



**Estudo de vórtices magnéticos em nanoanéis de
 $Fe@Fe_3O_4$ recobertos por SiO_2**

Bianca Monserrat Galeano Villar

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas-CBPF, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências (Física).

Orientador: Flávio Garcia

Rio de Janeiro

Abril de 2019



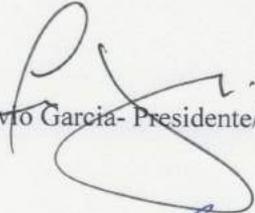
MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES

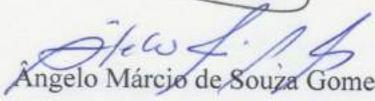


“ESTUDO DE VÓRTICES MAGNÉTICOS EM NANOANÉIS DE
 $\text{Fe@Fe}_3\text{O}_4$ RECOBERTOS POR SiO_2 ”

BIANCA MONSERRAT GALEANO VILLAR

Dissertação de Mestrado em Física, apresentada
no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas do
Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e
Comunicações. Fazendo parte da banca
examinadora os seguintes professores:


Flávio Garcia- Presidente/Orientador


Angelo Márcio de Souza Gomes


Alberto Passos Guimarães Filho

Rio de Janeiro, 24 de abril de 2019.

Resumo

Neste trabalho estudamos o comportamento magnético de partículas com morfologia de nanoanéis, que possuem propriedades de interesse para aplicações biomédicas. Estas partículas apresentam um comportamento de vórtice magnético e são denominadas *Vortex Iron Oxide Particles (VIPs)*, cuja composição química está dada por um *core* de ferro e um *shell* de magnetita. Visando às possibilidades de aplicação biomédica, este trabalho foi dividido em duas linhas. Na primeira, buscamos a manipulação das propriedades magnéticas (ou seja, distintas curvas de histerese), o que foi feito através da variação porcentual de cada uma das fases que a compõem, o que se traduz experimentalmente, em mudanças simples de parâmetros durante a produção das amostras. Nesta linha também foi avaliada a citotoxicidade das VIPs e foi demonstrado que devido à sua camada superficial de magnetita, elas não são citotóxicas. Na segunda linha, foi realizado o recobrimento das VIPs com um material diamagnético, mas facilmente funcionalizável, a sílica (SiO_2). Isto outorgaria às VIPs um carácter multifuncional e evitaria principalmente a agregação das partículas em sistemas biológicos. Finalmente, a não citotoxicidade das VIPs permitiu pensar nos primeiros testes para aplicação biomédica: na hipertermia magnética, a qual consiste na elevação da temperatura corporal ou de tecidos específicos da região tumoral, com o objetivo de obter um efeito terapêutico específico. Isto é possível graças às perdas de energia magnética de nanopartículas sob a ação de um campo magnético alternado. Sendo assim, foram executados os experimentos de hipertermia magnética das VIPs e sua eficiência foi comparada com as partículas mais estudadas e empregadas nesta aplicação, as *Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs)*, que têm morfologia esférica. Neste sentido, demonstramos que as VIPs são mais eficientes do que as SPIONs, resultado que é atribuído ao seu estado de vórtice magnético e as torna promissoras para esta e outras aplicações, abrindo assim possibilidades de estudos *in vivo*.

Palavras-chave: vórtices magnéticos, ferro, óxidos de ferro, hipertermia magnética.

Abstract

In this work we studied the magnetic behavior of nanoparticles with a ring shape morphology with properties of interest for biomedical applications. These particles have magnetic vortex behavior and are named Vortex Iron Oxide Particles (VIPs), whose chemical composition is given by a core of iron and a shell of magnetite. Keeping biomedical applications in mind, this work was divided into two lines. At the first line, we explore the manipulation of magnetic properties (i.e., different hysteresis curves), this was made by varying the percentage of the chemical phases, that is, experimentally, varying simple parameters during the samples production. In this line we also evaluated the VIPs cytotoxicity and we demonstrated that due to the magnetite layer on the surface, they are not cytotoxic. On the second line, we covered the VIPs particles with silica (SiO_2), a diamagnetic material but easily functionalizable. The covering would allow a multifunctionalization of the particles and prevent their agglomerations inside biological systems. Finally, the non toxicity of the particles allow us to think on the first test for biomedical applications: magnetic hyperthermia. This is a treatment where the temperature of the body or tissues is elevated in order to obtain a therapeutic effect. This is possible due to the ability of the nanoparticles to generate heat when they are under an external magnetic field. On the magnetic hyperthermia experiments, we evaluate the efficiency of the VIPs and compare them with the Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs), the most common nanoparticles using in this treatment. We demonstrated that the VIPs particles are more efficient than SPIONs, this results are attributed to their magnetic vortex behavior and makes them promising for this and other applications.

Keywords: magnetic vortex, iron, iron oxide, magnetic hyperthermia.

Agradecimientos

À Deus pelo presente da vida.

Nas seguintes linhas, o texto será em espanhol, para agradecer à pessoas muito especiais:

A mi madre, que siempre apoyó mis ideales y en especial los que respectan a los estudios, aunque eso implique estar lejos de ella. Gracias por ser siempre el ejemplo de mujer valiente y luchadora. Lo que soy hoy, es en gran parte gracias a su ejemplo.

A mi padre, que en vida fue y sigue siendo uno de mis más grandes soportes, quien me enseñó que la vida simplemente debemos disfrutarla. Quien me apoyó siempre incondicionalmente y confió en mi. Hoy, cada mirada al mar, me trae su memoria y una gratitud inmensa a la persona que fue.

A mis hermanos, David y Andrés, por ser grandes amigos y a pesar nuestras diferencias, estar siempre presentes para ayudarnos mutuamente y regalarnos cariño.

A mis abuelos, tios, primos, sobrinos, por hacer siempre que nuestras reuniones familiares sean divertidas. Por hacerme sentir que la distancia no es un obstáculo para tenerlos cerca, por las bienvenidas y el cariño recibido en cada viaje a Paraguay.

A mi novio Victor, por ser mi gran soporte en estos últimos años; ser mi ejemplo a seguir, tanto como persona y en lo profesional. Gracias por el inmenso amor de cada día, por cada abrazo, por soportar mis llantos, virtudes y defectos. Definitivamente, sin vos llegar aquí hoy iba a ser mucho más difícil. Gracias por cada viaje realizado juntos, pero principalmente por ser mi compañero en el viaje de la vida, que aún queda mucho por recorrer, pero que sin dudas será mejor a tu lado.

A mi hermana del alma, Eliana, por el cariño y amor de siempre. Por demostrarme que la hermandad no necesariamente debe ser sanguínea, por haber estado del otro lado cuando estaba feliz o triste, por enseñarme a dar abrazos y disfrutar conmigo los pequeños detalles de la vida.

A mi hermana brasilera, Maria Daniela, por también ser una pieza fundamental en mi vida, por las simples caminadas a la orilla del mar y estar siempre presente para regalar abrazos y sonrisas.

A mis amigos Valeria y Diego, por la receptividad cuando llegaba a Río de Janeiro y enseñarme los lugares claves de la ciudad, por construir juntos una bella amistad, que sin duda perdurará por muchos años más.

A mis eternos profesores y amigos, Silvio y Alejandro, quienes me motivaron a salir de mi país para estudiar, que apostaron por mi pequeño potencial, siempre transmitieron enseñanzas de vida y siguieron de cerca este trabajo.

A la familia Martínez Zelaya, quienes me adoptaron como una hija más, y fueron un soporte emocional, demostrando siempre su cariño a mi persona.

A todos ustedes simplemente GRACIAS por todo, los amo!

Voltando para o português quero agradecer às pessoas que conheci durante o desenvolvimento deste trabalho e fizeram que ele seja possível.

Ao meu orientador, Dr. Flávio Garcia, que com a sua paciência de pai sempre está presente não só no que implica minha formação profissional, mas também no que respeita à aprendizagem da vida.

Ao Richard pela imensa ajuda durante estes dois anos, tanto nos laboratórios como compartilhando conhecimento científico e cultural, assim como pela amizade.

Aos pesquisadores que contribuíram com a minha formação nas aulas e na escola experimental do CBPF, principalmente ao Roberto Sarthour, André Rossi e André Pinto, quem hoje já nos deixou fisicamente mas que sem dúvidas seu legado continua.

Aos professores e colegas da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Priscilla Finotelli, Luiz Augusto, Marcel e Jamili, pela ajuda e seguimento constante durante este trabalho, assim como pelas dicas indispensáveis na área de química. Agradeço também ao Crisostomo, pesquisador do Instituto Nacional de Tecnologia, pelas dicas em alguns processos experimentais.

Ao pesquisador do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), Carlos Sato e a sua esposa Sol, pelo apoio durante o período de medidas em Campinas. Sem dúvidas, com vocês ganhei além de colegas, grandes amigos. Também agradeço à Simone, ao pessoal da linha DXAS e do laboratório de mecânica do LNLS, pelo apoio durante os experimentos. Ao Laboratório Multiusuário de Nanociência e Nanotecnologia (LABNANO) pelo acesso às medidas de microscopia e às pessoas que me deram apoio técnico: Cilene, Raquel e Horácio.

Ao pesquisador Alexandre Rossi pelas colaborações e pelo acesso aos laboratório de materiais cerâmicos e cultura de células do CBPF durante estes anos. Agradeço também aos técnicos destes dois laboratórios pelo suporte durante os experimentos, e à professora da Universidade Grande Rio, Sara Gemini, pelo apoio na área de biotecnologia.

À Karoline Moura, quem durante os meses que estive no Rio me ajudou nos trabalhos de laboratório e compartilhou seus conhecimentos, mas principalmente, agradeço pelo carisma que transmitiu cada dia. Sem dúvidas, ela é uma das amigas que ganhei durante estes dois anos.

Aos meus amigos cozinheiros: Daniela, Grecia, Josiê, Gabi, Raquel, Ivanna, Riccardo, Eric. Obrigada por transmitir a sua cultura regional, por fazer de cada domingo de almoço um dia que valeu a pena, mas principalmente obrigada pela amizade de cada um de vocês.

Aos colegas de sala e apartamento que fizeram sempre deles ambientes agradáveis: Victor, Otacílio, Wesley, Adrian, Rodrigo, Edher, Alexis, Leonardo e Diego. De maneira particular, quero agradecer ao Leonardo pelas aulas de português e ao Diego pelas aulas

de física.

Aos alunos e pós-doutorandos do CBPF, que mesmo com simples conversas no corredor, tornaram sempre dele um bom lugar para trabalhar.

Ao equipe administrativo e ao pessoal de serviço do CBPF, que sempre estão presentes para ajudar no que fosse necessário.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Sumário

Sumário	x
Lista de Figuras	xiv
Lista de Tabelas	xviii
1 Introdução	1
2 Revisão teórica	6
2.1 Magnetismo e materiais magnéticos	6
2.1.1 Interação de troca	11
2.1.2 Energia magnetostática	12
2.1.3 Anisotropia de forma	13
2.1.4 Anisotropia magnética	14
2.1.5 Domínios magnéticos	15
2.1.6 Paredes de domínio	17
2.2 Nanomagnetismo	19
2.2.1 Superparamagnetismo	19
2.2.2 Vórtices magnéticos	23
2.3 Hipertermia magnética	27
2.3.1 Perdas por susceptibilidade	29
2.3.2 Perdas por histerese	31

2.4	O ferro e seus óxidos	32
2.4.1	Hematita	33
2.4.2	Magnetita	34
2.4.3	Maghemita	35
2.4.4	Wustita	35
3	Estado da arte	36
3.1	Nanopartículas <i>core@shell</i> ferro-óxido de ferro para aplicação em hipertermia magnética	36
3.2	Nanopartículas de óxido de ferro como agentes bifuncionais: hipertermia magnética mais fototermia	37
3.3	Nanopartículas superparamagnéticas decoradas para liberação controlada de drogas	39
3.4	Maghemita recoberta com sílica para aplicação em hipertermia magnética .	41
3.5	Nanopartículas de sílica multifuncionais	43
3.6	Vórtices magnéticos em nanoanéis de óxidos de ferro	45
3.7	Nanoanéis para aplicação em hipertermia magnética	46
3.8	Nanoanéis como agentes de ensaios <i>in vivo</i> para tratamentos de tumores .	50
4	Síntese de amostras	54
4.1	Síntese dos nanoanéis de $\alpha - Fe_2O_3$	54
4.2	Redução dos nanoanéis de $\alpha - Fe_2O_3$ para $\delta Fe - Fe_3O_4$	58
4.3	Recobrimento dos nanoanéis de $\delta Fe - Fe_3O_4$ com SiO_2	61
5	Técnicas experimentais	63
5.1	Difração de raios-X (DRX)	63

5.2	Absorção de raios-X	68
5.3	Microscopia Eletrônica	71
5.3.1	Microscopia Eletrônica de Varredura	71
5.3.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão	74
5.3.3	Espectroscopia de Raios-X por Dispersão de Energia	75
5.4	Magnetometria	76
5.5	Espectroscopia de fotoelétrons por raios-X	77
5.6	Hipertermia magnética	78
5.7	Teste de Citotoxicidade	81
5.7.1	Ensaio de MTT	81
5.7.2	Ensaio de viabilidade celular <i>Live and Dead</i>	82
6	Resultados e discussão	83
6.1	Partículas de $\alpha - Fe_2O_3$	83
6.1.1	Análise estrutural: Difração de Raios X	83
6.1.2	Análise morfológica e distribuição de tamanho	84
6.2	Partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4$	86
6.2.1	Difração de Raios-X	86
6.2.2	Análise morfológica	91
6.2.3	Análise dos espectros de XPS	92
6.2.4	Ensaio <i>In vitro</i> das partículas 90%Fe@Fe₃O₄	94
6.2.4.1	Citotoxicidade das 90%Fe@Fe ₃ O ₄ para as células HEK	94
6.2.4.2	Citotoxicidade das 90%Fe@Fe ₃ O ₄ para as células SAOS2	97
6.2.5	Propriedades magnéticas	99
6.2.6	Absorção de Raios X	101
6.3	Partículas de $\delta Fe@Fe_3O_4$ recobertas com SiO_2	104
6.3.1	Análise morfológica	104

6.3.2	Propriedades magnéticas	105
6.4	Comparação dos comportamentos magnéticos entre partículas com morfo- logia de anel e esférica	107
6.5	Hipertermia magnética	109
7	Conclusões e perspectivas futuras	112
8	Referências Bibliográficas	118

Lista de Figuras

2.1	Tipos de ordenamentos magnéticos.	9
2.2	Curva de histerese de um material ferromagnético.	11
2.3	Formação de domínios magnéticos	16
2.4	Paredes de domínio.	17
2.5	Comportamento dos domínios magnéticos com a diminuição do tamanho das partículas.	20
2.6	Representação de uma partícula superparamagnética e sua barreira de potencial.	21
2.7	Curva de histerese de um conjunto de partículas superparamagnética.	23
2.8	Possíveis configurações de spin para uma partícula esférica.	24
2.9	Configuração dos momentos magnéticos num vórtice	25
2.10	Principais configurações magnéticas num nanoanel.	25
2.11	Simulação da curva de histerese de um vórtice magnético.	26
2.12	Mecanismos de perdas de energia: relaxação de Néel e Brown.	29
2.13	Esquema da célula unitária cúbica de corpo centrado típica do ferro metálico correspondente à fase cristalina αFe	32
2.14	Célula unitária da hematita	33
2.15	Célula unitária da magnetita.	34
2.16	Célula unitária da wustita.	35
3.1	Nanopartículas de ferro@maghemita sintetizadas por Nemati et al.	37

3.2	Esquema experimental e resultados de Espinosa et al.	38
3.3	Nanopartículas supermagnéticas decoradas para liberação controlada de droga.	40
3.4	Nanopartículas de maghemita recobertas com sílica.	42
3.5	Nanopartículas de sílica multifuncionais	44
3.6	Nanoanel de magnetita sintetizado por Jia et al.	45
3.7	Partículas de magnetita sintetizadas por Dias et al.	46
3.8	Resultados das simulações micromagnéticas e medidas de hipertermia magnética obtidos por Dias et al.	48
3.9	Resultados de hipertermia <i>in vitro</i> obtidos por Dias et al.	49
3.10	Resultados de internalização das partículas no trabalho de Diaz et al. [1] .	50
3.11	Comportamento do SAR e curvas de histerese obtidos por Liu et al.	52
3.12	Comparação de ensaios de viabilidade celular (<i>in vitro</i>), cultura de células encubadas com as nanopartículas de óxido de ferro ferrimagnéticos no estado de vórtice (FVIO) e obtidos por Liu et al.	53
4.1	Reator hidrotérmico fabricado para a síntese das partículas $\alpha - Fe_2O_3$. .	55
4.2	Partículas de hematita em forma de pó vermelho.	56
4.3	Esquema da formação dos nanoanéis de hematita.	58
4.4	Reator usado no processo de redução.	59
4.5	Esquema do processo de formação das partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4@SiO_2$. .	62
5.1	Esquema representando a difração de raios-X por um cristal	63
5.2	Difratogramas padrões das possíveis fases presentes nas amostras após o processo de redução	66
5.3	Esquema da medida de absorção de raios-X no modo transmissão.	69
5.4	Amostras para as medidas de XANES	69
5.5	Espectros de XANES de amostras padrões	70

5.6	Principais componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura	72
5.7	Orientação das partículas de hematita utilizadas na distribuição de tamanho e suas dimensões.	73
5.8	Principais componentes do Microscópio Eletrônico de Transmissão.	75
5.9	Equipamento para hipertermia magnética	79
5.10	Curva típica de variação da temperatura como função do tempo numa medida de hipertermia magnética.	80
6.1	Difratograma correspondente às partículas de hematita.	84
6.2	Imagem de MEV das partículas de hematita	85
6.3	Distribuição de tamanho das partículas de hematita.	85
6.4	Difratogramas correspondentes às amostras reduzidas durante duas horas e distintas temperaturas.	87
6.5	Porcentagem das fases de ferro metálico e seus óxidos formadas no processo de redução durante 2 horas à distintas temperaturas.	88
6.6	Difratogramas correspondentes às amostras reduzidas à 400°C durante distintos tempos.	89
6.7	Porcentagem das fases de ferro metálico e seus óxidos formadas no processo de redução à 400°C durante distintos tempos.	90
6.8	Comparação da morfologia das partículas antes e depois do processo de redução.	91
6.9	Espectros de XPS para as amostras com $\delta = 10, 70$ e 90%	92
6.10	Comparação das porcentagens de ferro no volume e na superfície das amostras $\delta Fe@Fe_3O_4$	94
6.11	Viabilidade das células HEK.	95
6.12	Mapeamento das células HEK vivas e mortas expostas às partículas de $90\% Fe@Fe_3O_4$ durante 24h.	96

6.13	Viabilidade para as células SAOS2.	97
6.14	Mapeamento das células SAOS2 vivas e mortas expostas às partículas 90%Fe@Fe ₃ O ₄ durante 24h.	98
6.15	Medidas de magnetização em função do campo das partículas δFe@Fe ₃ O ₄	100
6.16	Coercividade das partículas δFe@Fe ₃ O ₄	100
6.17	Espectros de absorção de raios X obtidos de maneira <i>in situ</i> durante a redução das partículas de hematita.	101
6.18	Quantificação das distintas fases formadas durante o processo de redução da hematita.	102
6.19	Espectros de XANES ajustados correspondentes a distintas regiões de in- teresse durante o processo de redução <i>in situ</i>	103
6.20	Mapeamento de EDS da partícula 50%Fe@Fe ₃ O ₄	105
6.21	Mapeamento de EDS da partícula 50%Fe@Fe ₃ O ₄ @SiO ₂	106
6.22	Imagem de MET das partículas 50%Fe@Fe ₃ O ₄ @SiO ₂	106
6.23	Comparação da magnetização em função do campo para as amostras δFe@Fe ₃ O ₄ e δFe@Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ , com δ sendo 5% e 50%	107
6.24	Comparação das curvas de histerese das partículas VIP5% e SPIONs	108
6.25	Comparação das curvas de histerese das partículas VIP5% e SPIONs, antes e depois do recobrimento com sílica	108
6.26	Medidas de hipertermia magnética a 300 Oe	110
6.27	Comparação dos valores de SAR para as partículas VIPδ e SPIONδ.	110
6.28	sar rec	111

Lista de Tabelas

5.1	Propriedades cristalográficas do ferro e seus óxidos	67
5.2	Energia de ligação para o ferro metálico e seus óxidos	78
6.1	Parâmetros refinados pelo método de Rietveld correspondentes à fase da hematita.	84
6.2	Picos ajustados das medidas de XPS e suas respectivas energias de ligação.	93

Capítulo 1

Introdução

O câncer continua sendo uma das doenças mais difíceis de tratar. Embora exista uma grande quantidade de drogas que podem ser usadas no tratamento do câncer, o problema atual consiste em matar seletivamente as células cancerosas, reduzindo a toxicidade para as células saudáveis [2]. A nanomedicina é uma área relativamente nova da ciência e tecnologia [3], cujo potencial no tratamento de câncer é definitivamente promissor devido ao fato que novos desenvolvimentos estão sendo explorados. Este é o caso do uso de nanopartículas magnéticas em diagnóstico e tratamento de tumores [4].

A aplicação das nanopartículas magnéticas (NPM) na nanomedicina pode ser classificada em dois grupos: *in vivo* que correspondem às aplicações dentro do corpo e *in vitro* que correspondem às aplicações fora do corpo. Aplicações *in vitro* incluem, por exemplo, separação e seleção magnética, assim como imagem por ressonância magnética. Já as aplicações *in vivo* incluem carregamento de drogas (*drug delivery*) e aplicações terapêuticas como hipertermia magnética [5, 6].

No que diz respeito à separação magnética em sistemas biológicos, as NPM podem ser usadas para purificação de proteínas, separação de ácidos nucleicos, extração de compostos bioativos com baixo peso molecular, entre outros [7]. Nos procedimentos típicos desta aplicação, o organismo que se deseja separar é marcado com as NPM e depois são

separados mediante a ação de um campo magnético externo [6].

A hipertermia magnética é um método terapêutico que utiliza NPM, as quais são injetadas no tumor e logo o paciente é submetido a um campo magnético alternado de frequência f e amplitude H . Nestas condições, as NPMs induzem um calor localizado por meio de perdas de energia magnética, causando o aumento da temperatura em regiões específicas do corpo [8]. A capacidade das NPMs de gerar o aquecimento é quantificada através da taxa de absorção específica, ou do inglês *Specific Absorption Rate (SAR)*, que é definida como a potência (P) de aquecimento gerada (em Wats W) por unidade de massa das NPMs (em grama g) [9]:

$$SAR = \frac{P}{m_{NPM}} = \frac{\sum_i C_i m_i \Delta T}{m_{NPM} \Delta t} \quad (1.1)$$

onde C_i e m_i são a capacidade calorífica (em $\frac{J}{kgK}$) e a massa de cada componente (nanopartícula e solvente), ΔT e Δt são a variação da temperatura (em K) e o tempo (em s), respectivamente.

O potencial da hipertermia como tratamento de câncer se baseia no fato de diversas células tumorais serem mais sensíveis ao aumento da temperatura ($\approx 41.8^\circ C$) quando comparadas com as células sadias do mesmo tipo [10].

As NPMs usadas para aplicações em sistemas biológicos devem necessariamente preencher certos pre-requisitos:

- i) Biocompatibilidade e baixa citotoxicidade [11].
- ii) Aplicação de campos magnéticos biocompatíveis. A frequência e a amplitude do campo magnético utilizado devem satisfazer a relação: $H.f \leq 4,85 \times 10^8 \frac{A}{ms}$. Neste intervalo sua aplicação é segura e tolerável pelo paciente [10]

- iii) Remanência magnética e coercividade nulas, evitando assim interações dipolares entre as partículas e, eventualmente, agregações.
- iv) A magnetização de saturação deve ter o maior valor possível, garantindo assim a eficiência do poder de aquecimento das partículas sob ação do campo magnético oscilante.

Por outro lado, aplicações *in vivo* exigem que as superfícies das nanopartículas sejam encapsuladas com polímeros biocompatíveis [12] ou materiais facilmente funcionalizáveis como a sílica (SiO_2), com os objetivos de evitar agregados, mudanças na estrutura original e a biodegradação durante a exposição ao sistema biológico [8]. Em particular, o recobrimento das NPM com SiO_2 e sua posterior funcionalização concede a elas um carácter multifuncional e seletivo [13, 14].

Partículas superparamagnéticas de óxidos de ferro (magnetita ou maghemita), ou do inglês *Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs)*, são as mais estudadas para aplicações biomédicas devido à sua biocompatibilidade e suas propriedades magnéticas [15]. A principal característica dos SPIONs é, devido ao seu comportamento superparamagnético, terem remanência magnética nula. Porém, estas partículas têm uma baixa magnetização de saturação, a qual é ainda menor quando estas partículas são recobertas e funcionalizadas superficialmente, limitando assim suas aplicações [16].

Como alternativa aos SPIONs, surgem as denominadas *Vortex Iron Oxide Particles (VIPs)*. Estas partículas compostas de óxido de ferro têm morfologia de nanoanéis e comportamento de vórtice magnético, o qual consiste num arranjo onde os momentos magnéticos são tangenciais a círculos em torno da abertura central. Esta estrutura magnética tem remanência magnética e coercividade nulas, e uma magnetização de saturação maior que os SPIONs. Outra característica importante é que as VIPs apresentam

histerese magnética, que, como será visto ao longo do trabalho, aumenta o valor do SAR , fazendo com que as VIPs sejam mais eficientes para algumas aplicações específicas, incluindo a hipertermia magnética [1, 16].

Sendo assim, este trabalho tem como objetivo principal a busca de propriedades magnéticas voltadas à aplicações biomédicas. Neste sentido, buscou-se sistemas onde propriedades magnéticas como a magnetização de saturação, pode ser selecionada de maneira fácil e reprodutível. Para atingir este objetivo foram sintetizadas uma série de partículas com morfologia de nanoanéis, apresentando comportamento de vórtice magnético. Além disso, os nanoanéis são do tipo *core@shell* com composição química *ferro@magnetita*, cujas porcentagens das fases foram variadas, na medida em que certos parâmetros da síntese foram variados, como será descrito ao longo deste trabalho. Além disso, a camada da magnetita na superfície das amostras permitiu manter a sua não toxicidade, mesmo tendo uma alta porcentagem da fase do ferro metálico (que em principio tem considerável citotoxicidade), o que fornece às partículas a possibilidade de serem aplicadas em sistemas biológicos. Cada uma destas características (morfologia, composição química, ser *core@shell*) possibilitou a obtenção de distintos comportamentos magnéticos, ou seja, distintos tipos de curvas de histerese, permitindo assim a seleção de cada visando satisfazer as necessidades de uma dada aplicação biomédica.

Seguindo a linha de aplicações *in vivo*, o segundo objetivo do trabalho foi o recobrimento dos nanoanéis com SiO_2 , que é um material não magnético (por tanto, faz com que a magnetização de saturação do sistema caia), mas é facilmente funcionalizável. Devido ao fato dos nanoanéis de *ferro@magnetita* terem uma alta magnetização de saturação, a queda desta propriedade magnética com o recobrimento passa a ser não muito significativa, mantendo um valor muito maior do que aquele observado nos SPIONs recobertos. Este fato torna as VIPs muito mais promissoras para aplicações como separação magnética

e hipertermia.

No capítulo 2, serão apresentados conceitos fundamentais do magnetismo e materiais magnéticos, assim como do nanomagnetismo e os mecanismos de perdas de energia na hipertermia magnética. Estes conceitos permitem a compreensão da física por trás dos sistemas estudados neste trabalho.

O capítulo 3 corresponde ao estado da arte, onde são apresentados trabalhos encontrados na literatura, cujo foco principal é a busca de nanopartículas magnéticas para aplicações biomédicas.

No capítulo 4 serão descritas as diferentes técnicas experimentais utilizadas na caracterização das amostras, assim como os fundamentos físicos básicos de funcionamento de cada equipamento.

No capítulo 5 serão detalhadas as sínteses das amostras e os mecanismos químicos e físicos por trás delas, assim como os reatores desenhados para a execução dos experimentos.

No capítulo 6 serão apresentados os resultados dos distintos processos de sínteses de amostras e as suas respectivas caracterizações. Também serão discutidas as possíveis aplicações para cada sistema.

Finalmente, no capítulo 7 serão apresentadas as conclusões e perspectivas de continuação deste trabalho.

Capítulo 2

Revisão teórica

Neste capítulo serão apresentados conceitos fundamentais do magnetismo e nanomagnetismo, os quais permitirão a compreensão do sistema estudado neste trabalho. Também serão descritos os fundamentos de geração de calor pelas nanopartículas na hipertermia magnética.

2.1 Magnetismo e materiais magnéticos

O magnetismo de nanopartículas é uma área de intenso desenvolvimento, envolvendo uma grande interdisciplinaridade. Entre as áreas envolvidas destacam-se: física, ciência dos materiais, biologia, medicina, biotecnologia, entre outros.

As propriedades magnéticas da matéria têm sua origem, essencialmente, nos momentos magnéticos dos elétrons nas camadas eletrônicas incompletas dos átomos [17]. Esses elétrons quando desemparelhados dão origem ao momento magnético atômico, também designados simplesmente como spins. Cada momento magnético atômico pode ser visualizado como um pequeno ímã.

Algumas grandezas importantes que caracterizam o comportamento magnético dos materiais são: a magnetização, \vec{M} , que é definida como a soma dos momentos magnéticos

dividida pelo volume do material:

$$\vec{M} = \frac{\sum \vec{\mu}}{V} \quad (2.1)$$

a qual é medida no Sistema Internacional (SI) em A/m (Ampere por metro) e no sistema CGS como emu/cm^3 (unidade eletromagnética por centímetro cúbico). Dependendo do sistema em estudo (como é o caso deste trabalho) é mais conveniente definir a magnetização por unidade de massa da amostra. Sendo assim, defini-se a magnetização mássica como sendo:

$$\vec{M}_m = \frac{\sum \vec{\mu}}{m} \quad (2.2)$$

e suas unidades passam a ser Am^2/kg no SI e emu/g no CGS. Embora, tenha sido definido \vec{M}_m como magnetização mássica, para simplificar a notação, ao longo desta dissertação usaremos \vec{M} para designar essa mesma grandeza, ou M para a componente da magnetização na direção do campo.

Uma outra grandeza importante é a susceptibilidade magnética χ . Esta é definida como a magnetização dividida pela intensidade do campo magnético:

$$\chi = \frac{\vec{M}}{\vec{H}} \quad (2.3)$$

χ é adimensional em ambos os sistemas SI e CGS, com uma diferença de 4π entre seus valores. A unidade de campo magnético \vec{H} é a mesma de \vec{M} , ou seja, A/m no SI, já no CGS a unidade é Oersted (Oe) [18].

Os principais materiais magnéticos podem ser classificados de acordo com o ordenamento de seus momentos magnéticos atômicos como: diamagnéticos (DIA), paramagnéticos (PM), ferromagnéticos (FM), ferrimagnéticos (FIM) e antiferromagnéticos (AFM). Na continuação desta seção serão descritos brevemente cada um destes.

