



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE
MINAS GERAIS**



Dissertação de Mestrado

Gabriela Moreira Lana

**Síntese, caracterização e funcionalização de partículas
magnéticas para aplicação biomédica**

Belo Horizonte

2018

Gabriela Moreira Lana

**Síntese, caracterização e funcionalização de partículas
magnéticas para aplicação biomédica**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Materiais do Centro Federal de Educação
Tecnológica de Minas Gerais, como parte
integrante dos requisitos para obtenção do
Título de Mestre em Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Ciência e Desenvolvimento de Materiais

Linha de Pesquisa: Biomateriais

Orientador: Prof. Dr. Sidney Nicodemos da Silva

Co-orientador: Dr. Peter William de Oliveira (INM – Alemanha)

BELO HORIZONTE

2018

L243s	Lana, Gabriela Moreira. Síntese, caracterização e funcionalização de partículas magnéticas para aplicação biomédica / Gabriela Moreira Lana. - 2018. 75 f. : il., fotos, grafs., tabs. Orientador: Sidney Nicodemos da Silva. Co-orientador: Peter William de Oliveira. Dissertação (mestrado) - Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais, Belo Horizonte, 2018. Bibliografia. 1. Biomateriais - Síntese. 2. Nanopartículas. 3. Precipitação (Química). 4. Ácido oleico - Síntese. I. Silva, Sidney Nicodemos. II. Oliveira, Peter Willian. III. Título. CDD: 610.28
-------	--

GABRIELA MOREIRA LANA

**Síntese, caracterização e funcionalização de partículas magnéticas para
aplicação biomédica**

Dissertação apresentada no Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, como pré-requisito para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Materiais.

Prof. Dr. Sidney Nicodemos da Silva (Orientador)
Programa de Pós-graduação em Engenharia de Materiais do CEFET/MG

Prof. Dr. Hermes de Souza Costa
Programa de Pós-graduação em Engenharia de Materiais do CEFET/MG

Prof^a Dra Danielle Marra de Freitas Silva Azevedo
Departamento de Engenharia de Materiais do CEFET/MG

Dr. Jürgen Vondung
Phosther Tecnologia de Aglomerações Ltda.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao professor Sidney Nicodemos, pela confiança e pelas oportunidades que foram fundamentais na minha trajetória profissional e acadêmica.

Ao Dr. Peter Oliveira, por proporcionar todo o suporte para tornar possível minha experiência no exterior.

Ao professor Cláudio Turani Vaz, à Carol e ao Colegiado POSMAT pela compreensão e por possibilitar a cooperação entre o CEFET-MG, a Universidade de Saarland e o INM.

Ao professor Paulo Renato Paiva, pelas análises de DRX e pelo papel importante desde o fim da minha graduação. Ao Dr. José Domingos Ardisson e Dr. Luis Fernandez-Outon pelas análises de espectroscopia Mössbauer e magnetização realizadas no CDTN e pela parceria na publicação no SBPMAT 2016.

À Cristina Esteves, pela disponibilidade e pela ajuda essencial no tempo que estive no exterior.

Aos colegas do INM, cuja experiência que enriquece o ambiente de trabalho é essencial no meu crescimento como pesquisadora.

Aos meus pais e minhas irmãs, pelo apoio e incentivo.

RESUMO

Nanopartículas superparamagnéticas de óxidos de ferro (SPIONs) tem sido intensamente estudada para diversas aplicações industriais, ambientais e biomédicas. No campo dos biomateriais, as nanopartículas apresentam propriedades importantes para aplicações em tratamento de câncer por hipertermia, agentes de contraste de ressonância magnética, entrega controlada de drogas, entre outras aplicações. Nesse trabalho, nanopartículas superparamagnéticas de óxidos de ferro foram sintetizadas pela rota de coprecipitação e funcionalizadas com ácido oleico. Foram realizados ensaios de caracterizações físico-químicas, através de análises de microscopia eletrônica de transmissão (MET) que comprovaram tamanho de partícula igual ou inferior a 10 nm, análises de magnetização (em magnetômetro de amostra vibratório – VSM) que comprovaram o caráter superparamagnético do material sintetizado, análises de potencial Zeta determinando a estabilidade das partículas em suspensão em diferentes faixas de pH, e os resultados de espectroscopias Mössbauer e de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) que comprovaram as fases presentes e a ligação covalente das moléculas de ácido oleico na superfície das nanopartículas, estabelecendo o potencial uso terapêutico das nanopartículas de magnetita superparamagnética.

Palavras-chave: Síntese biomateriais, SPIONs, coprecipitação, funcionalizadas com ácido oleico.

ABSTRACT

Superparamagnetic nanoparticles of iron oxides have been intensively studied for many industrial, environmental and biomedical applications. As biomaterials, nanoparticles have interesting properties for applications such as hyperthermia cancer treatments, contrast agents in MRI, controlled drug delivery, among others. In this project, superparamagnetic nanoparticles of iron oxides were synthesized by co-precipitation and coated with oleic acid. TEM analysis showed the particle size equal or inferior to 10 nm, magnetization analysis (VSM) proved the superparamagnetic character of the synthesized material, Zeta potential that shows the stability of the particles as suspension and the results spectroscopies of Mössbauer and Fourier Transform Infrared (FTIR) confirmed the presence of phases and oleic acid molecules on the surface of the nanoparticles, recommending the potential of therapeutic use of nanoparticles of superparamagnetic magnetite.

Keywords : Synthesis biomaterials, SPIONs, co-precipitation, functionalized with oleic acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 : Principais propriedades de nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro.	17
Figura 2 : Gráfico de número de domínios em função do tamanho de partícula.	20
Figura 3 : Diferenças entre tecido saudável e tumoral.	22
Figura 4: Temperatura gerada em função de quantidade de partículas durante 10 minutos de campo magnético AC de 24 kA.m ⁻¹ e 418.5 kHz.	23
Figura 5 : Estrutura cristalina e informações cristalográficas da hematita, magnetita e maghemita.	27
Figura 6 : Morfologias típicas de nanomateriais com recobrimento inorgânico.	31
Figura 7 : Representação esquemática de recobrimento mono- e bicamada de ácido oleico sobre magnetita.	33
Figura 8 : Representação ideal do processo de fluorescência nuclear.	34
Figura 9 : Níveis de energia no efeito Mössbauer.	35
Figura 10 : Linhas correspondentes aos picos de DRX de acordo com os padrões γ -Fe ₂ O ₃ (39–1346), Fe ₃ O ₄ (19–0629) e α -Fe ₂ O ₃ (33–0664).	36
Figura 11 : Curva H-M de resposta magnética de diferentes classes de materiais magnéticos.	38
Figura 12 : Imagem de MET de nanopartículas de óxido de ferro estabilizadas com ácido oleico.	39
Figura 13 : Espectros de FTIR de amostras de óxidos de ferro.	40
Figura 14 : Espectro de FTIR de magnetita exposta (a), magnética com recobrimento limitado de ácido oleico (b) e magnetita com recobrimento de ácido oleico em excesso (c).	42
Figura 15 : Representação de distribuição de cargas de uma partícula carregada .	43
Figura 16 : Fluxograma materiais e métodos	44
Figura 17 : Representação esquemática da síntese das nanopartículas funcionalizadas	45
Figura 18 : Síntese de NPs com recobrimento de ácido oleico, sem aquecimento..	50
Figura 19 : Síntese de NPs de óxido de ferro com recobrimento de ácido oleico sem aquecimento, após etapa de separação magnética.	50
Figura 20 : Espectro Mössbauer de ⁵⁷ Fe obtidos a temperatura ambiente (RT)....	51

Figura 21 : Difratoograma da amostra de óxido de ferro, variando-se de temperatura ambiente a 1000°C.	53
Figura 22 : Difratoograma de amostras de óxidos de ferro, variação de temperatura ambiente a 1000°C. Região de 21 a 41".	54
Figura 23 : Destaque do pico (511) da amostra de magnetita/maghemita.	55
Figura 24 : Difratoograma do pico (511) de magnetita e maghemita em diferentes proporções.	56
Figura 25 : Resultado de potencial Zeta da amostra de magnetita sem recobrimento.	57
Figura 26: Imagens de MET da amostra FeOx_YM.	58
Figura 27 : Imagens de MET da amostra FeOx_YB.	59
Figura 28 : Imagem de MET da amostra FeOx_YB. Escala 10 nm.	59
Figura 29 : Espectro de FTIR da amostra FexOy_YM. 400 a 800 cm ⁻¹	60
Figura 30 : Espectro de FTIR da amostra FexOy_YM. 800 a 1800 cm ⁻¹	61
Figura 31 : Representação esquemática da ligação do ácido oleico em monocamada como recobrimento de nanopartículas de magnetita.	62
Figura 32 : Espectro de FTIR da amostra FexOy_YM. 3600 a 2800 cm ⁻¹	62
Figura 33 : Gráfico VSM da amostra FexOy_YM.	63
Figura 34 : Ampliação do loop de histerese da amostra FexOy_YM.	64
Figura 35 : Potencial Zeta amostra com recobrimento de ácido oleico	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 : Óxidos e hidróxidos de ferro.....	26
Tabela 2 : Comparação de métodos de síntese.....	29
Tabela 3 : Parâmetros hiperfinos dos espectros Mossbauer de ^{57}Fe obtidos a RT.	52

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

SPION (*superparamagnetic iron oxide nanoparticle*): Nanopartícula superparamagnética de óxido de ferro

NPs : nanopartículas

EPR (*enhanced permeability retention*): Retenção de permeabilidade aumentada

MRI : Ressonância magnética

FM : Ferro- e ferrimagnético

SPM : Superparamagnético

TRAIL (*tumor necrosis factor-related apoptosis induced*): Apoptose relacionada ao fator de necrose tumoral induzido

μ : permeabilidade relativa

X_m : suscetibilidade magnética

H_c : coercividade

H : Campo magnético aplicado

M : magnetização por unidade de volume

B : indução magnética

E_e : energia do estado estável de um átomo isolado

E_0 : energia do estado excitado de um átomo isolado

VSM (*vibrating sample magnetometer*): Magnetômetro de amostra vibratória

SUMÁRIO

1) Introdução.....	14
2) Objetivos.....	16
2.1) Objetivo Geral	16
2.2) Objetivos Específicos.....	16
3) Revisão bibliográfica.....	17
3.1) Contexto atual – nanopartículas magnéticas	17
3.2) Materiais com propriedades magnéticas em biomedicina.....	19
I) Hipertermia	21
II) Aplicador de contraste em ressonância magnética (MRI).....	24
III) Entrega controlada de drogas	24
3.3) Estrutura e síntese de nanopartículas de óxido de ferro.....	25
3.4) Funcionalização de partículas magnéticas para biomedicina	30
3.5) Caracterização de nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro.....	33
I) Espectroscopia Mössbauer	33
II) Difração de raios X (DRX).....	36
III) Magnetização	37
IV) Microscopia eletrônica a transmissão.....	38
V) Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	39
VI) Potencial Zeta	43
4) Materiais e métodos	44
4.1) Síntese de nanopartículas magnéticas, não funcionalizadas e funcionalizadas.....	44
4.2) Caracterização	47
5) Resultados e discussão	49
5.1) Experimentos exploratórios.....	49
5.2) Caracterização das nanopartículas sem recobrimento	51

• Espectroscopia Mössbauer	51
• DRX	53
• Potencial Zeta.....	56
5.3) Síntese de nanopartículas com recobrimento de ácido oleico	57
5.4) Caracterização de nanopartículas com recobrimento de ácido oleico	58
• Microscopia eletrônica a transmissão (MET)	58
• Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	60
• Magnetização	63
• Potencial Zeta.....	64
6) Conclusões.....	67
7) Sugestões para trabalhos futuros	69
8) Referências	70

1) Introdução

Partículas superparamagnéticas de óxidos de ferro, chamadas SPIONs (*superparamagnetic iron oxide nanoparticles*) tem mostrado grande potencial em diversas áreas, como aplicações industriais, ambientais e biomédicas. Nessa categoria de nanopartículas (NPs), tem-se óxidos como magnetita (Fe_3O_4), maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (MAHMOUDI *et al.*, 2011).

Em aplicações industriais, nanopartículas de óxidos de ferro podem ser utilizados para vários fins devido às propriedades magnéticas e catalíticas. Ambientalmente, relatos da literatura indicam aplicações para remoção de contaminantes da água, utilizando-se não só as propriedades magnéticas e catalíticas, mas também sua capacidade de adsorção e elevada área superficial.

Na biomedicina, muitos estudos têm sido realizados utilizando-se nanomateriais para diagnóstico e tratamento de câncer. Tratamentos convencionais como radioterapia, imunoterapia e quimioterapia apresentam efeitos colaterais severos, o que motiva a busca por alternativas mais específicas. Muitos agentes terapêuticos apresentam limitações como baixa solubilidade, desativação rápida, farmacocinética desfavorável e biodistribuição limitada que podem ser superados por tratamentos à base de nanomateriais de alta especificidade (NAZIR *et al.*, 2014).

Além disso, uma grande vantagem com relação a outros tipos de nanopartículas no campo médico é que SPIONs se degradam por liberação de íons de ferro que podem ser incorporados a hemoglobina ou utilizado por ciclos orgânicos convencionais, sendo então de baixa toxicidade. (NAZIR *et al.*, 2014) Outros materiais magnéticos atingem magnetização de saturação superior ao ferro, como por exemplo, o cobalto, porém apresentam toxicidade, fazendo do ferro o melhor candidato para biomateriais magnéticos (AMSTAD; TEXTOR; REIMHULT, 2011).

Segundo FERREIRA *et al.* (2009) , para aplicações *in-vivo*, é importante envolver as nanopartículas (magnéticas) com uma camada não magnética, prevenindo a agregação e a sedimentação, além de permitir a funcionalização para aplicações específicas e a redução a toxidez.

É interessante que os SPIONs tenham sua superfície modificada, a fim de se aumentar sua eficiência em aplicações clínicas. Dentre elas, a solubilidade, biocompatibilidade e estabilidade.

No presente trabalho foi realizada síntese de nanopartículas superparamagnéticas de óxidos de ferro por co-precipitação e sua funcionalização utilizando-se ácido oleico para futuras aplicações biomédicas.

2) Objetivos

2.1) Objetivo Geral

Desenvolver a síntese de partículas superparamagnéticas de óxidos de ferro (SPIONs) por coprecipitação e recobrimentos dessas partículas com ácido oleico.

2.2) Objetivos Específicos

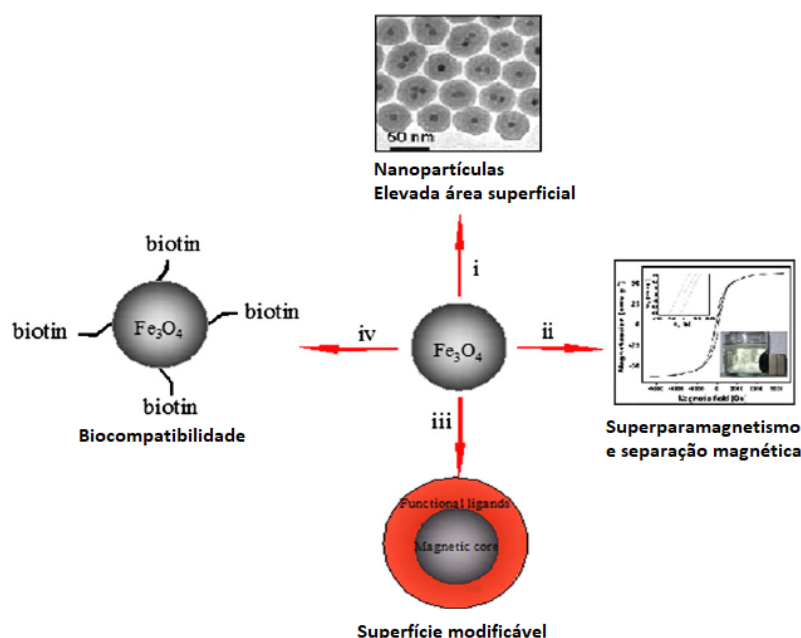
- Aprimorar o método de síntese de nanopartículas superparamagnéticas de óxidos de ferro através da rota de coprecipitação.
- Investigar as condições de funcionalização através de recobrimentos dessas partículas com ácido oleico, avaliando os parâmetros de síntese que permitem juntamente com recobrimento de ácido oleico obter partículas de tamanho inferior a 50 nm.
- Caracterizar físico-quimicamente os SPIONs após a síntese (proporção de magnetita e maghemita) e após a funcionalização por análises de difração de raio X (DRX), microscopia eletrônica de transmissão (MET) e espectroscopias Mössbauer e de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).
- Avaliar magnetização das partículas verificando o comportamento superparamagnético.

3) Revisão bibliográfica

3.1) Contexto atual – nanopartículas magnéticas

Nanopartículas magnéticas tem sido intensamente estudadas em diversos campos tecnológicos devido a propriedades interessantes como elevada área superficial, superparamagnetismo, biocompatibilidade e superfície facilmente funcionalizável, indicadas na figura 1 (XU et al., 2012)

Figura 1 : Principais propriedades de nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro.



Fonte: Adaptado de Xu et al., 2012

Industrialmente, partículas de óxido de ferro já são comercializadas para diversas funções como pigmentos, aditivos de materiais de construção, materiais de alta resistência térmica, adsorventes, e em grau de pureza mais elevado, cosméticos e embalagens de alimentos. Como aplicações industriais em desenvolvimento encontradas na literatura, tem-se aplicações como catalisador de biocombustíveis (HU et al., 2011), agente de dessulfuração (ISHAQ et al., 2017) e materiais para armazenamento de energia (GROSU et al., 2017).

HU et al. (2011) relata produção de biodiesel utilizando-se nanopartículas de Fe_3O_4 de estrutura porosa e tamanho 50 nm, impregnadas com KF e CaO. As propriedades magnéticas do catalisador permitem separação magnética ao fim do processo, evitando perda de material e aumentando sua reusabilidade, em comparação com filtração ou centrifugação. Além disso, partículas nanométricas apresentam atividade catalítica melhorada devido à elevada área superficial. Além de transesterificação, óxidos de ferro podem atuar como catalisador por transferência de fase (WEN et al., 2008), fotocatalisador se associado, por exemplo, a óxidos de titânio (BEYDOUN et al., 2000), entre outros processos químicos.

Ainda com relação ao campo energético, a literatura relata uso de nanopartículas magnéticas para o processo de dessulfuração de combustíveis fósseis. O processo utilizado industrialmente é a hidrodessulfuração, porém tem custo elevado, requer condições de trabalho severas e não remove com eficiência determinados compostos sulfurados. ISHAQ et al. (2017) propõe uma metodologia mais econômica e eficiente com o uso de partículas de bentonita carregadas com nanopartículas de magnetita para atuação como adsorventes. A adsorção melhorada da bentonita impregnada pode ser associada à atividade catalítica da magnetita para co-conversão de espécies sulfuradas.

