). *Epidemiología del cáncer cervicouterino*. Gob.mx. <https://www.gob.mx/imss/articulos/epidemiologia-del-cancer-cervicouterino?idiom=es#:~:text=En%20M%C3%A9xico%2C%20para%202020%20el,y%204%20mil%20335%20muertes>.
- Mihaela Tertîş, Luminița Fritea, Săndulescu, R., & Cristea, C. (2019). Graphene and Graphene Nanocomposite-Based Electrochemical Sensors. *Handbook of Graphene*, 631–661. <https://doi.org/10.1002/9781119468455.ch107>
- Mojtaba, S; Behbudi, G; Alireza, S; et al. (2021). Recent Progress in Electrochemical Detection of Human Papillomavirus (HPV) via Graphene-Based Nanosensors. *Journal of Sensors*, 2021, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2021/6673483>
- Ölçücü, G., Jaeger, K., & Krauss, U. (2025). Magnetizing Biotech—Advances in (In vivo) magnetic enzyme immobilization. *Engineering in Life Sciences*, 25(3), e70000. <https://doi.org/10.1002/elsc.70000>
- OMS. (2024). *Papilomavirus humano y cáncer*. Who.int; World Health Organization: WHO. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/human-papilloma-virus-and-cancer#:~:text=A%20nivel%20mundial%2C%20en%202019,c%C3%A1ncer%20en%20hombres%20\(1\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/human-papilloma-virus-and-cancer#:~:text=A%20nivel%20mundial%2C%20en%202019,c%C3%A1ncer%20en%20hombres%20(1)).

- PAHO. (2015). *¿Cuántos tipos de VPH hay? Preguntas frecuentes del VPH*. [Archivo PDF]. https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=preguntas-frecuentes-sobre-enfermedades-prevenibles-por-vacunacion&alias=48228-preguntas-frecuentes-sobre-vph&Itemid=270&lang=es
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2014). *Introduction to Spectroscopy*. Cengage Learning.
- Pérez-Alonso, F. J., et al. (2022). Structural characterization and magnetic behavior of zinc-substituted manganese ferrite nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 541, 168556.
- Priyadarshi, N., & Singhal, N. K. (2025). Methods, applications, and challenges of enzyme immobilization on nanomaterials. *In ACS symposium series* (pp. 1–28). <https://doi.org/10.1021/bk-2025-1508.ch001>
- Qi, X., Ye, Y., Wang, H., Zhao, B., Xu, L., Zhang, Y., Wang, X., & Zhou, N. (2022). An ultrasensitive and dual-recognition SERS biosensor based on Fe₃O₄@Au-Teicoplanin and aptamer functionalized Au@Ag nanoparticles for detection of *Staphylococcus aureus*. *Talanta*, 250, 123648–123648. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123648>
- Ramesh, T; Loong, K; Haarindradas, R; et al. (2019). Gold-Hybridized Zinc Oxide Nanorods as Real-Time Low-Cost NanoBiosensors for Detection of virulent DNA signature of HPV-16 in Cervical Carcinoma. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53476-9>
- Rasouli, E., Zohreh Shahnava, Basirun, W. J., Majid Rezayi, Amir Avan, Majid Ghayour-Mobarhan, Roshanak Khandanlou, & Johan, M. R. (2018). Advancements in electrochemical DNA sensor for detection of human papilloma virus - A review. *Analytical Biochemistry*, 556, 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.07.002>
- Reddy, L. H., Arias, J. L., Nicolas, J., & Couvreur, P. (2018). *Magnetic nanoparticles: design and characterization, toxicity and biocompatibility, pharmaceutical and biomedical applications*. *Chemical Reviews*, 112(11), 5818–5878. <https://doi.org/10.1021/cr300068p>
- Sanko, V., Şenocak, A., Tümay, S. O., & Demirbas, E. (2023). A novel comparative study for electrochemical urea biosensor design: Effect of different ferrite nanoparticles (MFe₂O₄, M: Cu, Co, Ni, Zn) in urease immobilized composite system. *Bioelectrochemistry*, 149, 108324. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2022.108324>
- Sapp, J. P.; Eversole, L. R. & Wysocki, G. P. (2005). *Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea*. 2 ed. Madrid, Elsevier.
- Shameran Jamal Salih, & Mahmood, W. M. (2023). Review on magnetic spinel ferrite (MFe₂O₄) nanoparticles: From synthesis to application. *Heliyon* (London), 9(6), e16601–e16601. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16601>
- Sharma, P., et al. (2019). Strategies to control aggregation and agglomeration of nanoparticles. *Nanotechnology Reviews*, 8(1), 101–118. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2019-0009>