O diamagnetismo (DIA) é uma propriedade básica e presente em todos os materiais. Esta envolve uma ligeira repulsão a um campo magnético externamente aplicado. A susceptibilidade magnética das substâncias diamagnéticas é pequena ($\approx -10^{-6}$), negativa e, normalmente, independente da temperatura [18, 19]. Pelo fato de ser muito pequena quando comparada aos outros tipos de ordenamento magnético, esta propriedade somente é relevante em materiais não magnéticos, como é o caso de plásticos e, de especial interesse deste trabalho, da sílica (SiO_2).

No estado paramagnético (PM), os materiais possuem momentos magnéticos aleatoriamente orientados em seus diferentes átomos, resultando em uma magnetização líquida nula. A aplicação de um campo magnético produz o alinhamento parcial dos momentos magnéticos paralelamente ao campo aplicado. A susceptibilidade magnética, neste caso, é pequena e positiva (entre 0 e 0,01), e varia com a temperatura segundo a lei de Curie-Weiss:

$$\chi = \frac{C}{T - T_c} \quad (2.4)$$

onde C e T_c são a constante de Curie (associado às propriedades magnéticas intrínsecas do material) e a temperatura crítica do material, respectivamente [19]. Esta última define a transição entre dois estados magnéticos. Abaixo desta, a qual depende do material, o sistema sofre uma transição a um estado magneticamente ordenado e se torna ferromagnético (FM), antiferromagnético (AFM) ou ferrimagnético (FIM). Esta temperatura de transição é denominada temperatura de Curie (T_C) para substâncias ferromagnéticas ou ferrimagnéticas e temperatura de Néel (T_N) para substâncias antiferromagnéticas [19]. Acima desta temperatura esse ordenamento é perdido, devido a efeitos de agitações térmicas, configurando o estado desordenado paramagnético.

Os sistemas ferro e ferrimagnéticos são fortemente atraídos pelo campo magnético. Neste caso os momentos, por efeito de interações entre momentos magnéticos vizinhos,

passam a ser alinhados, mesmo na ausência de campo magnético. Portanto, apresentam uma ordem magnética de longo alcance.

O estado ferromagnético é caracterizado pelo alinhamento de longo alcance dos momentos magnéticos atômicos paralelamente uns aos outros (figura 2.1 a)). Por conta disso, estes sistemas possuem magnetização líquida diferente de zero, assim como susceptibilidade magnética alta e positiva. Com o aumento da temperatura, o arranjo ordenado dos momentos magnéticos diminui devido a flutuações térmicas (associada a energia térmica). Como dito anteriormente, acima de T_C (temperatura de Curie), a energia térmica passa a ser grande o bastante, para que a interação entre os momentos magnéticos vizinhos se torne desprezível, levando assim à perda do ordenamento de longo alcance. O sistema entra, desta forma, no estado paramagnético e a susceptibilidade cai seguindo a lei de Curie-Weiss. Neste trabalho o ferro metálico apresenta um ordenamento ferromagnético.

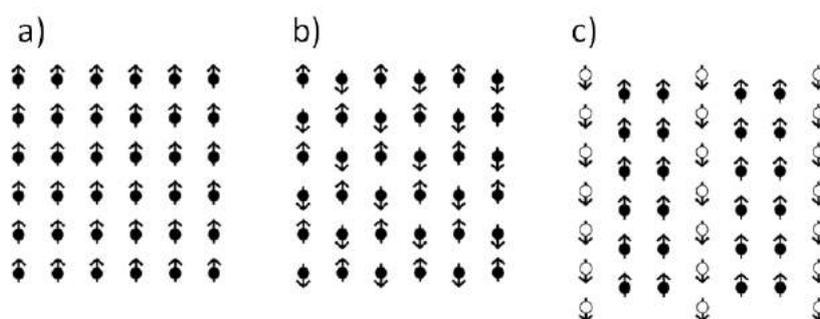


Figura 2.1: Tipos de ordenamentos magnéticos: a) ferromagnetismo, b) antiferromagnetismo e c) ferrimagnetismo. Figura adaptada de [19].

Em sistemas no estado antiferromagnético os momentos magnéticos têm mesmo módulo, porém estão alinhados de modo antiparalelo (figura 2.1 b)). Deste tipo de alinhamento fornece uma magnetização resultante nula e, conseqüentemente, uma susceptibilidade pequena e positiva [19]. Analogamente ao ferromagnetismo, acima da temperatura de Néel, o inverso da susceptibilidade segue uma dependência linear, ou seja, a lei de Curie-Weiss.

Como será visto mais a frente, entre os materiais estudados neste trabalho, a wustita (FeO) apresenta um comportamento antiferromagnético [17].

Os sistemas no estado ferrimagnéticos são compostos por duas ou mais espécies magnéticas (átomos ou íons), cujo alinhamento é antiparalelo (figura 2.1 c)). Neles, os diferentes momentos magnéticos têm diferentes módulos e, portanto, o estado ferrimagnético apresenta um momento magnético líquido diferente de zero [17, 19]. Como ficará clara ao longo desta dissertação, entre os materiais estudados neste trabalho, a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$) apresentam comportamento ferrimagnético [11].

Os materiais nos estados ferromagnético e ferrimagnético podem apresentar uma estrutura de domínios magnéticos, visando a minimização da energia magnetostática. No interior de um domínio, o ordenamento dos momentos segue o ordenamento característico da fase, ou seja, são paralelos no caso do estado ferromagnética e antiparalelos no ferrimagnético. Dentro de um domínio a magnetização é máxima e conhecida como M_s . Contudo, diferentes domínio têm diferentes orientações relativas de sua magnetização de saturação, fazendo com que a magnetização líquida resultante seja nula, ou muito próxima de zero.

Para eliminar esta estrutura de domínios deve ser aplicado um campo magnético suficientemente alto; com o aumento do campo magnético aplicado os spins nos domínios começam a se alinhar ao campo [19]. Num campo suficientemente alto, a magnetização de saturação, M_s , é alcançada no sistema como um todo e os spins de todos os domínios se encontram paralelos (antiparalelos no caso de um FIM). O campo magnético no qual a M_s é atingida é denominado campo de saturação, H_s . Quando o campo diminui para zero, em geral, uma magnetização não nula sobrevive, a qual é denominada magnetização remanente, M_r . Se o campo é agora aplicado numa direção reversa, a magnetização se

anula num dado valor de campo, o qual é denominado campo coercitivo, H_c . Com a diminuição gradual do campo magnético, a magnetização do sistema volta a atingir o valor em módulo da magnetização de saturação [20], ou seja, a saturação negativa. Este comportamento da magnetização em função do campo magnético externo é denominado histerese magnética. A figura 2.2 mostra a histerese de um material ferromagnético, onde estão destacados os parâmetros descritos acima.

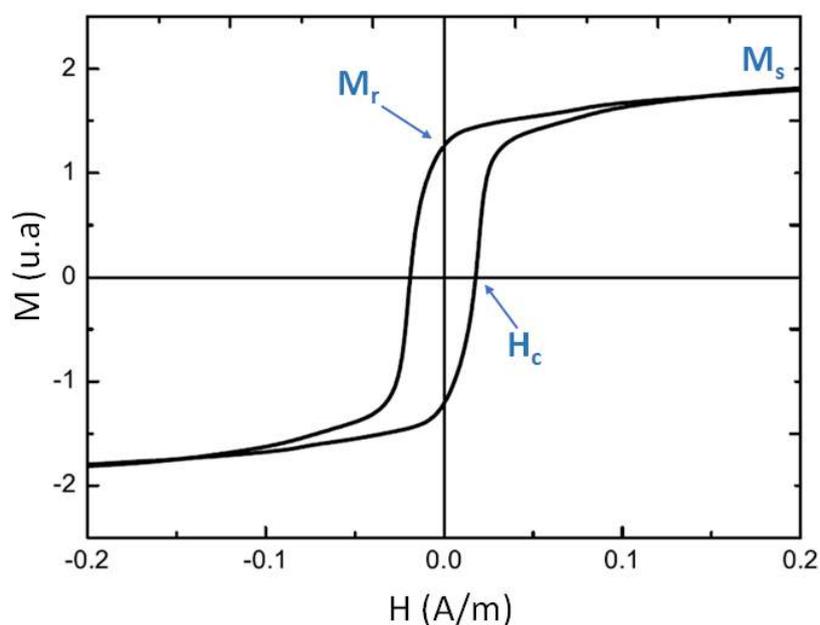


Figura 2.2: Representação de uma curva de histerese de um material ferromagnético mostrando os parâmetros que podem ser obtidos a partir dela: a magnetização de saturação, M_s , a magnetização remanente, M_r , e o campo coercitivo, H_c [18].

2.1.1 Interação de troca

O ordenamento magnético dos materiais é um fenômeno coletivo que tem sua origem nas interações eletrostáticas interatômicas. O princípio de exclusão de Pauli permitiu a Heisenberg modelar a interação de troca, onde as interações interatômicas podem ser

descritas de acordo com o Hamiltoniano:

$$H_{ex} = -2 \sum_{i \neq j} J_{ij} \vec{\mu}_i \vec{\mu}_j \quad (2.5)$$

onde $\vec{\mu}_i$ e $\vec{\mu}_j$ são os momentos magnéticos dos átomos i e j , respectivamente, e J_{ij} é a constante de troca. Por se tratar de uma interação de curto alcance, o somatório, usualmente, se restringe aos primeiros vizinhos j do átomo i . O valor positivo de J_{ij} corresponde a um ordenamento paralelo entre os momentos $\vec{\mu}_i$ e $\vec{\mu}_j$, dando vez à um ordenamento ferromagnético de longo alcance. No caso de $J_{ij} < 0$, o ordenamento entre momentos magnéticos vizinhos é antiparalelo. Portanto, se os módulos dos momentos vizinhos forem iguais, ou seja, $|\mu_i| = |\mu_j|$, o sistema estará em um estado antiferromagnético. Por outro lado, se forem diferentes os módulos dos momentos, ou seja, $|\mu_i| \neq |\mu_j|$, o estado será ferrimagnético [21].

2.1.2 Energia magnetostática

A energia magnetostática é a energia potencial magnética de um material ferromagnético, e pode ser entendida, como aquela devido ao campo magnético interno produzido pelo material em questão [22]. Este campo é denominado campo desmagnetizante, \vec{H}_d . A energia magnetostática, E_m , é dada pela energia da magnetização no campo desmagnetizante, e definida como:

$$E_m = -\frac{1}{2} \mu_0 \int_V \vec{H}_d \cdot \vec{M} dV \quad (2.6)$$

onde a integração é limitada pelo volume do material, V [18, 23] e μ_0 é a permeabilidade magnética do vácuo. Num material uniformemente magnetizado com forma elipsoidal, o campo desmagnetizante e a magnetização estão relacionados linearmente no SI:

$$\vec{H}_d = -N\vec{M} \quad (2.7)$$

onde N é um tensor chamado fator de desmagnetização, o qual é diagonal quando os eixos principais do elipsóide estão alinhados com os eixos x, y, z ; a soma das três componentes diagonais N_x, N_y, N_z é igual a 1 no SI [23].

2.1.3 Anisotropia de forma

A energia magnetostática traz o que é denominado como sendo anisotropia de forma. Inserindo a equação 2.7 na equação 2.6, obtém-se:

$$E_m = \frac{1}{2}\mu_0 \int_V (N_x M_x^2 + N_y M_y^2 + N_z M_z^2) dV \quad (2.8)$$

Para um elipsóide de revolução com $N_x = N_y = \frac{1-N_z}{2}$ e considerando as componentes da magnetização como sendo $M_z = M \cos \theta$, $(M_x^2 + M_y^2)^{\frac{1}{2}} = M \sin \theta$, onde θ é o ângulo entre a direção da magnetização e a simetria rotacional do elipsóide, a equação 2.8 passa a ser:

$$E_m = \frac{1}{2}\mu_0 \int_V M^2 (N_x \sin^2 \theta + N_z \cos^2 \theta) dV \quad (2.9)$$

reescrevendo:

$$E_m = \frac{1}{2}\mu_0 \int_V M^2 [N_z + (N_x - N_z) \sin^2 \theta] dV \quad (2.10)$$

Quando a magnetização é uniforme, a energia se reduz à:

$$E_m = C + \frac{1}{2}\mu_0 M^2 V (N_x - N_z \sin^2 \theta) \quad (2.11)$$

ou alternativamente:

$$E_m = C + \frac{1}{2}\mu_0 M^2 V (1 - 3N_z \sin^2 \theta) \quad (2.12)$$

onde C é uma constante. Isto significa que a energia é minimizada ao longo do eixo de simetria do elipsóide, o que equivale a dizer que o sistema passa a ter uma anisotropia uniaxial, cujo valor é determinado pela forma do material. Por exemplo, para uma partícula

esférica, pode-se escrever: $N_z = \frac{1}{3}$ e não há anisotropia de forma; já para um elipsóide prolato alongado no eixo z : $N_z < \frac{1}{3}$, a energia é minimizada ao longo do eixo z [23].

A anisotropia de forma desempenha um papel fundamental em materiais nanoestruturados, onde a abordagem clássica desta seção ainda é válida. Um exemplo interessante é de uma placa fina composta de um material ferromagnético, de volume V e espessura t . Neste caso, o fator de desmagnetização será $N_x = N_y = 0, N_z = 1$, quando o comprimento e a largura da placa são muito grandes com respeito à sua espessura *. Logo, na condição de um campo aplicado perpendicularmente ao plano da placa, de modo que esta placa esteja uniformemente magnetizada (direção z), a energia magnetostática é dada pela equação 2.6 e assumirá a forma:

$$E_m = \frac{1}{2}\mu_0 M^2 t a \quad (2.13)$$

onde a é a área da placa. Portanto, a energia magnetostática por unidade de área é dada por:

$$e_m = \frac{1}{2}\mu_0 M^2 t \cong 2 \times 10^{-7} M^2 t \quad (2.14)$$

Neste caso, no plano da placa, ou seja, no plano x, y , a energia é nula. Sendo assim, a direção de fácil magnetização, ou eixo de anisotropia, encontra-se paralelo ao plano da placa, custando muita energia para os momentos magnéticos se colocarem perpendiculares ao plano da placa.

2.1.4 Anisotropia magnética

A energia de um material magneticamente ordenado pode depender da orientação relativa da magnetização e os seus eixos cristalográficos [18]. Essa é um dos mais comuns tipos de anisotropia magnética e é conhecida como anisotropia magnetocristalina. Esta

*Este é o caso dos filmes finos, onde a espessura é da ordem de \AA , enquanto as dimensões laterais típicas são da ordem de cm

anisotropia tem origem na interação spin-órbita, e é definida como a dependência das propriedades magnéticas, de um dado material, com as direções cristalográficas deste cristal. Esta dependência, acaba por criar direções preferenciais de magnetização, ou seja, direções nas quais (sem campo magnético aplicado) os momentos magnéticos atômicos espontaneamente se alinham. Essas direções que minimizam a energia do material, são chamadas eixos de anisotropia ou de fácil magnetização. Desta forma, será fácil saturar um material quando o campo magnético aplicado for paralelo ao eixo de fácil magnetização. Contudo, para saturar num ângulo θ com respeito ao seu eixo de fácil magnetização haverá um custo energético apreciável [24].

O caso mais simples é de um material que apresenta anisotropia uniaxial. Nesta situação, a energia anisotrópica pode ser expressada em termos da constante de anisotropia K e do ângulo θ (como definido acima) [18]:

$$E_a = KV \sin^2 \theta \quad (2.15)$$

onde V é o volume do material.

2.1.5 Domínios magnéticos

Em resposta à interação de troca, um material magnético deveria estar sempre totalmente magnetizado, mas isto nem sempre acontece [25]. Outros termos de energia também devem ser, simultaneamente, minimizados. Os mais relevantes são a energia magnetostática e a anisotropia. O primeiro é a origem do fato de amostras magnéticas macroscópicas serem segmentadas em domínios magnéticos. Como já dito, uma configuração de domínios com diferentes orientações de M_s , leva a uma magnetização líquida resultante nula ou muito pequena [18].

Considerando um material planar homogeneamente magnetizado, com uma anisotropia uniaxial ao longo da direção y , como mostrado na figura 2.3. Nesta situação, a energia

de anisotropia será minimizada (segundo a equação 2.15) quando os momentos magnéticos atômicos estiverem ao longo da direção y , independente do sentido, ou seja, $+y$ ou $-y$. É importante ainda verificar que esta configuração também minimiza a energia de troca (equação 2.5). Porém, a densidade de energia magnetostática é muito alta, representada na figura 2.3 a) pelas linhas de campo, fazendo com que a energia total seja grande. A maneira de reduzir a energia total é fazendo com que a magnetização do material não seja mais uniforme, mas sim segmentada em domínios magnéticos, conforme representado na figura 2.3b) e c).

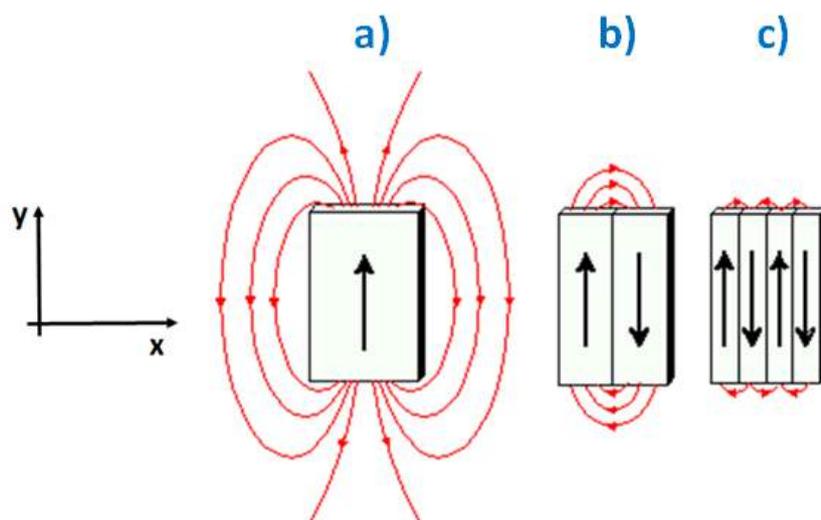


Figura 2.3: Representação pictórica da formação de domínios magnéticos, mostrando em b) e c) que a energia magnetostática diminui com o aumento do número de domínios magnéticos.

A formação de domínios magnéticos alternados diminui a energia magnetostática por unidade de área em relação a um único domínio, ou seja, um material uniformemente magnetizado. Portanto, nos materiais ferromagnéticos, os domínios magnéticos são formados espontaneamente a fim de minimizar a energia magnetostática do sistema.

2.1.6 Paredes de domínio

Nos materiais multidomínios, entre dois domínios magnéticos de magnetização oposta (o caso mais simples), existe uma região de transição de largura finita. Esta região é chamada de parede de domínio [23]. Existem duas formas principais de paredes de domínio, a primeira, denominada parede de Bloch, na qual os momentos magnéticos na parede giram perpendicularmente ao plano dos momentos magnéticos dos domínios adjacentes, como representado na figura 2.4 a); se agora os momentos magnéticos da parede giram paralelamente ao plano mencionado anteriormente, a parede é denominada parede de Néel (figura 2.4 b)) [18].

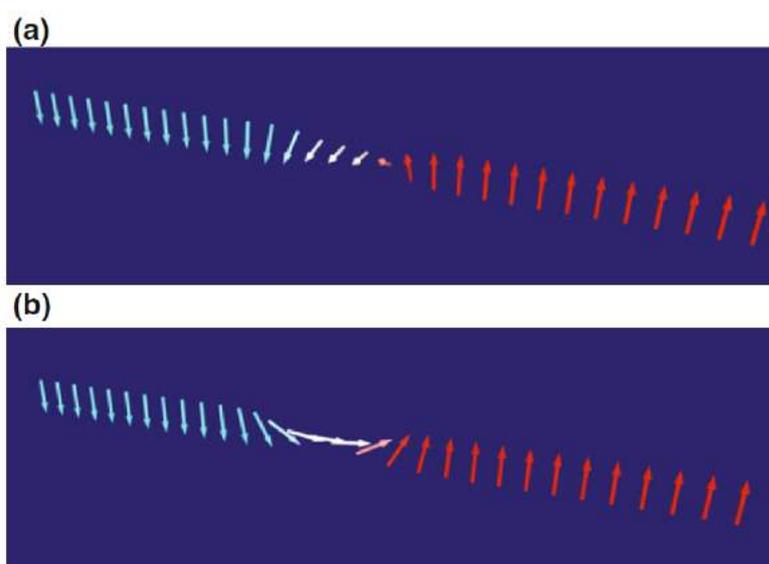


Figura 2.4: Paredes entre dois domínios A e B de magnetização oposta: a) a magnetização na parede gira num plano perpendicular às direções dos domínios adjacentes: parede de Bloch; b) a magnetização na parede gira no plano dos domínios adjacentes: parede de Néel [18].

A formação desta parede de domínio traz um aumento da energia de troca e da energia anisotrópica. Essa energia no caso específico das paredes de Bloch é proporcional a $4\sqrt{AK}$, onde A é a constante de rigidez de troca, a qual pode ser pensada como uma medida da intensidade da interação de troca, e K é a constante de anisotropia uniaxial.

Portanto, a energia das paredes de domínio aumenta proporcionalmente tanto ao aumento da energia de troca, quanto ao aumento da anisotropia.

Outra grandeza importante é o comprimento de troca, ou do inglês *exchange length*, l_{ex} , este comprimento é característico de um material magnético e representa a escala na qual os efeitos de interação de troca dominam os efeitos magnetostáticos e é definido por:

$$l_{ex} = \sqrt{\frac{2A}{\mu_0 M_s^2}} \quad (2.16)$$

A espessura da parede de domínio, δ_0 , pode ser definida em termos do comprimento de troca:

$$\delta_0 = \frac{\pi l_{ex}}{\sqrt{2K}} \quad (2.17)$$

logo, inserindo a equação 2.16 na 2.17, chega-se a:

$$\delta_0 = \pi \sqrt{\frac{A}{K}} \quad (2.18)$$

esta equação nos diz que a espessura da parede é proporcional à raiz quadrada da constante de troca (\sqrt{A}) e inversamente proporcional à raiz quadrada da constante de anisotropia ($1/\sqrt{K}$).

É importante notar que, na medida em que um sistema é segmentado em mais e mais domínios magnéticos (como na figura 2.3), se por um lado a energia magnetostática diminui quanto maior for o número dos domínios; por outro, a cada domínio, paredes de domínio também são criadas. Portanto, para cada parede a energia total do sistema é acrescida ($\propto 4\sqrt{AK}$). Logo, haverá um limite no número de domínios que poderá existir em um dado sistema, o qual será atingido quando a energia para a formação das paredes que circundam o domínio for igual à energia magnetostática que seria diminuída.

2.2 Nanomagnetismo

Como a energia magnetostática é uma integral no volume da amostra, ou seja, é proporcional ao volume da amostra (equação 2.6), na medida que o volume desta diminui, diminuirá em igual proporção a energia magnetostática do sistema. Com isso, o número de domínios magnéticos máximo nos quais esta amostra pode ser segmentada, também diminuirá (ver discussão da seção 2.1.6 e figura 2.5). A subsequente diminuição do volume da amostra, claramente conduzirá a uma situação limite. Abaixo de um valor crítico, a presença de uma parede de domínio torna-se energeticamente desfavorável [25].

Portanto, partículas magnéticas na escala nanométrica são comumente estruturas de monodomínio magnético [21]. O diâmetro crítico abaixo do qual uma partícula esférica é energeticamente mais favorável como monodomínio magnético, é dado por:

$$D_{cr} = \frac{72\sqrt{AK}}{\mu_0 M_s^2} \quad (2.19)$$

Isto quer dizer que, para um mesmo valor de M_s , o diâmetro crítico é proporcional à energia da parede de domínio. Em outras palavras, se o custo energético para a formação de uma parede de domínio aumenta, a configuração de monodomínio será energeticamente mais favorável [18].

2.2.1 Superparamagnetismo

Considere uma partícula elipsoidal abaixo do diâmetro crítico (equação 2.19), portanto, na configuração de monodomínio magnético. Por ser elipsoidal, a minimização da energia magnetostática, ou seja, a anisotropia de forma, induzirá a esta partícula um eixo de fácil magnetização ao longo do seu eixo maior (equação 2.15). Considerando que sob ação de um campo externo aplicado em uma direção qualquer, todos os momentos magnéticos atômicos respondam ao campo de forma coerente, ou seja, que a partícula esteja sempre homogêneamente magnetizada em um estado de monodomínio. Nesta si-

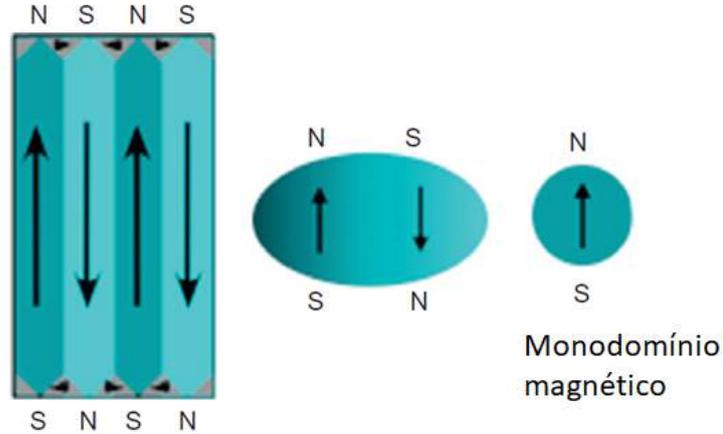


Figura 2.5: Representação da dependência da configuração de domínios com o volume do sistema. O número de domínios diminui com a diminuição do tamanho das partículas e abaixo de um valor crítico a configuração passa a ser de monodomínio magnético. Figura adaptada de [25].

tuação, pode ser considerado que esta partícula seja caracterizada por único momento magnético, cujo módulo é a soma dos momentos magnéticos atômicos, ou seja, $\sum_i \vec{\mu}_i$. O nome atribuído ao momento magnético da partícula é macrospin. Neste caso a energia de anisotropia desta partícula será dada por:

$$E = KV \sin^2 \theta \quad (2.20)$$

onde K é constante de anisotropia dada em J/m^3 , V é o volume da partícula e θ é o ângulo entre o vetor de magnetização e o eixo de anisotropia, como mostrado na figura 2.6 a) [18,21]. A magnetização (o macrospin) espontaneamente aponta na direção do eixo de anisotropia, ou seja, $\theta = 0^\circ$ ou $\theta = 180^\circ$. Estes dois mínimos estão separados por uma barreira de energia, a qual deve ser superada para que o sentido do macrospin seja invertido. Na ausência de campo magnético aplicado ($H = 0$), a altura desta barreira é igual a $E_b = KV$ [18]. A figura 2.6 b) mostra a energia da partícula como função do ângulo θ .

Em uma dada temperatura finita T e abaixo de um certo volume, a energia da bar-

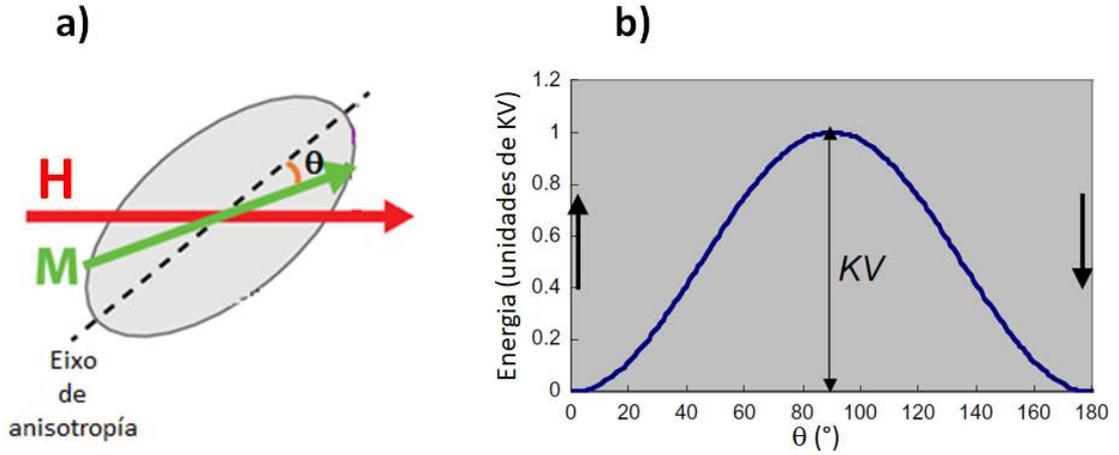


Figura 2.6: a) Representação de uma partícula com monodomínio magnético mostrando as orientações relativas do eixo de anisotropia, campo magnético aplicado, magnetização e a definição do ângulo θ ; b) barreira de potencial em função ao ângulo θ desta nanopartícula. Figura adaptada de [25].

reira de potencial E_b será comparável à energia térmica do sistema ($k_B T$, com k_B sendo a constante de Boltzmann). Nesta condição, diz-se que a partícula passa a ter um comportamento superparamagnético. No estado superparamagnético, a magnetização desta partícula oscila entre os dois mínimos, sendo um aquele cujo macrospin aponta no sentido $\theta = 0^\circ$ e o outro aquele no sentido $\theta = 180^\circ$.

Considerando um conjunto destas nanopartículas em uma temperatura finita T e que no instante inicial $t = 0$ todas estejam com a magnetização apontando na mesma direção. Sem campo magnético aplicado, a magnetização vai evoluir no tempo, já que haverá transições termicamente ativadas, entre os dois mínimos de energia. A magnetização vai variar com o tempo exponencialmente segundo a equação:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{-1}{\tau_0} M \exp\left(\frac{-KV}{k_B T}\right) = \frac{-M}{\tau} \quad (2.21)$$

onde τ é o tempo de relaxação, τ_0 usualmente se encontra na faixa de $10^{-12} - 10^{-9} s$. Em termos simples, a equação 2.21 diz que sob a influência da energia térmica, o sistema tenta superar a barreira de energia $1/\tau_0$ vezes. Logo, o tempo de relaxação é dado pela

equação:

$$\tau = \tau_0 \exp\left(\frac{E}{k_B T}\right) \quad (2.22)$$

a qual é conhecida como Lei de Néel-Arrhenius, e descreve a dependência exponencial de τ com a razão $E/k_B T$; neste caso, a energia total E , é a energia de anisotropia, $E_a = KV$. O comportamento magnético observado dependerá da escala de tempo da janela de medida t_m . Se o tempo de relaxação, τ é menor que o tempo de medição, t_m ($\tau < t_m$), a magnetização remanente será nula e o conjunto de partículas se encontra no regime superparamagnético. Isso é o equivalente a dizer que, enquanto está sendo realizada uma medida, ou seja, no intervalo de tempo t_m , a magnetização variou entre os dois estados t_m/τ vezes. Se, ao contrário, o tempo de relaxação for maior que o tempo de medida, $\tau > t_m$, a partícula se encontra no estado bloqueado e será observada uma magnetização remanente não nula [18].

A partir da equação 2.22, e considerando o tempo de medida $t_m = 100s$ e $\tau_0 = 10^{-9}s$, pode ser estimado o volume crítico abaixo do qual um sistema de partículas passa a apresentar comportamento superparamagnético:

$$V_{cr} \approx \frac{25k_B T}{K} \quad (2.23)$$

logo, o diâmetro crítico de uma partícula esférica com comportamento superparamagnético é dado pela equação [18]:

$$D_{cr} = \left(\frac{6}{\pi} V_{cr}\right)^{1/3} \quad (2.24)$$

A figura 2.7 mostra a curva de magnetização de um sistema formado por partículas superparamagnéticas. Observa-se que, tanto a remanência magnética, quanto o campo coercitivo nesse caso são nulos [26]. Em outras palavras, após a eliminação do campo magnético aplicado, as partículas superparamagnéticas não têm interação magnética entre elas. Esta característica é importante para distintas aplicações, sobretudo em na-

nomedicina, tais como: *drug delivery*, contraste de imagem por ressonância magnética, hipertermia magnética etc. [27].