Sobre aplicações ambientais, o crescimento populacional e industrial tem sido forte motivação na busca de materiais eficientes para remoção de contaminantes da água. Nanomateriais à base de óxidos de ferro chamam atenção pela possibilidade de se utilizar técnicas de remoção por magnetismo além de ser uma alternativa ambientalmente amigável e de baixo custo. Associada à separação magnética, a técnica de tratamento de água pode utilizar a superfície das partículas como catalisador capaz de converter os contaminantes em formas menos tóxicas, ou como nanoadsorvente, capaz de imobilizar os contaminantes devido à afinidade com metais pesados, por exemplo. Modificação de superfície pode ser utilizada para melhorar as propriedades de absorção, estabilizar a dispersão em meio aquoso e evitar a oxidação das partículas (XU et al., 2012).

Na biomedicina, nanopartículas magnéticas são interessantes, primeiramente, pelo tamanho controlável na ordem de alguns nanômetros, permitindo a interação com células (10-100µm), vírus (20-450 nm), proteínas (5-50 nm) e genes (2 nm espessura

e 10-100 nm comprimento). Em segundo lugar, as propriedades magnéticas são de grande interesse por permitir a manipulação por um gradiente de campo magnético externo. Dentre as aplicações nesse campo, Wu et al. (2015) divide 3 grupos: agentes de hipertermia, agentes de contraste magnético e vetores magnéticos (entrega controlada de drogas)

3.2) Materiais com propriedades magnéticas em biomedicina

SPIONs são materiais multifuncionais no tratamento de câncer, devido à alta eficiência em diagnóstico, monitoramento, direcionamento e tratamento. Uma tecnologia emergente é a terapia de câncer nanoteragnóstica, que inclui simultaneamente obtenção de imagens por ressonância magnética (MRI) e tratamento do tumor pela aplicação de nanopartículas (SANTHOSH; ULRIH, 2013).

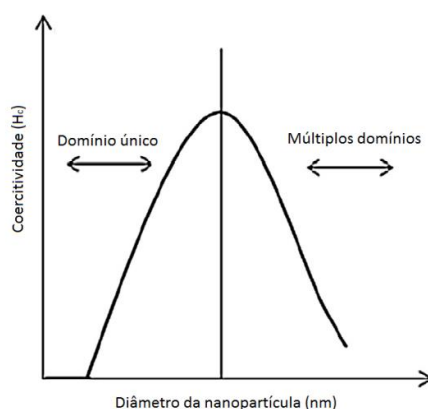
Segundo Callister (2001), propriedades magnéticas de um material são consequências de interações entre um campo magnético externo e os momentos de dipolo magnético dos seus átomos constituintes. Os fenômenos magnéticos são classificados pelo autor em diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo, ferrimagnetismo e antiferromagnetismo.

O diamagnetismo é uma forma fraca de magnetismo encontrada em todos os materiais, não permanente, induzido por uma variação do movimento orbital dos elétrons devido à aplicação de um campo magnético. É um comportamento fraco, de baixa permeabilidade relativa, μ (razão entre a permeabilidade magnética de um meio e a permeabilidade do vácuo) e suscetibilidade magnética (X_m) negativa (Constante de proporcionalidade entre a magnetização do material e a força do campo magnético), logo, sem importância prática. O paramagnetismo é o comportamento dos materiais que apresentam dipolos atômicos livres para se orientar preferencialmente em presença de um campo magnético, gerando assim uma permeabilidade relativa pequena e suscetibilidade magnética positiva. Materiais diamagnéticos e paramagnéticos são considerados não-magnéticos, pois a magnetização só ocorre em presença de um campo externo (CALLISTER, 2001).

No caso de materiais que possuem um momento magnético permanente, independente da presença de um campo externo, estes são chamados ferromagnéticos. O comportamento resulta de momentos magnéticos atômicos devido aos spins que não se cancelam na estrutura eletrônica. Em materiais ferromagnéticos, a suscetibilidade magnética pode chegar a 10^6 . O ferrimagnetismo é semelhante ao ferromagnetismo, porém a distinção está na fonte dos momentos magnéticos resultantes. No ferrimagnetismo ocorre o acoplamento antiparalelo de spins e o cancelamento incompleto dos momentos magnéticos. Finalmente, o antiferromagnetismo é caracterizado pelo cancelamento total do momento magnético devido ao acoplamento antiparalelo de átomos ou íons adjacentes, ou seja, o material não apresenta qualquer momento magnético resultante (CALLISTER, 2001).

O alinhamento mútuo de spins ao longo do material, responsável pelo comportamento magnético, é chamado domínio. (CALLISTER, 2001) Os óxidos de ferro apresentam forte comportamento ferromagnético. Entretanto, com a redução do tamanho de partícula, ocorre um fenômeno interessante, onde o material passa a apresentar apenas um domínio. Abaixo de um tamanho de partícula crítico (1-20 nm), o material apresenta propriedades ferromagnéticas ou paramagnéticas, dependendo da presença de um campo magnético externo. Esse fenômeno relacionado ao tamanho de partícula é chamado superparamagnetismo, representado na figura 2 (SANTHOSH; ULRIH, 2013).

Figura 2 : Gráfico de número de domínios em função do tamanho de partícula.



Fonte: Adaptado de SANTHOSH; ULRIH, 2013

No gráfico, observa-se que o número de domínios depende do tamanho crítico de partícula. A coercividade, H_c , é o termo utilizado para o campo magnético aplicado necessário para se reduzir a zero a densidade do fluxo magnético de um material ferromagnético ou ferrimagnético (CALLISTER, 2001).

Para se caracterizar o comportamento magnético de partículas, submete-se o material a um campo magnético de intensidade H , e a resposta dos momentos individuais dos átomos é dada pela indução magnética B :

$$B = \mu_0 (H + M)$$

sendo M a magnetização por unidade de volume e μ a permeabilidade relativa (PANKHURST et al., 2003).

As partículas superparamagnéticas submetidas a campos magnéticos alternados tem o momento dipolo rapidamente reorientado, dependendo de fatores como frequência e intensidade do campo magnético, tamanho da partícula e temperatura do meio. A perda de energia nessa reorientação é dissipada em forma de calor, provocando o aumento de temperatura do meio. Essa propriedade é explorada na magnetohipertermia para destruir células tumorais (SANTHOSH; ULRICH, 2013).

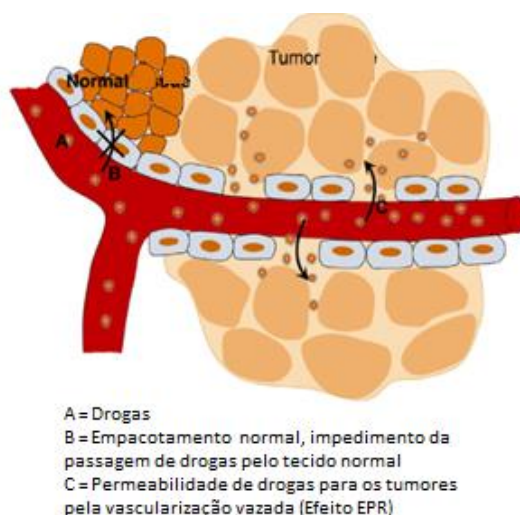
I) Hipertermia

O uso de calor para o tratamento do câncer tem registros desde o século 19, partindo-se de princípios magnéticos. A ideia surgiu da observação de que células tumorais apresentam peculiaridades, se comparadas às células normais, como maior permeabilidade, retenção, sensibilidade a pH e temperatura (NAZIR et al., 2014). Observou-se que células tumorais morrem quando expostas a temperaturas na faixa de 42 a 46°C. Partículas ferromagnéticas e paramagnéticas são utilizadas preferencialmente pela capacidade de geração de calor em presença de um menor campo magnético (FERREIRA et al., 2016).

A figura 3 mostra as diferenças entre o tecido saudável e tumoral, sendo que o tumor apresenta anatomia e fisiologia particulares. As nanopartículas são desenvolvidas para permanecer no sangue e se acumular nos locais de tumores, de células

aumentadas, elevada vascularização, elevada permeabilidade e retenção. Isso é possível devido ao efeito conhecido como EPR (*enhanced permeability and retention*), permeabilidade e retenção aumentada (NAZIR et al., 2014).

Figura 3 : Diferenças entre tecido saudável e tumoral.



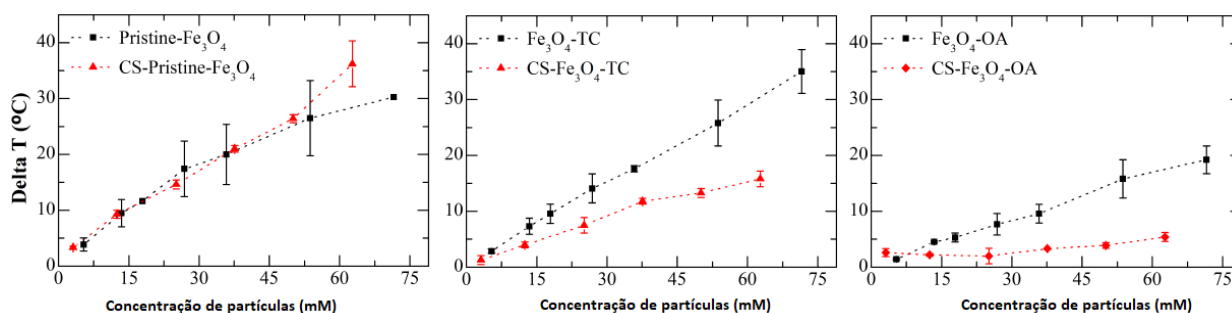
Fonte : Adaptado de NAZIR et al., 2014

Bons candidatos para aplicação em hipertermia devem apresentar eficiente aquecimento sob efeito de campo magnético alternado e baixa toxicidade. Segundo HOU et al. (2009) resultados *in vitro* que atingem 43 a 46°C indicam a habilidade de se destruir células tumorais sem que as células saudáveis sejam danificadas.

SOARES et al. (2016) apresenta resultados de NPs de magnetita de aproximadamente 8 nm sintetizadas por precipitação térmica, tratadas com citrato trisódico e ácido oleico para posterior recobrimento com quitosana. Os resultados de aquecimento por magnetização em relação à quantidade de partículas são apresentados na figura. São comparadas amostras sem tratamento (pristine-Fe₃O₄), sem tratamento com recobrimento de quitosana (CS-pristine-Fe₃O₄), com tratamento de citrato trisódico (Fe₃O₄-TC), com tratamento de citrato trisódico e recobrimento de quitosana (CS-Fe₃O₄-TC), com tratamento de ácido oleico (Fe₃O₄-OA) e com tratamento de ácido oleico e recobrimento de quitosana (CS-Fe₃O₄-OA). Observa-se que a quitosana utilizada sobre amostras sem tratamento prévio não afeta significativamente as propriedades magnéticas, mas apresenta grande influência nas

amostras previamente tratadas. Com base nos resultados, os autores consideram grande potencial de nanopartículas recobertas com quitosana para tratamento por hipertermia magnética, mesmo utilizando-se tratamentos intermediários das partículas (vide figura 4).

Figura 4: Temperatura gerada em função de quantidade de partículas durante 10 minutos de campo magnético AC de 24 kA.m⁻¹ e 418.5 kHz.



Fonte : Adaptado de SOARES *et al.*, 2016

Estudos de ZHANG e SONG (2017) apresentam resultados de testes *in vitro* e *in vivo* de uma estrutura complexa de hidrogel contendo nanopartículas magnéticas recobertas com ácido oleico e proteínas que induzem apoptose celular chamadas TRAIL (*tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand*). As nanopartículas de Fe₃O₄ de aproximadamente 18 nm foram dopadas com Zn e Mn para se obter um maior valor de saturação de magnetização. O complexo final apresentou tamanho médio de 500 µm. A entrega controlada de TRAIL na região tumoral foi associada ao tratamento de hipertermia, e testes *in vivo* mostraram 50% de morte das células que foram focalizadas, em ciclo moderado de hipertermia, com toxicidade negligenciável.

Além de tratamento por hipertermia, resultados bem sucedidos tem sido observados em biomateriais para detecção e reconhecimento de tumores, biosensores e outras terapias de câncer (NAZIR *et al.*, 2014).

II) Aplicador de contraste em ressonância magnética (MRI)

SPIONs são capazes de produzir elevado contraste por unidade de partículas, ou seja, pequena quantidade de material é suficiente para otimizar imagens por ressonância, o que reduz questões de toxicidade (NAZIR et al., 2014).

Nanopartículas magnéticas com um revestimento denso de moléculas orgânicas já são comercializadas com agentes de contraste. O recobrimento tem a função de aumentar o tempo de circulação das partículas no sangue, permitindo sua chegada no local de análise. Sua resposta magnética permite o diagnóstico de pequenos tumores em regiões de difícil acesso com boa resolução (SANTHOSH; ULRIH, 2013). Estudos apontam detecção de tumores no fígado de até 2 mm (HUANG et al., 2011).

A indústria farmacêutica já apresenta diversos amplificadores de contraste com soluções coloidais magnéticas no mercado, mas o número de patentes pendentes nesse setor mostra que ainda há muita pesquisa a ser realizada no assunto (WU et al., 2015).

III) Entrega controlada de drogas

Para aplicação como agentes de entrega controlada de drogas, algumas limitações dos sistemas atualmente utilizados são fortes motivadores, como distribuição sistêmica dos fármacos, falta de especificidade com o local da patologia, necessidade de altas concentrações para se atingir a concentração local desejada, efeitos colaterais etc.

SPIONs são amplamente estudados como veículos de carreamento de diferentes substâncias como hormônios, fatores de crescimento, anticorpos, drogas e biomoléculas. Lipossomas e micelas são utilizados para esse fim, porém apresentam pouca especificidade e liberação descontrolada em regiões indesejadas no organismo, fatores que podem ser superados e otimizados pelo uso de NPs magnéticas, que podem ser controladas externamente por campo magnético e temperatura (SANTHOSH; ULRIH, 2013).

Utilizando-se estratégias de entrega controlada de drogas, uma menor quantidade de fármaco é inserida no corpo e sua concentração máxima será atingida somente na região de interesse. Para isso, as partículas devem ser suficientemente pequenas para penetrar as paredes dos vasos sanguíneos. As nanopartículas utilizadas nesse tipo de tratamento devem ser então funcionalizadas de acordo com a aplicação (WU et al., 2015).

SPIONs funcionalizados com PEG (polietileno glicol) e doxorubicina foram utilizados com sucesso em testes *in vivo* para tratamento de carcinoma pulmonar, onde drogas são liberadas mais rapidamente em meio levemente ácido do tumor do que em meio neutro vascular, promovendo assim mínima toxicidade dos tecidos normais (NAZIR et al., 2014).

3.3) Estrutura e síntese de nanopartículas de óxido de ferro

Óxidos de ferro são compostos comumente encontrados na natureza ou sintetizados em laboratório, e atraem interesse em diversas áreas. São compostos basicamente por ferro, oxigênio e hidrogênio, porém cada composto apresenta suas especificidades com relação a solubilidade, magnetismo, dureza, área superficial etc de acordo com a estrutura cristalina e o estado de oxidação do ferro. Os principais tipos de óxidos e hidróxidos de ferro são apresentados na tabela 1 (CORNELL; SCHWERTMANN, 2003).

Tabela 1 : Óxidos e hidróxidos de ferro.

Oxide-hydroxides and hydroxides	Oxides
Goethita α -FeOOH	Hematita α -Fe ₂ O ₃
Lepidocrocita γ -FeOOH	Magnetita Fe ₃ O ₄ (Fe ^{II} Fe ^{III} ₂ O ₄)
Akaganéita β -FeOOH	Maghemita γ -Fe ₂ O ₃
Schwertmannita Fe ₁₆ O ₁₆ (OH) _y (SO ₄) _z .n H ₂ O	β -Fe ₂ O ₃
δ -FeOOH	ϵ -Fe ₂ O ₃
Feroxihiita δ' -FeOOH	Wustita FeO
FeOOH de alta pressão	
Ferrihydrita Fe ₅ HO ₈ . 4 H ₂ O	
Bernalita Fe(OH) ₃	
Fe(OH) ₂	

Fonte : Adaptado (CORNELL; SCHWERTMANN, 2003)

Dos óxidos de ferro conhecidos, magnetita (Fe₃O₄), maghemita (γ -Fe₂O₃) e hematita (α -Fe₂O₃) são de maior interesse devido ao polimorfismo em transição de fase induzida por temperatura.

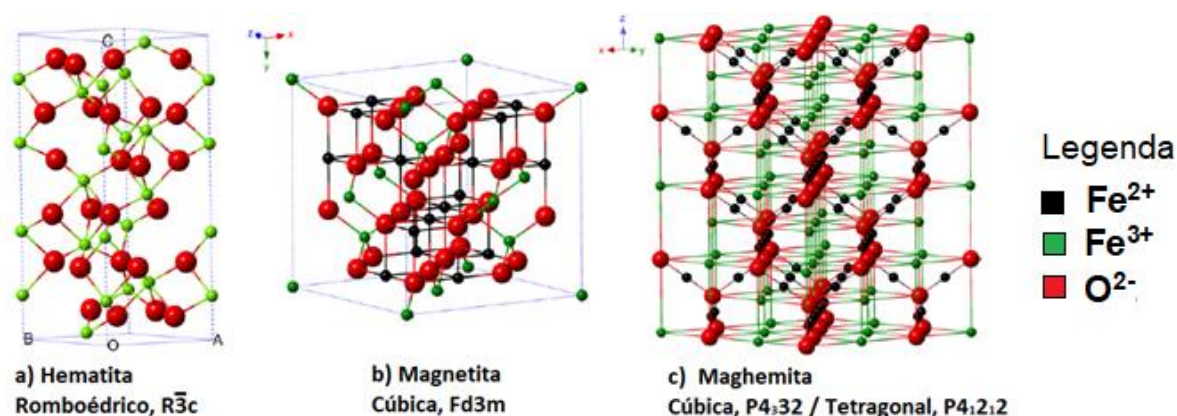
A hematita é o óxido mais estável em condições ambiente, de elevada resistência à corrosão, baixo custo e amplamente utilizada como pigmento, catalisador e sensor. Além disso, a hematita pode ser usada com precursor na síntese de magnetita e maghemita, produtos de mais elevado interesse tecnológico. Sua estrutura é formada por íons Fe³⁺ ocupando dois terços do octaedro confinado em um arranjo hexagonal, como apresentado na figura 5a (WU et al., 2015).