- Skof, A. S., Rotenberg, L., Hannemann, P. V. F., Thies, S., Boschetti-Grützmacher, E., & Kaufmann, A. M. (2023). *Human papillomavirus E7 and P16INK4A mRNA multiplexed quantification by a QuantiGene™ Proof-of-Concept assay sensitively detects infection and cervical dysplasia severity*. *Diagnostics*, 13(6), 1135. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13061135>
- Slavu, L. M., Rinaldi, R., & Di Corato, R. (2021). Application in Nanomedicine of Manganese-Zinc Ferrite Nanoparticles. *Applied Sciences*, 11(23), 11183. <https://doi.org/10.3390/app112311183>
- Soufi, A., Hajjaoui, H., Elmoubarki, R., Abdennouri, M., Qourzal, S., & Barka, N. (2021). Spinel ferrites nanoparticles: Synthesis methods and application in heterogeneous Fenton oxidation of organic pollutants – A review. *Applied Surface Science Advances*, 6, 100145. <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2021.100145>
- Stanley, M. (2012). *Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus*. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(2), 215–222.
- Stöber, W., Fink, A., & Bohn, E. (1968). *Controlled growth of monodisperse silice spheres in the micron size range*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 26(1), 62–69. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(68\)90272-5](https://doi.org/10.1016/0021-9797(68)90272-5)
- Švancara, I., Vytřas, K., Barek, J., & Zima, J. (2001). *Carbon Paste Electrodes in Modern Electroanalysis*. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31(4), 311–345. doi:10.1080/20014091076785
- Thamme, F., & Hesse, H. (1995). Magnetic interactions and particle size effects in ferrofluids: A comparative study using the ΔM plot. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 149, 181–184. [https://doi.org/10.1016/0304-8853\(95\)00475-3](https://doi.org/10.1016/0304-8853(95)00475-3)
- Thakur, P; Chahar, D; Taneja, S; Bhalla, N & Thakur, A. (2020). *A review on MnZn ferrites: Synthesis, characterization, and applications*. *Ceramics International* 46 (2020) 15740–15763. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.03.287>
- Thakur, N., Sharma, V., Singh, T. A., Ashok Pabbathi, & Das, J. (2022). Fabrication of novel carbon dots/cerium oxide nanocomposites for overly sensitive electrochemical detection of doxorubicin. *Diamond and Related Materials*, 125, 109037–109037. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2022.109037>
- Toro-Montoya, A, & Tapia-Vela, L. (2021). *Virus del papiloma humano (VPH) y cáncer*. *Medicina Y Laboratorio*, 25(2), 467–483. <https://doi.org/10.36384/01232576.431>
- Unni, M., et al. (2017). Physical, chemical, and in vitro toxicological characterization of magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Nanomaterials*, 7(2), 47. <https://doi.org/10.3390/nano7020047>
- Urrego, L. F., Lopez, D. I., Ramirez, K. A., Ramirez, C., & Osma, J. F. (2014). Biomicrosystem design and fabrication for the human papilloma virus 16 detection. *Sensors and Actuators B Chemical*, 207, 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.10.036>
- Vittoria, C. (2010). *Magnetics, Dielectrics, and Wave Propagation with MATLAB Codes*. CRC Press.
- Wang, J. (2006). *Analytical Electrochemistry* (3rd ed.). Wiley-VCH.

- Wang, Y., et al. (2009). Synthesis and characterization of functionalized silica-coated magnetic nanoparticles for targeted drug delivery. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 321(10), 1479–1483.
- Wich Research Lab. (n.d.) *Size-comparison-Bio-nanoparticles nanometer scale comparison nanoparticle size comparison nanotechnology chart ruler*. Retrieved April 21, 2021, from <https://www.wichlab.com/nanometer-scale-comparison-nanoparticle-size-comparison-nanotechnology-chart-ruler/>
- Williams, D. B., & Carter, C. B. (2009). *Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science*. Springer.
- Wu, W., He, Q., & Jiang, C. (2008). Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Surface Functionalization Strategies. *Nanoscale Research Letters*, 3, 397–415. <https://doi.org/10.1007/s11671-008-9174-9>
- Zhang, Y., Qiu, K., Ren, J., Zhao, Y., & Cheng, P. (2025). Roles of human papillomavirus in cancers: oncogenic mechanisms and clinical use. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 10(1), 44. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-02083-w>