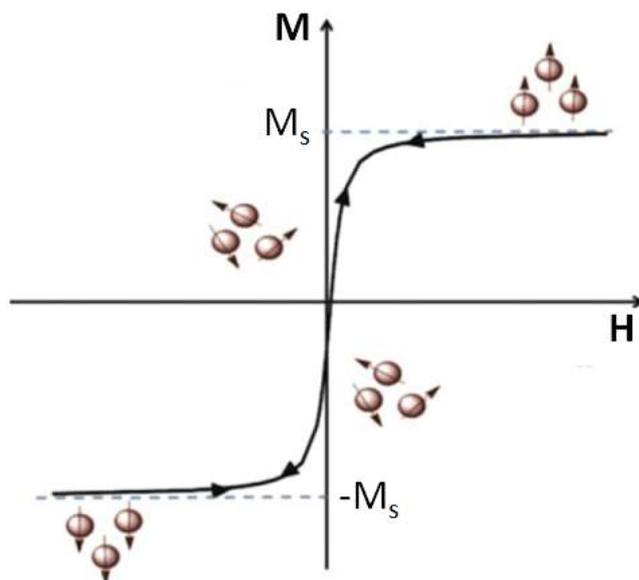


Figura 2.7: Curva de histerese de um conjunto de partículas superparamagnéticas [26].

2.2.2 Vórtices magnéticos

O comportamento magnético das nanopartículas depende, em geral, de suas dimensões. Como foi visto, partículas pequenas, cujo diâmetro é igual ao diâmetro crítico (equação 2.19) têm seu estado de menor energia na configuração de monodomínio. Já acima do diâmetro crítico podem ser multidomínio ou exibir um comportamento intermediário, bastante peculiar, conhecido como vórtice magnético. O estado de vórtice consiste num arranjo onde a magnetização se encontra alinhada tangencialmente a círculos concêntricos [18]. Estas três possíveis configurações são ilustradas na figura 2.8.

O estado de vórtice também ocorre em nanodiscos e nanoanéis. No caso dos nanodiscos, o diâmetro mínimo para a observação da estrutura de vórtice como o estado de mínima energia é dado por $D_{cr}^{disc} = 7.4l_{ex}$. Neste caso, por conta da energia magnetostática

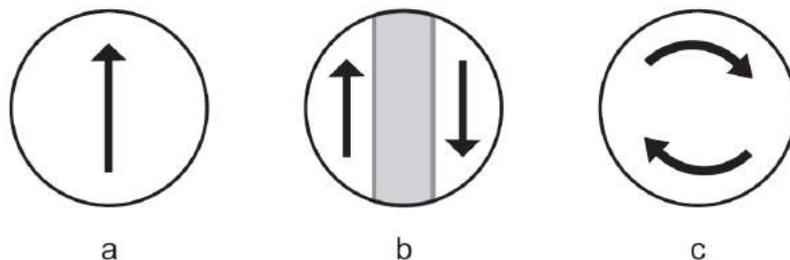


Figura 2.8: Representações de alguns das possíveis configurações de spins para o estado de menor energia de uma partícula esférica: a) monodomínio; b) dois domínios; c) vórtice [18].

(analogamente ao exemplo da placa magnética apresentado na seção 2.1.3, a anisotropia de forma confina magnetização ao plano do disco. Porém, em regiões próximas ao centro do disco, onde o núcleo do vórtice é localizado, o arranjo dos momentos magnéticos aponta para fora do plano e, conseqüentemente, existe uma componente perpendicular da magnetização, que alcança seu máximo valor no centro do disco. A existência desta componente z da magnetização é devido ao custo da energia de troca. Este passa a ser muito alto para manter aos momentos magnéticos tangentes a círculos, cujos raios são cada vez menores ao se aproximar do centro do disco. Com raios menores, os ângulos entre momentos magnéticos adjacentes, passam a ser muito grandes, custando muito em termos energia de troca (ver equação 2.5). A maneira mais eficiente de diminuir a energia total desse sistema é manter os momentos quase paralelos, porém apontando para fora do plano do disco no centro do vórtice (como se observa na figura 2.9), o que, por sua vez, leva a um aumento da energia de anisotropia.

A componente z da magnetização do centro do vórtice pode apontar para cima ou para baixo. Esta característica define a polaridade p , cujos valores podem ser $p = +1$ e $p = -1$, respectivamente. O sentido para onde apontam os momentos magnéticos do vórtice pode ser horário ou anti-horário, isto define a circulação c , cujos valores podem ser $c = -1$ e $c = +1$, respectivamente. Por tanto, existem quatro possíveis configurações

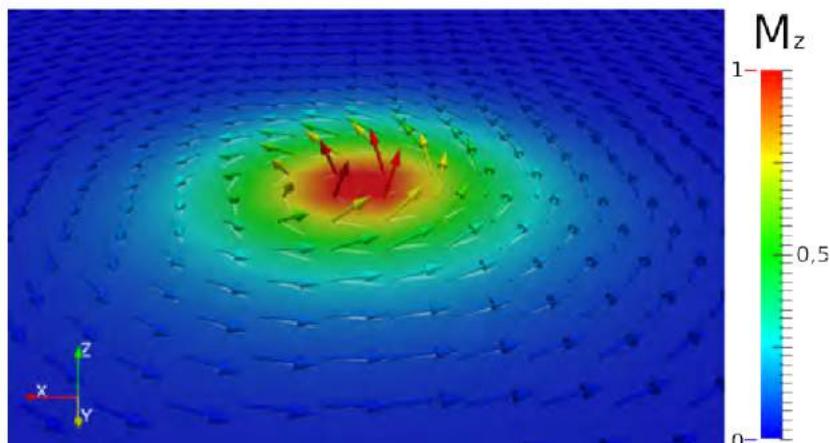


Figura 2.9: Representação da configuração dos momentos magnéticos num vórtice: com a diminuição do raio, o ângulo entre os momentos magnéticos passa a ser grande, fazendo com que a magnetização saia do plano [28].

de menor energia para o estado de vórtice: a) $p = +1$ e $c = -1$; b) $p = +1$ e $c = +1$; c) $p = -1$ e $c = +1$; d) $p = -1$ e $c = -1$.

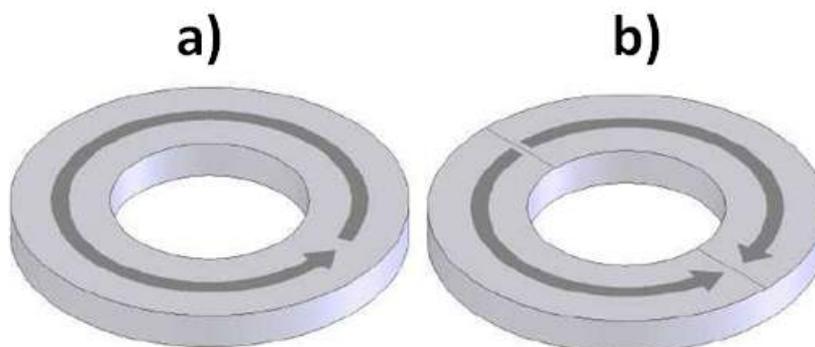


Figura 2.10: Representação das principais configurações magnéticas possíveis num nanoanel: a) vórtex, b) *onion* [18].

No caso dos nanoanéis (a morfologia de interesse neste trabalho), pode-se classificar o ordenamento dos momentos magnéticos em duas configurações principais. Uma delas é de vórtice e (como descrito acima) os momentos magnéticos se ordenam tangencialmente a círculos concêntricos. A diferença deste caso em relação ao vórtice descrito anteriormente é, por haver a abertura central, não haverá o núcleo. O segundo caso corresponde ao

arranjo dos momentos, tal que, o anel é dividido em dois domínios. Nesta configuração a magnetização se orienta tangencialmente a círculos concêntricos, mas em dois sentidos diferentes, horário e anti-horário. Esta configuração é denominada estado de cebola, ou do inglês *onion*. Estas configurações são ilustradas na figura 2.10. O diâmetro crítico para o qual um nanoanel apresenta a configuração de vórtice é dado por $D_{cr}^{anel} = 2\sqrt{3}l_{ex}$ [18].

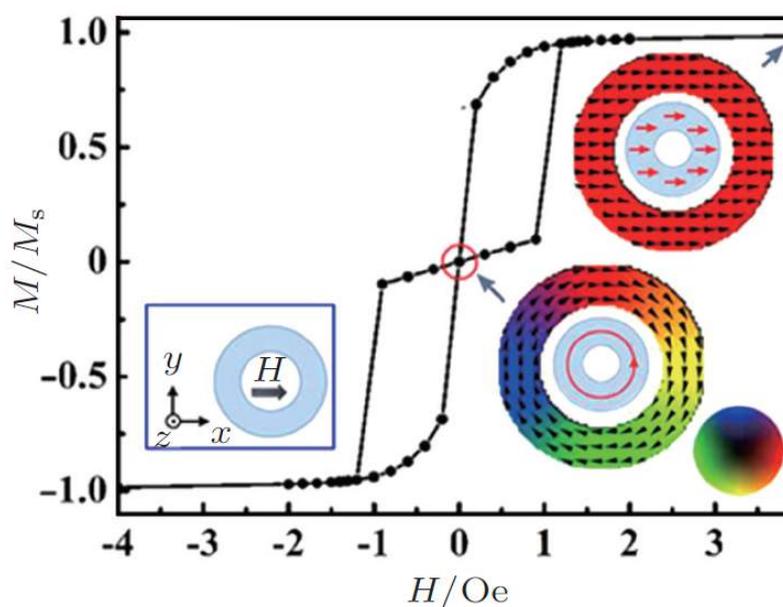


Figura 2.11: Simulação da curva de histerese de um vórtice magnético em um nanoanel [29].

A curva de histerese de um nanoanel na configuração de vórtice é apresentada na figura 2.11. Esta curva foi simulada por *Yang et al.*, [29], na condição em que o campo magnético é aplicado paralelamente ao plano do nanoanel. Para $H = 0$ os momentos magnéticos estão dispostos em volta do anel, de forma a se compensarem mutuamente, gerando uma magnetização nula. No campo de saturação o ordenamento passa a ser de cebola (*onion*). Esta curva mostra que não existe remanência magnética para o estado de vórtice em nanoanéis. Esta característica é de suma importância para muitas aplicações, como dito na Introdução e será analisado na seguinte seção.

2.3 Hipertermia magnética

A palavra hipertermia vem do grego *hyper* que significa aumentar e *therme* que significa calor e refere-se ao incremento de temperatura do corpo ou de tecidos selecionados com o objetivo de obter um efeito terapêutico específico [30].

Já a hipertermia magnética, permite induzir um calor local por meio de perdas de energia magnética de nanopartículas, quando estas estão sob efeito de um campo magnético oscilante. Em outras palavras, é a capacidade de algumas partículas magnéticas de transformar a energia eletromagnética em calor, viabilizando o aumento da temperatura em regiões específicas do corpo, onde as células tumorais e as nanopartículas estão localizadas. Portanto, a ativação destas nanopartículas como agentes geradores de calor, pode ser controlado externamente pela aplicação ou não de um campo magnético oscilante [31].

O potencial da hipertermia como tratamento de câncer se baseia no fato das células tumorais serem mais sensíveis ao aumento da temperatura ($\approx 41.8^{\circ}C$), quando comparadas com as células sadias do mesmo tipo [10]. As nanopartículas magnéticas usadas na hipertermia magnética devem necessariamente preencher certos requisitos para aplicações biomédicas:

- i) Biocompatibilidade e não citotoxicidade [11].
- ii) Aplicação de campos magnéticos biocompatíveis. A frequência e a amplitude do campo magnético aplicado devem satisfazer a relação: $H.f \leq 4,85 \times 10^8 \frac{A}{ms}$, neste intervalo sua aplicação é segura e tolerada pelo paciente [10]
- iii) Remanência magnética e coercividade nulas, evitando assim interações dipolares entre as partículas e, portanto, agregações.
- iv) A magnetização de saturação deve ter o maior valor possível, garantindo assim a

eficiência do poder de aquecimento das partículas sob ação do campo magnético oscilante.

A potência de aquecimento das nanopartículas é quantificada através da taxa de absorção específica, ou do inglês *Specific Absorption Rate*, SAR [20] a qual é dada pela equação:

$$SAR = \left(\frac{m_{NPM}C_{NPM} + m_{H_2O}C_{H_2O}}{m_{NPM}} \right) \frac{\Delta T}{\Delta t} \quad (2.25)$$

considerando que o fluido no qual as nanopartículas se encontram é a água, nesta equação m_{NPM} e m_{H_2O} são, respectivamente, a massa (em gramas, g) das nanopartículas e da água; C_{NPM} e C_{H_2O} são as respectivas capacidades caloríficas (em J/kgK); e $\Delta T/\Delta t$ é a razão entre a variação da temperatura (em K) e o tempo (em s). A unidade do SAR é W/g .

No entanto, o SAR como descrito na equação 2.25 não faz referência à magnitude H e à frequência f do campo magnético aplicado, o que não faz possível a comparação entre medidas realizadas em distintas condições. Portanto, é definida a perda intrínseca de potência (ou do inglês *Intrinsic Loss Power (ILP)*) [32]:

$$ILP = \frac{SAR}{H^2 f} \quad (2.26)$$

esta equação permite uma comparação mais direta da potência de aquecimento das nanopartículas. A unidade de medida do ILP é nHm^2/kg .

Na hipertermia magnética existem dois mecanismos de perdas de energia: as perdas por histerese e as perdas por susceptibilidade, que por sua vez é dividida em dois mecanismos, as relaxações de Néel e de Brown. Estes mecanismos serão brevemente descritos nas seções subsequentes.

2.3.1 Perdas por susceptibilidade

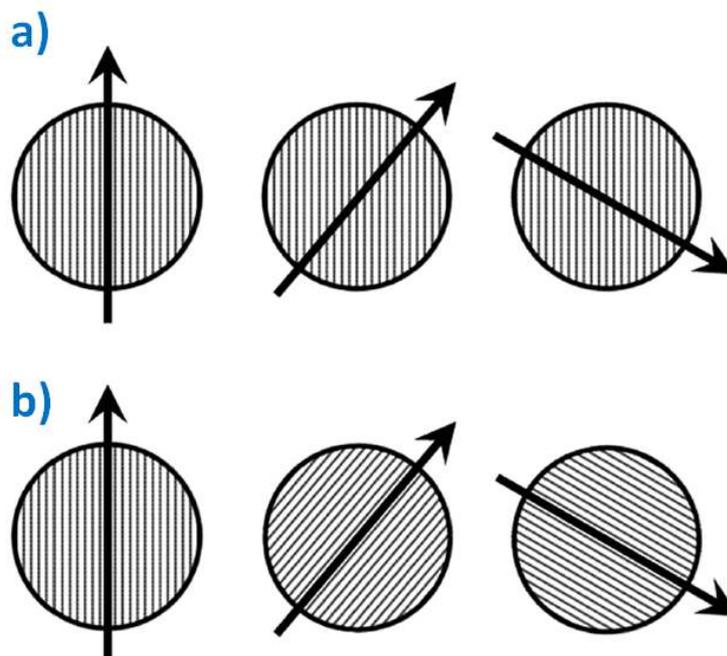


Figura 2.12: Mecanismos de perdas de energia: a) relaxação de Néel: a partícula se encontra fixa e os momentos magnéticos seguem o campo alternado; b) relaxação de Brown: os momentos magnéticos se encontram fixos e a partícula gira seguindo o campo alternado [33].

Genericamente, todos os mecanismos que levam à hipertermia magnética têm por base, a ideia das nanopartículas, quando sob ação de campos magnéticos alternados, absorvem energia, e na sequência, relaxam liberando calor ao meio.

No caso das partículas superparamagnéticas ($V < V_c$ equação 2.23), um dos principais mecanismos de aquecimento é associado à instabilidade dos momentos magnéticos. Como dito anteriormente na seção 2.2.1, no estado superparamagnético, os macrospins oscilam, via ativação térmica, entre os estados magnéticos. Neste caso, a ação do campo magnético alternado, equivale a medidas mais rápidas ou, equivalentemente, a janelas de tempo de medidas (t_m) menores. Em decorrência disto, no caso da frequência ser alta o bastante, a janela de tempo da medida passa a ser da ordem do tempo de relaxação ($t_m \approx \tau$).

Sendo assim, o sistema sai do regime superparamagnético e passa ao estado bloqueado, adquirindo uma certa histerese. Logo, a relaxação do sistema ao estado de equilíbrio está associado à liberação de calor ao meio. Esse processo de relaxação é conhecido como relaxação de Néel (figura 2.12 a) e caracterizado pelo tempo τ_N . A relaxação de Néel é dada pela equação [33]:

$$\tau_N = \frac{\tau_0}{2} \sqrt{\frac{\pi k_B T}{KV}} \exp\left(\frac{KV}{k_B T}\right) \quad (2.27)$$

Um outro mecanismo de aquecimento ocorre na condição das nanopartículas estarem bloqueadas e tenham o grau de liberdade de girarem fisicamente, em torno delas mesmas, seguindo o campo magnético alternado. Neste caso, a energia fornecida pelo campo é transformada em calor por conta do atrito entre a superfície das nanopartículas que giram e o fluido circundante (figura 2.12 b)). A esse processo de relaxação dá-se o nome de relaxação de Brown, por sua vez, caracterizado pelo tempo de relaxação τ_B . O tempo de relaxação de Brown depende da viscosidade da solução η e o volume hidrodinâmico da partícula V_H e é dado pela equação [33]:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{k_B T} \quad (2.28)$$

Na prática, ambos mecanismos podem ocorrer simultaneamente e as contribuições relativas são determinadas pela escala de tempo na qual cada mecanismo acontece [33]. Como os mecanismos de relaxação de Néel e Brown acontecem em paralelo, logo, o tempo de relaxação efetivo é dado por:

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_B} + \frac{1}{\tau_N} \quad (2.29)$$

Considerando esta equação, fica claro que o tempo de relaxação efetivo é dominado pela componente de menor tempo. Portanto, a relaxação de Brown é dominante para partículas com maior volume em soluções com viscosidade baixa, já relaxação de Néel domina para partículas pequenas em soluções viscosas.

Finalmente, o SAR gerado pelas nanopartículas magnéticas por unidade de massa através destes mecanismos é dado por:

$$SAR = \frac{1}{2} \omega \mu_0 \chi_0 H^2 \frac{\omega \tau}{1 + \omega^2 \tau^2} \quad (2.30)$$

onde ω é a frequência angular do campo magnético aplicado. Esta equação fornece um SAR máximo para $\omega \tau = 1$, definindo assim uma frequência crítica para o sistema. Para valores muito menores que a frequência crítica ($\omega \tau \ll 1$), a equação 2.30 se reduz a:

$$SAR_{\omega \tau \ll 1} = \frac{1}{2} \omega^2 \tau \mu_0 \chi_0 H^2 \quad (2.31)$$

Neste caso o SAR mostra uma dependência com o quadrado, tanto da frequência, quanto do campo aplicado. Por outro lado, acima da frequência crítica ($\omega \tau \gg 1$), a equação 2.30 se reduz a:

$$SAR_{\omega \tau \gg 1} = \frac{\mu_0 \chi_0 H^2}{2\tau} \quad (2.32)$$

sendo agora independente da frequência [33].

2.3.2 Perdas por histerese

Quando partículas ferromagnéticas são submetidas à ação de um campo magnético alternado de amplitude H e frequência f , a quantidade de calor liberado durante um ciclo é simplesmente igual à área da curva de histerese [15, 34]:

$$A_{\text{crea}} = \mu_0 \oint H dM \quad (2.33)$$

logo, o SAR é dado por:

$$SAR = \mu_0 f \oint H dM \quad (2.34)$$

esta equação nos diz que quanto maior for a área da curva de histerese, maior será o SAR. As propriedades como magnetização de saturação M_s , anisotropia do material K , volume da partícula V , frequência f e a amplitude do campo, irão determinar a forma da curva de histerese e, portanto, o valor do SAR [34, 35].

2.4 O ferro e seus óxidos

O ferro é um dos elementos mais abundantes na Terra. Encontra-se, por exemplo, em pedras e na crosta terrestre e, é fundamental para o desenvolvimento da vida, estando presente nas células dos mamíferos e no sangue e tecidos [36]. O Ferro metálico (Fe^0) possui estrutura eletrônica $1s^22s^22p^63s^23p^63d^64s^2$. Sua estrutura cristalina pode existir em três simetrias: αFe , o qual é estável até uma temperatura de $910^\circ C$, tem célula unitária cúbica corpo centrada (bcc), como se mostra na figura 2.13. Esta estrutura é de interesse neste trabalho, como será visto nos seguintes capítulos. Uma outra simetria que pode apresentar o ferro metálico é o γFe , cuja célula unitária é cúbica de face centrada (fcc) e é estável entre 910 e $1390^\circ C$. O ferro metálico pode ainda ser δFe , que, por sua vez, tem também célula unitária bcc e se forma acima de $1390^\circ C$ [36].

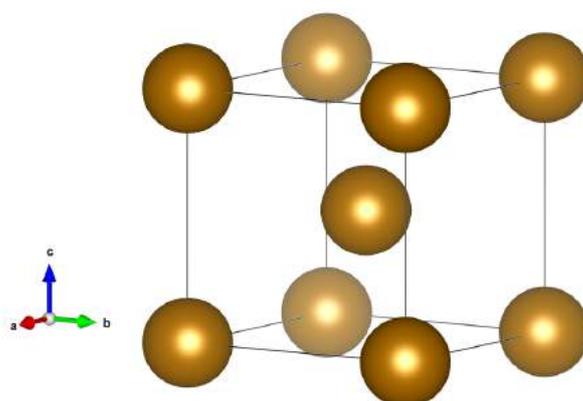


Figura 2.13: Esquema da célula unitária cúbica de corpo centrado típica do ferro metálico correspondente à fase cristalina αFe

No tocante às suas propriedades magnéticas, o ferro apresenta comportamento ferromagnético com $M_s = 220 \text{ emu/g}$ e torna-se paramagnético acima da sua temperatura de Curie $T_C = 768^\circ C$ [19].

Os estados de oxidação mais comuns do ferro são o Fe^{3+} (férico), que possui a configuração eletrônica $1s^22s^22p^63s^23p^63d^5$; e o Fe^{2+} (ferroso), que tem a configuração

$1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^6$. Estes estados de oxidação possuem 5 e 4 elétrons desemparelhados, respectivamente. Os elétrons da camada $3d$ são os que determinam as propriedades magnéticas do ferro metálico e de seus óxidos [19,36]; os quais são de particular interesse neste trabalho, e serão brevemente descritos a continuação.

2.4.1 Hematita

A palavra hematita tem sua origem no grego *haima* que significa sangue e faz referência a sua coloração vermelha (igual a à do sangue). A hematita ($\alpha - Fe_2O_3$) é o mineral de óxido de ferro que foi primeiro conhecido pelo homem e é encontrado em rochas e solos. Este óxido de ferro é extremamente estável, tem uma estrutura cristalina corundum (αAl_2O_3) e sua célula unitária é hexagonal, como se observa na figura 2.14, onde os átomos de Fe estão indicados na cor marrom e os átomos de oxigênio na cor vermelha [19].

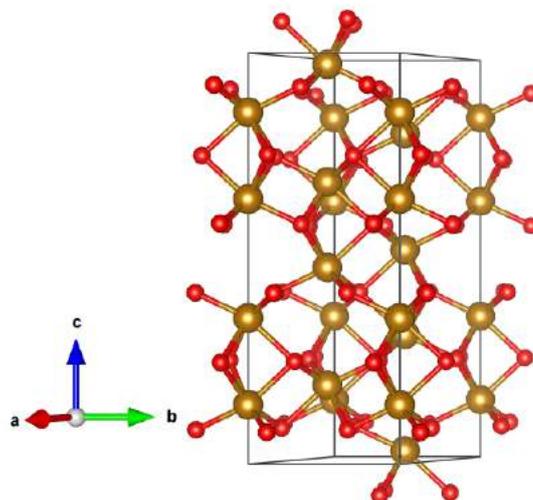


Figura 2.14: Esquema da célula unitária da hematita hexagonal: as cores marrom e vermelho correspondem aos íons de Fe e O, respectivamente.

Quanto às suas propriedades magnéticas, a hematita possui um comportamento paramagnético acima de $T_C = 956 K$; abaixo desta temperatura sofre uma transição a um estado antiferromagnético, possuindo duas subredes magnéticas com mesmo módulo,

porém orientadas antiparalelas. Contudo, acima de 260 K a hematita possui um momento magnético líquido resultante diferente de zero, conferindo-a um ferromagnetismo incipiente. Este comportamento é devido a um pequeno desalinhamento das duas subredes magnéticas. Em 260 K a hematita sofre uma transição conhecida como transição de Morin, passando a um estado antiferromagnético, onde as subredes se compensam perfeitamente [19].

2.4.2 Magnetita

A magnetita (Fe_3O_4) possui uma cor preta e contém o ferro nos estados de oxidação Fe^{2+} e Fe^{3+} . Este óxido tem uma estrutura cristalina spinel invertido e sua célula unitária é cúbica de face centrada (figura 2.15).

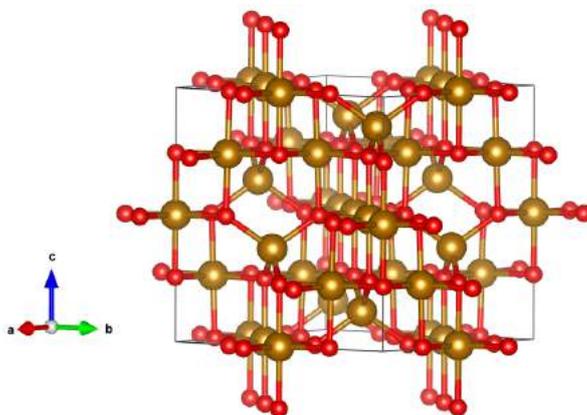


Figura 2.15: Esquema da célula unitária da magnetita cúbica de face centrada: as cores marrom e vermelho correspondem aos átomos de Fe e O, respectivamente.

A magnetita possui um comportamento ferrimagnético à temperatura ambiente e é a responsável pelas propriedades magnéticas das rochas, por exemplo. Possui uma temperatura de Curie $T_C = 850\text{ K}$ [19]. Partículas pequenas deste óxido de ferro, cujo diâmetro seja menor que o diâmetro crítico (equação 2.19), ou seja, $\lesssim 15\text{ nm}$ possuem comportamento superparamagnético à temperatura ambiente [37, 38] e a sua magnetização de saturação tem um valor de 90 emu/g [19].

2.4.3 Maghemita

A maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$) tem a mesma estrutura cristalina que a magnetita e a mesma composição química da hematita, o que atribuiu seu nome: *mag* da magnetita e *hemita* da hematita. Este óxido tem uma coloração marrom e apresenta comportamento ferrimagnético à temperatura ambiente. Partículas pequenas deste óxido de ferro, cujo diâmetro seja inferior ao diâmetro crítico (equação 2.19), também apresentam comportamento superparamagnético e a sua magnetização de saturação é da ordem de $60emu/g$.

2.4.4 Wustita

A wustita (FeO) tem uma coloração preta e é uma fase intermediária importante na redução dos óxidos de ferro, como será visto no capítulo 4. A wustita tem uma estrutura cristalina cúbica de face centrada e apresenta um comportamento antiferromagnético [19].

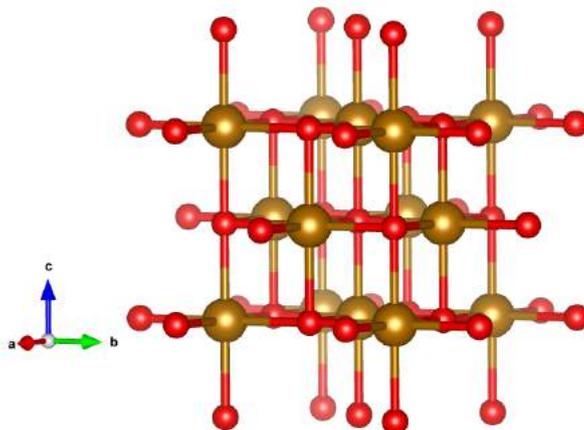


Figura 2.16: Célula unitária da wustita: as cores marrom e vermelho correspondem aos átomos de Fe e O, respectivamente

Capítulo 3

Estado da arte

Neste capítulo serão apresentados alguns trabalhos encontrados na literatura, onde o foco da pesquisa foi a otimização de partículas para aplicação em hipertermia magnética e/ou a funcionalização de superfície para obtenção de sistemas multifuncionais mais adequados a aplicações específicas.

3.1 Nanopartículas *core@shell* ferro-óxido de ferro para aplicação em hipertermia magnética

Como mostrado anteriormente, o SAR é uma função direta da área da histerese dinâmica de um sistema. Sendo assim, quanto maior for a magnetização de saturação do sistema, é esperado uma área maior da histerese e, conseqüentemente, um maior SAR. Nesse sentido, Zhang et al. [39] e Nemati et al. [40] exploraram um novo sistema composto por nanopartículas tipo *core@shell* de ferro@óxido de ferro. Nesse sistema os autores fizeram uso de uma combinação de um núcleo (*core*) de ferro com uma alta magnetização de saturação (220 emu/g) e uma casca (*shell*) de magnetita ou maghemita, que embora tenham magnetização de saturação menor ($80 - 90 \text{ emu/g}$), possuem como vantagem uma alta biocompatibilidade. A estratégia desses autores foi, portanto, combinar alta magnetização de saturação, proveniente do ferro metálico, com a conhecida biocompatibilidade, do óxido de ferro.