A estrutura da magnetita, apresentada na figura 5b é CFC do tipo espinélio. Esse tipo de óxido difere dos demais por apresentar tanto íons Fe²⁺ ocupando metade das posições octaédricas quanto íons Fe³⁺ ocupando o restante das posições octaédricas e também as posições tetraédricas. A magnetita estequiométrica apresenta proporção Fe^{II}/Fe^{III} = 1/2, sendo que os íons bivalentes podem ser substituídos por outros íons metálicos bivalentes como cobre, zinco e molibdênio (WU et al., 2015).

A maghemita, representada na figura 5c apresenta estrutura cúbica onde cada unidade contém 32 íons de O²⁻, 21 1/3 Fe³⁺ e 2 1/3 vazios. Os íons de oxigênio

formam uma estrutura cubica empacotada, enquanto os íons férricos são distribuídos nas posições octaédricas. A maghemita é considerada a forma totalmente oxidada da magnetita (vide figura 5) (WU et al., 2015).

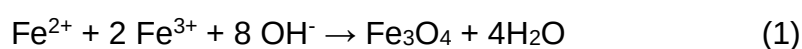
Figura 5 : Estrutura cristalina e informações cristalográficas da hematita, magnetita e maghemita.



Fonte : Adaptado de WU et al., 2015.

Métodos para síntese de nanopartículas superparamagnéticas de óxidos de ferro são divididos em 3 grupos: métodos físicos, químicos e biológicos, sendo que cada um apresenta suas vantagens e desvantagens. O método ideal deve ser escolhido de acordo com as propriedades esperadas das nanopartículas, os recursos necessários etc. Os métodos mais comumente encontrados na literatura são rotas químicas (KANDASAMY; MAITY, 2015), dentre eles coprecipitação, microemulsão, síntese hidrotérmica, decomposição térmica, sol-gel, rota eletroquímica, entre outros (MAHMOUDI et al., 2011).

A coprecipitação é o método mais encontrado na literatura, e consiste na adição de uma solução básica a uma solução aquosa estequiométrica 1:2 de íons Fe^{2+} e Fe^{3+} . A reação esperada é apresentada a seguir (equação 1):



Alguns autores comentam a importância de se utilizar uma atmosfera inerte para o processo devido à possível oxidação da magnetita (LAURENT et al., 2010), porém sua forma oxidada estável, maghemita, também apresenta propriedades magnéticas apropriadas e baixa toxicidade, tornando dispensável o uso de atmosfera protetora ou até mesmo sendo possível incluir uma etapa de oxidação deliberada (LU; SALABAS; SCHÜTH, 2007). A maghemita é formada pela exposição da magnetita ao oxigênio, segundo a reação a seguir (equação 2):



SANTHOSH e ULRIH (2013) descreve as vantagens e desvantagens da síntese. Apesar de ser um método rápido e versátil, com bom controle de propriedades das partículas geradas, o processo apresenta desvantagens como: ampla faixa de distribuição de tamanho de partículas devido ao efeito *Ostwald ripening* de germinação (MAHMOUDI et al., 2011), polidispersão e baixa cristalização, o que pode acarretar em baixa saturação de magnetização.

Uma alternativa para se obter partículas monodispersas por coprecipitação é retardar a nucleação e crescimento das partículas adicionando-se estabilizadores durante o processo, como PVA e ácido cítrico. A adição de compostos orgânicos promove quelação das moléculas na superfície das NPs, evitando a nucleação de novas partículas e reduzindo a velocidade de crescimento das partículas já formadas. (LU; SALABAS; SCHÜTH, 2007). Estudos pontam o ácido oleico como uma boa opção para obtenção de impedimento estérico estável e forte ligação com a superfície de partículas de óxidos de ferro (CUSHING; KOLESNICHENKO; CONNOR, 2004).

O método de secagem de partículas geradas por coprecipitação também afeta a morfologia e propriedades magnéticas. Secagem sob vácuo é relatado como um método que promove aglomeração quanto menor o tamanho de partícula, porém maiores valores de saturação de magnetização foram obtidos após secagem a vácuo a 70°C (WU et al., 2015).

A síntese por microemulsão consiste no uso de gotículas de água atuando como microrreatores em uma fase contínua oleosa e em presença de surfactantes. Precursores de ferro são adicionados ao sistema e precipitam como óxidos de ferro no interior das micelas de fase aquosa. Em fase orgânica, o ferro não é reativo, limitando a região de reação (MAHMOUDI et al., 2011). As moléculas de surfactante tem a função de estabilizar o filme interfacial entre a água e o óleo, gerando uma dispersão termodinamicamente estável e isotrópica entre os líquidos imiscíveis. O tamanho das gotículas é determinado pela relação molar entre surfactante e água, sendo tipicamente entre 1 e 50 nm (LU; SALABAS; SCHÜTH, 2007).

O precipitado é removido pela adição de solventes como acetona ou etanol, e posteriormente filtrado ou centrifugado (LU; SALABAS; SCHÜTH, 2007). Para aplicação biomédica, várias etapas de lavagem do produto final são necessárias (WU et al., 2015).

Nessa técnica, o tamanho de partícula é controlado pelo tamanho das gotículas de água e pela quantidade de precursores adicionada. Apesar do tamanho de partícula bem controlado, uma grande desvantagem é a grande quantidade de surfactante necessária, que é difícil de ser eliminada e é limitada a escala de laboratório (LAURENT et al., 2010).

O método mais antigo utilizado para produção de nanopartículas de óxidos de ferro é por decomposição hidrotérmica de precursores organometálicos como acetilacetato de ferro ou carbonatos de ferro. O processo ocorre em meio aquoso a condições que podem superar 200°C e 14 bar. A água atua não só como solvente, mas como reagente capaz de acelerar a reação de hidrólise (LAURENT et al., 2010). No caso de utilização de outros tipos de solvente, o processo é chamado solvotérmico (WU et al., 2015).

O procedimento padrão consiste na obtenção de uma dispersão homogênea do precursor em água e transferência para uma autoclave selada de aço inoxidável. A solução é aquecida por um período de 8 a 24 horas. O tamanho e formato das partículas obtidas são influenciados pela quantidade de íons de ferro, a natureza do íon adicional no sistema (fosfato, sulfato etc.) e tempo de reação. São geradas partículas de boa qualidade com relação ao controle de composição, forma e cristalinidade (WU et al., 2015). Recentemente, o método tem sido utilizado também

assistido por micro-ondas, sendo mais interessante para expansão de produção em larga escala (SANTHOSH; ULRIH, 2013).

Outro método similar é a decomposição térmica, que supera limitações de outras rotas como o controle do crescimento de partícula que não é ideal na coprecipitação e as reações complexas que ocorrem na decomposição hidrotérmica. Além de nanopartículas esféricas, o processo permite fabricação de outras formas como nanotubos e cubos, variando-se o tipo de precursor, aditivos e solvente (WU et al., 2015).

As vantagens e desvantagens dos principais processos são resumidas na tabela 2. O processo selecionado para este trabalho foi a coprecipitação, realizado em meio aquoso, a baixas temperaturas de forma mais rápida e simples que os outros métodos mais comuns.

Tabela 2 : Comparação de métodos de síntese.

Método	Síntese	Temperatura (°C)	Tempo	Solvente	Distribuição de tamanho	Controle de forma	Rendimento
Coprecipitação	Simples, condições ambiente	20-90	minutos	água	Relativamente estreita	Ruim	Alto, larga escala possível
Microemulsão	Complexa, condições ambiente	20-50	horas	Composto orgânico	Relativamente estreita	Bom	Baixo
Síntese hidrotérmica	Simples, alta pressão	220	Horas/dias	Água e etanol	Muito estreita	Muito bom	Médio
Decomposição térmica	Complexa, atmosfera inerte	100-320	Horas/dias	Composto orgânico	Muito estreita	Muito bom	Alto, larga escala possível

Fonte : Adaptado de LU; SALABAS; SCHÜTH, 2007

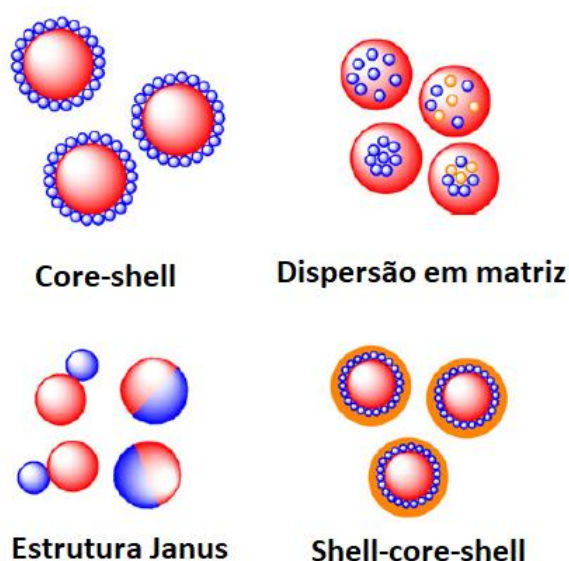
3.4) Funcionalização de partículas magnéticas para biomedicina

SPIONS devem ter sua superfície alterada para se obter maior eficiência em aplicações clínicas. Três fatores são de grande importância nesse tipo de processamento: solubilidade, biocompatibilidade e estabilidade. Nanopartículas de óxidos de ferro “puras”, ou seja, sem recobrimento, podem ser capturadas pelo sistema imunológico como corpos estranhos e não chegar ao alvo do tratamento

clínico. (SANTHOSH; ULRIH, 2013). Além disso, a funcionalização e estabilização das partículas como suspensão é importante para se desenvolver uma descrição correta e detalhada desse tipo de sistema (WILLIS; TURRO; O'BRIEN, 2005).

Nanopartículas magnéticas podem ser encapsuladas por materiais orgânicos ou inorgânicos. Wu et al. (2015) divide a funcionalização inorgânica entre core-shell, dispersão em matriz, estrutura de Janus ou shell-core-shell, indicados na figura 6.

Figura 6 : Morfologias típicas de nanomateriais com recobrimento inorgânico



Fonte: Adaptado de Wu et al. (2015)

No tipo de estrutura core-shell, o núcleo de óxido de ferro é completamente encapsulado, o que torna a partícula estável e pode servir como suporte para adesão de biomoléculas, dando a ela um caráter multifuncional. Se o núcleo não está localizado exatamente no centro desse recobrimento funcional, essa partícula é chamada de estrutura "yolk". É possível também obter-se partículas com core-shell inverso, onde o óxido de ferro é utilizado como coating de outro material, em casos de aplicações onde é interessante que se utilize propriedades da superfície desses óxidos (WU et al., 2015).

As estruturas indicadas por dispersão em matriz consistem na dispersão das partículas superparamagnéticas em uma matriz não-magnética para evitar sua agregação. Estrutura de Janus, por outro lado, consiste em uma partícula com dois

tipos de superfície, como representado na figura 6. Finalmente, nas partículas apresentadas como shell-core-shell, o material magnético localiza-se entre dois materiais funcionais (WU et al., 2015).

Já os recobrimentos com compostos orgânicos são divididos em moléculas pequenas e surfactantes; polímeros e biomoléculas.

Entre moléculas pequenas utilizadas, silanos são comumente encontrados na literatura por permitir posterior interação com íons metálicos, polímeros, biomoléculas ou entidades biológicas, sem modificar as propriedades magnéticas. Os compostos 3-aminopropiltriétiloxisilano (APTES), p-aminofeniltrimetoxisilano (APTS) e mercaptopropiltriétoxisilano (MPTES) são os mais comumente utilizados para posterior ancoragem de $-NH_2$ e $-SH$ (WU et al., 2015).

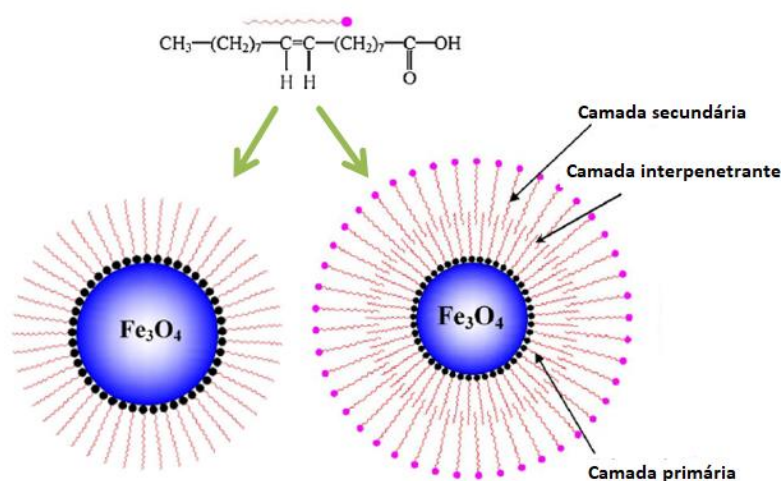
Uma forma simples de se obter as propriedades desejadas adicionando surfactantes pode ser feita promovendo a ligação da cabeça hidrofóbica à superfície da nanopartícula e fazendo com que a cauda hidrofílica fique voltada para o meio para interagir com o solvente. As dificuldades desse tipo de funcionalização estão na força de interação do ligante com a partícula, podendo causar o desprendimento, interação insuficiente com as partículas em meio biológico e agregação das NPs. (SANTHOSH; ULRIH, 2013)

Recobrimento com polímeros biodegradáveis como poliaspartato, polissacarídeos, gelatina, PEG, quitosana e outros, além de proporcionar às partículas superparamagnéticas estabilização coloidal e características multifuncionais, trazem vantagens com relação à farmacocinética e biodistribuição dessas partículas no organismo. Nesse caso, a funcionalização pode ser feita in situ (por microemulsão, por exemplo) ou, mais comumente, após a síntese das nanopartículas por adsorção ou ligação covalente dos grupos funcionais à superfície de óxido de ferro. (WU et al., 2015)

Funcionalização com biomoléculas tem sido muito estudada por ser eficiente em separação biológica, detecção, sensores e outras bioaplicações. Podem ser utilizadas enzimas, anticorpos, proteínas, polipeptídeos etc. A principal vantagem nesse caso é a biocompatibilidade e seletividade das moléculas. (WU et al., 2015)

O ácido oleico, utilizado na funcionalização deste trabalho, é um surfactante amplamente utilizado no recobrimento de SPIONs devido à alta afinidade com a superfície das nanopartículas em comparação com outros surfactantes, e à possibilidade de se obter mono ou bicamada, como representado esquematicamente na figura 7, de modo a se dispersar em meio apolar e polar, respectivamente. Isso amplia a gama de aplicações das nanopartículas funcionalizadas (YANG et al., 2010).

Figura 7 : Representação esquemática de recobrimento mono- e bicamada de ácido oleico sobre magnetita.



Fonte: Adaptado de YANG et al., 2010

O ácido oleico é uma molécula C18 com uma ligação dupla central, possibilitando uma estabilização efetiva devido à densa camada formada recobrendo a nanopartícula (WU et al., 2015). O ácido oleico é um estabilizante muito utilizado para óxidos de ferro devido à forte interação da superfície de óxido com o grupo ácido carboxílico da molécula. (SOARES et al., 2016b)

3.5) Caracterização de nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro

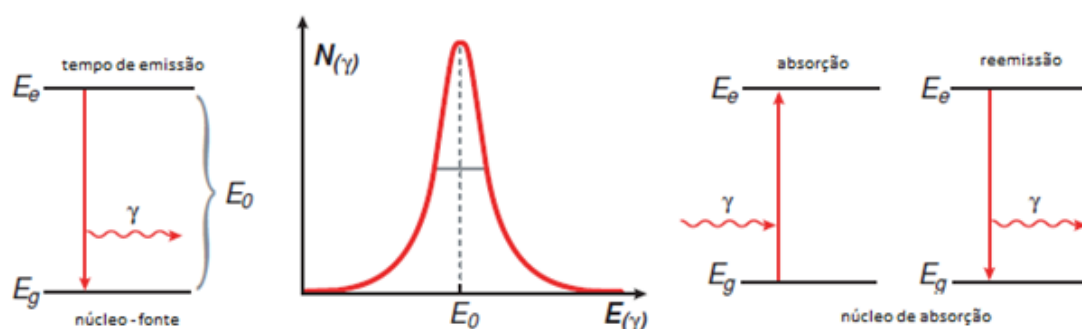
I) Espectroscopia Mössbauer

A espectroscopia Mössbauer é uma ferramenta poderosa para o estudo da estrutura de partículas magnéticas (HEROJIT SINGH et al., 2016). O efeito Mössbauer foi descoberto em 1957, baseado no princípio de absorção ressonante de raios gama no núcleo de materiais sólidos. Em 1965 foi aplicada como fundamento teórico em uma técnica de espectroscopia. (DYAR et al., 2006)

Para a caracterização de diferentes óxidos de ferro, a espectroscopia Mössbauer apresenta vantagens por possibilitar a distinção de diferentes parâmetros magnéticos hiperfinos. A magnetita e a maghemita, por exemplo, apresentam estrutura espinélio a temperatura ambiente. Com a técnica de Mössbauer, entretanto, é possível identificar os sítios de Fe(II) e Fe (III) na magnetita (JOOS et al., 2015).

Na espectroscopia Mössbauer utilizando-se o isótopo Fe^{57} , o tempo da medida experimental é representada pela meia vida do isômero correspondente a 3/2 da absorção do Fe^{57} (aproximadamente 10 ns). Dessa forma, a técnica é utilizada para estudar o comportamento de relaxação do spin magnético de partículas (HEROJIT SINGH et al., 2016). O processo de excitação nuclear ocorre como apresentado na figura 8.

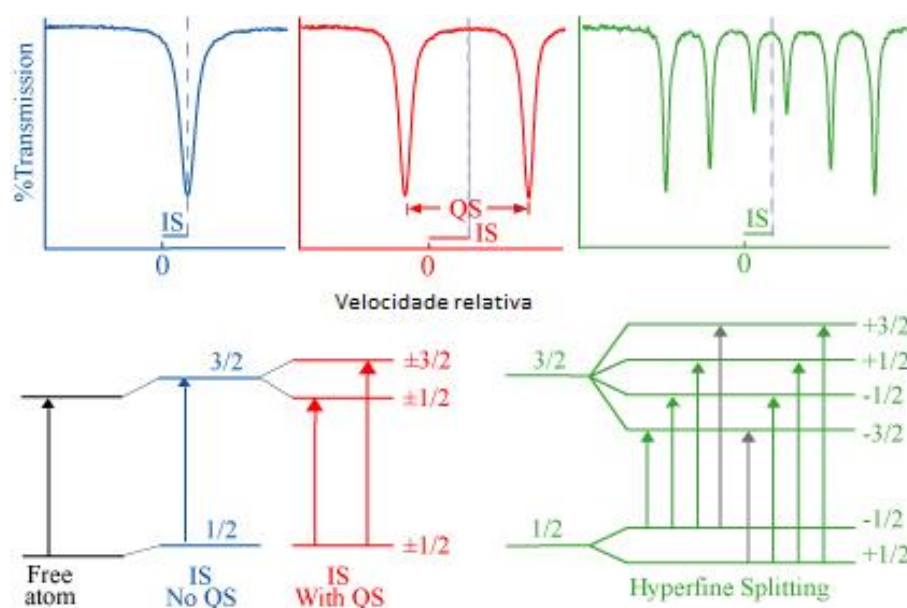
Figura 8 : Representação ideal do processo de fluorescência nuclear.



Fonte: Adaptado de HEROJIT SINGH et al., 2016

Um átomo isolado é excitado do seu estado estável (E_e) e decai gerando raios gama, transferindo assim, energia para um elétron de outro átomo. Essa radiação carrega uma energia, E_0 , que é capturada pelo elétron ressonante em mesmo valor de energia (figura 9) (DYAR et al., 2006).

Figura 9 : Níveis de energia no efeito Mössbauer.



Fonte : Adaptado de DYAR *et al.*, 2006

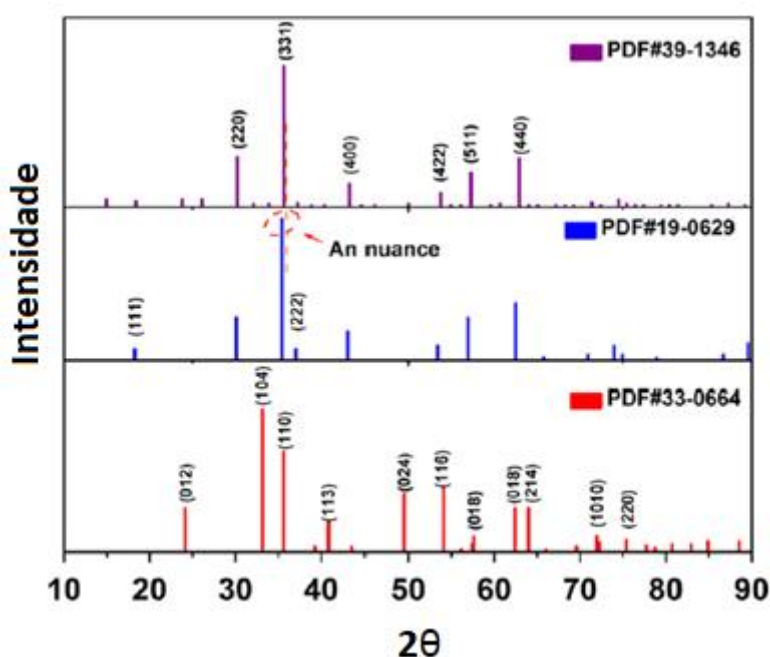
A figura 9 mostra como as diferentes formas de absorção dos átomos gera o espectro de transmissão (DYAR *et al.*, 2006). O primeiro gráfico, em azul, mostra uma mínima variação do valor de velocidade zero, geralmente chamado deslocamento ou desvio isomérico. As variações indicadas por $\frac{1}{2}$ e $\frac{3}{2}$, em vermelho, representam spins nucleares ou momentos angulares intrínsecos, gerados pela interação do momento quadrupolo com o campo elétrico nuclear do átomo. A interação com o Fe^{57} faz com que o pico apareça duplicado no espectro, como apresentado no segundo gráfico em vermelho. Finalmente, o gráfico apresentado em verde mostra um padrão de sexteto em um caso simples.

A principal desvantagem da técnica é a utilização de fonte radioativa, tornando-a insegura para o operador. Além disso, a espectroscopia Mössbauer exige um elevado nível de especialização do operador, devido à complexidade do espectro e sua interpretação (NAMDURI; NASRAZADANI, 2008).

II) Difração de raios X (DRX)

A difração de raios X é uma das técnicas mais utilizadas para revelar a estrutura cristalina dos materiais, porém na caracterização de óxidos de ferro é uma técnica limitada pois não permite distinguir as fases magnetita e maghemita, como mostrado na figura 10, com base nos padrões JCPDS indicados.

Figura 10 : Linhas correspondentes aos picos de DRX de acordo com os padrões γ - Fe_2O_3 (39-1346), Fe_3O_4 (19-0629) e α - Fe_2O_3 (33-0664).



Fonte : Adaptado de WU *et al.*, 2015

A hematita α - Fe_2O_3 é distinguível das outras fases pela presença dos picos em aproximadamente 24°, 33°, 41° e 49,5°. O pico de 35,5° aparece em todos os difratogramas, porém é levemente deslocado para a direita e mais intenso na hematita. De forma similar, o pico em aproximadamente 57° aparece em todas as espécies, porém é menos intenso na hematita.

Apesar do pequeno deslocamento de alguns picos, a estrutura cúbica da magnetita e da maghemita é muito similar (WU *et al.*, 2015), assim como parâmetros de rede (KIM *et al.*, 2012). Várias outras técnicas são propostas na literatura para se diferenciar

magnetita e maghemita, como espectroscopia Raman, FTIR, XPS, espectroscopia Mössbauer, microscopia por emissão de campo, entre outros. Cada uma dessas técnicas, porém, apresentam suas vantagens e desvantagens (KIM et al., 2012).

Uma alternativa para o estudo cristalográfico desses compostos por DRX é a utilização de tratamento térmico para se observar a evolução das fases (WU et al., 2015).

III) Magnetização

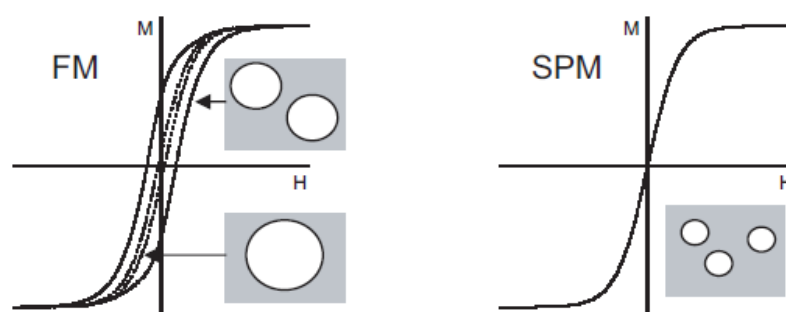
O magnetismo é uma das propriedades mais importantes dessa classe de nanomateriais, e está diretamente relacionada ao tamanho e forma das partículas. A hematita apresenta ferromagnetismo fraco a temperatura ambiente e saturação de magnetização abaixo de 1 meu/g (bulk). A magnetita e maghemita, por outro lado, apresentam ferrimagnetismo a temperatura ambiente e saturação de magnetização de até 92 emu/g (bulk) (WU et al., 2015).

A curva de magnetização, ou curva de histerese, é obtida por um magnetômetro de amostra vibrante, cuja sigla em inglês é VSM (*Vibrating Sample Magnetometer*). O material é colocado sob ação de um campo magnético uniforme H , fazendo com que o momento magnético M se alinhe na direção do campo. A curva de magnetização é obtida fazendo-se uma varredura de H crescente em função da magnetização σ . Quando o campo atinge o valor constante, obtém-se o valor de magnetização de saturação, σ_s , ou seja, todos os momentos estão apontados na direção do campo. Invertendo-se o valor do campo magnético, a magnetização é reduzida até o valor de magnetização remanente, σ_r . As curvas de magnetização dependem do tamanho de partícula (DUARTE, 2005). Abaixo de 30 nm de tamanho de partícula, observa-se comportamento superparamagnético (KANDASAMY; MAITY, 2015).

Os gráficos M - H esperados para partículas ferro- e ferrimagnéticas (FM) e superparamagnéticas (SPM) são apresentadas na figura 11.

O loop de histerese observado para materiais FM indica a irreversibilidade do processo de magnetização relativo ao movimento dos domínios em impurezas ou contornos de grão, assim como ao efeito anisotrópico do material. O formato do gráfico é influenciado pelo tamanho de partícula: partículas maiores apresentam loop mais estreito pois a presença de multi-domínios faz com que seja necessária menor intensidade de campo magnético para mover os domínios. Abaixo do tamanho crítico de partículas, observa-se o comportamento superparamagnético, onde o comportamento magnético das partículas tem maior liberdade para retornar ao estado inicial de magnetização, portanto não é observado o loop de histerese e não há magnetismo remanente após remoção do campo externo (PANKHURST et al., 2003).

Figura 11 : Curva H-M de resposta magnética de diferentes classes de materiais magnéticos.



Fonte : Adaptado de PANKHURST et al., 2003

Medidas de magnetização por histerese dinâmica indicam a eficiência de aquecimento das partículas, propriedade de maior interesse na aplicação em hipertermia. Dados experimentais apresentados por GUIBERT et al. (2016) mostram a relação entre o poder calorífico de partículas magnéticas e medidas de magnetização utilizando baixos valores de campo magnético.

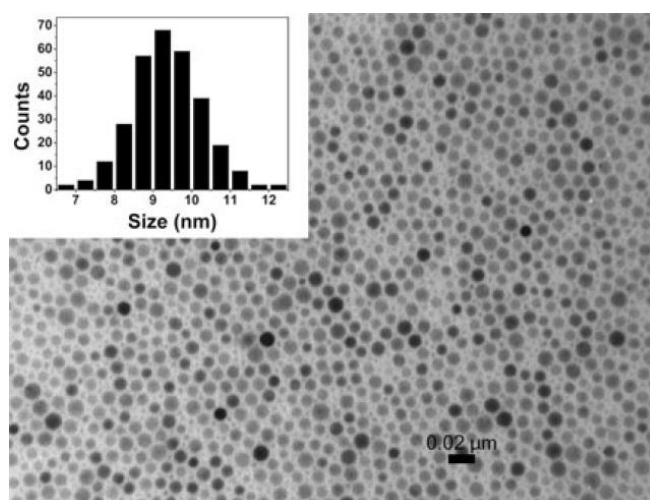
IV) Microscopia eletrônica a transmissão

Microscopia eletrônica a transmissão (MET) é uma ferramenta amplamente utilizada na caracterização de nanopartículas devido à alta resolução e capacidade de

ampliação. A resolução de um microscópio eletrônico pode chegar a 0,1 nm se as aberrações forem minimizadas (DAVID B. WILLIAMS.; CARTER, 2009).

Na figura 12 observa-se pela imagem obtida por MET uma estreita distribuição de tamanho das nanopartículas com recobrimento com ácido oleico obtidas por BLOEMEN et al. (2012).

Figura 12 : Imagem de MET de nanopartículas de óxido de ferro estabilizadas com ácido oleico.



Fonte: BLOEMEN et al., 2012

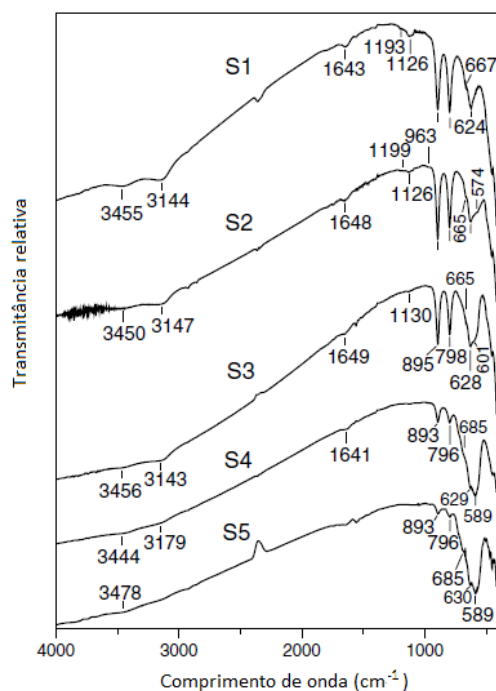
V) Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia por infravermelho é uma técnica de caracterização que permite a obtenção de informações sobre as ligações químicas do material e pode ser feita a análise de sólidos, filmes finos ou líquidos. O objetivo é determinar a intensidade do feixe de infravermelho em função do comprimento de onda ou frequência após a interação do feixe com a amostra. Isto é, determina-se a razão I/I_0 (sendo I_0 a intensidade do feixe incidente e I a intensidade do feixe após interação com a amostra) em função da frequência do feixe. O resultado é dado em forma de um espectro de infravermelho, em função da transmitância, refletância ou absorptância (BRUNDLE 1992).

Os métodos de caracterização de óxidos de ferro tradicionais são a difração de raios X e a espectroscopia Mössbauer. Entretanto, a utilização de fonte radioativa na espectroscopia Mössbauer e a limitação do DRX de diferenciar magnetita e maghemita são fatores limitantes dessas técnicas. Dessa forma, o FTIR tem mostrado potencial devido à facilidade de realização da análise, simplicidade da técnica e por dispensar fontes radioativas ou que apresentem potencial risco ao operador (NAMDURI; NASRAZADANI, 2008).

No trabalho de GOTIĆ e MUSIĆ (2007), são apresentados espectros de infravermelho para diferentes amostras de óxidos de ferro sintetizadas pelos autores. Alguns desses espectros são apresentados na figura 13.

Figura 13 : Espectros de FTIR de amostras de óxidos de ferro.



Fonte : Adaptado de GOTIĆ; MUSIĆ, 2007

As amostras são nomeadas de S1 a S5, indicando o aumento do pH na síntese, de S1 para S5. Os demais parâmetros utilizados no trabalho são constantes. A síntese no trabalho foi realizada com sulfatos de ferro (para precipitação) e ureia (responsável pela variação de pH). Observa-se bandas em aproximadamente 3144, atribuídas à estrutura da goethita, são reduzidas com o aumento do pH na amostra. As bandas

em aproximadamente 1643 cm^{-1} são atribuídas à vibração de grupamentos de H_2O , e bandas na região de aproximadamente 1193 cm^{-1} são atribuídas a grupamentos sulfatos absorvidos (presentes em amostras de caráter ácido).

Duas bandas bem marcadas na amostra S1 em aproximadamente 895 e 798 cm^{-1} são características de ligações Fe-O-H na goethita, e a banda em 624 cm^{-1} , da ligação Fe-O. Na amostra S2, observa-se uma banda em 574 cm^{-1} , que a difere da amostra S1. Essa banda pode ser atribuída à fase hematita (geralmente apresenta bandas características em 575 , 485 , 385 e 360 cm^{-1}).

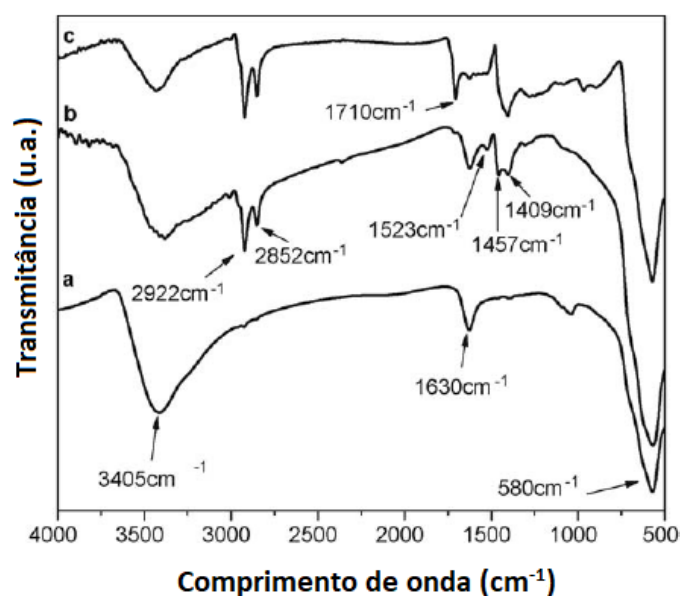
As amostras S3 a S5 apresentam as bandas características da ligação Fe-O-H da goethita, mas também apresentam diferenças na região de 601 a 589 cm^{-1} , indicando a presença de magnetita (bandas características em 586 e 404 cm^{-1}).

A curvatura da linha de base dos espectros (queda do lado esquerdo, a elevados comprimentos de onda) é resultados de efeitos de espalhamento do infravermelho, segundo dados da Shimadzu, isso pode ocorrer em caso de superfícies muito rugosas ou presença de compostos inorgânicos. O efeito é observado com maior clareza em maiores comprimentos de onda.

A interação do recobrimento de ácido oleico com as partículas de óxidos de ferro também pode ser estudada pelos espectros de FTIR. A figura 14 mostra os espectros

de magnetita exposta, magnetita recoberta com quantidade limitada de ácido oleico e magnetita recoberta com excesso de ácido oleico, consecutivamente.

Figura 14 : Espectro de FTIR de magnetita exposta (a), magnética com recobrimento limitado de ácido oleico (b) e magnetita com recobrimento de ácido oleico em excesso (c).



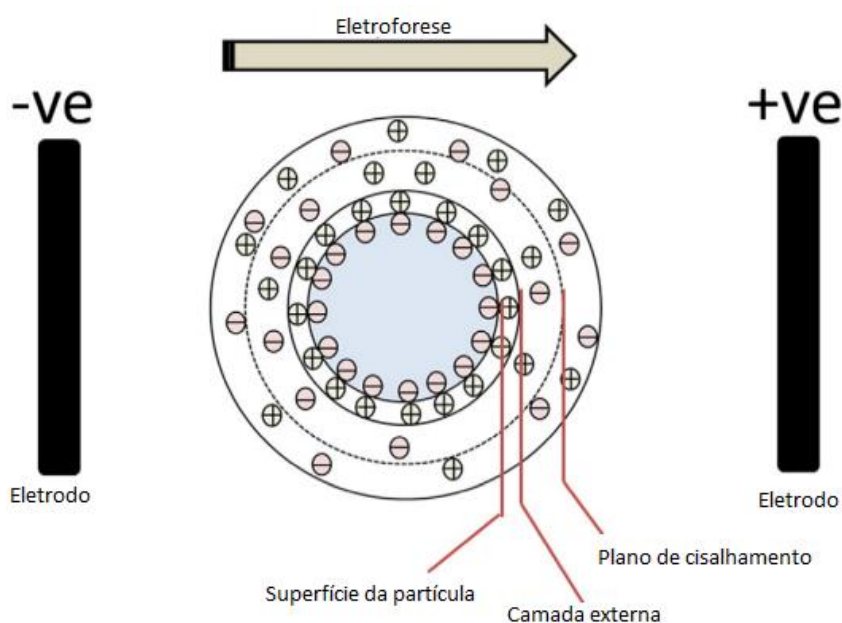
Fonte : Adaptado de YANG *et al.*, 2010

Os autores atribuem a banda de 580 cm⁻¹ que aparece em todos os espectros à vibração da ligação Fe-O da estrutura cristalina da Fe₃O₄. As bandas de 1630 e 3405 cm⁻¹ observadas na magnetita sem recobrimento são explicadas pelas interações -OH da superfície da magnetita dispersas meio aquoso. O espectro de magnetita recoberto com quantidade limitada de ácido oleico apresenta novos picos com relação ao anterior, que são 1409, 1457, 1523, 2852 e 2922 cm⁻¹. Os picos 2852 e 2922 correspondem, respectivamente, às extensões simétrica e assimétrica do grupo CH₂ da molécula de ácido oleico. As bandas 1457 e 1523 correspondem, respectivamente, a vibração assimétrica e simétrica do grupamento -COO⁻. Observa-se que a banda 1457 de vibração assimétrica não aparece na amostra com excesso de ácido oleico, mas é observada uma nova banda, em 1710 cm⁻¹, relacionada à vibração C=O do recobrimento (YANG *et al.*, 2010).