Na figura 3.1 são mostrados os principais resultados de Nemati et al. [40]. Em a) pode-se

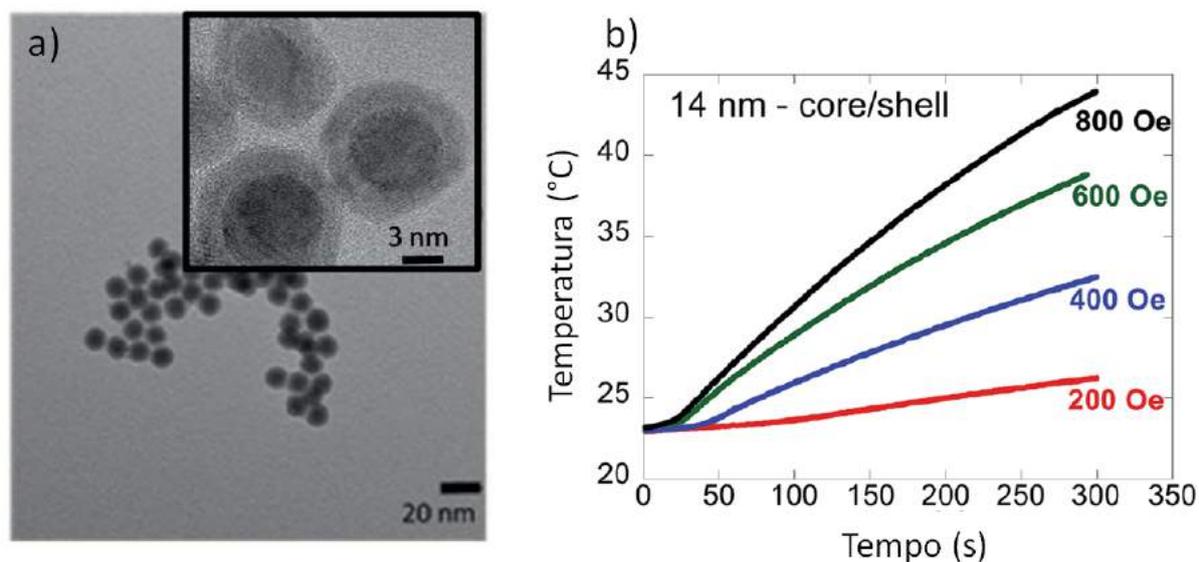


Figura 3.1: a) Nanopartículas de ferro@maghemita sintetizadas por Nemati et al. [40], e b) curva de aquecimento gerado pelas partículas para distintos campos magnéticos aplicados.

observar uma imagem de microscopia eletrônica de transmissão mostrando em detalhes as partículas tipo *core@shell* de ferro@maghemita. Na figura b) são mostradas as curvas de aquecimento correspondentes a estas partículas, quando submetidas a campos magnéticos alternados com mesma frequência (310 kHz) e diferentes intensidade. O maior SAR observado pelos autores foi de um valor de 1300 W/g , na condição do campo alternado aplicado com 800 Oe de amplitude. Este valor obtido para o SAR é consideravelmente maior que o tipicamente encontrado no caso de um sistema formado por nanopartículas de maghemita, que, por exemplo, no trabalho de Hergt et al. foi de 600 W/g [41]. Isso foi atribuído ao núcleo de ferro, que aumentou a magnetização de saturação do sistema.

3.2 Nanopartículas de óxido de ferro como agentes bifuncionais: hipertermia magnética mais fototermia

Alguns autores buscaram dar mais de uma função terapêutica ao mesmo sistema. Esse é o caso de um trabalho desenvolvido por Espinosa et al. [42]. Esses autores exploraram

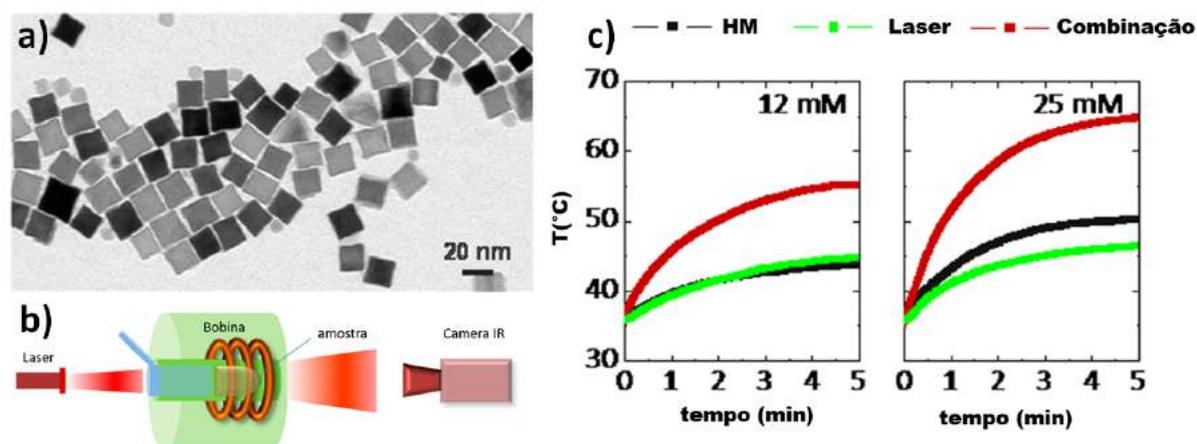


Figura 3.2: Esquema experimental e resultados de Espinosa et al. [42]: a) nanocubos de magnetita, b) *setup* experimental das medidas de hipertermia mais fototermia, c) curvas de aquecimento gerado pelos nanocubos de magnetita nos distintos experimentos.

a capacidade de nanopartículas de óxidos de ferro, além de serem agentes magnéticos para fins de hipertermia, terem também uma função fototérmica, simultaneamente. Para tanto, sintetizaram nanopartículas de magnetita com morfologia de cubos de 20 nm de aresta, como pode ser visto na figura 3.2 a). Estas partículas foram expostas a campos magnéticos alternados, para que fosse avaliado seu potencial de aquecimento por hipertermia magnética, e, simultaneamente, irradiadas com um laser, com comprimento de onda próximo ao infravermelho, visando avaliar o potencial de aquecimento do sistema por fototermia. Desta forma o objetivo é uma combinação dos dois efeitos (hipertermia e fototermia), com objetivo de avaliar o SAR total gerado.

Para os experimentos, o sistema de partículas foi colocado dentro da bobina e irradiado pelo laser e a temperatura foi monitorada por uma câmera infravermelha (câmera IR), localizada atrás da amostra, como se observa na figura 3.2 b). As curvas de aquecimento em função do tempo para duas concentrações de nanopartículas, mais especificamente, 12 e 25 mM, se encontram na figura 3.2 c). As curvas pretas correspondem ao aquecimento devido exclusivamente à hipertermia (sem o laser), na condição de um campo alternado de 25 mT de amplitude e 520 kHz de frequência. Já as curvas verdes correspondem ao

aquecimento devido à exposição ao laser somente (com um potência de 0.3 W/cm^2), ou seja, sem o campo magnético alternado. Finalmente, as curvas vermelhas são a combinação de ambas as técnicas (hipertermia mais fototermia). O SAR obtido neste último caso, 5000 W/g , foi consideravelmente maior que a soma dos obtidos no caso das técnicas de hipertermia e fototermia individualmente. Com estes resultados, os autores demonstraram que a combinação de hipertermia e fototermia é mais eficiente do que apenas uma delas. Neste sentido, esses autores mostraram que a ideia de dar múltiplas funções, ou multifuncionalizar um único sistema, é um campo de grande interesse do ponto de vista das aplicações.

3.3 Nanopartículas superparamagnéticas decoradas para liberação controlada de drogas

Na linha de dar mais de uma função ao mesmo sistema, Santos et al. [43], criaram um dispositivo, que ao mesmo tempo seria capaz de aquecer por hipertermia magnética, e realizar uma entrega controlada de fármaco anti-tumoral (*drug delivery*), maximizando o potencial terapêutico do sistema.

Para tanto, neste trabalho os autores sintetizaram nanopartículas superparamagnéticas de óxidos de ferro (SPIONs), composto pelas fases de maghemita e magnetita, as quais teriam a função de aquecer quando submetidas a um campo magnético alternado. Essas nanopartículas foram funcionalizadas por β -ciclodextrina ($\beta - CD$) e carregadas com cloridrato de doxorubicina (*DOX*). A *DOX*, neste sistema, entra como modelo de droga antitumoral. O objetivo da funcionalização com a $\beta - CD$ mais *DOX* é criar um dispositivo de *drug delivery*. Um esquema ilustrativo do dispositivo é apresentado na figura 3.3 a).

Neste trabalho, os autores estudaram a liberação de *DOX* sobre a influência de agen-

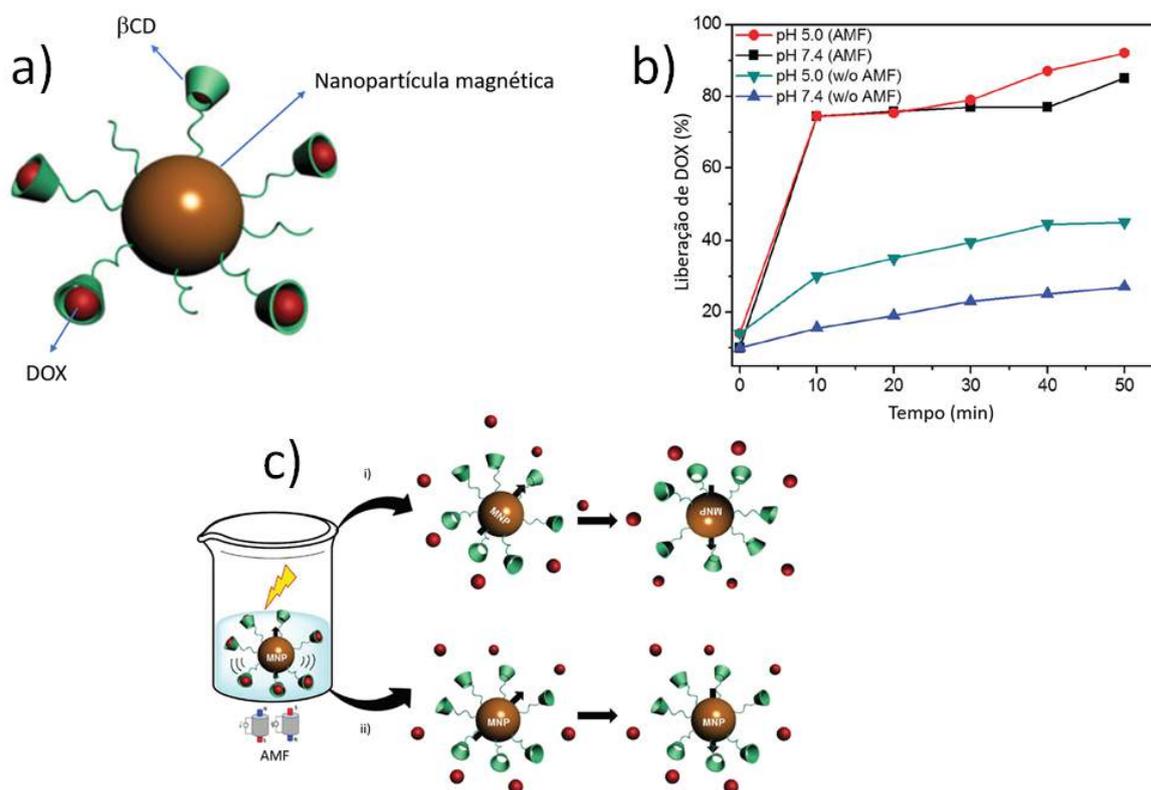


Figura 3.3: Resultados de Santos et al. [43]: a) esquema representando as nanopartículas magnética decorada com β - CD e carregada com DOX, b) curvas liberação de DOX em distintos tempos sob a influência de diferentes agentes externos, c) mecanismos de liberação de DOX sob a influência do campo magnético. Figura adaptada de [43].

tes externos como pH e campo magnético alternado (de frequência constante de 300 kHz e intensidade de 200 Oe), como mostrado na figura 3.3 b). Nesta figura, observa-se que sob ação de campo magnético alternado (indicado por AMF) com amplitude variável de modo a controlar a temperatura do sistema em 45°C por 50 minutos, a liberação da DOX é mais eficiente, tanto no caso de $pH = 7.4$ (curva preta), como para um $pH = 5$ (curva vermelha). Como pode ser visto, a liberação neste caso chegou a 92%. A liberação de DOX foi menor na ausência do campo magnético (indicado por w/o AMF), caindo para valores de 45% e 29% para $pH = 5$ (curva verde) e $pH = 7$ (curva azul), respectivamente. Na figura 3.3 c) é mostrado um esquema que representa os mecanismos envolvidos no processo de liberação de DOX sob a influência do campo magnético alternado. Em um destes mecanismos o aumento de temperatura é associado às perdas por relaxação de Néel

(acima), enquanto o outro por relaxação de Brown (abaixo).

Sendo assim, os resultados de Santos et al. [43] mostram que é possível utilizar nanopartículas magnéticas funcionalizadas como carregadores de droga, cuja liberação é mais eficiente quando submetidas a uma campo magnético alternado.

3.4 Maghemita recoberta com sílica para aplicação em hipertermia magnética

Atualmente, vem-se buscando mais e mais sistemas formados por nanopartículas magnéticas, cujas superfícies sejam funcionalizadas, de forma a conferir ao sistema uma dada finalidade. Um exemplo importante de funcionalização de superfície é a vetorização. Neste caso, as superfícies das nanopartículas são modificadas (recobertas) com algum agente (ácido fólico, por exemplo) que as possibilitem serem direcionadas a determinados tipos de tecido ou órgão, e atuem somente lá. Isso mitigaria efeitos colaterais, além de serem mais eficientes [44]. Uma das complexidades de se atingir este objetivo é como funcionalizar a superfície de uma nanopartícula magnética, por exemplo, de magnetita. Uma das possíveis estratégias é recobri-las com um material que seja facilmente funcionalizável, como o caso da sílica (SiO_2).

Neste sentido, Saavedra et al. [45] recobriram varias partículas esféricas de maghemita de 5 nm de diâmetro (SPIONs) com sílica mesoporosa. Estas consistem em partículas de SiO_2 amorfo, repleta de poros, cujos diâmetros têm em média 4.6nm. O sistema final produzido por esses autores consistiu em microesferas magnéticas (MMS), de diâmetro na faixa de 0.3 – 3 μm , como representado na figura 3.4 a). Os autores realizaram medidas de hipertermia magnética em meio de cultura de células de macrófagos M1 *

*Os macrófagos são células não malignas, mas que podem favorecer ou controlar o tecido tumoral [46].

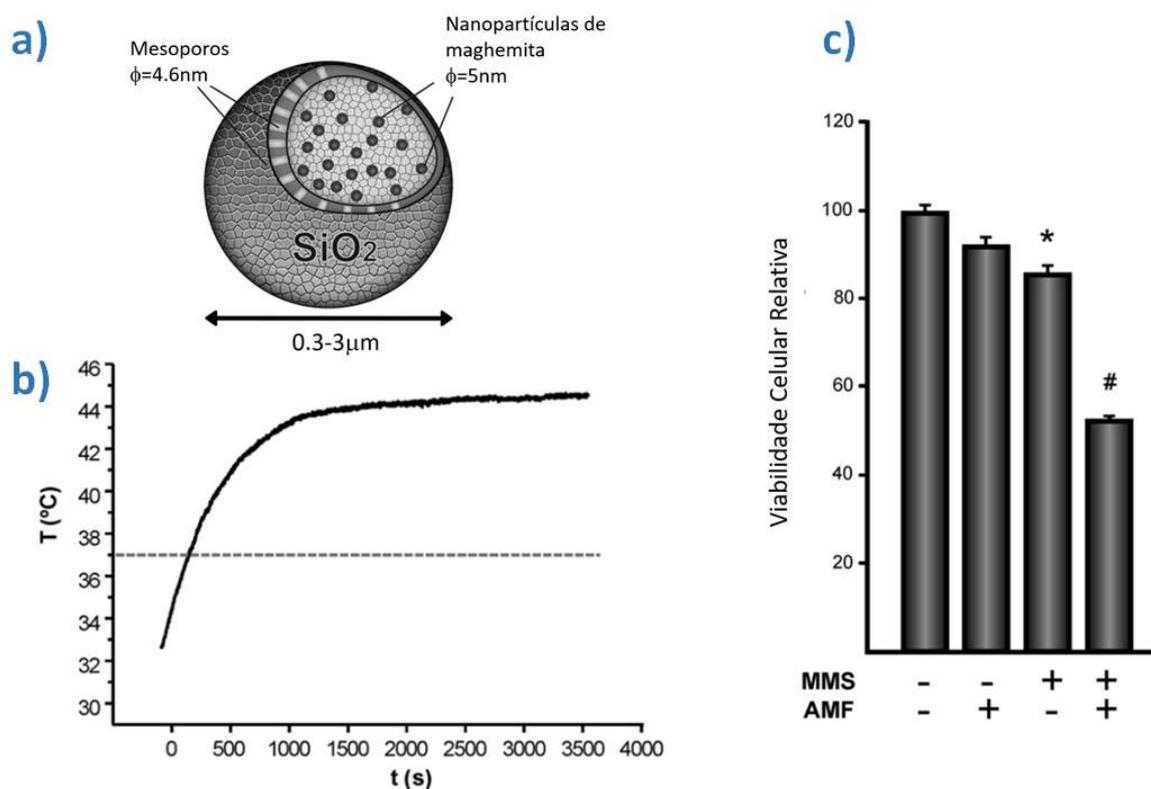


Figura 3.4: Resultados de Saavedra et al. [45]: a) Esquema representando nanopartículas de maghemita recobertas por sílica mesoporosa (MMS), b) variação da temperatura do meio de cultura de macrófagos M1 tratada com MMS durante 48 h e expostas ao campo magnético de 200 Oe e 100kHz, c) viabilidade celular após 24h de exposição ao campo magnético. Figura adaptada de [45]

campos magnéticos alternados (AMF) (intensidade de 200 Oe e frequência de 100 kHz) durante 60 minutos, com uma concentração de MMS de 48 mg/ml. Foi observado que a temperatura atingiu 44°C em 30 minutos, permanecendo constante durante a aplicação do campo, como mostrado na figura 3.4 b). Como consequência à exposição ao campo magnético alternado durante 24h, a viabilidade das células caiu à metade (indicado por ++ na figura 3.4 c)), quando comparadas as células expostas só às partículas (+-), ou só ao campo magnético (-+). Sendo assim, os autores demonstraram que mesmo tendo uma partícula magnética recoberta por um material não magnético, como a sílica, esta não perde totalmente a sua capacidade de aquecimento por hipertermia magnética. Portanto, este sistema, além de ser facilmente funcionalizável, permanece capaz de produzir morte

celular significativa por hipertermia magnética.

3.5 Nanopartículas de sílica multifuncionais

Um exemplo de sistema que ilustra a facilidade de funcionalização da superfície da sílica é o trabalho de Zhang et al. [47]. Neste trabalho os autores sintetizaram nanopartículas mesoporosas de sílica (MSNPs) funcionalizadas como agentes carregadores de droga. Neste caso, os poros foram preenchidos com *DOX* e tiveram suas superfícies funcionalizadas com amino- β ciclodextrina, cuja função é aprisionar a *DOX* dentro dos poros da sílica. O polímero *poly(ethylene glycol)* (*PEG*) que atua como estabilizante do sistema em condições fisiológicas, foi funcionalizado com adamantano (*AD*) em uma extremidade. Este último facilita a adesão do *PEG* à superfície da sílica. Finalmente, a outra extremidade do *PEG* foi funcionalizada com folato (*FA*), que é uma vitamina que previne e trata o câncer. Estes foram aderidos à superfície da sílica, obtendo-se assim uma partícula como representada no esquema da figura 3.5 a). Este dispositivo foi batizado como *DOX - MSNPs - CD - PEG - FA*. Os autores estudaram a liberação de *DOX* sob a influência de diferentes pH's, em uma temperatura de $37^{\circ}C$ (temperatura do organismo humano). Eles observaram que em condições ácidas a liberação da droga foi maior, como se observa na figura 3.5 b). Isso é particularmente interessante, pois é sabido que o tecido tumoral apresenta um pH ácido, logo, é esperado que a *DOX* seja liberada somente quando o dispositivo *DOX - MSNPs - CD - PEG - FA* estiver na região afetado pelo tumor.

A não toxicidade das partículas *DOX - MSNPs - CD - PEG - FA* permitiu o estudo da eficiência delas como agentes carregadores de drogas anticancerígenas. Este ensaio foi conduzido utilizando células HeLa. Estas células foram incubadas durante 24h, e o experimento foi conduzido segundo o seguinte protocolo: a cultura de HeLa foi exposta à *DOX*; ao dispositivo *DOX - MSNPs - CD - PEG - FA*; e ao dispositivo sem o folato,

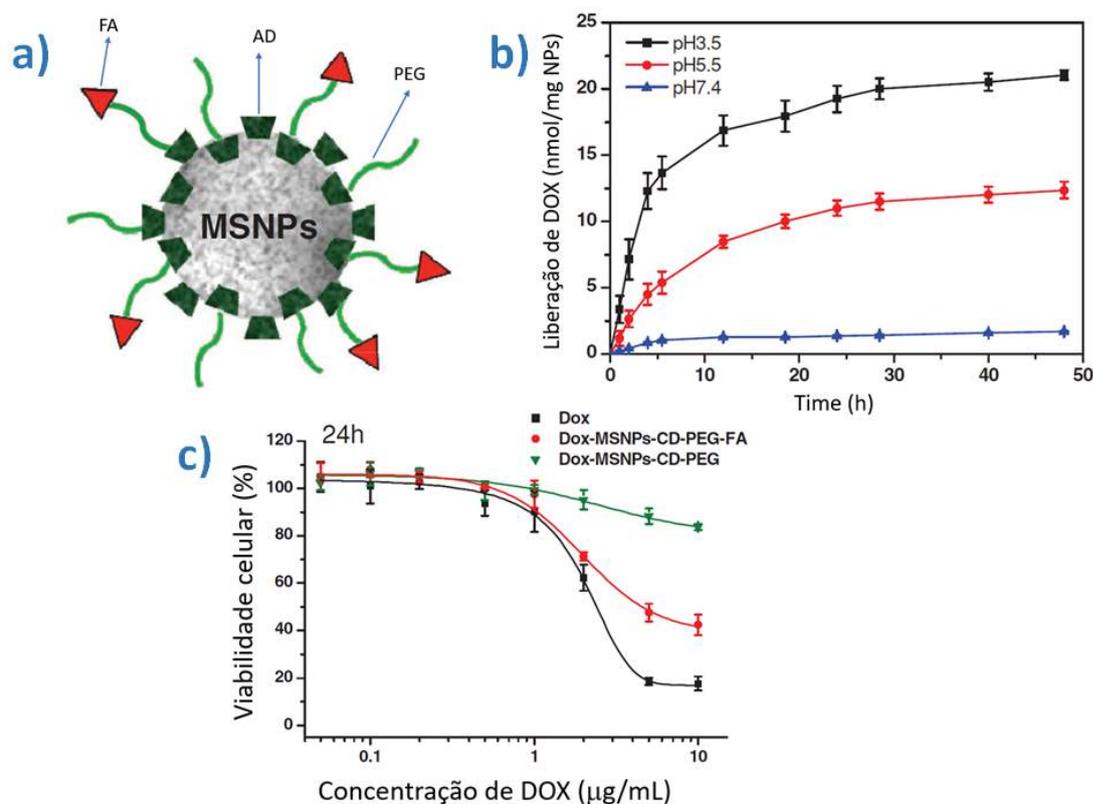


Figura 3.5: Resultados de Zhang et al. [47]: a) Esquema representando a nanopartícula de sílica multifuncional ($DOX - MSNPs - CD - PEG - FA$) sintetizada pelos autores, b) liberação de droga em função do tempo para meios com distintos pH , c) viabilidade das células HeLA após incubação por 24hs de DOX , $DOX - MSNPs - CD - PEG - FA$ e $DOX - MSNPs - CD - PEG$. Figura adaptada de [47].

ou seja, o $DOX - MSNPs - CD - PEG$ (sem FA). O resultado da viabilidade celular é apresentado na figura 3.5 c). Desta figura, fica claro que a morte celular foi maior no caso das células incubadas com o dispositivo completo, $DOX - MSNPs - CD - PEG - FA$. Este resultado foi atribuído aos efeitos cooperativos do FA (como droga responsável pela vetorização) e a liberação da DOX sob ação de um estímulo externo, no caso o pH . Portanto, os autores demonstraram que é possível obter uma partícula de sílica com a propriedade de ser vetorizada às células cancerígenas e, uma vez dentro delas, por conta do pH baixo típico destas células, liberar drogas de maneira controlada, levando à morte celular.

3.6 Vórtices magnéticos em nanoanéis de óxidos de ferro

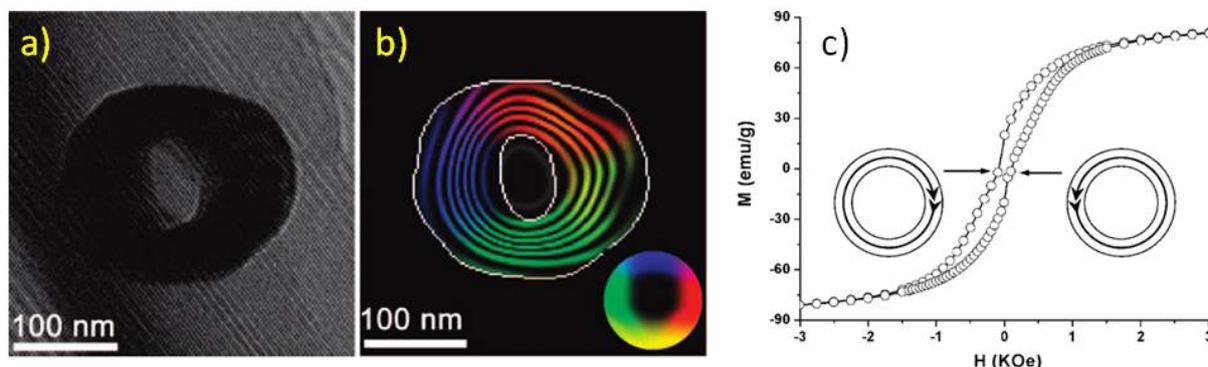


Figura 3.6: a) Nanoanel de magnetita sintetizado por Jia et al., e b) resultado de holografia de elétrons mostrando o mapeamento das componentes da magnetização (vermelho: direita, amarelo: abaixo, verde: esquerda, azul: acima), evidenciando o ordenamento tipo vórtice magnético, c) curva de histerese de uma arranjo de nanoanéis, onde o campo magnético foi aplicado paralelamente ao raio dos nanoanéis. Este resultado apresenta característica de vórtice magnético

Como foi dito no capítulo 1, as partículas mais estudadas para as aplicações biomédicas são os SPIONs; e como mostrado nas seções anteriores, varias pesquisas têm seu foco principalmente na funcionalização destas partículas. No entanto, como foi visto no trabalho de Espinosa et al. [42] (seção 3.2), outras morfologias, além das esféricas, podem ser exploradas para distintas aplicações. Neste sentido, um dos trabalhos que deu origem a varias pesquisas no que diz respeito às aplicações biomédicas, foi o trabalho de Jia et al. [48]. Neste trabalho, os autores sintetizaram nanopartículas de magnetita com morfologia de nanoanéis. A figura 3.6 a) mostra um exemplo de um nanoanel cujas dimensões são: 160 nm de diâmetro externo, 85 nm de diâmetro interno e 50 nm de altura. Os autores demonstraram que esta partícula possui comportamento de vórtice magnético através de medidas de holografia de elétrons, como se mostra na figura 3.6 b), onde o mapeamento de cores indica a direção da magnetização, vermelho: direita, amarelo: abaixo, verde: esquerda, azul: acima. A medida de magnetometria de um conjunto de partículas ordenadas, de modo ao campo magnético poder ser aplicado paralelamente ao raio dos

nanoanéis, encontra-se na figura 3.6 c). Do ciclo de histerese se observa a área da curva e uma pequena coercividade. Estas características são próprias do estado de vórtice, como foi descrito na seção 2.2.2. Estes resultados levaram a Dias et al. a explorar possíveis aplicações biomédicas destas partículas, como será visto na seção seguinte.

3.7 Nanoanéis para aplicação em hipertermia magnética

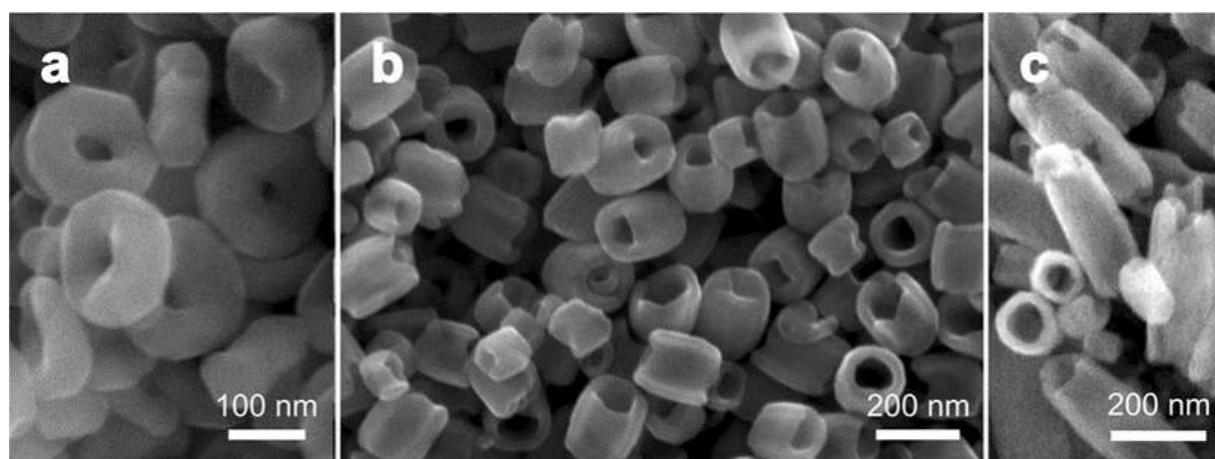


Figura 3.7: Partículas de magnetita com distintas dimensões sintetizadas por Dias et al. [1]: a)VIP1, onde a altura é menor que o diâmetro externo, correspondendo a uma razão de aspecto < 1 , b) VIP3, onde a altura é da ordem do diâmetro externo, razão de aspecto ~ 1 e c) VIP6, onde a altura é maior do que o diâmetro externo, isto é, > 1 .

Com o objetivo de obter materiais otimizados para aplicações em hipertermia magnética, Dias et al. [1,28] desenvolveram uma nova classe de partículas, denominada *Vortex Iron Oxide Particles*, ou simplesmente, VIP. Este sistema foi estudado pela primeira vez como uma alternativa às partículas superparamagnéticas em aplicação em hipertermia magnética. Os autores sintetizaram partículas de magnetita com morfologia de nanoanéis em dimensões distintas, dentre as que se destacam três delas, segundo suas razões de aspecto [†]: a) altura menor que o diâmetro externo, ou seja, razão de aspecto menor que 1, a qual foi denominada VIP1; b) altura da ordem do diâmetro externo, ou seja, razão

[†]A razão de aspecto é definida como a altura do nanoanel dividida pelo diâmetro externo da nanopartícula.

de aspecto da ordem de 1, denominada VIP3; e, finalmente, c), onde a altura é maior que diâmetro externo, fazendo com que a razão de aspecto seja maior que 1. Esta última foi chamada de VIP6. Como apresentadas na figura 3.7, a VIP1 se assemelha a um nanoanel, enquanto a VIP6 pode ser considerada um nanotubo.

Os autores realizaram um estudo sistemático do potencial destes nanoanéis para aplicação em hipertermia magnética, para isso, as partículas foram submetidas sob ação de uma campo magnético alternado de amplitude de 300 Oe e frequência 300 kHz . A curva de aquecimento destas e outras partículas sintetizadas pelos autores, se observa na figura 3.8 b). Para as partículas VIP1, VIP2 e VIP3 foram obtidos os valores de SAR de 1004, 831 e 804 W/g , respectivamente. Estes valores obtidos são consideravelmente maiores que os tipicamente observados para os SPIONs, e foram atribuídos ao fato da configuração magnética deste sistema ser vórtice, e não superparamagnético, como é o caso dos SPIONs. Os autores argumentam que, no caso de um vórtice, embora a curva de magnetização em função do campo magnético *quasi*-estático (ou equivalentemente, um campo alternado com $f \approx 0\text{ kHz}$) apresente coercividade e remanência nulas, esta curva também apresenta uma expressiva histerese, como se mostra na figura 3.8 a), que corresponde à simulações realizadas pelos autores, para as partículas VIP1, VIP2 e VIP3.