VI) Potencial Zeta

A medida de potencial Zeta é uma técnica simples, fácil e altamente reprodutível de determinação de carga superficial e tamanho de partículas. Basicamente, é o potencial do plano de cisalhamento que recobre partículas em uma solução coloidal se movimentando sob ação de um campo elétrico. O potencial elétrico na superfície é o trabalho necessário para que uma carga positiva localizada no infinito se aproxime da superfície sem aceleração. Dessa forma, pode-se afirmar que o potencial Zeta reflete a diferença de potencial entre a dupla camada elétrica da partícula e a camada de dispersante ao redor do plano de cisalhamento (BHATTACHARJEE, 2016). As camadas são representadas na figura 15.

Figura 15 : Representação de distribuição de cargas de uma partícula carregada



Fonte: Adaptado de Bhattacharjee, 2016

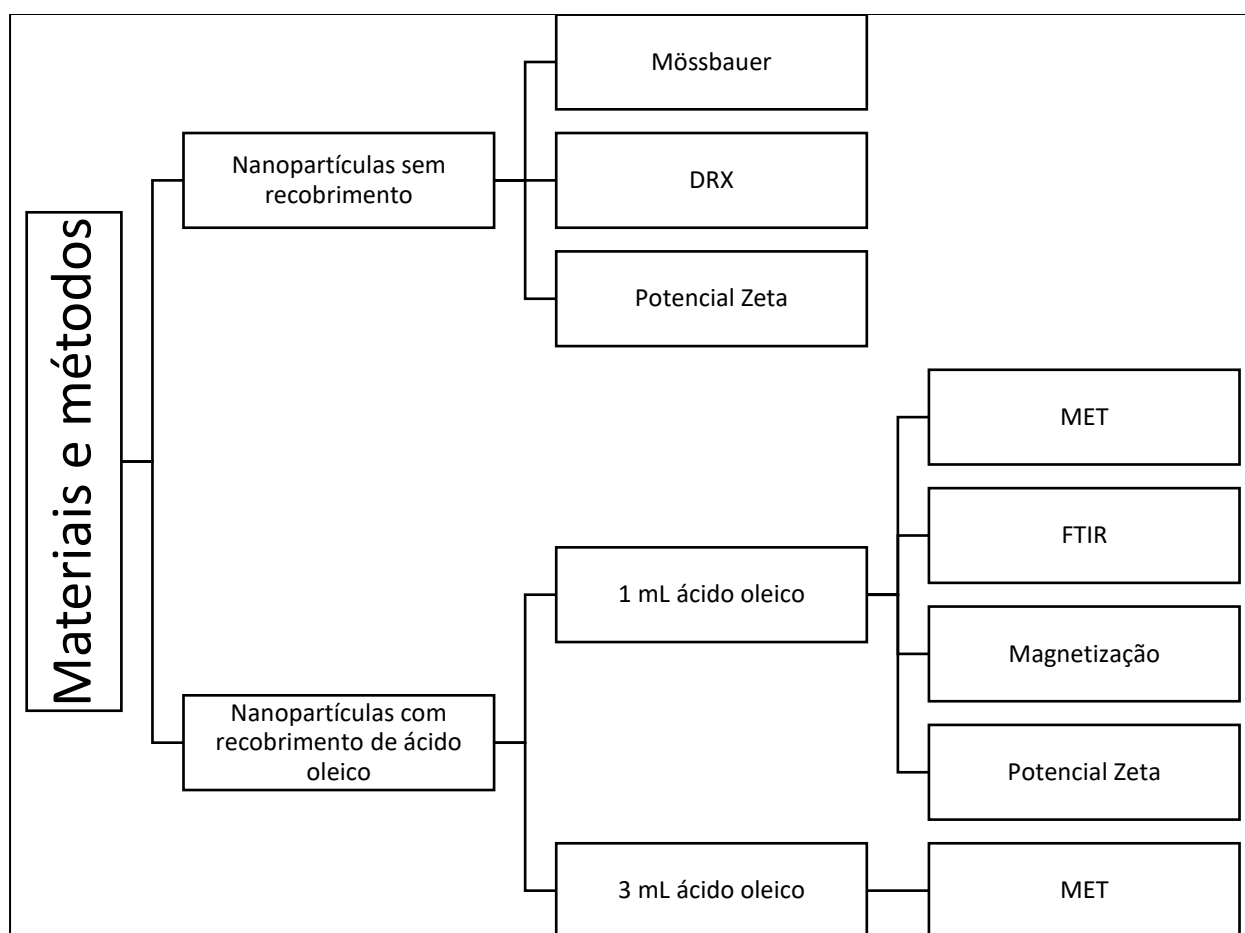
A técnica consiste na aplicação de um campo elétrico na suspensão com mobilidade eletroforética, e a medida é realizada por espalhamento de luz ou fenômeno eletroacústico. O potencial zeta é influenciado pelo pH, força iônica e concentração de partículas. Se o potencial Zeta medido tem valor absoluto superior a 25 mV, pode-se considerar que as partículas são eletrostaticamente estáveis (SHETE et al., 2014). Normalmente suspensões com valores de potencial zeta maiores que 25 mV ou menores que -25mV são consideradas estáveis.

4) Materiais e métodos

4.1) Síntese de nanopartículas magnéticas, não funcionalizadas e funcionalizadas

Na figura 16 é apresentado o fluxograma com os procedimentos realizados e a caracterização de cada tipo de amostra.

Figura 16 : Fluxograma materiais e métodos

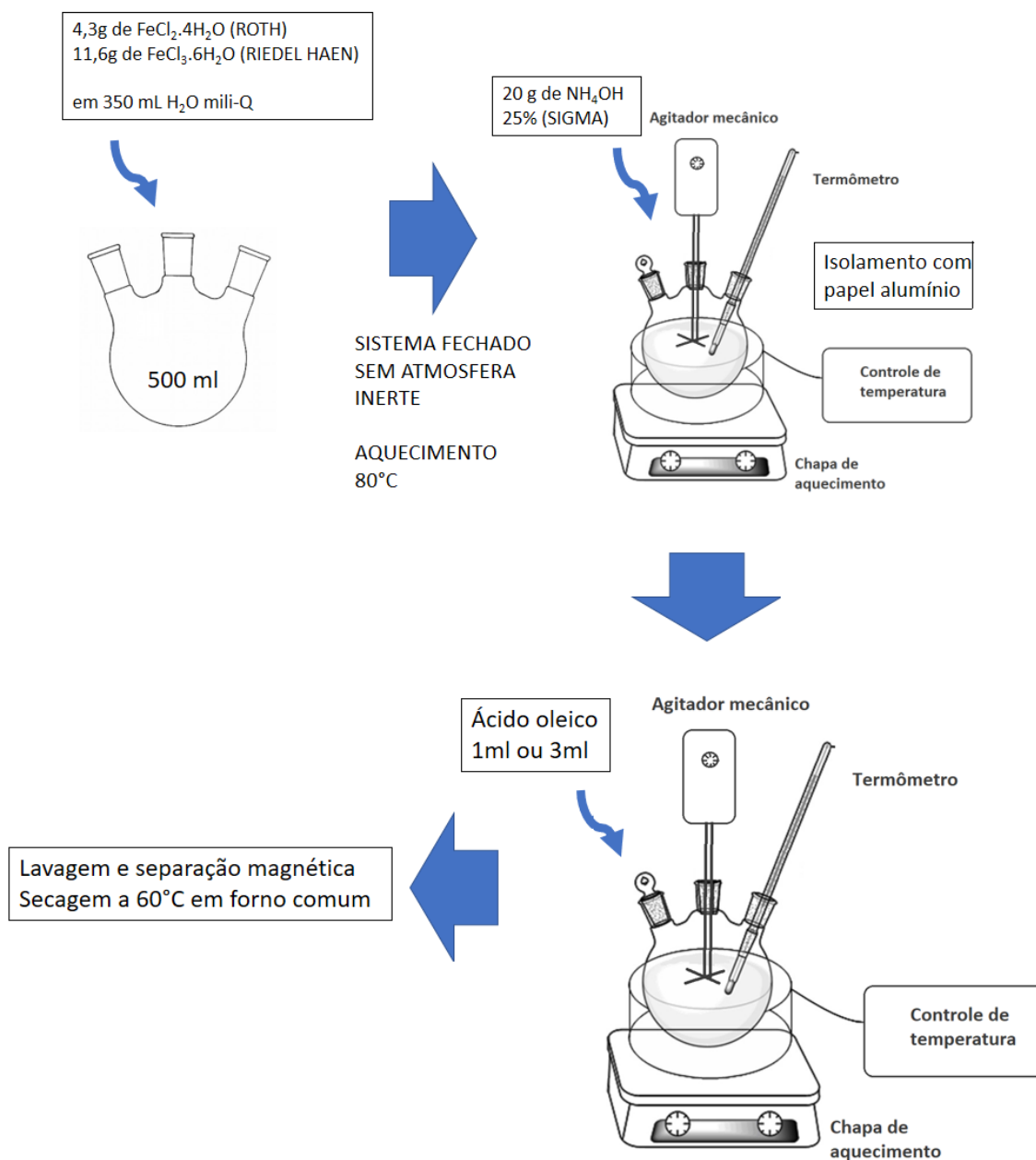


Fonte: do próprio autor (2018)

A metodologia de síntese e funcionalização utilizada neste trabalho foi baseada no trabalho de YANG et al. (2010), como representado na figura 17. No caso de

partículas não funcionalizadas, o processo foi o mesmo, porém sem a etapa de adição de ácido oleico.

Figura 17 : Representação esquemática da síntese das nanopartículas funcionalizadas



Fonte: do próprio autor (2018)

Para a síntese das nanopartículas utilizou-se o método da coprecipitação (Yang, 2010) que consiste na mistura de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, com a razão

estequiométrica de 2:1 ($\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}$), adicionados ao balão e contendo de H_2O mili-Q (degaseificada). Procede-se a solubilização dos óxidos sob temperatura e no final adiciona-se o hidróxido de amônio sob atmosfera de nitrogênio. Em condições anaeróbicas e pH elevado (acima de 9) com a razão estequiométrica $2\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}$ é formada a magnetita (Fe_3O_4), após a secagem.

Foram pesados cerca de 4,3g de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ grau analítico da marca Roth e 11,6g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (pureza superior a 96%) da marca Riedel-de Haen, sendo na sequência dissolvidos em 350 mL de água ultrapura (mili-Q) em um balão de 500 mL. A solução foi aquecida a 80°C sob agitação mecânica rigorosa. A temperatura foi controlada tanto no interior do balão, utilizando-se um termômetro em contato com a solução, quanto exteriormente com um termômetro e isolamento com papel alumínio. Em seguida, 20 g de NH_4OH 25% da marca sigma Aldrich foram adicionados rapidamente e a mistura foi agitada vigorosamente por 5 minutos. À solução foi adicionado lentamente 1 ml ou 3 ml de ácido oleico da marca Sigma Aldrich (pureza maior ou igual a 99%) e, após agitação por 25 minutos, as partículas foram separadas magneticamente, lavadas repetidamente com água deionizada e etanol e secadas em câmara a vácuo. Para secagem, foi utilizada uma rampa de 30 minutos para atingir 60°C , e a seguir isoterma por 24 horas.

As amostras foram nomeadas de acordo com a presença de recobrimento com ácido oleico, sendo FexOy_YM para amostra com 1 ml de ácido, onde era esperada formação de monocamada; FexOy_YB para o procedimento onde foram utilizados 3ml de ácido oleico, para se obter uma bicamada segundo relatado na literatura. Essas amostras funcionalizadas foram caracterizadas utilizando-se MET, FTIR, magnetização e potencial Zeta.

Experimentos exploratórios foram realizados previamente, utilizando-se fluxo de atmosfera inerte, sem a utilização de aquecimento e sem recobrimento com ácido oleico. As amostras foram caracterizadas com espectroscopia Mössbauer, DRX e potencial Zeta. Os resultados, assim como conclusões tiradas dos experimentos primários, são reportados a seguir.

4.2) Caracterização

As amostras sem recobrimento foram caracterizadas com relação à estrutura cristalina e estabilidade em suspensão por espectroscopia Mössbauer no Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear (CDTN), por DRX, realizado no CEFET-MG e potencial Zeta realizado no Instituto de novos materiais (INM). O DRX foi realizado com o acessório de variação de temperatura, com o objetivo de se observar a transformação de fase das nanopartículas e a presença de diferentes óxidos de ferro com o decorrer do processo. O equipamento de DRX utilizado é da marca Shimadzu, 7000 XRD. Foi usado um tubo de raio x de Cobre com tensão de 40 kV e corrente 30 mA. A varredura foi realizada de 10 a 80° em tomada fixa de 2 segundos. Foi também realizada de forma complementar uma análise EDX para verificar a composição química da amostra e direcionar a identificação da fase na DRX. A identificação foi realizada através do software X-powder com Banco de dados do ICDD PDF-2002. A identificação foi posteriormente corroborada por resultados encontrados na literatura.

A espectroscopia Mössbauer de Fe^{57} foi realizada em um espectrômetro convencional do CDTN com aceleração constante, fonte de Co^{57} em Rh matriz mantida à temperatura ambiente (RT) utilizando a geometria de transmissão. O sistema Mössbauer utiliza um transdutor controlado por uma unidade de comando por função linear e detectores da radiação do tipo contador proporcional com câmara de gás com 97% de Criptônio e 3% de CO_2 na pressão de 1atm. Os espectros foram analisados quantitativamente, usando um método computacional específico através do software Normos (R. A. Brand, Laboratorium für Angewandte Physik, Universität Duisburg). Os desvios isoméricos (IS) foram padronizados em relação a Fe natural ($\alpha\text{-Fe}$).

Para o ensaio de medição do potencial Zeta o óxido de ferro foi analisado em dispersão em água deionizada. A dispersão foi tratada em banho de ultrassom por 20 minutos. Dos 60 g de dispersão preparados, foram utilizados 18 mL para cada titulação, iniciando-se pelo pH normal da solução. A cada pH foram feitas 3 medidas, sendo que cada uma delas consiste em 20 medições únicas. O equipamento utilizado foi o Zetasizer Nano ZSP da marca Malvern.

As amostras com recobrimento de ácido oleico foram caracterizadas no Instituto de novos materiais (INM) em Saarbrücken na Alemanha. Com relação à forma, tamanho

e distribuição de tamanho utilizou-se o microscópio eletrônico a transmissão JEM-2100 da marca japonesa JEOL. Foi utilizado canhão de elétrons de LaB6 a tensão de 200 kV. Para a preparação de amostra, uma pequena porção de partículas foi colocado em água deionizada e dispersada em ultrassom por 3 minutos. Uma gota da dispersão foi então colocada sobre uma rede de cobre com recobrimento de carbono ('S147-4', Plano, Wetzlar, Germany) e seca ao ar antes da investigação.

Para análise de propriedades magnéticas das nanopartículas sintetizadas, foi utilizado magnetômetro de amostra vibrante (vibrating sample magnetometer, VSM), serie 7400 da marca Lakeshore. Foram feitas medidas de histerese a temperatura ambiente de -8000 a 8000G. As amostras foram preparadas dispersando em água na proporção de 10 g/L, e a quantidade necessária para cada análise foi de 140 μ L. Nesta análise foram obtidas curvas de histerese da amostra sintetizada, da qual é possível determinar parâmetros como coerciva, campo magnético, a magnetização de saturação, a magnetização máxima e a magnetização de campo zero.

O espectrômetro FTIR usado foi da marca Perkin Elmer, com acessório ATR, que dispensa necessidade de preparação de amostra. A análise foi realizada no modo transmitância de 450 a 3600 cm^{-1} .

Para a medida de potencial Zeta, foram usados os mesmos parâmetros descritos para a análise das amostras sem recobrimento.

5) Resultados e discussão

5.1) Experimentos exploratórios

Experimentos exploratórios realizados variando-se parâmetros de síntese são descritos a seguir:

1) Utilização de fluxo de nitrogênio

Os primeiros experimentos foram realizados utilizando-se fluxo de gás nitrogênio como atmosfera protetiva para a formação das partículas magnéticas. Porém, com base na revisão bibliográfica realizada e buscando uma metodologia o mais simplificada o possível, de baixo custo e com potencial de *upscaling*, a síntese principal do trabalho, com recobrimento de ácido oleico, foi realizada sem fluxo de N₂. Além disso, o recobrimento orgânico já funciona como uma barreira de proteção que retarda a oxidação das partículas quando expostas ao ar.

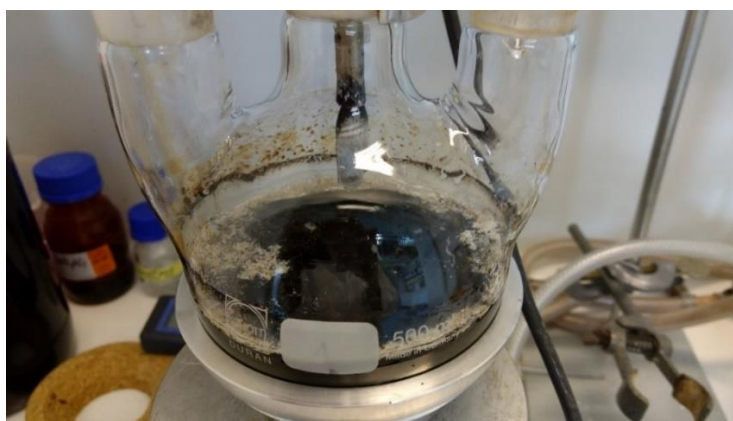
2) Recobrimento de ácido oleico

O ácido oleico é um surfactante utilizado para estabilizar as partículas em suspensão. Vários artigos relatam uso de diferentes surfactantes e funcionalizantes para SPIONs. Primeiras amostras foram sintetizadas sem o surfactante como pré-teste da metodologia para verificar o andamento do processo e avaliar a estrutura cristalina sem influência do recobrimento.

3) Aquecimento

O aquecimento da suspensão é utilizado em alguns trabalhos encontrados na literatura, e a utilização de uma metodologia simplificada foi a motivação de um primeiro experimento a temperatura ambiente (figura 18). Foi observado que, na etapa de adição de ácido oleico, há formação de um precipitado branco, ou seja, o ácido oleico não foi aproveitado como recobrimento e remanesce sobrenadante. A figura 18 mostra o processo em andamento com formação do sobrenadante branco.

Figura 18 : Síntese de NPs com recobrimento de ácido oleico, sem aquecimento.



Fonte: Próprio autor. INM (2017)

Figura 19 : Síntese de NPs de óxido de ferro com recobrimento de ácido oleico sem aquecimento, após etapa de separação magnética.



Fonte: Próprio autor. INM (2017)

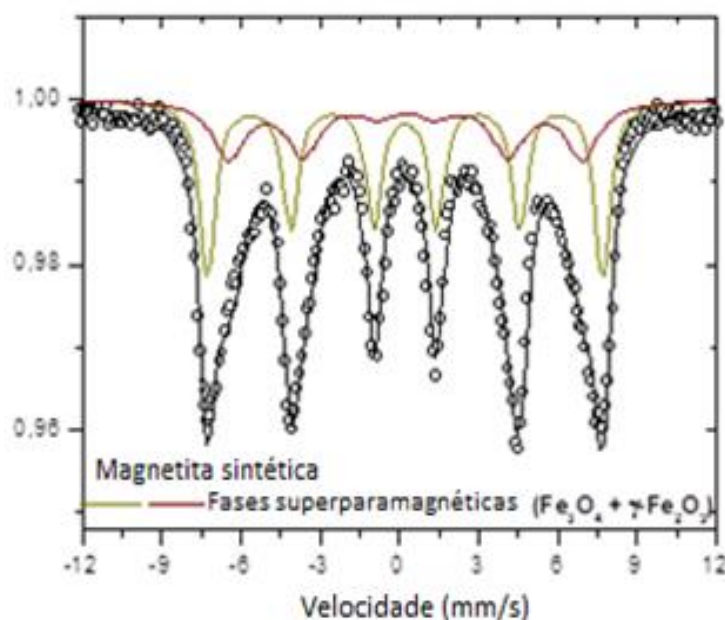
Observa-se uma nítida separação das fases no estado aquoso (figura 19). Aparentemente o aquecimento da suspensão poderia implementar uma maior eficiência na funcionalização com geração de multicamadas depositadas, no entanto implicaria na necessidade de se utilizar também possivelmente o N_2 com barreira contra a oxidação. A utilização dessa metodologia para bicamada está sendo aprimorada e não será mostrada ou discutida neste trabalho.

5.2) Caracterização das nanopartículas sem recobrimento

- Espectroscopia Mössbauer

O espectro Mössbauer obtido a temperatura ambiente da amostra sem recobrimento de ácido oleico, assim como a tabela de parâmetros hiperfinos são apresentados a seguir (figura 20).

Figura 20 : Espectro Mössbauer de ^{57}Fe obtidos a temperatura ambiente (RT).



Fonte: CDTN (2016)

Os resultados das análises por espectroscopia Mössbauer mostraram que a amostra apresenta um espectro com picos alargados, característico de comportamento superparamagnético a temperatura ambiente. Foram identificadas as fases magnetita e maghemita, como apresentados na tabela 3.

Tabela 3 : Parâmetros hiperfinos dos espectros Mössbauer de ^{57}Fe obtidos a RT.

Amostra (RT)	Fase	$\delta \pm 0,05$ (mm/s)	$\text{Deq} \pm 0,05$ (mm/s)	$B_{\text{HF}} \pm 0,5$ (T)	Área relativa $\pm(1 \%)$
Magnetita sintética	Mix ($\text{Fe}_3\text{O}_4 +$	0.31	-0.06	46.1	45
	$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (*)	0.34	-0.02	41,5	56

(*) comportamento superparamagnético a RT

Fonte: CDTN (2016)

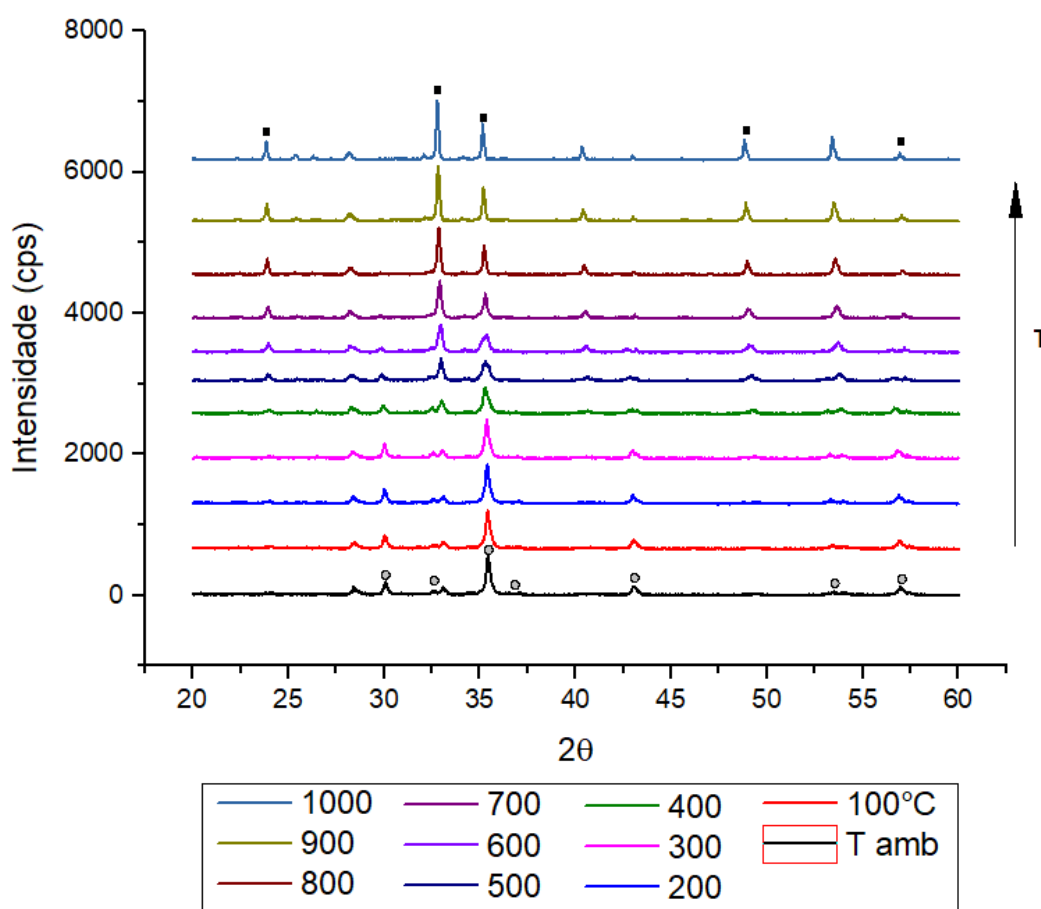
Na tabela 3 são descritas as fases encontradas nas diferentes amostras. A amostra apresenta basicamente as fases magnetita e maghemita. A técnica fornece valores para o deslocamento isomérico das fases, em relação ao $\alpha\text{-Fe}$, dado por δ . Além disso, são obtidos também valores para o desdobramento quadrupolar (D) que indica distorções locais e o campo magnético hiperfino (B_{hf}) que fornece informações sobre as propriedades magnéticas da amostra. Os valores obtidos para B_{hf} são coerentes com os valores médios encontrados na literatura para magnetita e maghemita, e baixos valores de D indicam baixa distorção da amostra analisada (CORNELL; SCHWERTMANN, 2003).

- DRX

A análise de DRX com variação de temperatura da amostra de nanopartículas de óxido de ferro é apresentada na figura 21.

Com base nos resultados da espectroscopia Mössbauer, e informações relatadas na revisão bibliográfica, os picos do difratograma à temperatura ambiente foram identificados como uma mistura de magnetita/maghemita. Com base nos estudos de Zhao et al. (2013), a evolução da transformação de fase é observada a partir de 300°C pela aparição dos picos em 24, 33 e 49,5°, característicos da hematita, pela redução dos picos em 30,3° e 43°, característicos da magnetita e maghemita.

Figura 21 : Difrátograma da amostra de óxido de ferro, variando-se de temperatura ambiente a 1000°C.

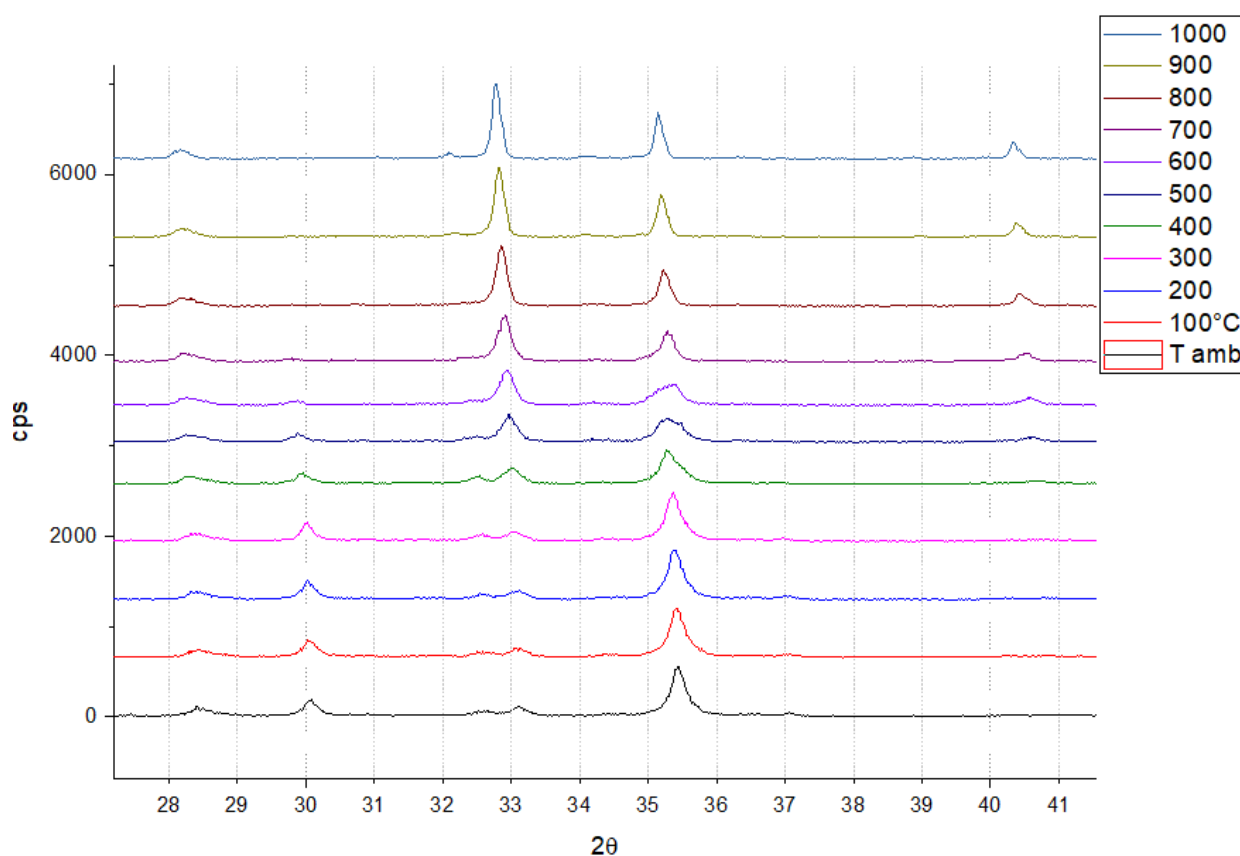


Fonte: CEFET (2016). Círculos correspondem às fases magnetita/maghemita, quadrados correspondem à fase hematita.

Além disso, observa-se o deslocamento de picos comuns às 3 fases com o decorrer do processo. Com o aumento da temperatura, os picos em $35,5^\circ$ e $33,1^\circ$ da magnetita/maghemita deslocam-se para a esquerda, ou seja, para menores valores de 2θ . Essas mudanças são observadas na figura 22.

O deslocamento do pico de aproximadamente $35,5^\circ$ pode ser explicado por dados encontrados no trabalho de CORNELL e SCHWERTMANN (2003). Na magnetita, a distância interplanar (d) do plano 311 correspondente a esse pico é de 0,2532; na hematita o pico em posição similar corresponde ao plano 110, de $d = 0,2591$. Considerando a lei de Bragg $n\lambda = 2d \sin \vartheta$, é possível explicar o deslocamento do pico para menores valores de 2θ devido ao valor de d .

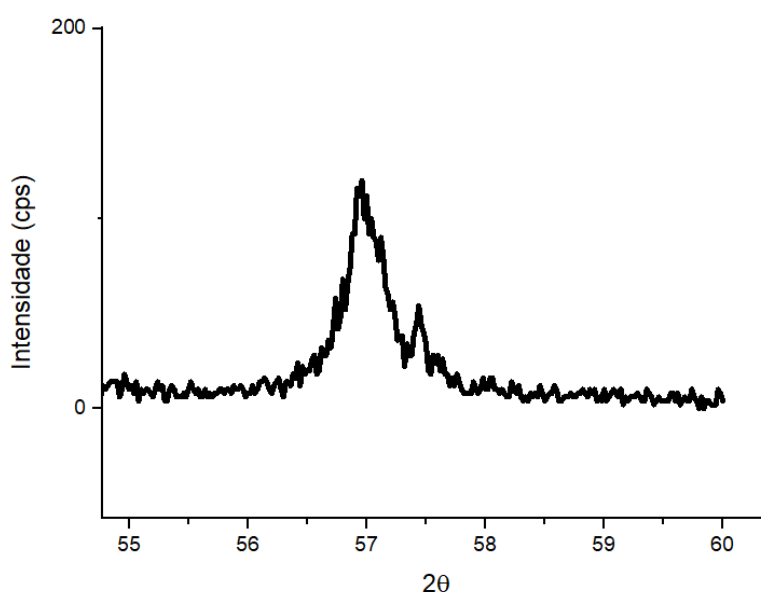
Figura 22 : Difratoograma de amostras de óxidos de ferro, variação de temperatura ambiente a 1000°C . Região de 21 a 41° .



Fonte: CEFET (2016)

Analisando-se com mais detalhes o difratograma a temperatura ambiente, foi selecionado o pico de 57° , correspondente ao plano (511), destacado na figura 23, selecionando-se a região entre 55 e 60° . Observa-se a existência de dois picos, em 57 e $57,5^\circ$, referentes às fases magnetita e maghemita, respectivamente.

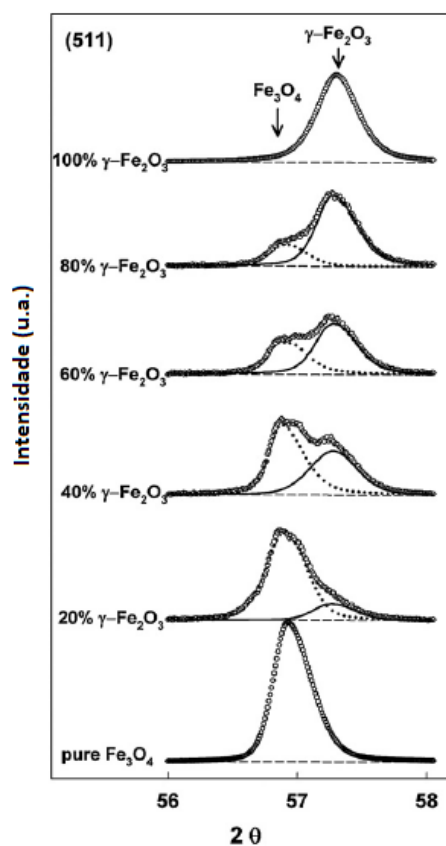
Figura 23 : Destaque do pico (511) da amostra de magnetita/maghemita.



Fonte: CEFET (2016)

O trabalho de KIM et al. (2012) relata a distinção das duas fases utilizando-se DRX. A figura 24 mostra o estudo da convolução desses dois picos de baixa intensidade, que no caso do resultado deste trabalho, não estão convoluídos e a presença de maior quantidade de magnetita é observada.

Figura 24 : Difratoograma do pico (511) de magnetita e maghemita em diferentes proporções.

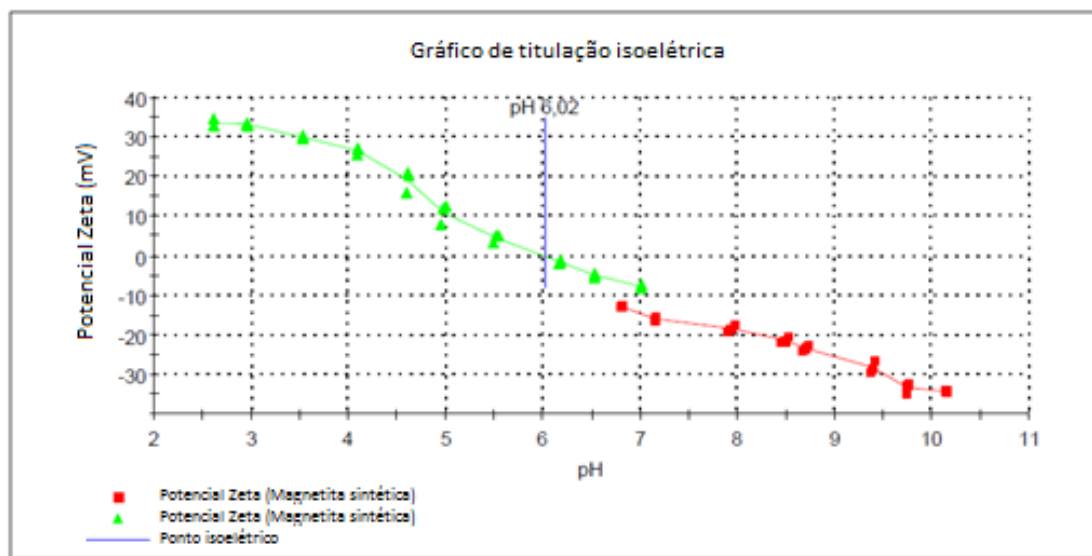


Fonte: Adaptado de KIM *et al.*, 2012

- **Potencial Zeta**

Na figura 25, é apresentado o resultado de potencial Zeta da amostra sintetizada sem recobrimento, indicando o pH (ponto isoelétrico) que representa a situação na qual a suspensão atinge sua máxima instabilidade.