É importante lembrar que o fato da coercividade e remanência serem nulas é absolutamente requerido para aplicações em nanomedicina (seção 2.3), e que o SAR é proporcional, tanto à área da histerese, quanto à frequência do campo magnético alternado, ou seja, $SAR \propto f \oint H dM$. Baseado nisso, os autores concluem que o grande SAR observado nos nanoanéis, tem origem no fato de um vórtice apresentar uma área expressiva, mesmo em baixa frequência (histerese *quasi*-estática). Este fato torna as VIPs muito mais eficientes para aplicações em hipertermia magnética, que os tradicionais SPIONs, visto apresentarem um SAR muito maior e preservarem os principais requerimentos para aplicações

biomédicas, isto é, biocompatibilidade, remanência e coercividade nulas.

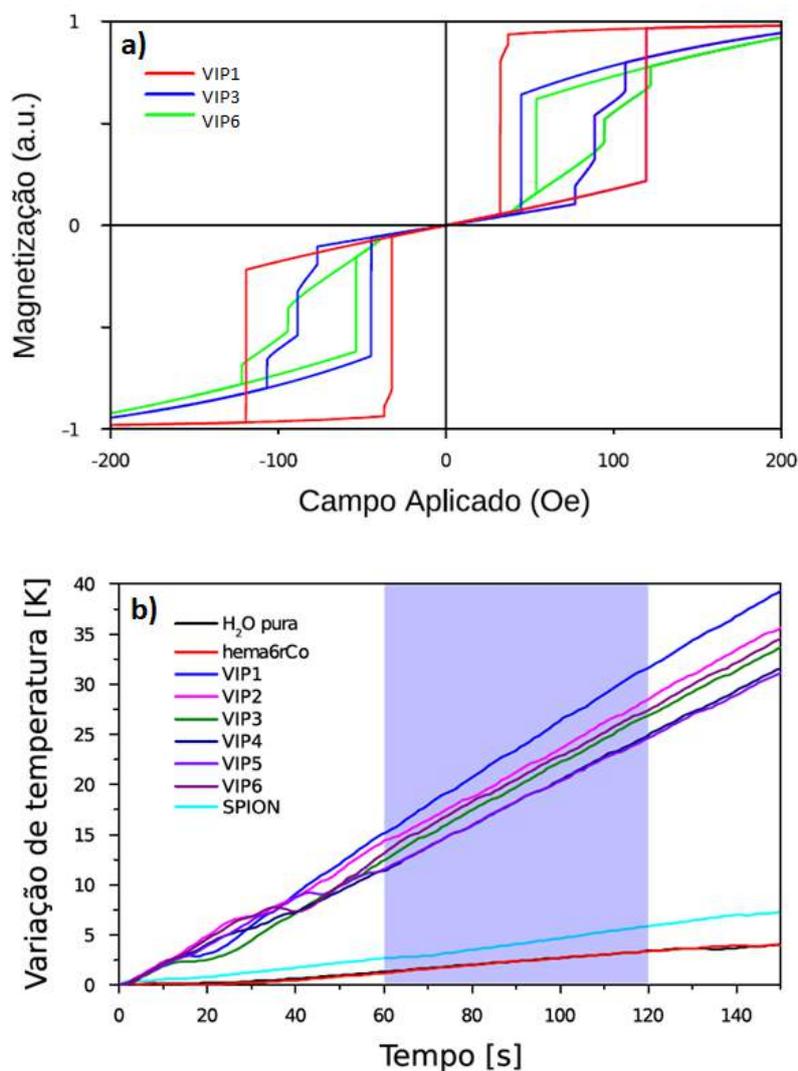


Figura 3.8: a) Resultados das simulações micromagnéticas de histereses das VIPs sintetizadas e b) medidas de hipertermia magnética obtidas por Dias et al. [28]

Estes autores realizaram ainda ensaios *in vitro* de viabilidade celular destes sistemas. Para tanto, utilizaram células embrionárias humanas de linhagem renal (HEK). Inicialmente, estas células foram encubadas durante 24h com cada um destas amostras (VIP1, VIP3 e VIP6). Apesar da morfologia (tamanho e forma) das VIPs serem bem peculiares, a análise de viabilidade celular não mostrou qualquer efeito de citotoxicidade. Isso permitiu aos autores realizarem experimentos de hipertermia *in vitro* em função do tempo de

exposição ao campo magnético alternado. Estes resultados estão apresentados na figura 3.9.

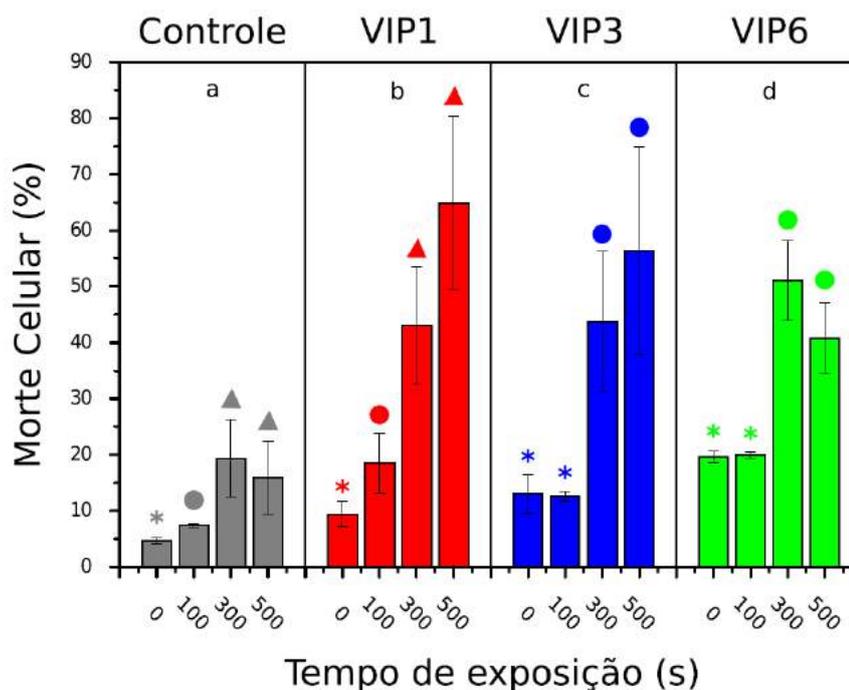


Figura 3.9: Resultados de hipertermia *in vitro* obtidos por Dias et al. [1] durante distintos tempos de exposição ao campo magnético: a) grupo controle, b) partículas VIP1, c) partículas VIP3 e d) partículas VIP6.

Por questões de ordem prática, os ensaios de hipertermia *in vitro* foram realizados com uma concentração de nanopartículas substancialmente inferior àquela utilizada nas medidas de SAR (aproximadamente uma ordem de grandeza menor). Possivelmente, em virtude desta diferença de concentrações, não foi observada qualquer alteração da temperatura da cultura de célula ao longo destes ensaios. Entretanto, como pode ser visto na figura 3.9, fica claro que a presença das VIPs, submetidas ao campo magnético, potencializou a morte celular, sobretudo, quando comparado ao grupo de controle (sem a presença das VIPs). Essa aparente inconsistência entre o fato de não ter havido entrega de calor pelas VIPs e a morte celular observada, foi desfeita pela análise de microscopia eletrônica destes sistemas. A análise de TEM desse sistema demonstrou que as partículas

foram internalizadas nas células HEK (ver figura 3.10) em grandes quantidades. Portanto, concluíram que a morte celular observada nos ensaios *in vitro* foi devido ao processo de hipertermia intracelular. Em outras palavras, embora a concentração de VIPs seja em média baixa, no interior das células esta pode ser uma ordem de grandeza maior que a utilizada nos testes de SAR.

Com estes resultados Dias et al. [1] demonstraram que as VIPs foram internalizadas pelas células, e são capazes de produzir uma morte celular significativa mediante hipertermia magnética.

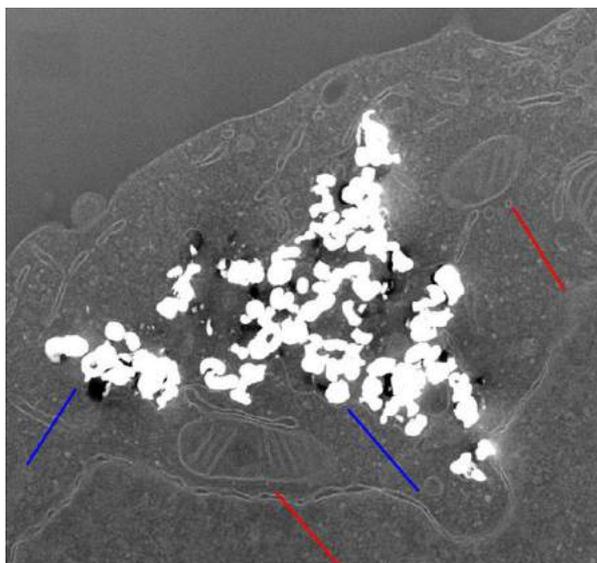


Figura 3.10: Resultados de internalização das partículas no trabalho de Dias et al. [1], a imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão no modo Varredura corresponde a uma seção das células HEK. As setas vermelhas indicam as mitocôndrias das células e as setas azuis indicam as partículas internalizadas.

3.8 Nanoanéis como agentes de ensaios *in vivo* para tratamentos de tumores

Outros autores que, simultaneamente, estudaram a aplicação de nanoanéis de magnetita para hipertermia magnética foram Liu et al. [49]. Eles sintetizaram nanoanéis

com diâmetro externo de $70nm$, altura de $50nm$ e uma razão entre o diâmetro externo e interno de 0,6. Estas partículas foram denominadas FVIOS fazendo referência à seu comportamento Ferrimagnético e de Vórtice.

Liu et al. estudaram o comportamento do SAR gerado pelas FVIOS a diferentes amplitudes e frequências de campo magnético, como mostra a figura 3.11 a), e observaram que em campos de até $300Oe$ o SAR tem um valor de $250W/g$; acima deste valor de campo e até $500 Oe$, o SAR aumenta, e a continuação, sofre uma diminuição. Logo, num campo de $700 Oe$ o valor do SAR atinge seu valor máximo, o qual é mantido até $800 Oe$. Este comportamento foi observado para duas frequências de campo: $400 kHz$ e $180 kHz$. O máximo valor do SAR obtido pelos autores foi de $3050 W/g$, numa frequência de $400 kHz$ e $740 Oe$. Os autores atribuíram este grande valor do SAR às perdas por histeresse, cuja origem é comportamento de vórtice magnético dos nanoanéis. Tal comportamento foi estudado através de simulações micromagnéticas e comparado com medidas de um conjunto de partículas, como mostrado na figura 3.11 b). Nesta figura, pode ser observado que para valores de campo de $700 Oe$, a magnetização se encontra perto da saturação, o que se reflete no máximo valor do SAR obtido.

Além disso, os autores também realizaram testes *in vitro* com este sistema. Para tanto, os autores incubaram células de câncer mamário (MCF-7) com distintas concentrações de dois tipos de partículas, as FVIOS e Resovist[‡]. O objetivo foi comparar o potencial de hipertermia magnética entre esses dois sistemas. Após a incubação, as células foram submetidas à ação do campo magnético ($500 Oe$ e $400kHz$) durante $10 min$. A figura 3.12 a) mostra os resultados de viabilidade celular, onde é possível observar que o grupo das FVIOS mostrou maior eficiência que os SPIONs. Para as FVIOS a viabilidade celular

[‡]Resovist é o segundo tipo de partículas superparamagnéticas de óxido de ferro desenvolvidas para agente de contraste por ressonância magnética [50,51]

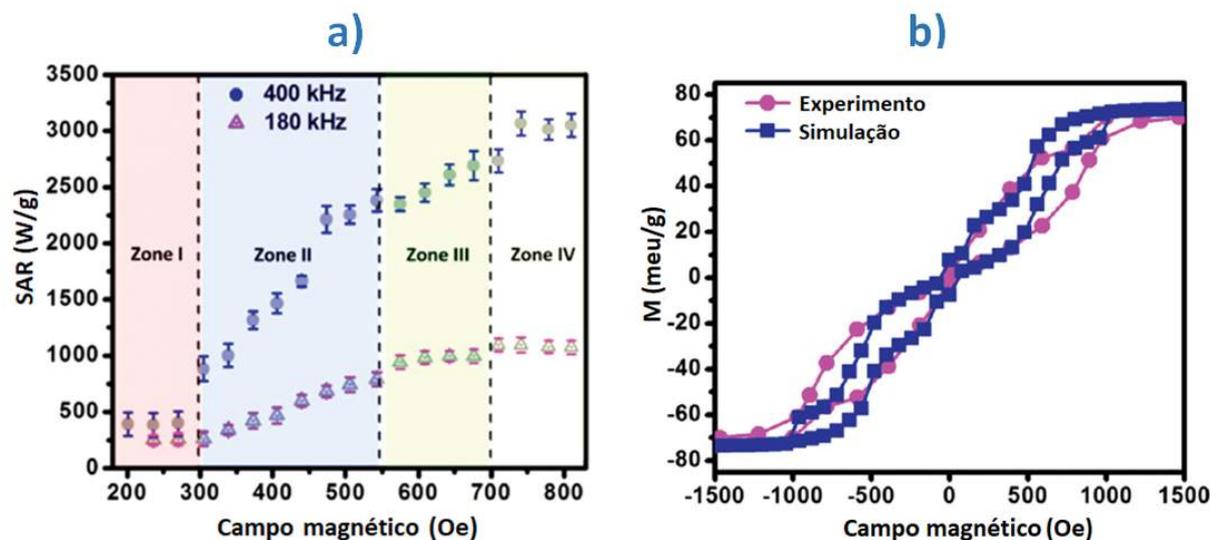


Figura 3.11: Resultados de Liu et al. [49]. a) Comportamento do SAR gerado pela FVIOS em função do campo magnético aplicado; b) Comparação das curvas de magnetização em função do campo obtidas por simulação micromagnética (curva rosa) e medidas de um conjunto de nanopartículas (curva azul).

caiu para valores de 40 e 13%, em concentrações de nanopartículas de 50 e 150 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Por outro lado, para as partículas Resovist (SPIONs), a viabilidade foi de 85% para a concentração de 150 $\mu\text{g/ml}$. Isto demonstrou, mais uma vez, a eficiência das partículas de magnetita com morfologia de nanoanéis em ensaios *in vitro*.

O sucesso dos ensaios *in vitro* levou esses autores a realizarem ensaios de hipertermia *in vivo*. Nesses testes foram utilizados ratos portadores de tumores, cujos volumes iniciais eram de $\approx 500\text{mm}^3$. Os ensaios foram conduzidos injetando 150 μg de partículas (FVIOS ou Resovist) diretamente na região do tumor. Na sequência, os ratos foram submetidos a tratamentos por hipertermia magnética. A hipertermia foi realizada com um campo magnético de 400 Oe de amplitude durante 10 min. A temperatura da região do tumor foi monitorada por uma câmera de infravermelho. Foi observado que a temperatura atingiu um valor de 44°C em 200 s. Esta temperatura foi mantida durante os experimentos. O tratamento foi diário e teve uma duração de 40 dias. O volume do tumor foi monitorado ao longo de todo o processo, como se observa na figura 3.12 b). Para os tratamentos

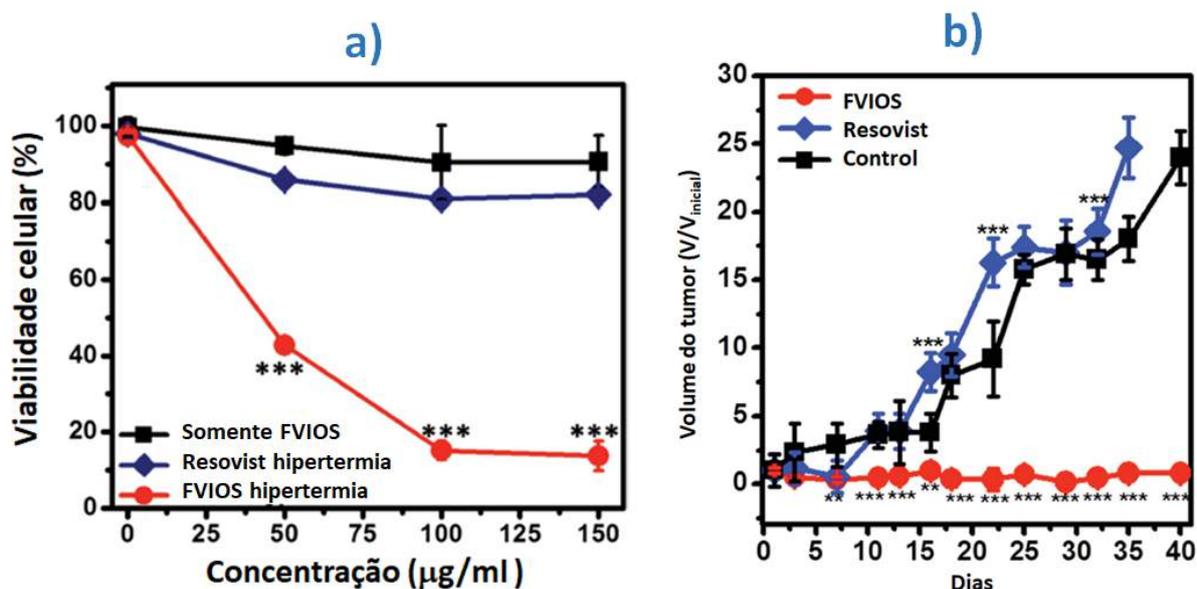


Figura 3.12: a) Comparação de ensaios de viabilidade celular (*in vitro*), obtidos da cultura de células encubadas com as nanopartículas de óxido de ferro ferrimagnéticas no estado de vórtice (FVIO), sem exposição ao campo magnético alternado (curva preta); com exposição de 10 *min* (curva azul); e com as células incubadas com o Resovist (SPI-ONs) expostas às mesmas condições de campo (curva vermelha). b) Comparação da evolução do volume do tumor em testes *in vivo* em ratos obtidos ao longo de um tratamento de 40 dias, de doses diárias de 10 *min* de exposição ao campo magnético de 400 *Oe* de amplitude. A curva vermelha é o tumor tratado com FVIO, a azul é a tratada com SPI-ONs, e a preta é o grupo controle [49].

com o grupo de partículas FVIOs, uma diminuição considerável do volume do tumor foi observada desde o primeiro dia de tratamento com hipertermia magnética e, a partir do sexto dia para frente, o tumor foi totalmente eliminado. Já, para o tratamento com as partículas Resovist, foi observado que após 40 dias de tratamento, o volume do tumor diminuiu numa razão de aproximadamente 25%.

Com estes resultados, os autores demonstraram que as partículas de magnetita com morfologia de nanoanéis (denominada por eles FVIOs) são capazes não só de induzir a morte celular em ensaios *in vitro*, mas também são eficientes no tratamento de tumor mediante hipertermia magnética, produzindo uma redução do tumor maior do que a produzida pelas partículas superparamagnéticas.

Capítulo 4

Síntese de amostras

Neste capítulo serão apresentados os detalhes das sínteses dos sistemas de amostras estudados neste trabalho. Para obter a morfologia de nanoanel desejada, inicialmente foram sintetizadas as partículas de hematita ($\alpha - Fe_2O_3$). Em seguida, estas partículas foram submetidas ao processo de redução em distintas condições (variando temperatura e tempo), com o objetivo principal de obter as partículas de ferro metálico-magnetita com distintas porcentagens de cada uma das fases ($\delta Fe - Fe_3O_4$), onde δ indica a porcentagem da fase do Fe. Finalmente, as partículas de ($\delta Fe - Fe_3O_4$), para $\delta = 5$ e 50% , foram recobertas com SiO_2 , visando obter partículas que futuramente podam ser multifuncionais

4.1 Síntese dos nanoanéis de $\alpha - Fe_2O_3$

Em primeiro lugar, foi realizada a síntese hidrotérmica das partículas de hematita ($\alpha - Fe_2O_3$), baseado no trabalho de *Jia et al.* [48]. Para isso, foi necessário o desenho e a fabricação de um reator que suportasse uma temperatura relativamente alta ($220^\circ C$), e ao mesmo tempo, seja capaz de fornecer alta pressão durante a síntese. A partir destas condições, foi fabricado no laboratório de mecânica do CBPF, um copo de aço inox, que contém dentro dele um copo de teflon de 100 ml de capacidade, como se observa na figura 4.1 a). A este tipo de reator deu-se o nome de reator hidrotérmico. O copo de aço inox é

fechado com parafusos do mesmo material, como se observa na figura 4.1 b), fornecendo assim proteção ao copo de teflon, dentro do qual será colocada uma solução aquosa, que será submetida ao tratamento térmico para a formação das partículas de $\alpha - Fe_2O_3$.

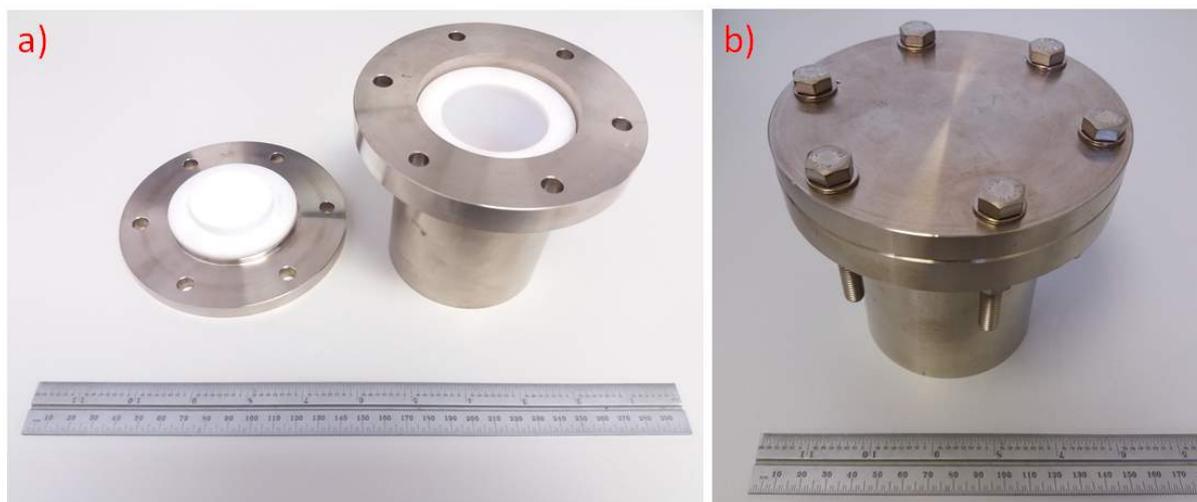


Figura 4.1: Reator hidrotérmico fabricado para a síntese das partículas αFe_2O_3 : a) é possível observar o copo de teflon dentro do copo de aço inox; em b) o reator encontra-se fechado para ser levado no forno à uma temperatura de $220^\circ C$. A escala da régua encontra-se em mm .

Esta solução aquosa consiste em $0,02M$ de cloreto de ferro (III) hexahidratado ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$), $5,5 \times 10^{-4}M$ de sulfato de sódio (Na_2SO_4) e $3 \times 10^{-4}M$ de fosfato de sódio hidratado ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$). Um volume de $80 ml$ da solução é levado no reator hidrotérmico para um tratamento a uma temperatura de $220^\circ C$ durante 48 horas. Após deixada esfriar até temperatura ambiente, a solução foi lavada e centrifugada varias vezes com água destilada, etanol e acetona. Finalmente, foi secada em uma estufa a $80^\circ C$ durante 12 horas, obtendo-se $\approx 120 mg$ um pó vermelho como se mostra na figura 4.2.

Durante esta síntese, inicialmente são formadas nanopartículas esféricas de $\alpha - Fe_2O_3$, pois, na condição ácida ($pH = 2$) e na alta temperatura ($220^\circ C$) em que a reação é con-

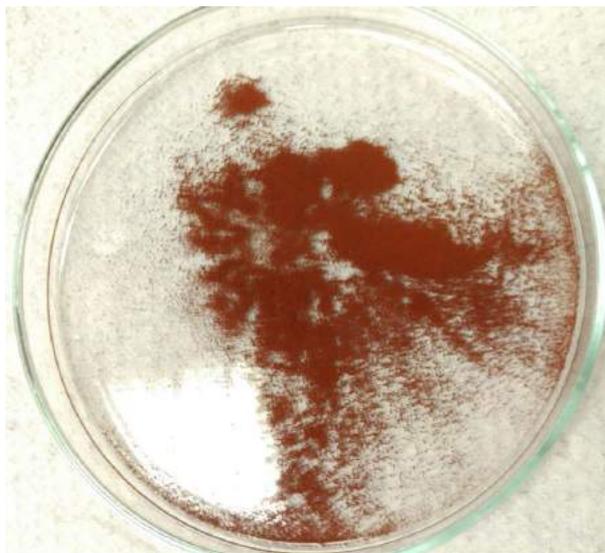


Figura 4.2: Partículas de hematita em forma de pó vermelho.

duzida, os íons de Fe^{+3} reagem com o oxigênio da água formando os cristais de hematita:



resultando inicialmente na formação de partículas esféricas (figura 4.3 (i)).

Contudo, em um sistema aquoso, a superfície dos átomos de ferro coordena com grupos hidroxila ou moléculas da água compartilhando seus pares de elétrons. As moléculas da água geralmente dissociam *, resultando numa superfície recoberta por grupos hidroxilas. Pares de hidroxilas simples adsorvem aos planos (110) e (100) da hematita. No entanto, essa adsorção é muito fraca para o plano (001), devido à falta de grupos hidroxilas coordenados individualmente.

Na presença de íons de fosfato e sulfato, estes são coordenados às hidroxilas adsorvidas nas superfícies perpendiculares aos (110) e (100) da $\alpha - Fe_2O_3$. Assim, o crescimento na direção dos planos (110) e (100) é restringido, por conta dos íons de fosfato e sulfato, e

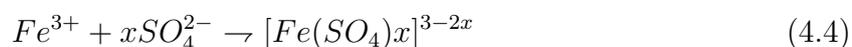
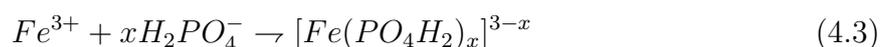
*A Dissociação consiste na separação de um composto em cátions e ânions: $H_2O + H_2O \rightarrow H_3O^+ + OH^-$ [52]

resta às partículas de hematita crescerem ao longo da direção (001), o que induz a morfologia de cápsula.

O crescimento das nanopartículas em forma de cápsula começa pela dissolução da $\alpha - Fe_2O_3$, que acontece da seguinte maneira:



A formação dos anéis ocorre a través da dissolução preferencial da $\alpha - Fe_2O_3$ ao longo do eixo c . Os íons de fosfato e sulfato aceleram a dissolução mediante sua coordenação com os íons férricos:



Porém, a afinidade de adsorção dos íons de sulfato na $\alpha - Fe_2O_3$ é muito menor em comparação com os íons de fosfato, por tanto, os papéis de ambos íons na formação dos nanoanéis deve ser diferente. Os íons de fosfato atuam como um controlador de forma para induzir um crescimento anisotrópico em formato de cápsulas (figura 4.3 (ii)) e a razão de aspecto da partícula; e incrementada com o aumento da razão entre os íons de fosfato e os íons férricos. Por outro lado, os íons de sulfato favorecem a dissolução da $\alpha - Fe_2O_3$, devido ao seu efeito de coordenação com os íons férricos, resultando na formação do buraco (figura 4.3 (iii)).

Variando a razão dos íons de fosfato e sulfato em relação aos íons férricos, é possível obter uma série de nanoestruturas controlando o tamanho, a sua morfologia e arquitetura, como se mostra na figura 4.3.

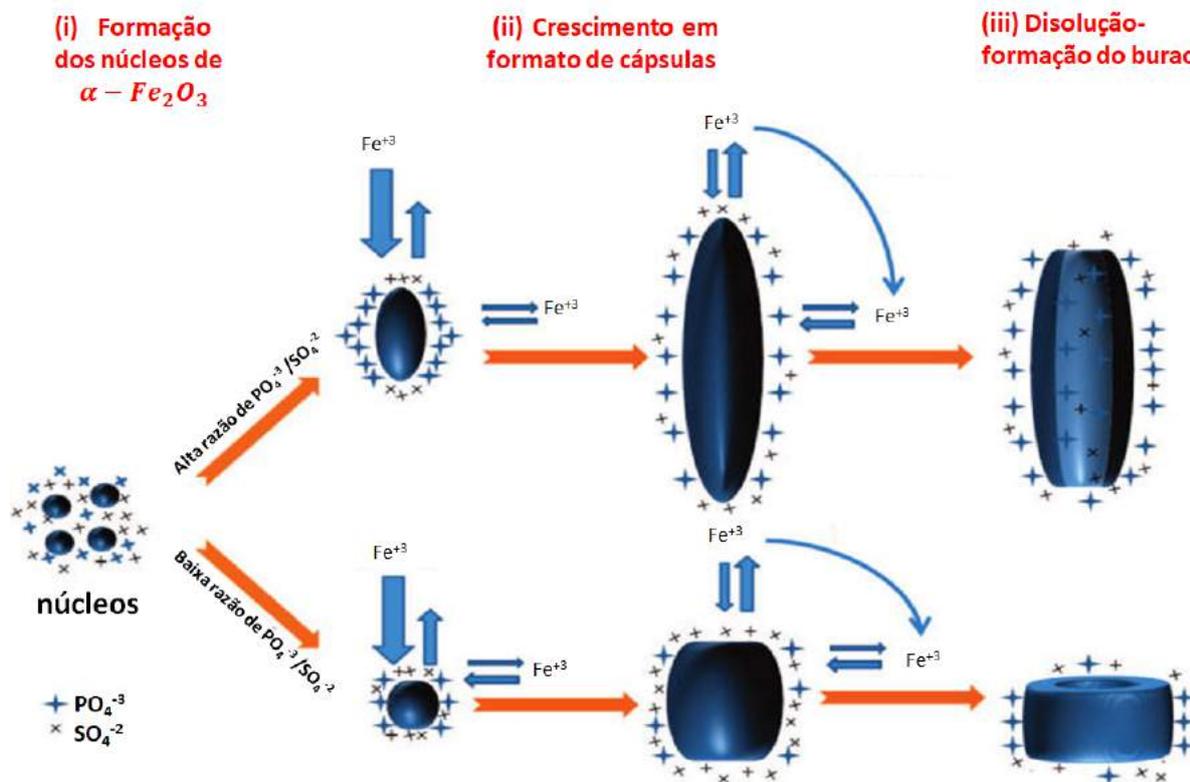


Figura 4.3: Esquema da formação dos nanotubos de hematita por mediação dos íons de fosfato e sulfato. Figura adaptada de [48]

4.2 Redução dos nanoanéis de $\alpha - Fe_2O_3$ para $\delta Fe - Fe_3O_4$

Como a hematita ($\alpha - Fe_2O_3$) não possui propriedades magnéticas interessantes para algumas aplicações, sobretudo aquelas que precisam de alta magnetização de saturação, como hipertermia e separação magnéticas, uma alternativa é reduzir o Fe^3 nessas amostras, visando a obtenção de outros compostos, cujas fases magnéticas sejam interessantes. Sendo assim, as partículas de $\alpha - Fe_2O_3$, obtidas na síntese hidrotérmica, foram submetidas à reação de redução para obter o sistema de ferro metálico-magnetita $\delta Fe - Fe_3O_4$, onde δ indica a porcentagem da fase de Fe^0 . Para isso, foi desenvolvido um reator como mostrado na figura 4.4 a), no qual aproximadamente $30mg$ de partículas de $\alpha - Fe_2O_3$ são colocadas sobre uma placa porosa de $1cm$ de diâmetro, por onde é atravessado um fluxo

de uma mistura de gás, H_2/Ar 10 %, (indicado na figura com setas amarelas). O reator foi projetado de modo que o fluxo de gás permeie toda a amostra, a um fluxo constante. Este fluxo foi padronizado como $70ml/min$ durante todos os tratamentos térmicos realizados nesse trabalho. No topo do reator é colocado papel alumínio para assim evitar que as partículas sejam levadas pelo fluxo de gás.