Figura 25 : Resultado de potencial Zeta da amostra de magnetita sem recobrimento.



Fonte: INM (2016)

A amostra apresenta um ponto isoeletrico em pH 6. Em suspensões monofásicas em meios aquosas com valores de potencial Zeta maiores que +25mV ou menores que -25mV são considerados estáveis, portanto, a amostra em questão possui estabilidade quando em pH estiver abaixo de 4,5 ou acima de 9, evitando-se assim agregações ou aglomerações por impedimento estérico ou eletrostático.

5.3) Síntese de nanopartículas com recobrimento de ácido oleico

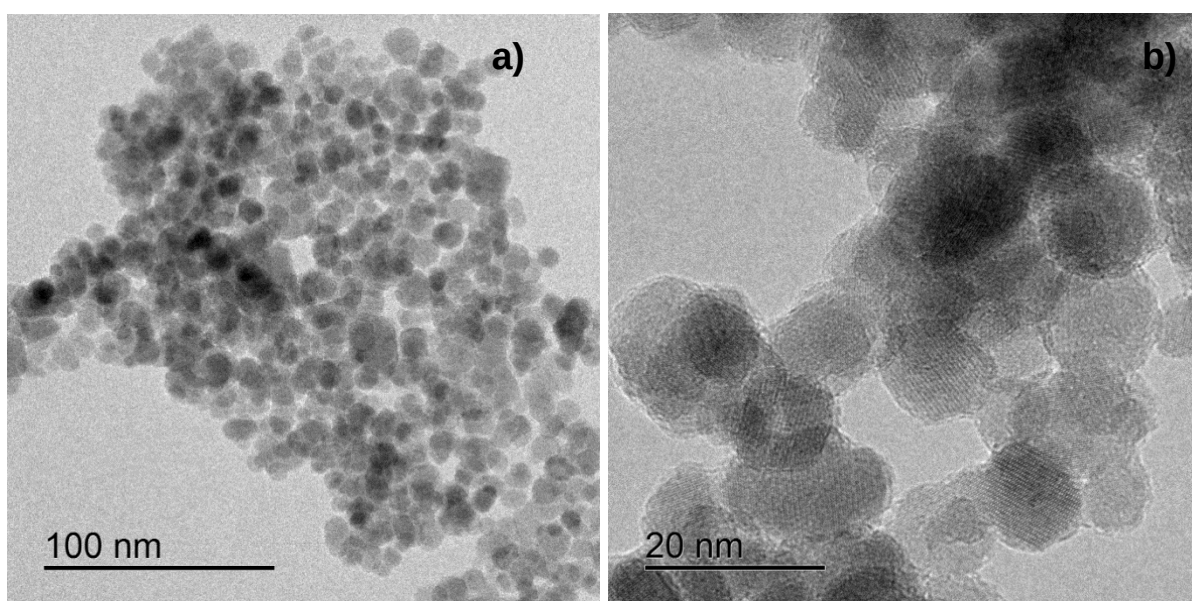
A síntese das partículas com recobrimento monocamada, FexOy_YM teve rendimento de 5,0890 g, medido após secagem em forno a vácuo. O pó obtido apresentou coloração marrom escuro. Por outro lado, para a amostra de bicamada, FexOy_YB não foi possível obter-se uma amostra em pó. Após 24 horas a 60°C, a amostra apresentava-se em forma de “polpa” de coloração mais escura que a anterior, e mesmo deixando-a por outras 24 horas à mesma temperatura, não teve uma secagem bem-sucedida. A quantidade de material final foi pesada, sendo 6,7824 g, sugerem a formação de recobrimento monocamada hipótese obtida pelas análises a seguir de MET e FTIR.

5.4) Caracterização de nanopartículas com recobrimento de ácido oleico

- **Microscopia eletrônica a transmissão (MET)**

As imagens de MET obtidas para as amostras FexOy_YM e FexOy_YB são apresentadas a seguir. A figura 26 mostra resultados da amostra onde era esperada obtenção de monocamada de ácido oleico, onde é possível observar partículas esféricas, cristalinas, homogeneamente distribuídas de tamanho aproximadamente 10 nm. Na imagem de maior aumento é possível perceber a presença do recobrimento de ácido oleico como uma região não cristalina e de menor contraste em volta das partículas.

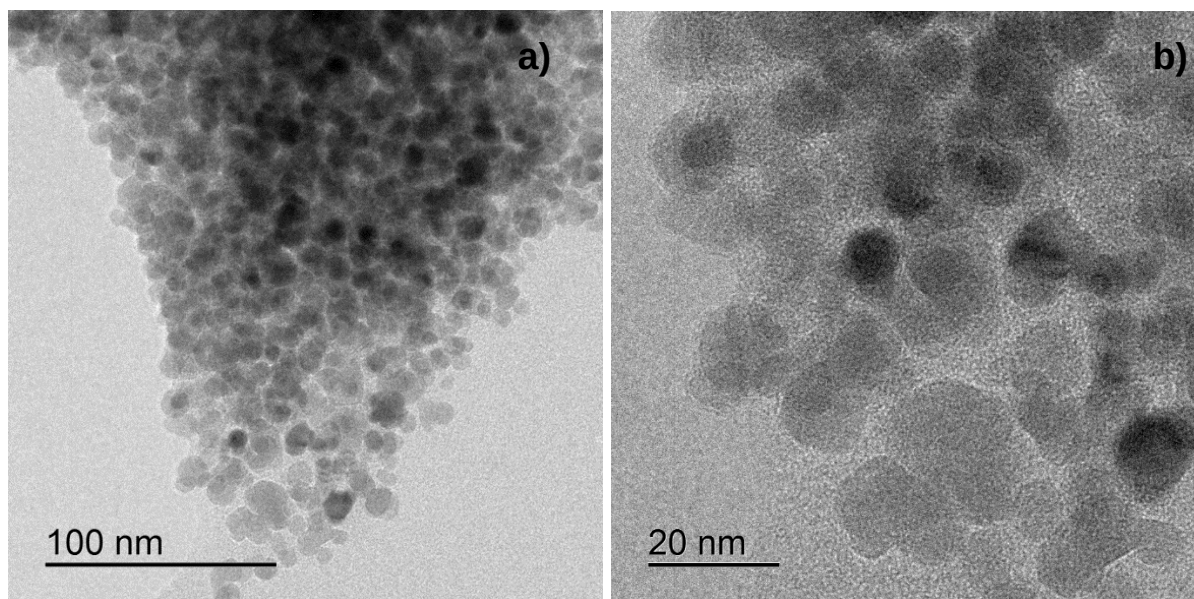
Figura 26: Imagens de MET da amostra FeOx_YM.



Fonte: INM (2017)

A figura 27 mostra imagens referentes à amostra FexOy_YB, de características muito similares à amostra de monocamada: partículas esféricas, cristalinas, homogeneamente distribuídas de cerca de 10 nm.

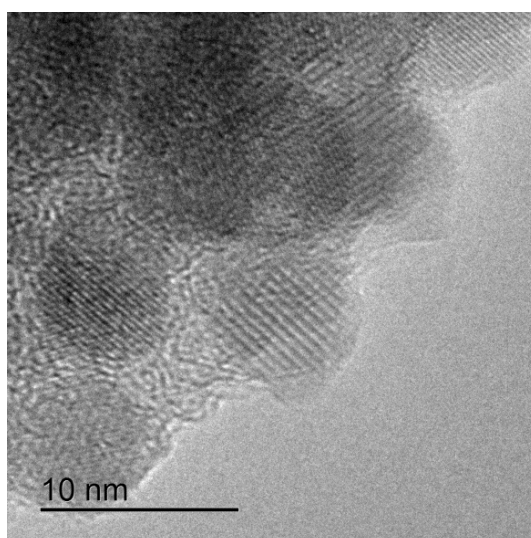
Figura 27 : Imagens de MET da amostra FeOx_YB.



Fonte: INM (2017)

A imagem apresentada na figura 28 é referente à amostra Fe_xO_y_YB. O recobrimento de ácido oleico é mais perceptível na imagem de maior ampliação, assim como a estrutura cristalina da partícula (planos cristalinos na fotomicrografia). É possível também distinguir com mais precisão que as partículas apresentam tamanho inferior a 10 nm, tamanho de interesse em aplicações biomédicas.

Figura 28 : Imagem de MET da amostra FeOx_YB. Escala 10 nm.

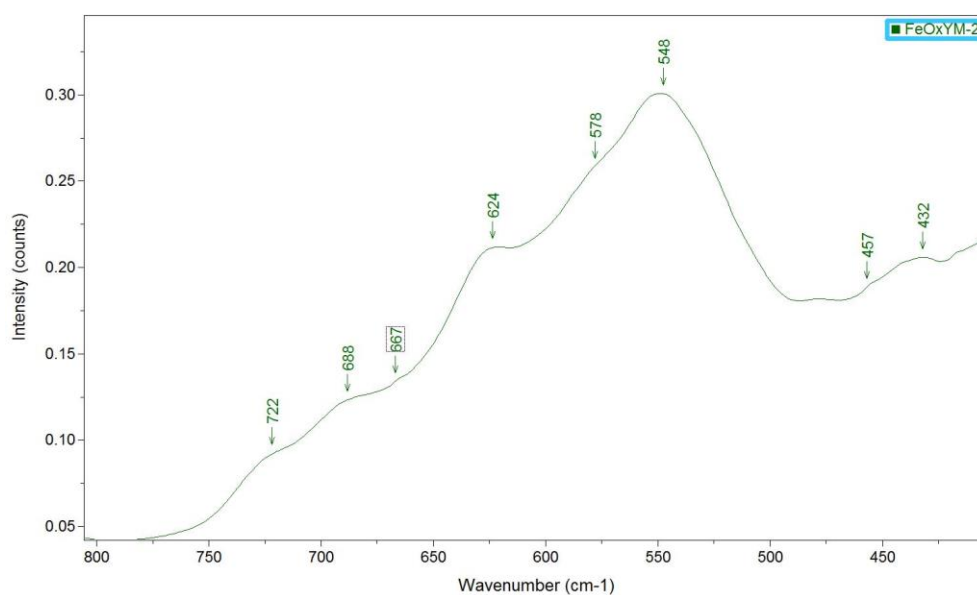


Fonte: INM (2017)

- **Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)**

O espectro obtido por FTIR para a amostra FexOy_YM é apresentado a seguir em 3 partes. Foram destacadas as regiões do espectro de 400 a 800 cm^{-1} , onde é possível encontrar bandas de ligação Fe-O para se distinguir fases de óxidos de ferro; de 800 a 1800 cm^{-1} e 2800 a 3600 cm^{-1} , onde observa-se bandas de ligações de carbono e oxigênio. A figura 29 mostra a região do espectro de 400 a 800 cm^{-1} . As bandas 432, 457, 548, 578, 624 e 667 cm^{-1} indicadas na figura indicam a vibração da ligação Fe-O típica da estrutura da maghemita em, respectivamente 430, 460, 560, 580, 620 e 660 relatadas por CORNELL e SCHWERTMANN (2003). A literatura indica a banda de magnetita na região de 580 cm^{-1} , que não pode ser observada na figura devido à presença de outros picos sobrepostos.

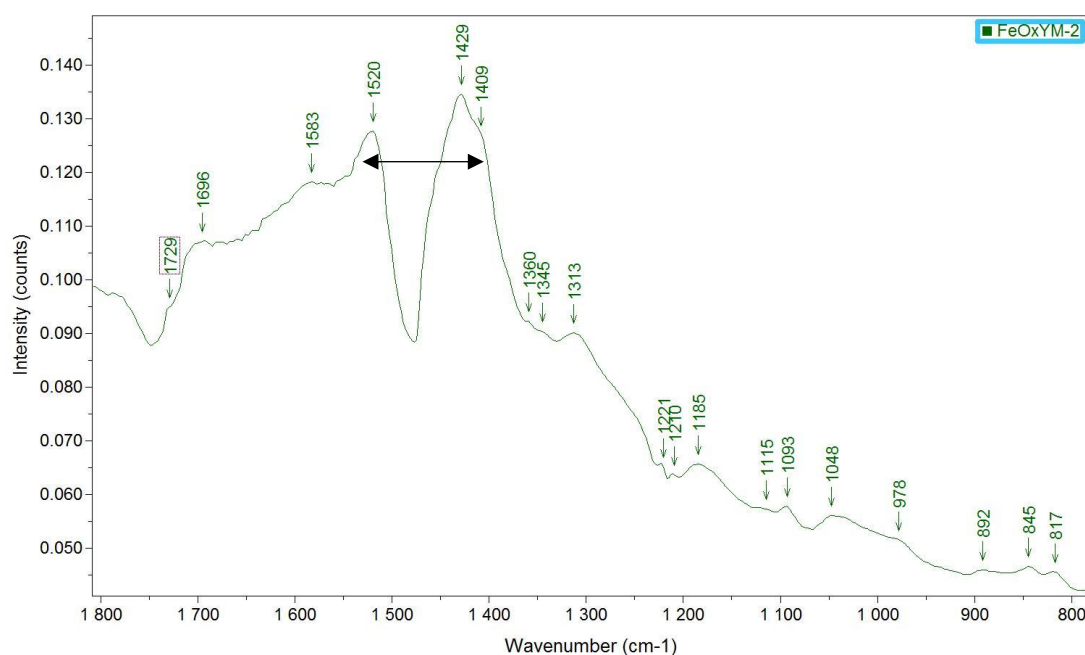
Figura 29 : Espectro de FTIR da amostra FexOy_YM. 400 a 800 cm^{-1} .



Fonte: INM (2017)

Na figura 30 observa-se o espectro da região entre 800 e 1800 cm^{-1} , onde é possível avaliar a forma como as moléculas de ácido oleico estão ligadas à superfície de óxido de ferro. A região entre 1700 e 1300 cm^{-1} indica diferentes formas de vibração do grupamento COO^- .

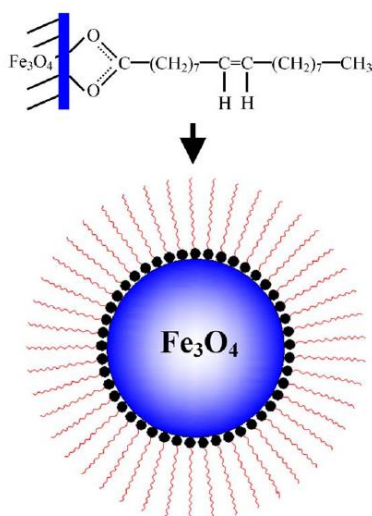
Figura 30 : Espectro de FTIR da amostra FexOy_YM. 800 a 1800 cm^{-1} .



Fonte: INM (2017)

A distância entre as bandas 1520 e 1409 cm^{-1} indica a forma da ligação COO^- . A literatura reporta que valores inferiores a 110 cm^{-1} indicam vibração de ligação assimétrica monodentada, e valores superiores indicam vibração de ligação bidentada. Uma representação esquemática do tipo de ligação observado é encontrada na figura 31.

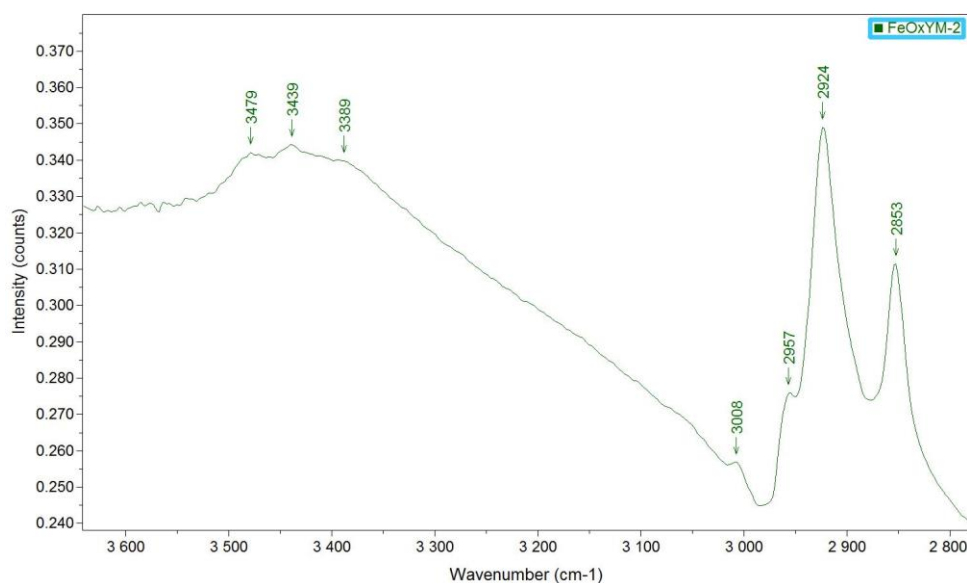
Figura 31 : Representação esquemática da ligação do ácido oleico em monocamada como recobrimento de nanopartículas de magnetita.



Fonte: YANG et al., 2010

Finalmente, a região de 2800 a 3600 cm^{-1} é apresentada na figura 32. As bandas 2853 e 2924 cm^{-1} são atribuídas respectivamente às vibrações assimétricas e simétricas do grupamento CH_2 do ácido oleico. A banda larga de 3389 cm^{-1} é atribuída ao grupamento hidroxila.

Figura 32 : Espectro de FTIR da amostra Fe_xO_y_YM. 3600 a 2800 cm^{-1} .