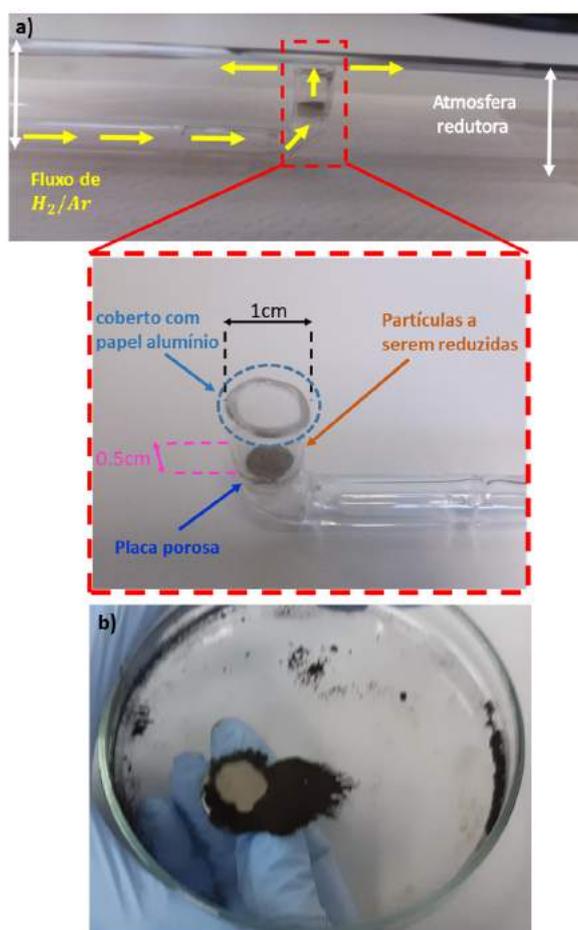


Figura 4.4: a) Reator usado no processo de redução, as setas amarelas indicam o sentido do fluxo de gás. O quadro vermelho mostra as dimensões do reator e a localização da placa porosa, acima da qual são colocadas as partículas de $\alpha - Fe_2O_3$ a serem reduzidas. b) Partículas após o processo de redução respondendo à presença de um ímã perto delas.

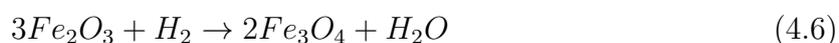
Neste reator foram feitos tratamentos térmicos em distintas condições. Inicialmente, foram realizadas as reduções onde foi mantido o tempo de tratamento constante (2h) e

foi variada a temperatura de redução (300, 350, 380 e 400°C). Num segundo experimento, foi mantida a temperatura constante (400°C) durante o tratamento e foi variado o tempo de redução (0.5, 1, 1.5, 2, 3 e 4h). O objetivo destes experimentos foi estudar a dinâmica da redução, e assim definir as condições onde o sistema $\alpha - Fe_2O_3$, é reduzido totalmente (isto é, até ser conseguido o maior percentual de ferro metálico) e, assim, estabelecer um diagrama de fase em função do tempo de redução e da temperatura da formação dos diferentes óxidos de ferro. Após finalizado o processo de redução, as partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4$ foram resfriadas até a temperatura ambiente, onde o fluxo de gás é mantido. A primeira indicação de que o processo de redução foi bem sucedido é a mudança de cor das partículas, pois a amostra, originalmente vermelha, após a redução passa a ser preta e a responder à presença de um imã, como mostrado na figura 4.4 b). Em geral, o processo de redução é simples mas os parâmetros experimentais como a massa, temperatura, concentração de H_2 e a razão do fluxo de gás são fundamentais [53].

O processo de redução pode acontecer de duas formas diferentes. No primeiro caso, num mecanismo de dois passos, partindo da hematita é obtida a magnetita, e logo, ferro metálico:



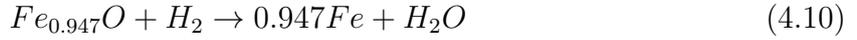
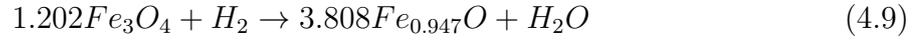
onde acontecem as seguintes reações [53]:



Essa redução também pode ocorrer por um mecanismo de três passos, onde existe um passo intermediário entre a magnetita e o ferro metálico, formando a wustita:



neste caso, acontecem as seguintes reações [53]:

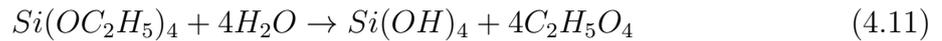


Sendo assim, mediante a realização de várias reduções em distintas condições (variando a temperatura e tempo), espera-se ser possível determinar o mecanismo presente em cada uma das condições de reação.

4.3 Recobrimento dos nanoanéis de $\delta Fe - Fe_3O_4$ com SiO_2

O recobrimento das partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4$, para $\delta = 5$ e 50%, com sílica (SiO_2) foi realizado pelo método de Stober modificado [†] mediante a hidrólise [‡] do tetraetil ortosilicato (TEOS, cuja fórmula química é $Si(OC_2H_5)_4$) na presença das partículas. Neste processo, 30mg das partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4$ são dispersadas em 40ml de água destilada (H_2O), 160ml de etanol (C_2H_5OH) e 5ml de hidróxido de amônia (NH_4OH), mediante banho ultrassônico durante 15 minutos. Em seguida, esta solução é sujeita a agitação mecânica violenta e é adicionado gota a gota 1ml de TEOS. A agitação é mantida a temperatura ambiente durante 24 horas. Em seguida, a solução é lavada varias vezes com água usando separação magnética e secada a temperatura ambiente durante 12 horas.

A reação química que ocorre no processo da formação de SiO_2 pode ser resumida da seguinte forma [55]:



[†]No ano 1968, *Stober et al.* conseguiram sintetizar esferas de SiO_2 monodispersadas com tamanho controlado pela primeira vez, em homenagem a ele o método de síntese leva seu nome [54]

[‡]Hidrólise é uma reação da água com outro composto químico para formar dois ou mais produtos, que envolve a ionização da água e usualmente a divisão do outro composto [55].

é importante notar que, segundo a equação 4.11, num processo intermediário, se tem a formação do ácido ortossilícico ($Si(OH)_4$).

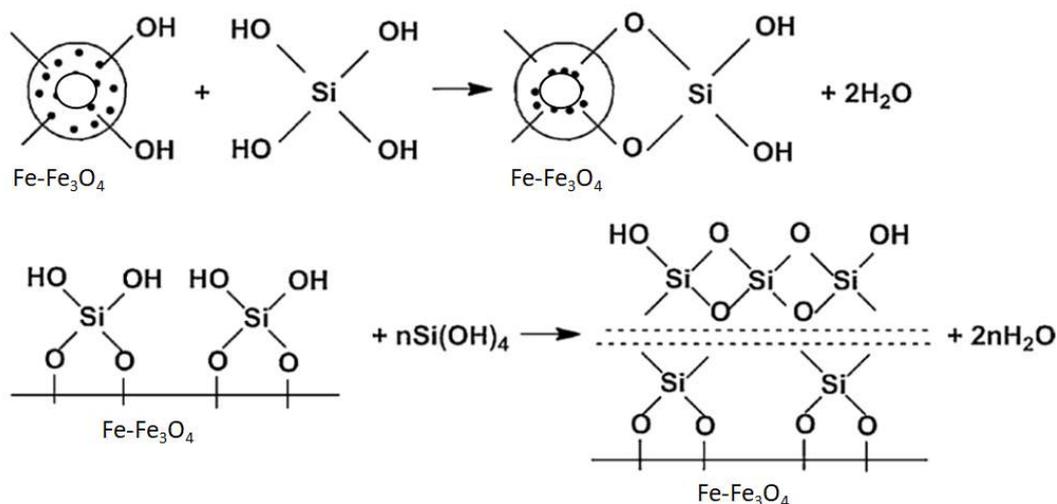


Figura 4.5: Esquema do processo de formação das partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4 @ SiO_2$. Figura adaptada de [56]

Um esquema representando o mecanismo da formação da camada de sílica é mostrado na figura 4.5. Todo o processo pode ser descrito em três passos: em primeiro lugar, os OH^- na superfície da Fe_3O_4 podem reagir com os OH^- dos $Si(OH)_4$ e subseqüentemente a primeira camada de recobrimento é formada. Em segundo lugar, com o incremento do tempo, a reação começa entre os OH^- dos $Si(OH)_4$ formados permitindo a formação camada sobre camada [56]. Finalmente, são obtidas as partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4 @ SiO_2$.

Capítulo 5

Técnicas experimentais

Neste capítulo serão apresentados conceitos básicos das técnicas de caracterização utilizadas neste trabalho, assim como detalhes dos ensaios de citotoxicidade e viabilidade celular realizados.

5.1 Difração de raios-X (DRX)

Uma das técnicas de análise estrutural e microestrutural mais empregadas para identificar os diferentes materiais é a Difração de raios-X, ou simplesmente DRX.

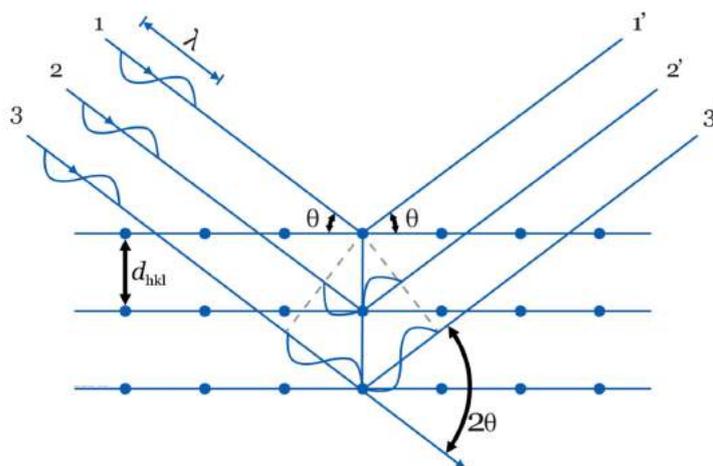


Figura 5.1: Esquema representando a difração de raios-X por um cristal

A figura 5.1 mostra uma seção de um cristal onde seus átomos estão arranjados em

uma série de planos paralelos, separados entre si por uma distância d_{hkl} (onde h, k, l são os índices de Miller e designam uma determinada família de planos cristalinos). Suponha que um feixe de raios-X, perfeitamente paralelo e monocromático, de comprimento de onda λ , incida no cristal, com um ângulo de incidência θ , em relação à família de planos cristalinos em questão [57]. Os feixes de raios-X dependendo do ângulo θ , são semirefletidos ao interagir com cada plano (camada atômica) [58].

Nesta geometria, a diferença de caminho óptico entre os raios espalhados por planos adjacentes será $2d \sin \theta$. Quando essa diferença de caminho óptico for igual a um número inteiro de comprimentos de onda, isto é, quando for igual a $n\lambda$, ocorre uma interferência construtiva da radiação espalhada por planos sucessivos, logo [59]:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \quad (5.1)$$

Esta famosa equação é conhecida como a Lei de Bragg. Medindo θ e conhecendo λ , a distância interplanar, d_{hk} , pode ser determinada e, com isso, pode ser identificada a estrutura cristalina do material [60].

Neste trabalho foram realizadas medidas de DRX nas partículas antes e depois do processo de redução. Estas medidas foram realizadas utilizando um difratômetro de pó da marca Panalytical, modelo X'PERT Pro, disponível no Laboratório Multiusuário de raios-X do CBPF. Este difratômetro opera em geometria Bragg-Brentano e tem como fonte de raios-X um tubo de cobre, cuja energia é 8.04 keV e o comprimento de onda da linha $K\alpha_{medio}$ $\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$. A óptica deste difratômetro conta com um monocromador de carbono que, além de eliminar boa parte da radiação de *background* gerada pelo tubo de Cu ($K\beta$ e radiação de bremsstrahlung), também elimina o problema da contaminação por parte da fluorescência do Fe. Os difratogramas foram medidos em uma faixa angular de 2θ compreendida entre 20° até 80° , com passo de $0,017^\circ$.

Para a identificação e quantificação das fases cristalinas presentes nas amostras, os difratogramas foram refinados pelo método de Rietveld utilizando o pacote aberto *Full Prof* [61]. Foram utilizados padrões disponíveis na base de dados de estrutura cristalina inorgânica (ou do inglês *Inorganic Crystal Structure Database, ICSD*). Estes padrões correspondem às fases de hematita ($\alpha - Fe_2O_3$), magnetita (Fe_3O_4), maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$), wustita (FeO) e ferro metálico (Fe). Na figura 5.2 são apresentados as difrações desses padrões e na tabela 5.1 encontram-se algumas características cristalográficas. É importante destacar que as fases da magnetita e da maghemita têm estrutura cristalina muito semelhantes (simetria spinélio invertido). Por conta disso, no refinamento realizado não puderam ser diferenciadas uma fase da outra.

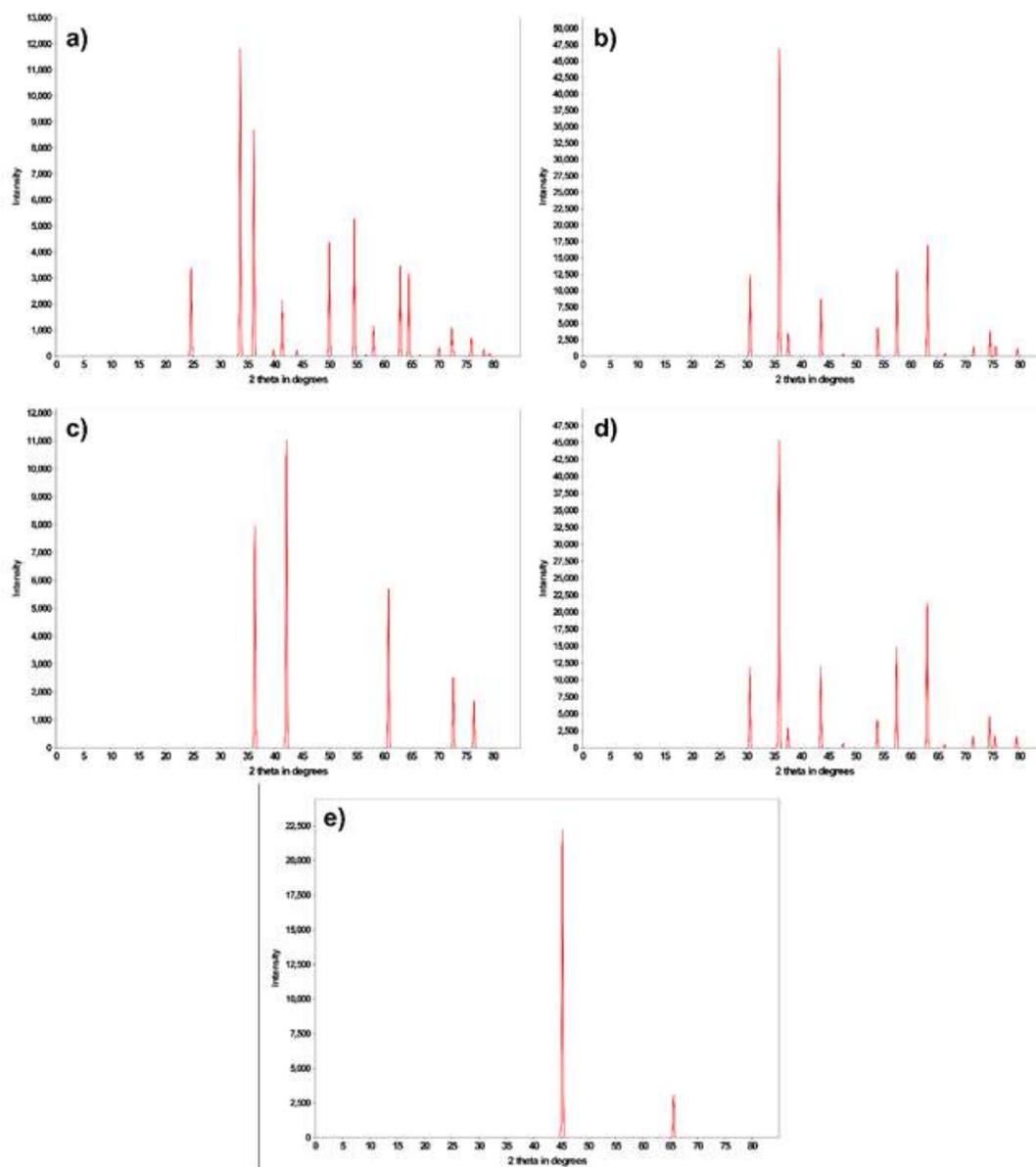


Figura 5.2: Difratomogramas padrões das possíveis fases presentes nas amostras após o processo de redução: a) hematita; b) magnetita; c) maghemita; d) wustita; e) ferro metálico.

Tabela 5.1: Propriedades cristalográficas do ferro e seus óxidos

Fase	Sistema cristalino	Tipo de estrutura	Grupo espacial	Parâmetros da célula unitária
Hematita	Trigonal	Corundum- Al_2O_3	R -3 c H(167)	$a = 5.038\text{Å}$ $b = 5.038(2)\text{Å}$ $c = 13.772(12)\text{Å}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 120^\circ$
Magnetita	Cúbico	Spinel- Al_2MgO_4	F d -3 m Z (227)	$a = 8.3941(7)\text{Å}$ $b = 8.3941(7)$ $c = 8.3941(7)$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Maghemita	Cúbico	Spinel defeituoso	F d -3 m Z (227)	$a = 8.4053(1)\text{Å}$ $b = 8.3941(7)$ $c = 8.3941(7)$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Wustita	Cúbico	NaCl	F m -3 m (225)	$a = 4.30(4)\text{Å}$ $b = 4.30(4)\text{Å}$ $c = 4.30(4)\text{Å}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Ferro	Cúbico	bcc-W	I m -3 m (229)	$a = 2.9315\text{Å}$ $b = 2.9315\text{Å}$ $c = 2.9315\text{Å}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 90^\circ$

5.2 Absorção de raios-X

A espectroscopia de absorção de raios-X, ou do inglês *X-ray Absorption Spectroscopy* (*XAS*), é uma técnica analítica usada para a caracterização de materiais. Nela, um fóton de energia E é absorvido por um elétron de caroço de uma dada espécie atômica, com energia de ligação E_0 . Este elétron é então excitado para um estado desocupado, logo acima do nível de Fermi, deixando um buraco em seu estado inicial. Um período curto de tempo depois (1 ou 2 femtosegundos), o átomo (ou íon) em questão retorna ao seu estado fundamental, via o decaimento de um elétron de uma camada mais externa, preenchendo o buraco criado. Nesse processo de decaimento é emitido um fóton. Este processo é conhecido por fluorescência de raios-X. É esse o mecanismo microscópico envolvido na geração de radiação em um tubo de raios-X, como o que foi utilizado nos experimentos de DRX apresentados na seção anterior. Alternativamente, a energia do elétron da camada mais externa, pode causar a emissão de um elétron Auger [62]. Quando os raios-X de intensidade I_0 incidem sobre a amostra, o grau de absorção depende da energia E do fóton e da espessura t da amostra. De acordo com a Lei de Beer-Lambert, a intensidade transmitida I_t é dada pela equação:

$$I_t(t) = I_0 e^{-\mu(E)t}$$

onde $\mu(E)$ é o coeficiente de absorção de raios-X e o produto $\mu(E)t$ é denominado absorvância. Em geral, o coeficiente de absorção pode ser determinado medindo as intensidades dos raios-X incidentes I_0 e transmitidos I_t (medida no modo transmissão), como mostrado na figura 5.3 [63].

Neste trabalho, foram realizadas medidas de Absorção de raios-X em torno da borda de absorção K do íon de Ferro, ou do inglês *X-ray Absorption Near-Edge Structure* (*XANES*). Nestas medidas é analisada a posição e a forma da borda de absorção, a qual pode

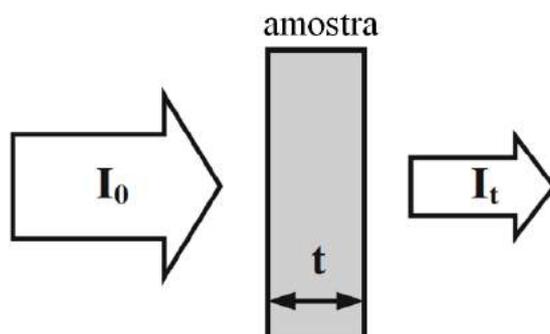


Figura 5.3: Esquema da medida de absorção de raios-X no modo transmissão, indicando as intensidade dos raios-X incidentes (I_0) e transmitidos (I_t) para uma amostra de espessura t [63].

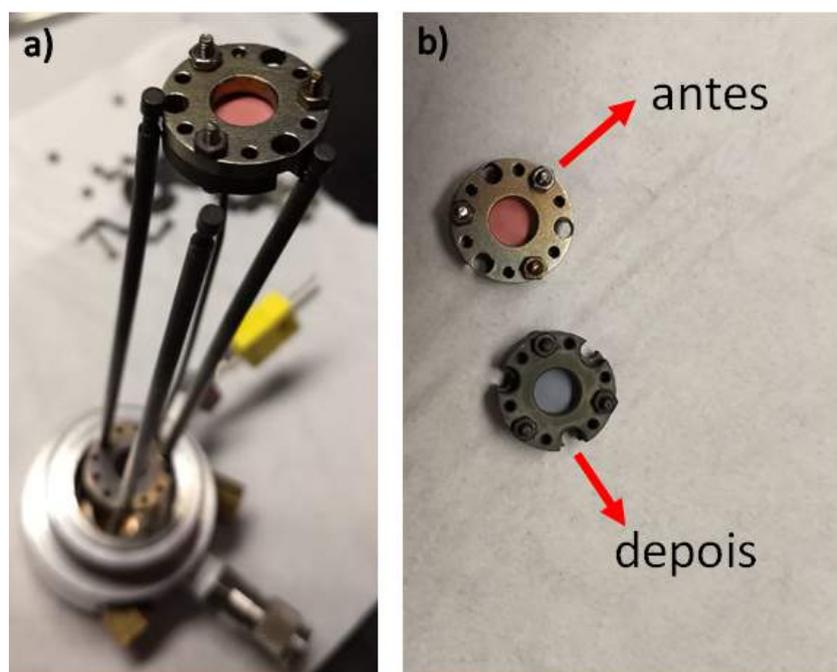


Figura 5.4: Amostras para as medidas de XANES: a) pastilha de $\alpha - Fe_2O_3$ no porta amostra, que será levada no forno da linha de luz para o tratamento térmico; b) comparação das pastilhas antes (cor rosa) e depois do processo de redução (cor cinza)

ser relacionada ao estado de valência do átomo absorvedor [64]. As medidas de XANES foram realizadas na linha de luz DXAS [65], do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS). Esta linha possui uma óptica dispersiva e por isso possibilita que um espectro seja adquirido em segundos, permitindo, desta forma, o acompanhamento do processo de redução *in situ*.

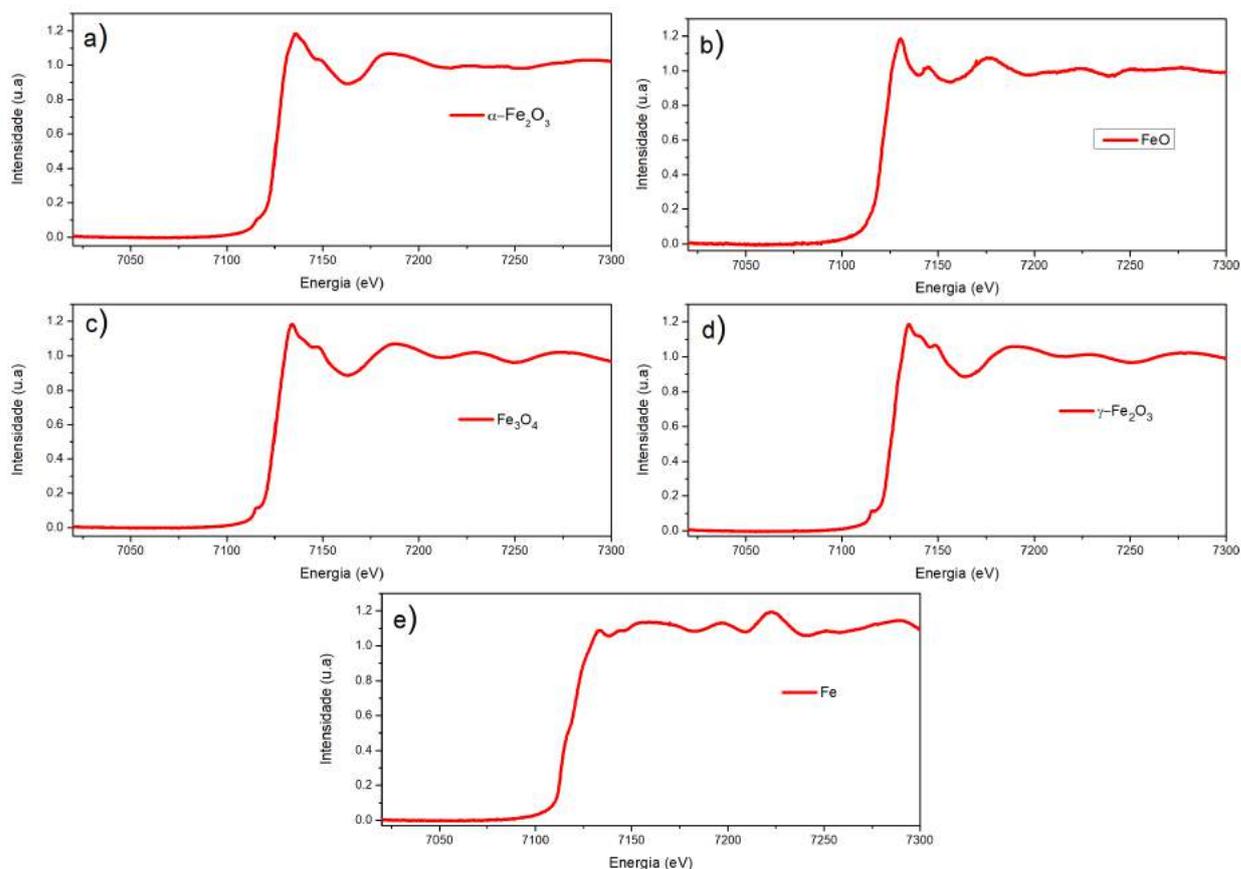


Figura 5.5: Espectros de XANES de amostras padrões do ferro e seus óxidos: a) hematita; b) wustita; c) magnetita; d) maghemita; e) ferro metálico.

Sendo assim, as partículas de $\alpha - Fe_2O_3$ foram submetidas a um tratamento térmico numa temperatura de $400^\circ C$ durante 6 horas sob o fluxo de gás de H_2/He 5%. A temperatura inicial foi de $22^\circ C$, e atingiu-se a temperatura alvo ($400^\circ C$) com rampa de aquecimento de $13^\circ C/min$. Após 6 horas de redução a amostra foi resfriada a uma temperatura igual à temperatura inicial, com uma taxa igual à taxa de aquecimento. Os espectros foram coletados a cada $\sim 1min$ durante todo o processo. A faixa espectral coletada foi da ordem de $300eV$ em torno da borda do Ferro, isto é, desde 7035 até $7300eV$. Sendo assim, foram obtidos um total de 264 espectros. Também foram medidos os espectros de amos-

tras padrão de cada uma das fases dos óxidos de ferro: magnetita (Fe_3O_4), maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$), wustita (FeO) e ferro metálico (Fe). Estes espectros se encontram na figura 5.5. As análises dos espectros *in situ* foram realizadas no programa Athena, no modo combinação linear dos espectros padrão. Isto permitiu estudar a dinâmica da formação das distintas fases de óxidos de ferro.

As amostras foram preparadas em forma de pastilha, para o qual $5mg$ de $\alpha - Fe_2O_3$ em forma de pó e $95mg$ de nitreto de boro (NB) (o qual não absorve raios X, de forma que toda a absorção medida corresponda só à amostra), foram maceradas até a obtenção de uma mistura homogênea. Na sequência, foram levadas a uma prensa para ser submetidas sob pressão durante um minuto. A figura 5.4 a) mostra a pastilha de $\alpha - Fe_2O_3$ já no porta amostra, que será levada no forno da linha de luz para o tratamento térmico, visando o acompanhamento da redução *in situ*; na figura 5.4 b) é possível observar uma comparação na cor das pastilhas antes e depois do processo de redução, mudando de rosa para cinza.

5.3 Microscopia Eletrônica

Os microscópios eletrônicos usam elétrons para a geração de imagens, de maneira similar a que os microscópios de luz usam a luz visível. Existem dois tipos principais de microscópios eletrônicos: o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) e o Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET). A seguir, serão descritos os princípios básicos de funcionamento do MEV e MET, assim como as condições experimentais utilizadas neste trabalho.

5.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

O Microscópio Eletrônico de Varredura, ou do inglês *Scanning Electron Microscope*, usa uma série de bobinas para varrer um feixe de elétrons focalizado sobre a superfície

da amostra [66]. Primeiramente, os elétrons são gerados por uma fonte no topo de uma coluna, a qual deve estar em vácuo para evitar contaminações, vibrações, ruído e assim otimizar a aquisição de uma imagem de alta resolução. Os elétrons gerados são acelerados e atraídos pelo anodo carregado positivamente, para logo passar por uma combinação de lentes (condensadora e objetiva), que produzem um feixe focado que atinge a superfície da amostra [67], como se mostra na figura 5.6.