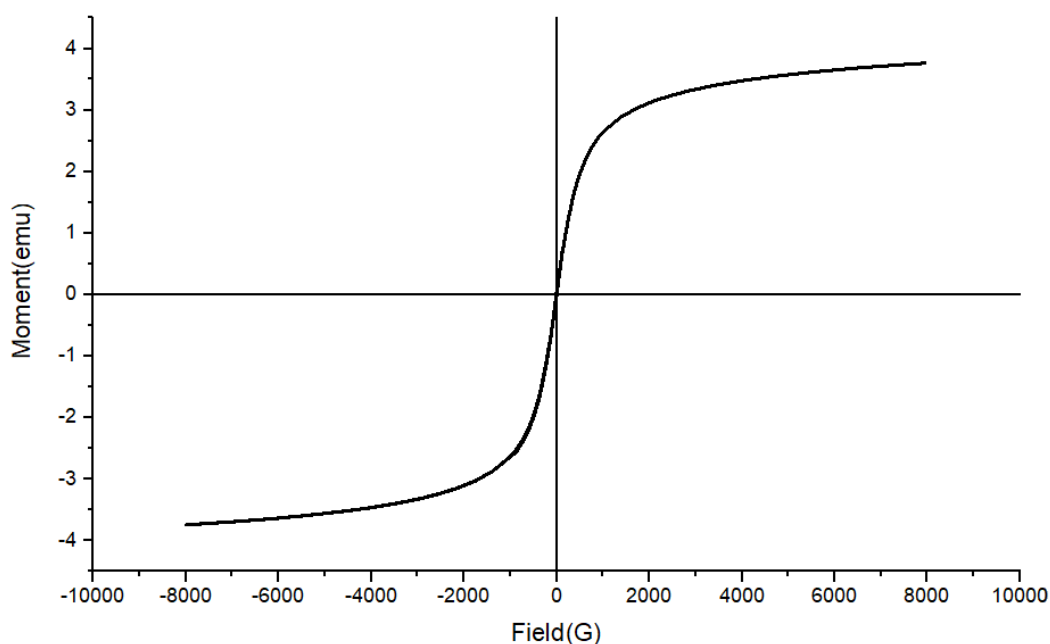
Fonte: INM (2017)

Com o acessório ATR, as análises são realizadas em amostras em pó, e visto que para a síntese com recobrimento em bicamada não foi possível secar a amostra, o FTIR não pode ser realizado.

- **Magnetização**

A curva M-H da amostra FexOy-YM é apresentado na figura 33. Observa-se no gráfico o comportamento característico de nanopartículas superparamagnéticas apresentado anteriormente, ou seja, o caminho de magnetização e desmagnetização se sobrepõem, além de baixo ou nulo valor de magnetização remanente e coercividade.

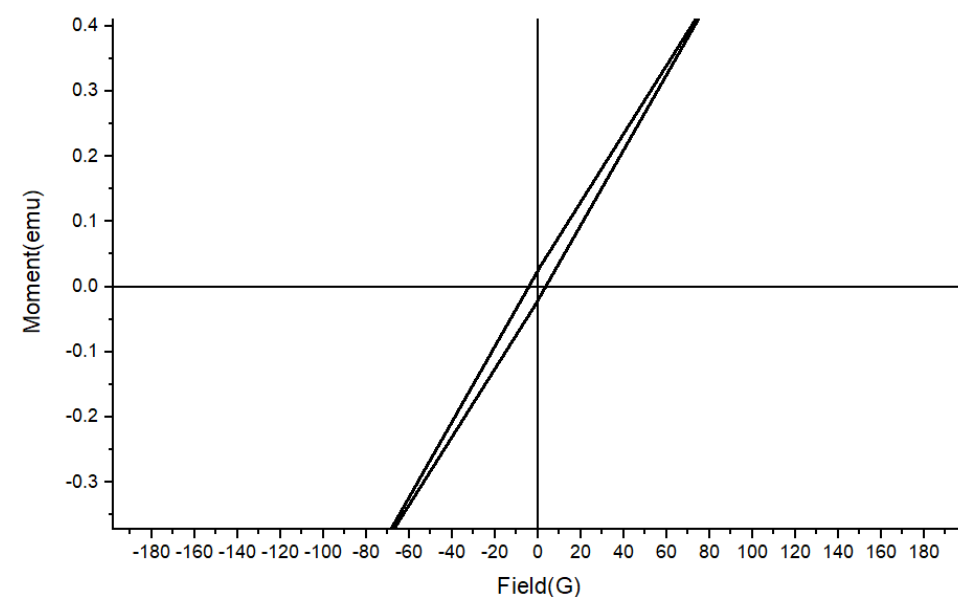
Figura 33 : Gráfico VSM da amostra FexOy_YM.



Fonte: INM (2017)

O resultado foi ampliado na figura 34, mostrando que a amostra apresenta baixa perda por histerese, confirmando comportamento superparamagnético. A coercividade observada está relacionada ao tamanho de partícula em escala nanométrica.

Figura 34 : Ampliação do loop de histerese da amostra FexOy_YM.

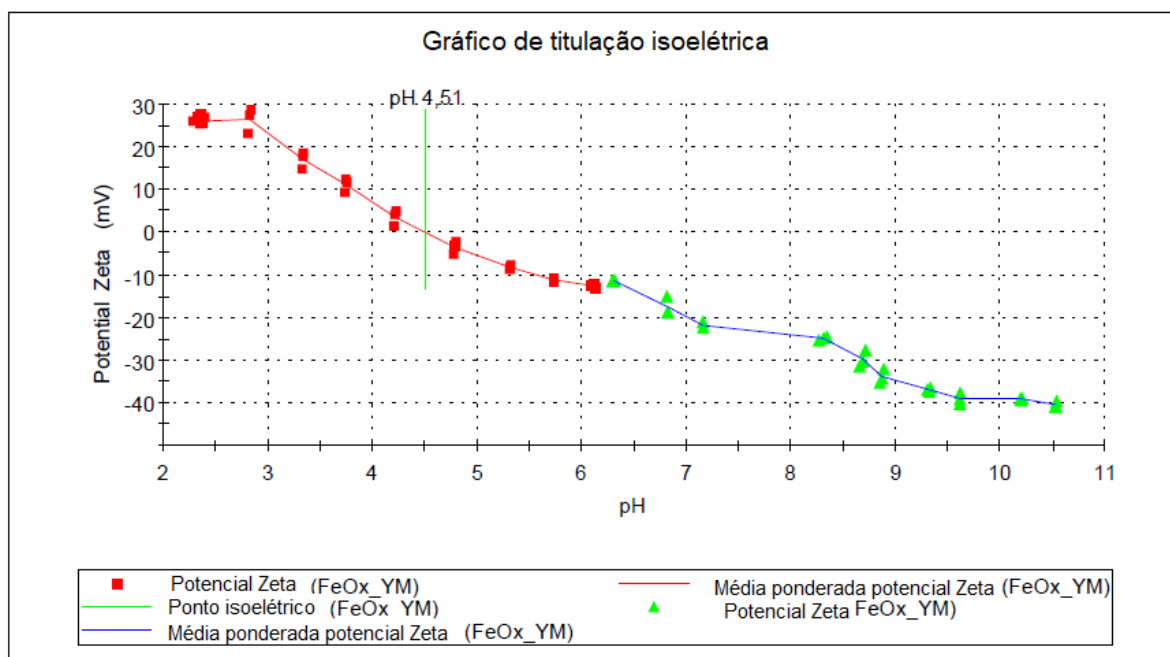


Fonte: INM (2017)

A amostra FexOy_YB não foi avaliada com relação à magnetização pois é necessária a suspensão das partículas em meio aquoso. Visto que o recobrimento é ainda preponderantemente monocamada e preparado para estabilizar as partículas em meio apolar, as partículas sedimentaram no porta-amostra no intervalo de tentativa de análise, sendo obtido um gráfico de histerese incorreto, com posicionamento afetado pelo diamagnetismo da água.

- **Potencial Zeta**

Na figura 35, tem-se o resultado de potencial Zeta medido para a amostra FexOy_YM. Observa-se que o ponto isoelétrico da amostra está em pH 4,51 e que a estabilidade está na faixa de pH abaixo de 2,5 e acima de 8. Em comparação com o potencial Zeta obtido das partículas sem recobrimento, observa-se que, em pH fisiológico, as partículas com recobrimento de ácido oleico apresentam valores mais negativos, o que indica mais carga negativa entre as partículas, e assim, melhor dispersão (SHETE et al., 2014).

Figura 35 : Potencial Zeta amostra com recobrimento de ácido oleico

Fonte: INM (2018)

As características da superfície das partículas revestidas e não revestidas podem ser comparadas através das curvas de potencial zeta em função do pH da solução (Figura 25 e Figura 35). O estudo da curva do potencial zeta da magnetita sem e com recobrimento permitiu verificar mudanças importantes nas características destas partículas, além de fornecer informações de ambas sobre a estabilidade da suspensão em água. Altos valores de potencial zeta indicam uma maior estabilidade da suspensão. Quando as partículas têm altos valores (positivo ou negativo) de potencial zeta elas tendem a repelir umas às outras, e assim o sistema reduz a tendência de agregação das partículas. A observação da curva da magnetita com recobrimento de ácido oleico sugere que a suspensão da magnetita em água será estável em soluções de pH > 8, o que aparentemente não é um bom resultado para o propósito deste trabalho, pois buscamos aplicações biológicas que exigem suspensões estáveis em pH próximo de 7,25. Essa magnetita recoberta além de apresentar cargas em sua superfície, dificultando a sua estabilização em solução aquosa também apresenta atração entre os dipolos magnéticos o que aumenta sua capacidade de agregação. Embora o revestimento da partícula com ácido oleico

tenha reduzido essa atração devido à espessura da sua camada e modificado o potencial zeta da superfície da magnetita de pH 9 (sem recobrimento) para pH 8.

6) Conclusões

O método de síntese por coprecipitação de óxidos de ferro se mostrou eficaz para obtenção de SPIONs em escala de bancada, sendo importante também a etapa de funcionalização com ácido oleico para produção de biomateriais com propriedades biocompatíveis.

Foram obtidos com sucesso a partir dos parâmetros de síntese das nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro e posterior recobrimento por monocamada de ácido oleico, partículas esferoides com tamanho da ordem de 10 nm, facilmente escalonáveis para uso comercial.

O estudo da estrutura cristalina de uma mistura de magnetita e maghemita foi realizado após tratamento térmico in-situ por DRX, foi possível avaliar a evolução microestrutural das fases transformando-se em hematita em função do tratamento térmico (da temperatura ambiente até a 1000°C), devido ao fato hematita ser a fase mais estável de óxido de ferro. Tanto o DRX quanto a espectroscopia Mössbauer confirmam a composição fases cristalinas na seguinte proporção em massa: magnetita (Fe_3O_4) 45% e maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) 55%.

O estudo por FTIR do recobrimento de ácido oleico sobre óxidos de ferro mostrou que as moléculas orgânicas foram ligadas de maneira relativamente bem-sucedida à superfície inorgânica por ligação bidentada entre Fe-O e COO^- , transpondo-se uma das dificuldades do impedimento estérico para esse tipo de recobrimento.

O estudo de magnetização das mesmas partículas mostrou um comportamento superparamagnético, apesar da sedimentação observada no porta-amostra no intervalo de tentativa de análise, sendo obtido um gráfico de com leve histerese, possivelmente devido o posicionamento afetado pelo diamagnetismo da água.

A funcionalização com ácido oleico das nanopartículas aparentemente em monocamadas permitiu que as mesmas fossem desagregadas, o que poderá facilitar seu potencial terapêutico de hipertemia (ideal partículas menores que 50 nm), devido à facilidade de excreção no meio fisiológico pelas vias do sistema renal, somada a razoável característica superparamagnéticas observada pelo ensaio de magnetização.

As demais caracterizações físico-química da magnetita sintetizada revelaram que sua composição de fases é compatível com magnetitas encontradas na literatura. A magnetita sintética apresentou ao MET uma distribuição de tamanhos de partículas da ordem de 10 nm. O ponto isoelétrico das partículas funcionalizadas com ácido oleico foi obtido em pH 4,51, com potencial de Zeta indicando fraca agregação em pH entre 7 e 8. Para valores de pH fisiológico, o potencial Zeta indica maior acúmulo de cargas negativas nas partículas funcionalizadas, e assim, maior desagregação. A funcionalização com ácido oleico teve efeito na desagregação de partículas dos clusters, elevando as propriedades superparamagnéticas e a biofuncionalidade terapêutica esperada para se obter facilidade de excreção das nanopartículas.

Os resultados mostram que foram produzidas nanopartículas com potencial para aplicação biomédica, de tamanho inferior a 10 nm com caráter superparamagnético e funcionalizadas com ácido oleico por um método simples e escalonável em termos industriais.

7) Sugestões para trabalhos futuros

Sugere-se para trabalhos futuros a otimização de preparo de amostra para caracterização de nanopartículas com recobrimento bicamada.

Completar as caracterizações físico-químicas de amostras de magnetita funcionalizadas com bicamadas, mediante as técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (MET), avaliando também seu comportamento térmico através da análise termogravimétrica (TGA), e da calorimetria diferencial de varredura (DSC).

Aprimorar a funcionalização com outros agentes dispersantes das nanopartículas.

Avaliação de citotoxicidade de amostras de magnetita funcionalizadas com outros agentes químicos, através de MTT, difusão em ágar, com amostras dissolvidas em solução PBS.

Avaliação da performance em estudos clínicos das amostras de magnetita funcionalizadas para hipertemia, e liberação de drogas encapsuladas com hidroxiapatita.

8) Referências

AMSTAD, E.; TEXTOR, M.; REIMHULT, E. Stabilization and functionalization of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Nanoscale**, v. 3, n. 7, p. 2819, 2011.

BEYDOUN, D. et al. Novel Photocatalyst: Titania-Coated Magnetite. Activity and Photodissolution. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 104, n. 18, p. 4387–4396, 2000.

BLOEMEN, M. et al. Improved functionalization of oleic acid-coated iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 14, n. 9, 2012.

CALLISTER, W. D. J. **Fundamentals of Materials Science and Engineering**. [s.l: s.n.].

CORNELL, R. M.; SCHWERTMANN, U. **The Iron Oxides**. [s.l: s.n.]. v. 39

CUSHING, B. L.; KOLESNICHENKO, V. L.; CONNOR, C. J. O. Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles. v. 104, n. 9, p. 3893–3946, 2004.

DAVID B. WILLIAMS.; CARTER, C. B. **Transmission electron microscopy**. [s.l: s.n.].

DYAR, M. D. et al. Mössbauer Spectroscopy of Earth and Planetary Materials. **Annual Review of Earth and Planetary Sciences**, v. 34, n. 1, p. 83–125, 2006.

FERREIRA, R. V. et al. Synthesis and characterization of silica-coated nanoparticles of magnetite. **Hyperfine Interactions**, v. 195, n. 1, p. 265–274, 2009.

FERREIRA, R. V. et al. Bio-inactivation of human malignant cells through highly responsive diluted colloidal suspension of functionalized magnetic iron oxide nanoparticles. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 18, n. 4, 2016.

GOTIĆ, M.; MUSIĆ, S. Mössbauer, FT-IR and FE SEM investigation of iron oxides precipitated from FeSO₄solutions. **Journal of Molecular Structure**, v. 834–836, n. SPEC. ISS., p. 445–453, 2007.

GROSU, Y. et al. Natural Magnetite for thermal energy storage: Excellent thermophysical properties, reversible latent heat transition and controlled thermal conductivity. **Solar Energy Materials and Solar Cells**, v. 161, n. December 2016, p. 170–176, 2017.

HEROJIT SINGH, L. et al. Stability and magnetic interactions between magnetite nanoparticles dispersed in zeolite as studied using Mössbauer spectroscopy. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 418, p. 248–252, 2016.

HOU, C. H. et al. The in vivo performance of biomagnetic hydroxyapatite nanoparticles in cancer hyperthermia therapy. **Biomaterials**, v. 30, n. 23–24, p. 3956–3960, 2009.

HU, S. et al. Nano-magnetic catalyst KF/CaO-Fe₃O₄ for biodiesel production. **Applied Energy**, v. 88, n. 8, p. 2685–2690, 2011.

HUANG, H. C. et al. Inorganic nanoparticles for cancer imaging and therapy. **Journal of Controlled Release**, v. 155, n. 3, p. 344–357, 2011.

ISHAQ, M. et al. Adsorptive desulfurization of model oil using untreated, acid activated and magnetite nanoparticle loaded bentonite as adsorbent. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 21, n. 2, p. 143–151, 2017.

KANDASAMY, G.; MAITY, D. Recent advances in superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) for in vitro and in vivo cancer nanotheranostics. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 496, n. 2, p. 191–218, 2015.

KIM, W. et al. A new method for the identification and quantification of magnetite-maghemite mixture using conventional X-ray diffraction technique. **Talanta**, v. 94, p. 348–352, 2012.

LAURENT, S. et al. Magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Future Medicinal Chemistry**, v. 2, n. 3, p. 427–449, 2010.

LU, A. H.; SALABAS, E. L.; SCHÜTH, F. Magnetic nanoparticles: Synthesis, protection, functionalization, and application. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 46, n. 8, p. 1222–1244, 2007.

MAHMOUDI, M. et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Development, surface modification and applications in chemotherapy. **Advanced**

Drug Delivery Reviews, v. 63, n. 1–2, p. 24–46, 2011.

NAMDURI, H.; NASRAZADANI, S. Quantitative analysis of iron oxides using Fourier transform infrared spectrophotometry. **Corrosion Science**, v. 50, n. 9, p. 2493–2497, 2008.

NAZIR, S. et al. Nanomaterials in combating cancer: Therapeutic applications and developments. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 10, n. 1, p. 19–34, 2014.

PANKHURST, Q. A. et al. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. **Journal of physics D: Applied Physics**, v. 36, p. R167–R181, 2003.

SANTHOSH, P. B.; ULRIH, N. P. Multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Promising tools in cancer theranostics. **Cancer Letters**, v. 336, n. 1, p. 8–17, 2013.

SHETE, P. B. et al. STUDIES ON FUNCTIONALIZATION OF OLEIC ACID COATED Fe₃O₄ MNPs WITH CHITOSAN. v. 58, p. 55–58, 2014.

SOARES, P. I. P. et al. Thermal and magnetic properties of chitosan-iron oxide nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 149, p. 382–390, 2016a.

SOARES, P. I. P. et al. Iron oxide nanoparticles stabilized with a bilayer of oleic acid for magnetic hyperthermia and MRI applications. **Applied Surface Science**, v. 383, p. 240–247, 2016b.

WEN, M. et al. Phase transfer catalysis: Synthesis of monodispersed FePt nanoparticles and its electrocatalytic activity. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 312, n. 1, p. 73–78, 2008.

WILLIS, A. L.; TURRO, N. J.; O'BRIEN, S. Spectroscopic Characterization of the Surface of Iron Oxide Nanocrystals. **Chem. Mater.**, v. 17, n. 24, p. 5970–5975, 2005.

WU, W. et al. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 16, n. 2, 2015.

XU, P. et al. Use of iron oxide nanomaterials in wastewater treatment: A review.

Science of the Total Environment, v. 424, p. 1–10, 2012.

YANG, K. et al. Re-examination of characteristic FTIR spectrum of secondary layer in bilayer oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles. **Applied Surface Science**, v. 256, n. 10, p. 3093–3097, 2010.

ZHANG, Z. Q.; SONG, S. C. Multiple hyperthermia-mediated release of TRAIL/SPION nanocomplex from thermosensitive polymeric hydrogels for combination cancer therapy. **Biomaterials**, v. 132, p. 16–27, 2017.