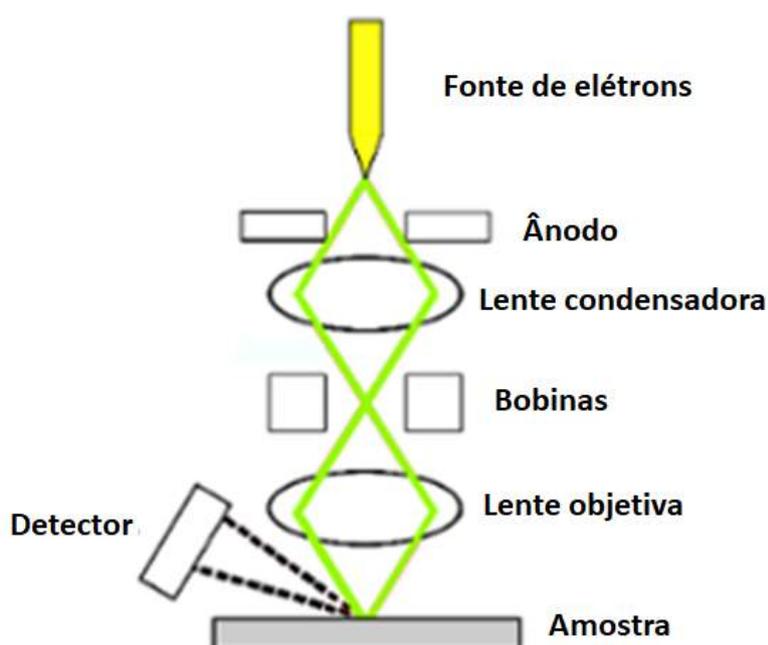


Figura 5.6: Principais componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura. Figura adaptada de [68]

Os elétrons do feixe interagem com a amostra produzindo vários sinais que são usados para obter imagem da topografia e composição da amostra. Os tipos de sinais produzidos a partir das interações do feixe de elétrons com a amostra incluem: elétrons secundários, elétrons retroespalhados, raios-X característicos e outros fótons de distintas energias [66]. Os dois primeiros sinais são utilizados para a formação da imagem. Os elétrons retroespalhados vêm de regiões mais profundas da amostra e pertencem ao feixe de elétrons primário e são refletidos após as interações elásticas entre o feixe e a amostra. Por outro

lado, os elétrons secundários vêm da superfície da amostra e são o resultado das interações inelásticas entre o feixe de elétrons e a amostra [68]. Estes sinais são coletados por um ou mais detectores para formar a imagem, a qual é mostrada na tela de um computador.

Neste trabalho, foi utilizado o Microscópio Eletrônico de Varredura de Alta Resolução Jeol 7100 operado a $10kV$, disponível no Laboratório Multiusuário de Nanociência e Nanotecnologia (LABNANO) do CBPF. As amostras foram analisadas antes e depois do processo de redução (descrito na seção 4.2), com o intuito de verificar se a redução altera a morfologia da amostra. Para isso, as amostras foram diluídas em etanol, dispersadas em banho ultrassônico durante 30 minutos e finalmente gotejadas sobre uma fita de carbono. É importante ressaltar que a preparação da amostra foi realizada um dia antes do análise para garantir a estabilidade do vácuo da coluna do microscópio.

As imagens obtidas foram segmentadas e individualizadas no software Aviso 9.5, considerando somente as partículas orientadas como indicado na figura 5.7. Em seguida, com o objetivo de determinar a distribuição de tamanho, as dimensões: altura (H), diâmetro externo (D), diâmetro interno (d), foram quantificadas usando o software Image J.

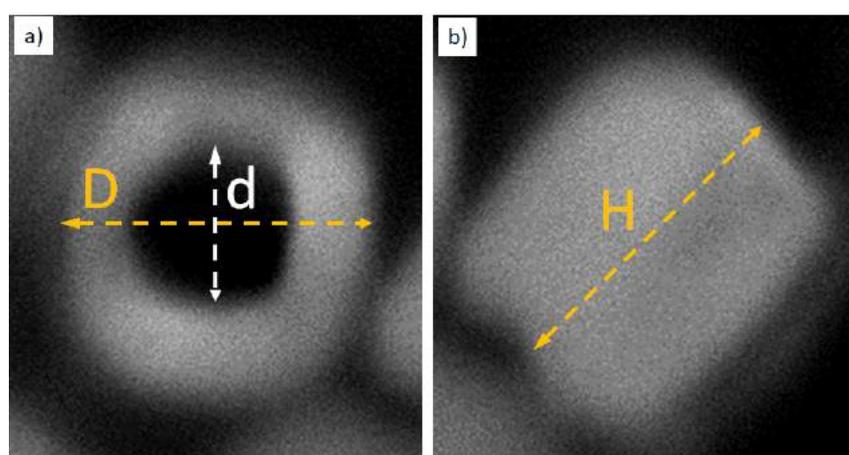


Figura 5.7: Orientação das partículas de hematita utilizadas na distribuição de tamanho e suas dimensões: a) diâmetro externo (D), diâmetro interno(d); b) altura (H)

5.3.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão

O Microscópio Eletrônico de Transmissão, ou do inglês *Transmission Electron Microscope*, usa elétrons transmitidos (elétrons que atravessam a amostra) para criar uma imagem. Como resultado, o MET oferece informações sobre a estrutura interna da amostra, como estrutura cristalina, análise química e morfologia.

Os componentes principais do MET estão representadas na figura 5.8 e são brevemente descritos a seguir:

- O canhão de elétrons, que produz o feixe de elétrons;
- A lente condensadora, que focaliza o feixe no objeto;
- O sistema de produção de imagens, que consiste em: lente objetiva, estágio da amostra, lentes intermediárias e projetoras, as quais focalizam os elétrons que atravessam a amostra para formar uma imagem real e altamente magnificada;
- O sistema de gravação das imagens que, em geral, consiste numa tela fluorescente para visualização rápida, o que auxilia durante a focalização do feixe e uma câmera digital para registro permanente;
- E finalmente, o sistema de vácuo que consiste em bombas e válvulas, além de fontes de alimentação [69].

Neste trabalho, foi utilizado o Microscópio Eletrônico de Transmissão JEOL 2100F, operado a $200kV$, disponível no LABNANO do CBPF. As amostras analisadas no MET foram as reduzidas (seção 4.2) e as recobertas (seção 4.3). A preparação da amostra foi semelhante à utilizada no MEV, mas desta vez a solução foi gotejada sobre uma grade de cobre.

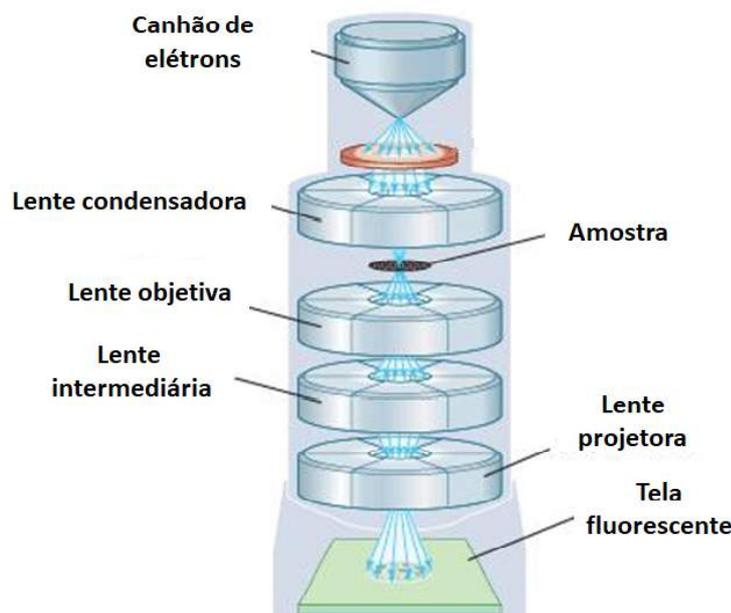


Figura 5.8: Principais componentes do Microscópio Eletrônico de Transmissão. Figura adaptada de [69]

5.3.3 Espectroscopia de Raios-X por Dispersão de Energia

A Espectroscopia de raios-X por Dispersão de Energia ou do inglês *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (EDS, EDX ou XEDS) é uma técnica microanalítica qualitativa e quantitativa de raios-X que fornece informação sobre a composição química da amostra para elementos com número atômico $Z > 3$ [70] .

O feixe de elétrons é focalizado na amostra pelo MET. Os elétrons do feixe primário penetram a amostra e interagem com os átomos que a compõem. A partir desta interação são produzidos raios-X característicos (fluorescência de raios-X), os quais são coletados por um detetor dispersivo em energia, que exibe o sinal como um espectro ou mapa. Esse mapa é uma imagem que mostra como a concentração de um elemento varia através da área da amostra [70] .

Neste trabalho foi realizado um mapeamento de EDS no MET, nas amostras antes e

depois do recobrimento com SiO_2 para verificar a eficiência deste processo.

5.4 Magnetometria

As medidas magnéticas foram realizadas no magnetômetro *Magnetic Property Measurement System (MPMS3)* da *Quantum Design*, disponível no Laboratório Multiusuário de Magnetismo do CBPF. Este magnetômetro é composto por um imã supercondutor que gera campos magnéticos intensos, uma bobina de detecção e um dispositivo de interferência quântica supercondutora (ou do inglês *Superconducting Quantum Interference Device (SQUID)*), acoplado à bobina detetora. Neste magnetômetro, a medida é realizada movendo a amostra através da bobina de detecção, que está localizada no centro do imã. Como a amostra é magneticamente polarizada, ao movê-la através das bobinas, os momentos magnéticos da amostra induzem, por conta da lei de Lenz, uma corrente elétrica na bobina de detecção. A função do SQUID é converter a corrente em voltagem, logo, a variação da corrente na bobina de detecção produz uma correspondente variação na voltagem de saída do SQUID, a qual é proporcional ao momento magnético da amostra.

Neste trabalho, foram realizadas medidas de magnetização em função do campo, a temperatura ambiente, e variando o campo desde -30.000 Oe até 30.000 Oe . Para isso, foram cuidadosamente determinadas as massas de todas as amostras do sistema $\delta Fe - Fe_3O_4$. As massas foram sempre de aproximadamente 10 mg . O mesmo procedimento foi adotado nas amostras recobertas com SiO_2 . A partir das medidas, foi calculada a magnetização de saturação experimental (M_s^{exp}) de cada amostra, obtida por extrapolação linear da curva $M vs \frac{1}{H}$ para valores altos de H . No caso das amostras $\delta Fe - Fe_3O_4$, o valor da M_s^{exp} foi comparado com a magnetização de saturação teórica (M_s^{teo}) definida como:

$$M_s^{teo} = \frac{\delta}{100} * 220 \frac{emu}{g} + \left(\frac{1 - \delta}{100} \right) * 90 \frac{emu}{g} \quad (5.2)$$

onde δ foi obtido a partir do refinamento das medidas de difração de raios-X, e os valores de 220 e 90 emu/g , correspondem à magnetização de saturação do Fe e Fe_3O_4 , respectivamente. Para as amostras recobertas, o cálculo da M_s^{exp} permitiu avaliar a porcentagem da massa de sílica formada, quando comparadas com sua M_s^{exp} antes do recobrimento.

5.5 Espectroscopia de fotoelétrons por raios-X

A Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X, ou do inglês *X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS)*, é uma técnica utilizada para investigar a composição química de superfícies. Nesta técnica, a amostra é irradiada por raios-X moles (de baixa energia, ou seja, $< 2000eV$) monocromáticos. Por serem pouco energéticos, estes fótons têm um poder de penetração limitado da ordem de $1 - 2nm$. Por isso, interagem com os átomos na região da superfície, causando a emissão de fotoelétrons, cuja energia é dada por:

$$KE = h\nu - BE - \phi \quad (5.3)$$

onde $h\nu$ é a energia do fóton, BE é a energia de ligação (*binding energy*) do orbital atômico de onde os elétrons se originam e ϕ é a função trabalho do espectrômetro [71].

Além dos elétrons emitidos devido ao processo fotoelétrico, podem ser emitidos elétrons Auger devido à relaxação dos íons excitados que permanecem após a fotoemissão. No processo de emissão Auger, um elétron de uma camada externa cai numa camada mais interna e simultaneamente é emitido um segundo elétron. Como a ionização ocorre numa profundidade de alguns micrômetros, apenas aqueles elétrons originados a dezenas de Angstroms abaixo da superfície são emitidos sem perdas de energia e, portanto, são os responsáveis pela produção de picos no espectro.

Os elétrons que emergem da amostra são detetados por um espectrômetro de elétrons,

onde são discriminados de acordo com a sua energia cinética, segundo a equação 5.3. A partir da análise do espectro obtido, é possível conhecer a energia de ligação correspondente. Devido ao fato de cada elemento ter um conjunto único de energia de ligação, e lembrando se tratar de uma técnica muito sensível à superfície, a técnica de XPS pode ser utilizada para identificar e determinar a concentração de elementos na superfície.

Em geral, os valores de energia de ligação e os espectros de alguns compostos podem ser encontrados em livros ou *database*. A tabela 5.2 mostra os valores da posição dos picos correspondentes ao $Fe - 2p^{3/2}$ do ferro metálico e seus óxidos, determinados por McIntyre e Zetaruk no ano 1975.

Tabela 5.2: Energia de ligação para o ferro metálico e seus óxidos [72].

Composto	Posição do pico (eV) - $Fe2p^{3/2}$
Ferro metálico	706.9
Hematita	711
Maghemita	711
Magnetita	708.3
Wustita	719.5

Neste trabalho, as medidas de XPS foram realizadas nas amostras $\delta Fe - Fe_3O_4$, as quais foram depositadas sobre uma fita de carbono e levadas à câmara de vácuo. Foi utilizada uma fonte AlK_α (1.486 eV) e o detector de elétrons utilizado foi o espectrômetro Specs Phoibos, disponível no Laboratório Surfnano do CBPF. Os espectros foram obtidos na faixa de energia compreendida entre 700 – 730eV e analisados utilizando o software CASA-XPS. A calibração de energia foi realizada com o $C1s$, com energia de ligação 284,6eV.

5.6 Hipertermia magnética

Para avaliar a eficiência de aquecimento das amostras, foi utilizado um sistema de aquecimento por indução *Easy Heat LI* da *Ambrell* (figura 5.9 a), que gera uma corrente

elétrica alternada, cuja frequência é de 300 kHz e intensidade que pode variar de $1,6$ até 600 A . Esta corrente passa por uma bobina de 8 voltas de dimensões 37 mm de altura, $25,5\text{ mm}$ de diâmetro interno e $39,5\text{ mm}$ de diâmetro externo. Com isso, a intensidade do campo magnético induzido é dado por:

$$\underbrace{H}_{\text{sistema CGS}} = \frac{\mu_0 NI}{\underbrace{2R_m}_{\text{sistema SI}}} 10^4 \quad (5.4)$$

onde H é obtido em unidades de Oe , μ_0 é a permeabilidade magnética no vácuo, N é o número de voltas da bobina, I é a intensidade da corrente medida em A (ampère), R_m é o raio médio da bobina e o fator 10^4 se refere à conversão do SI ao CGS [28].

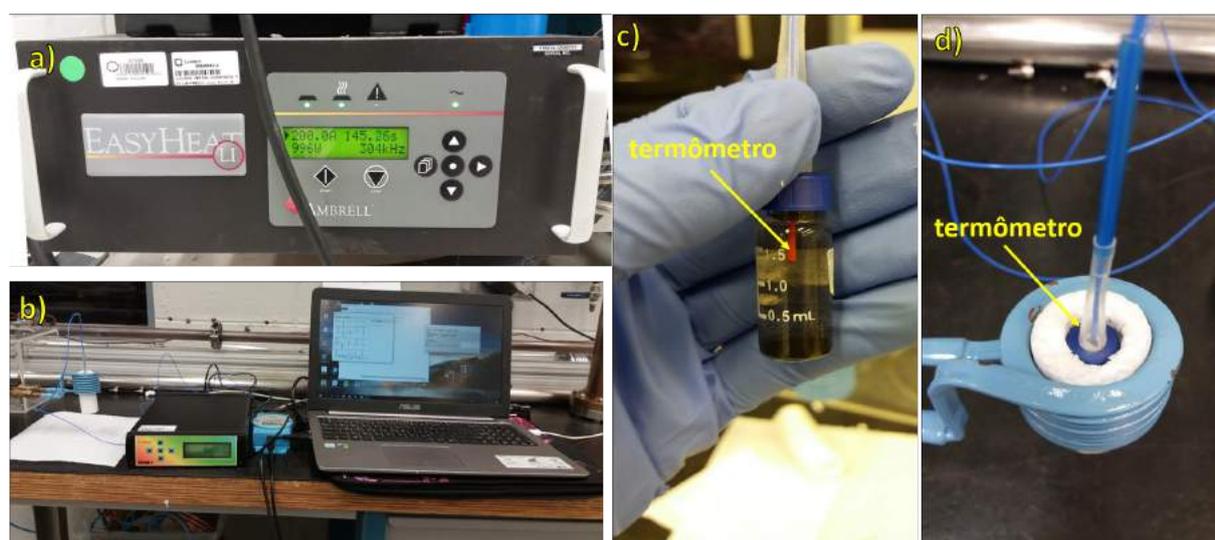


Figura 5.9: Equipamento para hipertermia magnética: a) sistema de aquecimento por indução; b) terminal de monitoramento; c) porta amostra e termômetro de fibra ótica utilizados na medida; d) bobina geradora de campo magnético em cujo centro se encontra o porta amostra isolado termicamente junto com termômetro de fibra ótica.

Para as medidas, as amostras $\delta Fe - Fe_3O_4$ e $\delta Fe - Fe_3O_4@SiO_2$ foram diluídas e dispersadas em água destilada numa concentração de 1 mg/ml . Em seguida, foram colocadas no porta-amostra de vidro em cujo centro se encontra o termômetro de fibra ótica *OPTOcon FOTEMP1* (como se mostra na figura 5.9 c). O porta-amostra foi posicionado no centro da bobina, isolado termicamente com isopor e cuidando para que o termômetro

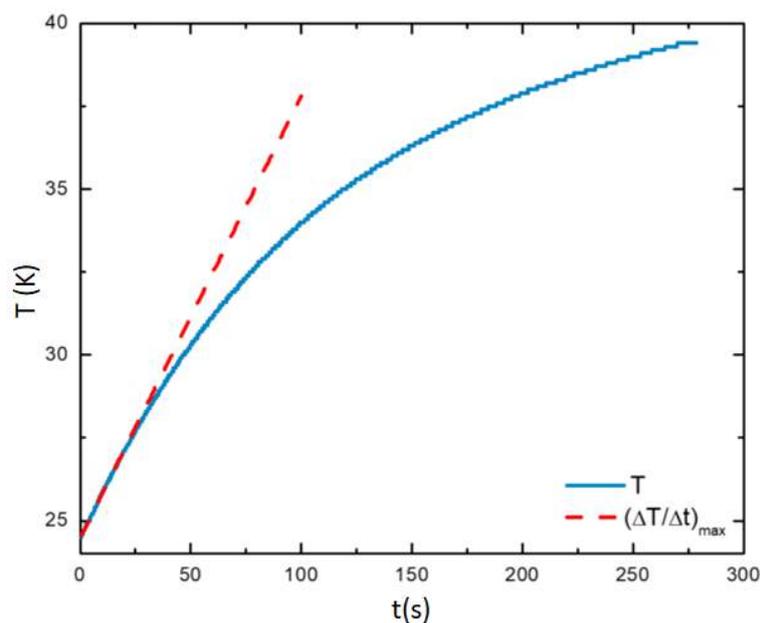


Figura 5.10: Curva típica de variação da temperatura como função do tempo numa medida de hipertermia magnética.

se mantenha na vertical, para evitar contato com as paredes do porta-amostra (como se mostra na figura 5.9 d)). Este termômetro é conectado ao computador (veja a figura 5.9 b)) utilizando uma interface serial e pode ser controlado e monitorado pelo *software Fototemp Assistant*, o qual registra os dados. Com isso é obtida a curva da variação da temperatura como função do tempo. A figura 5.10 mostra um comportamento típico de aquecimento, onde a curva azul corresponde aos dados experimentais e a curva vermelha é o ajuste linear da taxa máxima de aquecimento, cuja inclinação é substituída na equação 2.25 para a obtenção do SAR.

Com o objetivo de comparar a eficiência de aquecimento do sistema $\delta Fe - Fe_3O_4$ com morfologia de nanoanéis, também foram medidas amostras com a mesma composição química, porém formadas por nanoesferas. Estas últimas foram fornecidas pelo grupo da professora Priscilla Finotelli da UFRJ.

5.7 Teste de Citotoxicidade

Neste trabalho foram realizados ensaios de viabilidade celular nas partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4$, para $\delta = 90\%$, em colaboração com o grupo de biomateriais do CBPF, coordenado pelo professor Alexandre Rossi e executado pela professora da UNIGRANRio Sara Gemini Piperni.

5.7.1 Ensaio de MTT

O ensaio MTT (3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide)) é um indicador sensível e confiável de atividade celular. Este ensaio se baseia na transformação do sal de tetrazólio MTT, de cor amarelo, em cristais de formazan púrpura pelas mitocôndrias das células metabólicas ativas.

Células humanas de linhagem renal, (no inglês *Human Embriotic Kidney, HEK*), HEK-293 foram plaqueadas em densidade de $50.000/cm^2$ durante 24 horas em meio de cultivo DMEM * (*Dulbecco Modified Eagles Minimal Essential Medium*), suplementado com 10 % de SFB (Soro Fetal Bovino) e 1% de PS (Penicilina Estreptomicina) incubado em $37^\circ C$ e atmosfera de 5% de CO_2 . Em seguida, as células foram expostas, durante 24 horas, às partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4$, nas concentrações de 20, 50, 70, 100 e 500 $\mu g/ml$. O controle positivo de morte celular foi realizado usando SDS 1 % (*Sodium Dodecyl Sulfate*). Após a exposição de 24 horas, os sais de formazan foram dissolvidos em DMCO (Dimetilsulfóxido). Medindo a absorbância em um comprimento de onda $\lambda = 570nm$ no espectrofotômetro *Biotek Synergy 2 multimode*. As medidas de absorbância foram normalizadas pelo grupo de controle que expressa a viabilidade celular ($\lambda = 650nm$).

Paralelamente, o ensaio MTT também foi realizado com células SAOS-2 (*Sarcoma*

*DMEM é um meio de cultivo que permite o crescimento celular *in vitro* proporcionando os nutrientes necessários para a célula.

Osteogenic), as quais são uma linhagem celular derivada do osteossarcoma e é comumente usada na pesquisa do câncer de osso. Os experimentos com ambas linhagens celulares foram realizados nas mesmas condições e em triplicata.

5.7.2 Ensaio de viabilidade celular *Live and Dead*

O ensaio *Live and Dead* se baseia na determinação simultânea de células vivas e mortas através de parâmetros reconhecidos de viabilidade celular: atividade intracelular e da integridade da membrana celular. A Calceína AM, um corante não fluorescente, é adicionado no meio de cultura e, ao penetrar nas células vivas, é convertida pela atividade intracelular, no corante Calceína polianiónico, que é retido pelas células vivas e fluoresce em verde ($\lambda = 495 - 515nm$). Um outro corante também é adicionado ao meio de cultivo, o Homodímero de Etídio 1 (EthD-1), que penetra somente nas células com membranas danificadas e aumenta 40 vezes a sua fluorescência, por conta da ligação com os ácidos nucleicos, produzindo fluorescência vermelha ($\lambda = 495 - 635nm$) nas células mortas. Portanto, no ensaio *Live and Dead* é possível identificar as células vivas e mortas mediante a sua fluorescência nas cores verdes e vermelhas, respectivamente.

No ensaio *Live and Dead* realizado neste trabalho, células HEK foram plaqueadas em densidade de $10.500/cm^2$ durante 24 horas, em meio de cultivo DMEM, suplementado com 10% de SFB e 1% de PS, incubado em $37^\circ C$ e atmosfera de 5% de CO_2 . As células foram expostas às partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4$ numa concentração de $100 \mu g/ml$ durante 24 horas. Em seguida, o ensaio de *Live and Dead* (THERMO FISHER SCIENTIFIC, código L3224) foi realizado, usando para marcação $2\mu M$ de Calceína e $4\mu M$ de EthD-1. As células foram incubadas 30 minutos à temperatura ambiente e finalmente observadas no microscópio de fluorescência ZEISS AXIO A1. Paralelamente, o ensaio *Live and Dead* também foi realizado com células as SAOS-2.

Capítulo 6

Resultados e discussão

Neste capítulo serão apresentadas as principais análises estruturais e morfológicas das partículas sintetizadas neste trabalho: $\alpha - Fe_2O_3$, $\delta Fe - Fe_3O_4$ e $\delta Fe - Fe_3O_4@SiO_2$, assim como, uma comparação da eficiência da hipertermia magnética dos sistemas com morfologia de nanoanéis e morfologia esférica. Finalizando, serão apresentados os resultados de citotoxicidade das partículas $90\%Fe - Fe_3O_4$ para células HEK e SAOS, respectivamente.

6.1 Partículas de $\alpha - Fe_2O_3$

Nesta seção serão apresentadas as caracterizações das partículas de hematita sintetizadas como descrito na seção 4.1.

6.1.1 Análise estrutural: Difração de Raios X

Com o objetivo de confirmar a formação da fase de hematita, foram realizadas caracterizações de todas as amostras por DRX. A figura 6.1 mostra o difratograma refinado pelo método de Rietveld, onde é possível observar que todos os picos presentes, foram indexados como correspondendo à fase da hematita (estrutura cristalina *Corundum*). A tabela 6.1 mostra os valores dos parâmetros refinados em comparação com os teóricos (correspondentes à ficha cristalográfica), cujo fator de confiabilidade do refinamento foi de 1.78, o qual indica um ajuste bom.

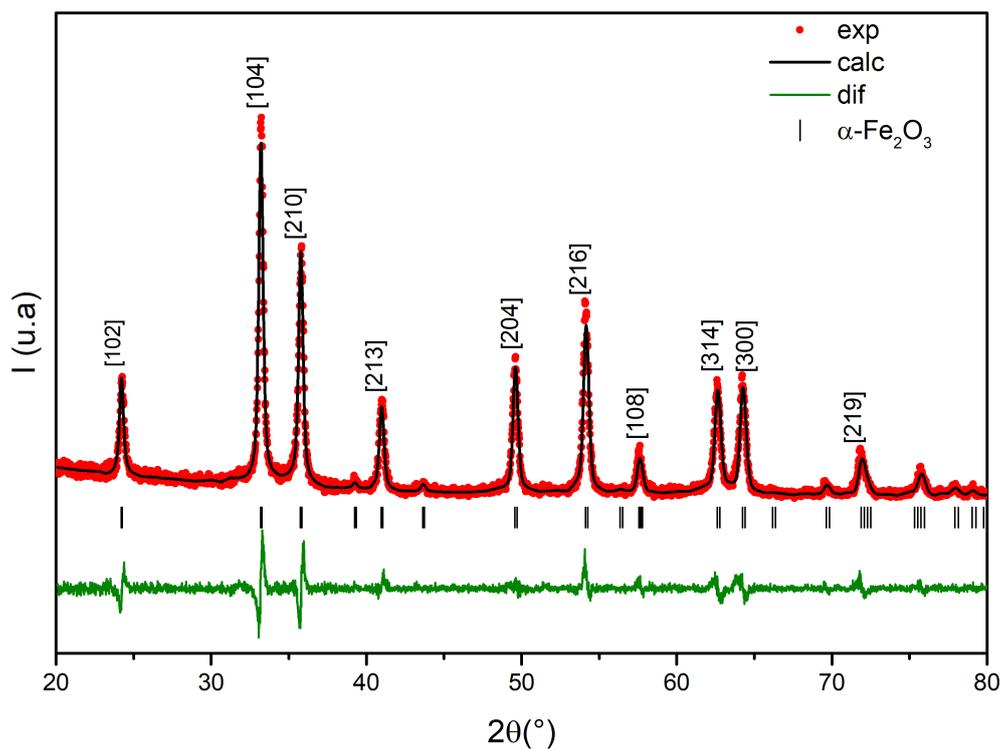


Figura 6.1: Difratograma correspondente às partículas de hematita.

Tabela 6.1: Parâmetros refinados pelo método de Rietveld correspondentes à fase da hematita.

Parâmetros refinados	Valor teórico	Valor refinado
$a = b$	5.038000	5.0194
c	13.771999	13.7641
$\alpha = \beta$	90°	90°
γ	120°	120°

6.1.2 Análise morfológica e distribuição de tamanho

As partículas de hematita foram analisadas morfológicamente por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura, com a metodologia descrita na seção 5.3.1.

A figura 6.2 a) mostra uma imagem de MEV das partículas de hematita, onde se pode observar a morfologia de nanoanéis. A figura 6.2 b) é sua correspondente imagem segmentada, na qual apenas são mantidas as partículas deitadas ou em pé, cujas dimensões foram medidas. A figura 6.3 mostra a distribuição de tamanho das partículas de hematita,

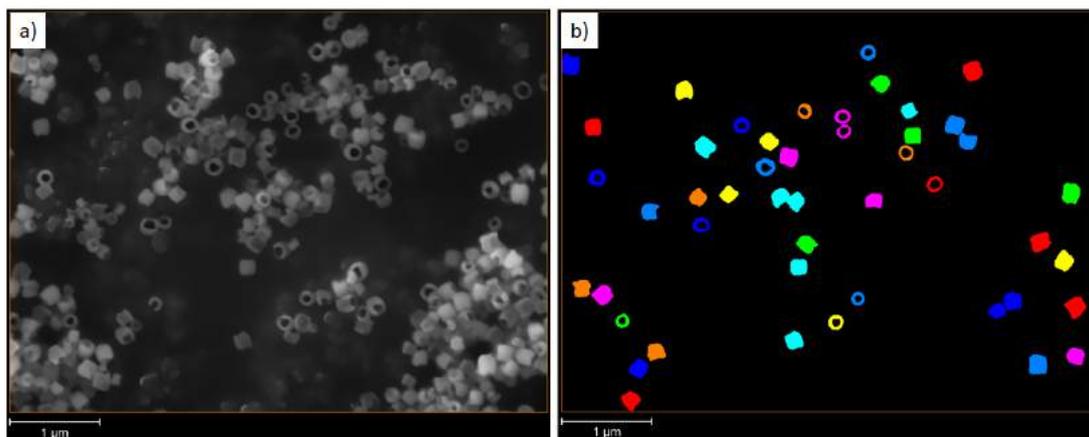


Figura 6.2: Imagem de MEV das partículas de hematita: a) Exemplo de imagem utilizada para a análise de distribuição de tamanho, onde podese observar a morfologia de nanoanéis, e b) sua correspondente imagem segmentada, onde se observam os tubos deitados e em pé, utilizados para a quantificação das dimensões das partículas.

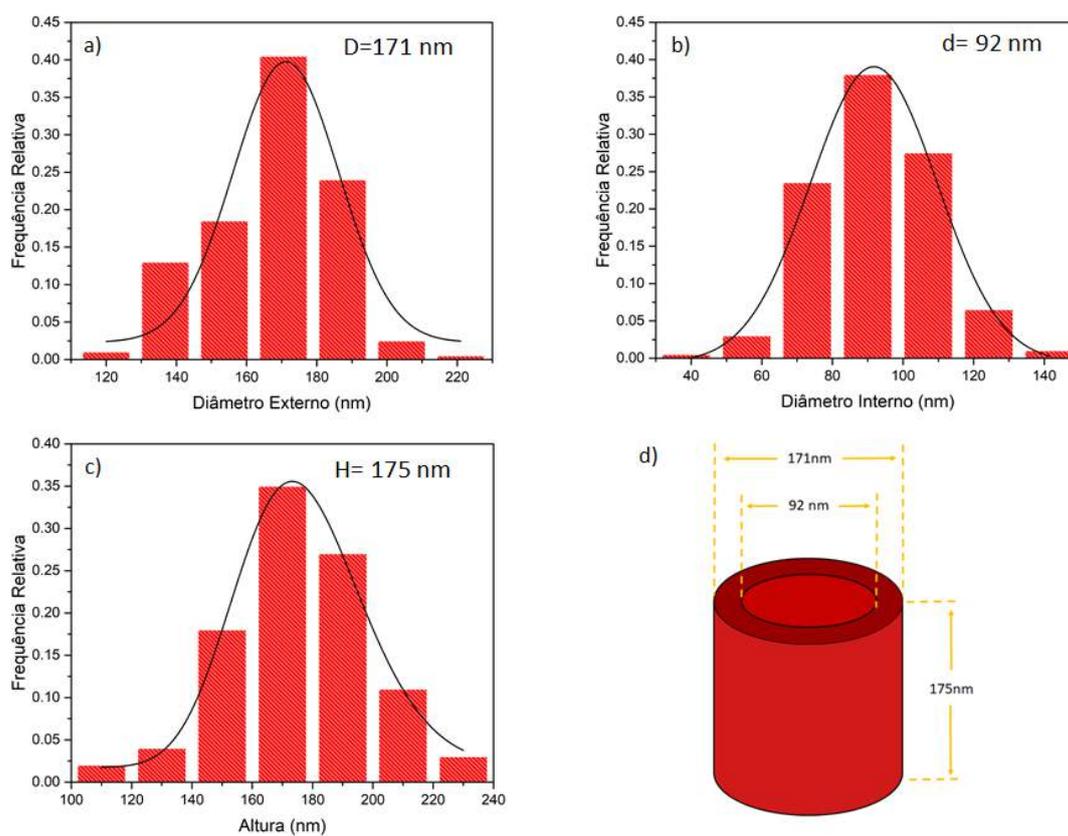


Figura 6.3: Distribuição de tamanho das partículas de hematita: a) diâmetro externo, b) diâmetro interno, c) altura, e) ilustração das dimensões dos nanoanéis.

obtidas da contagem de 100 partículas segmentadas. Os histogramas foram ajustados com as funções gaussianas. Em 6.3 a) temos o histograma correspondente ao diâmetro externo, cujo valor médio é de $D = 171nm$ e um desvio padrão $\sigma = 15nm$; o histograma em 6.3 b) corresponde ao diâmetro interno, com valor médio de $d = 92nm$ e $\sigma = 16nm$ e em 6.3 c) temos o histograma correspondente à altura, com valor médio $H = 175nm$ e $\sigma = 21nm$. A figura 6.3 d) mostra uma ilustração das dimensões médias do nanoanel. É importante destacar que na síntese hidrotérmica realizada, foi obtida uma razão de aspecto aproximadamente igual a um (ou seja, $\frac{D}{H} \cong 1$), em acordo com os trabalhos de Jia et al. [48] e Dias et al. [28], confirmando a eficiência da síntese hidrotérmica realizada.

6.2 Partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4$

Nesta seção apresentaremos as caracterizações das partículas de $\delta Fe - Fe_3O_4$ obtidas após o processo de redução das partículas de $\alpha - Fe_2O_3$.

6.2.1 Difração de Raios-X

As partículas de hematita reduzidas, como descritas na seção 4.2, foram caracterizadas por DRX, com o objetivo de estudar a formação das fases de ferro metálico e seus óxidos, assim como a porcentagem de cada uma delas presente na amostra. Na busca de uma partícula com maior porcentagem da fase de ferro metálico, a qual implicaria em uma potencial otimização SAR, foram feitas reduções em distintas condições. As figuras 6.4 e 6.6 mostram os difratogramas refinados com o fator de confiabilidade entre 1 e 1.5, correspondentes às amostras reduzidas em diferentes condições. As reflexões de Bragg e a indexação dos planos se encontram indicados na cor preta para a fase de **hematita**, azul para **magnetita** (estrutura espinélio invertido) e vermelho para o **ferro metálico** (estrutura bcc). Como foi dito na seção 5.1, a técnica de DRX não permite distinguir entre a magnetita e maghemita, porém, como será visto mais na frente (na seção 6.2.3), o óxido presente nestas amostras é a magnetita. Também é importante ressaltar que a fase de

wustita não foi encontrada em nenhum dos processos de redução.

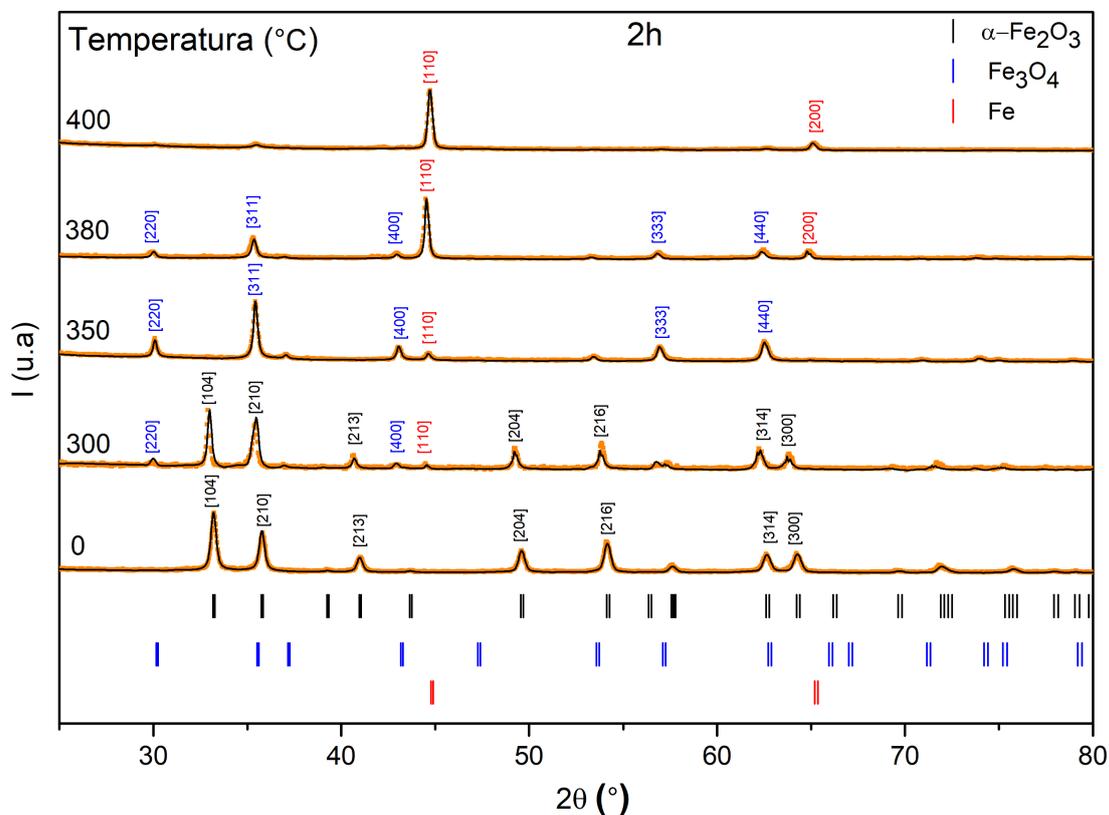


Figura 6.4: Difratogramas correspondentes às amostras reduzidas durante duas horas e distintas temperaturas.

Os difratogramas da figura 6.4 correspondem às reduções feitas durante duas horas em distintas temperaturas, partindo da fase de hematita, indicada com a temperatura zero. Na temperatura de 300 °C a maioria dos picos foram indexados como correspondendo à fase de hematita. Também se observa a formação da fase de magnetita e a presença de um pico correspondente à família de planos [110] do ferro metálico. Já nas reduções feitas a temperaturas maiores, não foi indexado nenhum pico com a fase da hematita e sim da magnetita (ou maghemita) e do ferro metálico; onde é possível observar que com o aumento da temperatura de redução, a intensidade do pico principal da fase de ferro metálico (família de planos [110]) aumenta, enquanto a intensidade dos picos corres-

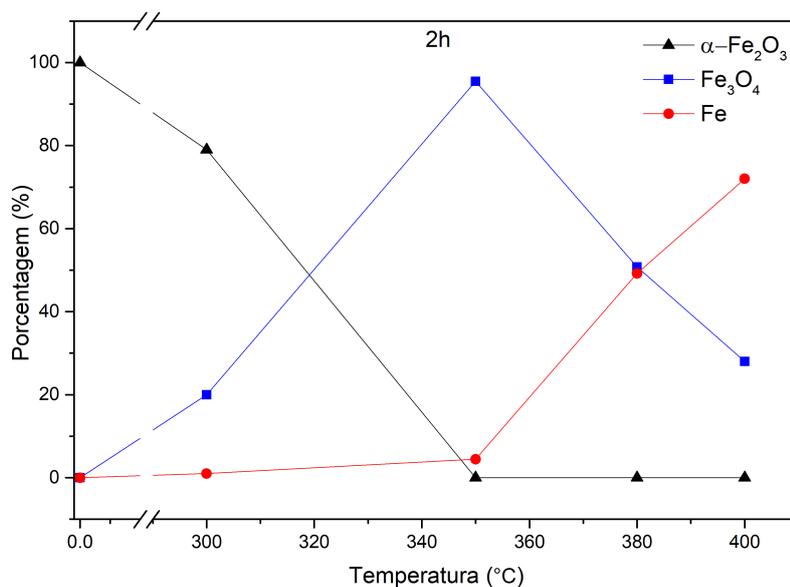


Figura 6.5: Porcentagem das fases de ferro metálico e seus óxidos formadas no processo de redução durante 2 horas à distintas temperaturas.

pondentes à magnetita (maghemita) diminuí. O refinamento dos difratogramas permitiu quantificar a porcentagem das distintas fases presentes nas amostras, após o processo de redução. Isto pode ser observado na figura 6.5, onde é ressaltado que na temperatura de 300°C, a presença da fase de hematita é ainda alta (80%), por tanto, a redução, nesta temperatura, durante 2h não é eficiente. Já um tratamento em uma temperatura de 350°C, a fase da hematita desaparece ao fim de 2 horas, sendo obtido quase 100 % de magnetita (maghemita), a qual, com o aumento da temperatura se reduz, formando ferro metálico. Finalmente, em uma temperatura de 400°C foi obtido aproximadamente 70 % da fase de ferro metálico, como desejado inicialmente. Portanto, foi decidido realizar um estudo mais detalhado da redução nesta temperatura. Para tanto, foi mantida a temperatura de redução constante e variado o tempo de redução.

Os difratogramas da figura 6.6 correspondem às reduções feitas numa temperatura de 400°C, partindo da hematita, a qual é indicada com tempo zero. Nesta temperatura, mesmo no tempo de redução mais curto estudado, isto é, 0.5 h, não foi indexado qualquer

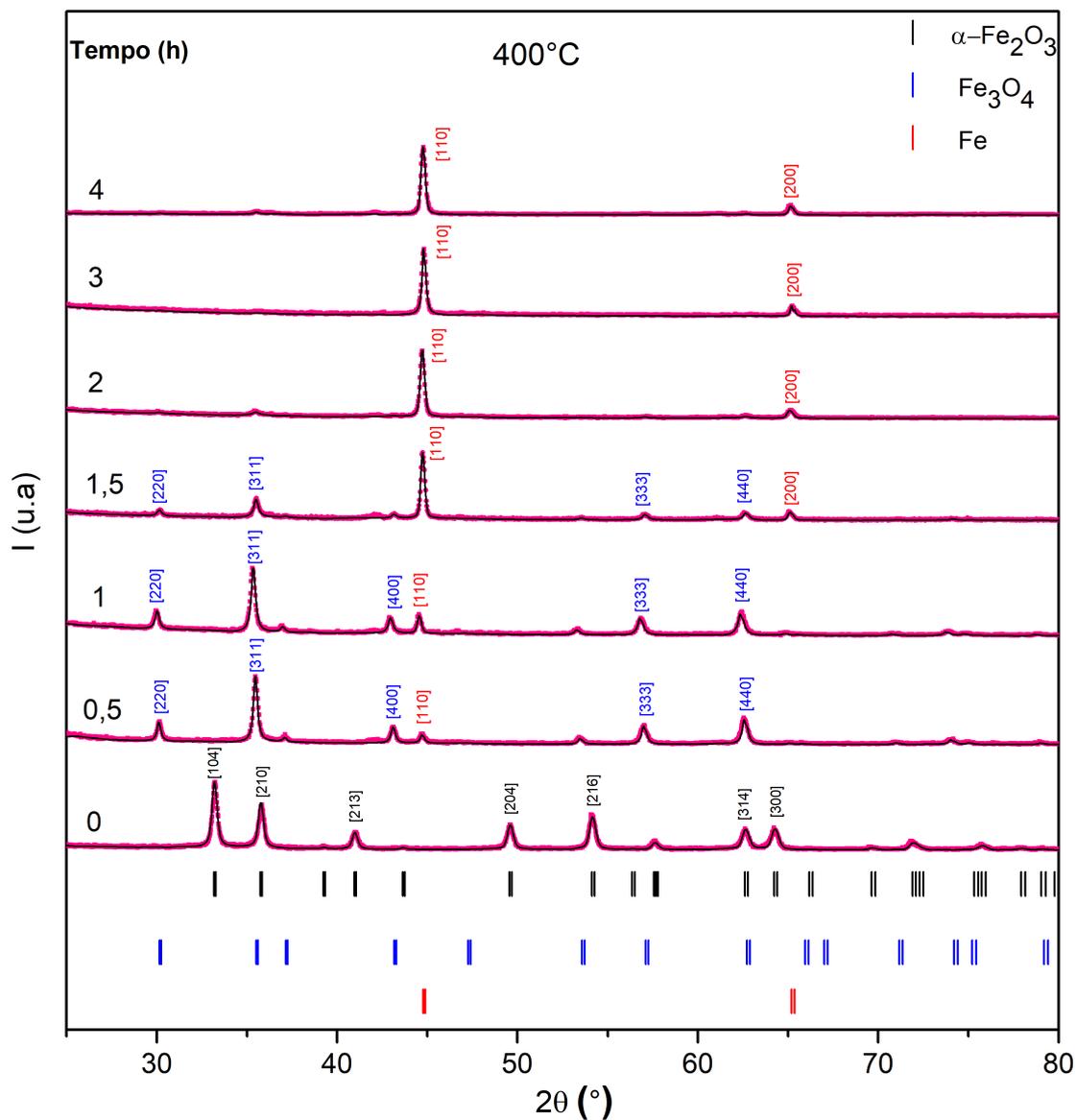


Figura 6.6: Difratogramas correspondentes às amostras reduzidas à 400°C durante distintos tempos.

pico referente à fase da hematita. Neste caso, a maioria dos picos correspondem à fase de magnetita (maghemita), com exceção de um pico indexado como a família de planos [110] do ferro metálico. Isto é importante pois nesta temperatura com um curto período de tratamento, já é observada a presença da fase de ferro metálico buscada. Novamente, com o aumento do tempo de redução, a intensidade do pico [110] do ferro metálico vai

aumentando, enquanto a intensidade dos picos da magnetita (maghemita) diminui. Num tempo de redução de $1.5h$, começa a aparecer a família de planos [200] também correspondente ao ferro metálico.

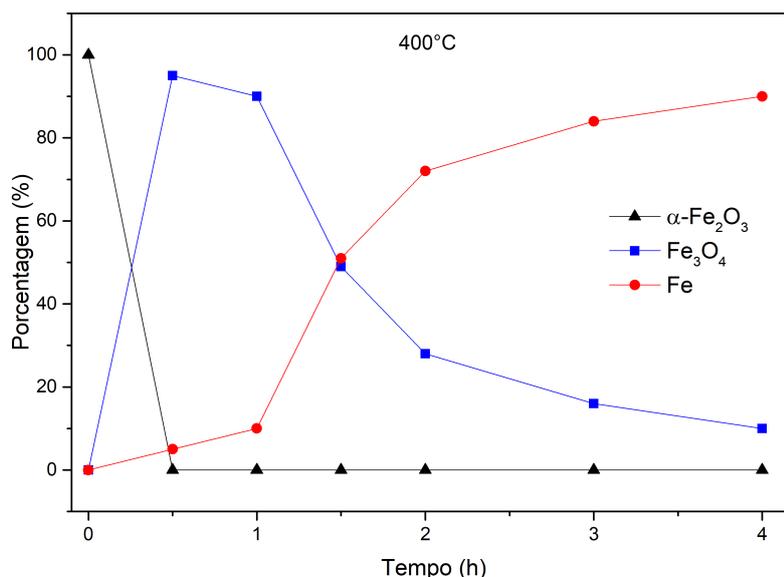


Figura 6.7: Porcentagem das fases de ferro metálico e seus óxidos formadas no processo de redução à 400°C durante distintos tempos.

A figura 6.7 mostra as porcentagens das distintas fases presentes nas amostras, após o processo de redução, em uma temperatura de 400°C , durante distintos tempos, obtidas a partir do refinamento dos difratogramas. Um dado interessante é, que nesta temperatura, com um tempo curto de tratamento térmico ($0.5h$) toda a hematita foi reduzida para magnetita (95%) (maghemita) e ferro metálico (5%). Com o aumento do tempo de tratamento térmico, a magnetita se reduz formando ferro metálico, chegando até 90 % em $4h$.

Sendo assim, é possível obter um sistema de nanopartículas com distintas porcentagens de magnetita (maghemita) e ferro metálico, (designados como $\delta\text{Fe} - \text{Fe}_3\text{O}_4$, onde δ indica a porcentagem da fase de ferro metálico). Para tanto, basta serem ajustados os parâmetros da redução (tempo ou temperatura) adequadamente.

6.2.2 Análise morfológica

Vários trabalhos anteriores que realizaram reduções de partículas de nanoanéis de hematita para magnetita, não observaram mudança na morfologia das amostras [48] [28]. Porém, ante a presença da fase de ferro metálico nas nossas amostras, foram realizadas imagens de MEV das partículas após o processo de redução. A imagem 6.8 a) corresponde às partículas de hematita e as imagens 6.8 b), c) e d) correspondem às amostras $\delta Fe - Fe_3O_4$, para δ igual a 20, 50 e 70%, respectivamente. Nelas, é possível observar que mesmo tendo uma alta porcentagem de ferro metálico, a morfologia de nanoanel é mantida. Isto é importante, pois, esta morfologia é indispensável para obtenção do comportamento de vórtice magnético.

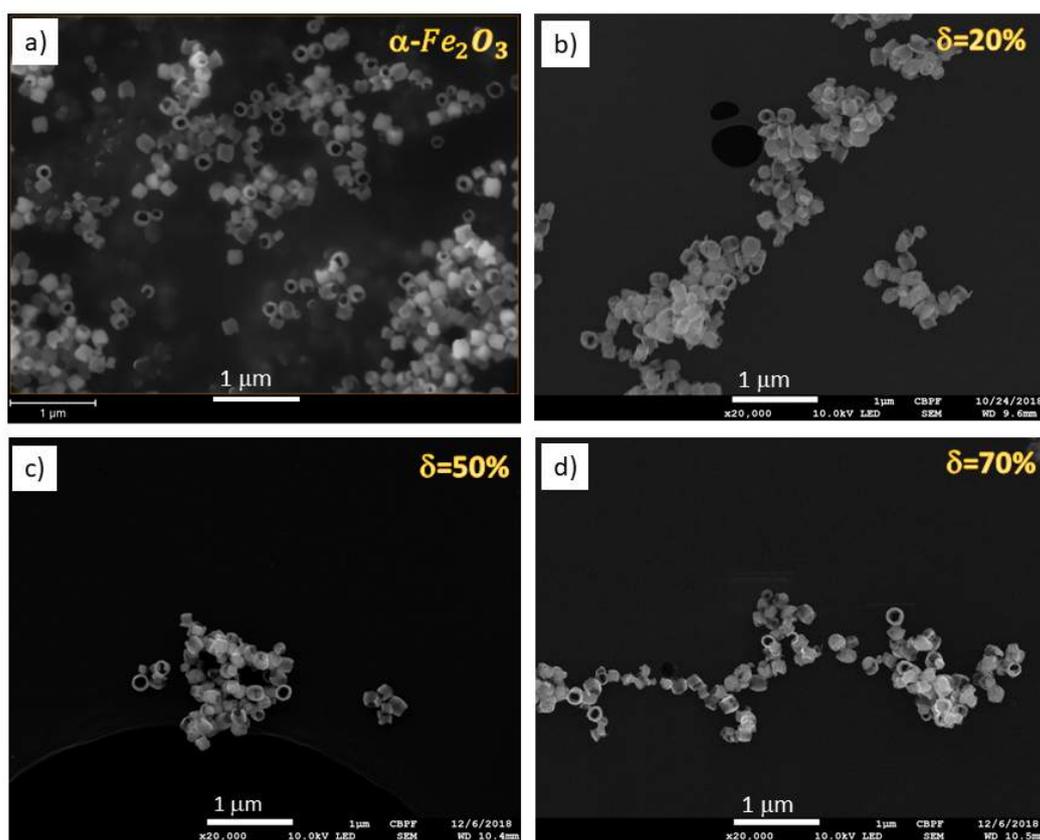


Figura 6.8: Comparação da morfologia das partículas antes (imagem a)) e depois do processo de redução. As imagens b), c) e d) correspondem às amostras com 20, 50 e 70 % da fase de ferro metálico respectivamente. Em todas elas a morfologia de nanoanel é mantida.

6.2.3 Análise dos espectros de XPS

A figura 6.9 mostra a deconvolução dos picos de XPS para as amostras com 10, 70 e 90% de ferro, respectivamente. Para as amostras com $\delta = 90\%$, a estrutura corresponde ao Fe $2p_{3/2}$. Esta estrutura foi ajustada com três picos. As energias de ligação dos dois primeiros picos foram 709,79 e 711,33 eV; os quais foram atribuídos aos estados de oxidação Fe^{2+} e Fe^{3+} , respectivamente. Estes estados de oxidação correspondem necessariamente à magnetita, visto que a maghemita não possui íons de Fe^{2+} . A energia de ligação do terceiro pico foi de 707,22 eV, atribuído ao estado de oxidação Fe^0 , que corresponde ao ferro metálico. Já o pico correspondente ao Fe $2p_{1/2}$ foi ajustado com picos cujas energias de ligação foram 723,48 e 724,90 eV, atribuídos aos estados de oxidação Fe^{2+} e Fe^{3+} , respectivamente.

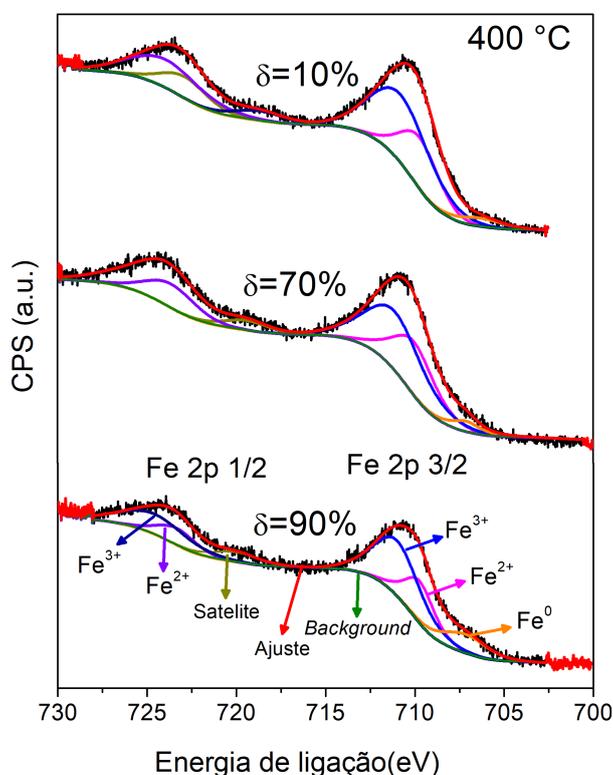


Figura 6.9: Espectros de XPS para as amostras com $\delta = 10, 70$ e 90%

Os valores dos ajustes dos picos para todas as amostras se encontram na tabela 6.2.

Tabela 6.2: Picos ajustados das medidas de XPS e suas respectivas energias de ligação.

Amostra	Pico ajustado	Energia de ligação (eV)	Composição
$\delta = 90\%$	Fe $2p_{\frac{3}{2}}$	709,79	Fe^{2+}
		711,33	Fe^{3+}
		707,22	Fe^0
	Fe $2p_{\frac{1}{2}}$	723,48	Fe^{2+}
		724,90	Fe^{3+}
$\delta = 70\%$	Fe $2p_{\frac{3}{2}}$	710,32	Fe^{2+}
		711,58	Fe^{3+}
		707,03	Fe^0
	Fe $2p_{\frac{1}{2}}$	724,17	Fe^{2+}
$\delta = 10\%$	Fe $2p_{\frac{3}{2}}$	710,33	Fe^{2+}
		711,58	Fe^{3+}
		706,47	Fe^0
	Fe $2p_{\frac{1}{2}}$	725,26	Fe^{2+}

Também foi possível estimar a porcentagem de cada uma destas fases (magnetita e ferro metálico), presentes na superfície das amostras. Na figura 6.10 é apresentada uma comparação entre as porcentagens de ferro metálico no volume da amostra (obtidas a partir dos refinamentos das medidas de DRX) e na superfície dela (obtidas a partir da deconvolução dos picos das medidas de XPS). O resultado que ressaltamos é aquele para a amostra com 90% de ferro no volume, dos quais só, aproximadamente, 15% destes se encontram na superfície. Em outras palavras, a maior parte da superfície das amostras é formada por magnetita, o que nos leva à concluir que as amostras são do tipo *core@shell*, onde o *core* (bulk) corresponde ao ferro e o *shell* (superfície) corresponde à magnetita. A partir disso, nomeamos as amostras como $\delta Fe@Fe_3O_4$. A quantificação da porcentagem de magnetita na superfície da amostra $90\%Fe@Fe_3O_4$ permitiu calcular a espessura superficial deste óxido, obtendo-se um valor de 8,24 nm. Em outras palavras, as amostras

$90\%Fe@Fe_3O_4$, apresentam um *core* de aproximadamente 63 nm e um *shell* de 8 nm .

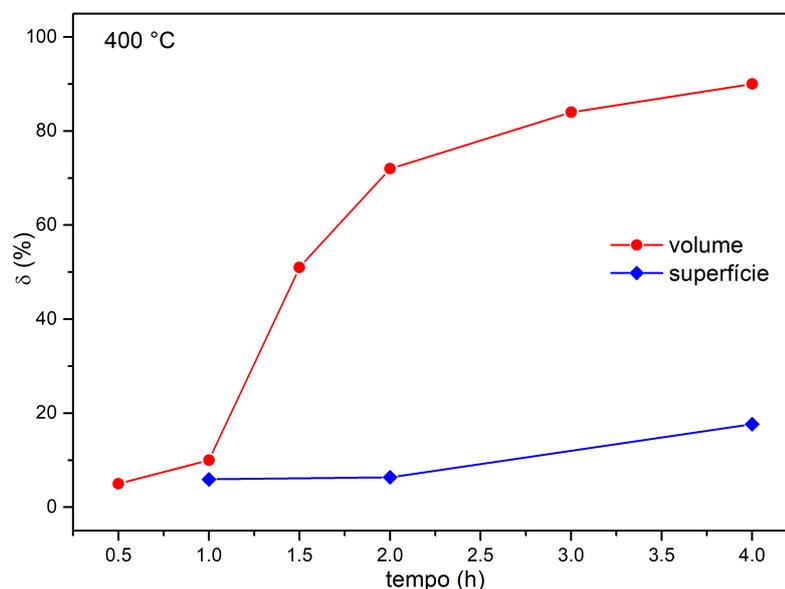


Figura 6.10: Comparação das porcentagens de ferro no volume e na superfície das amostras $\delta Fe@Fe_3O_4$

6.2.4 Ensaios *In vitro* das partículas $90\%Fe@Fe_3O_4$

Nesta seção apresentaremos os resultados dos ensaios de viabilidade celular realizadas em dois distintos tipos de células sob a presença das $90\%Fe@Fe_3O_4$.

6.2.4.1 Citotoxicidade das $90\%Fe@Fe_3O_4$ para as células HEK

A figura 6.11 mostra a viabilidade, em porcentagem, das células HEK, quando incubadas por 24 horas com nanopartículas $90\%Fe@Fe_3O_4$, com distintas concentrações. Estes resultados correspondem ao ensaio MTT, sendo as medidas realizadas em triplicata e a barra de erro correspondendo ao desvio padrão, em relação à média. É possível observar que, nas concentrações de 20 , 50 , 70 e $100\ \mu g/ml$, a viabilidade celular apresenta valores semelhantes ao grupo de controle negativo; já na concentração de $500\ \mu g/ml$, as partículas $90\%Fe@Fe_3O_4$ produzem uma morte celular significativa. Isto indica que, até uma concentração de $100\ \mu g/ml$, as partículas $90\%Fe@Fe_3O_4$ não são citotóxicas para

as células HEK.

A figura 6.12 mostra o mapeamento correspondente ao ensaio *live and dead* das células HEK. Nesta análise, a cor verde representa as células vivas (positivas à calceína) e a cor vermelha representa as células mortas (positivas ao etídio). Este mapeamento foi obtido após as células serem incubadas por 24 h com as nanopartículas 90%Fe@Fe₃O₄, numa concentração de 100µg/ml. As figuras a), b), c) correspondem ao controle positivo de morte celular, ou seja, todas as células se encontram mortas (mapeamento vermelho). Enquanto as figuras d), e), f) correspondem ao controle negativo de morte celular, ou seja, todas as células se encontram vivas (mapeamento verde). Já as figuras g), h), i) correspondem aos resultados da exposição das células HEK às partículas, onde se observa somente a fluorescência das células na cor verde, ou seja, todas elas se encontram vivas. Isto mostra que, na concentração utilizada, as partículas 90%Fe@Fe₃O₄ não foram capazes de produzir morte celular.

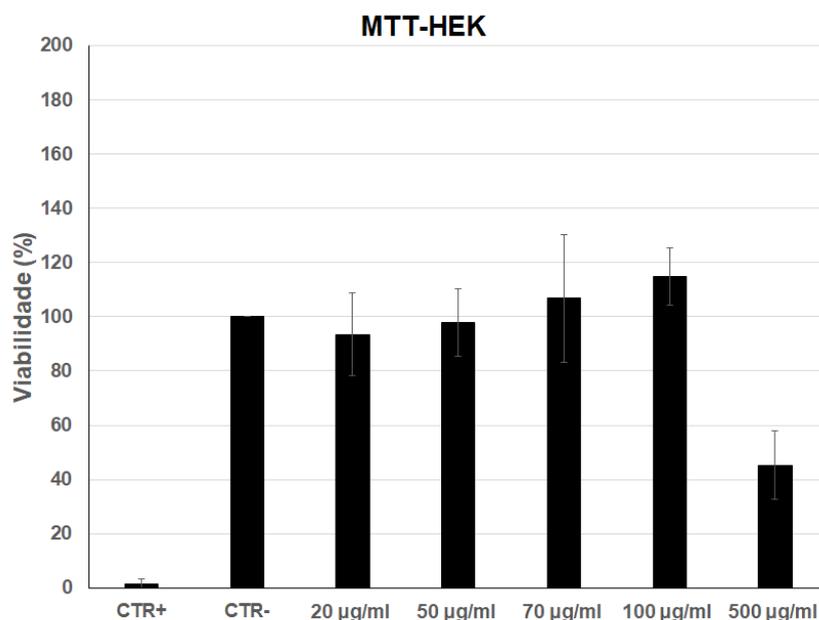


Figura 6.11: Viabilidade para as células HEK expostas às partículas 90%Fe@Fe₃O₄ durante 24 h.

Células vivas e mortas

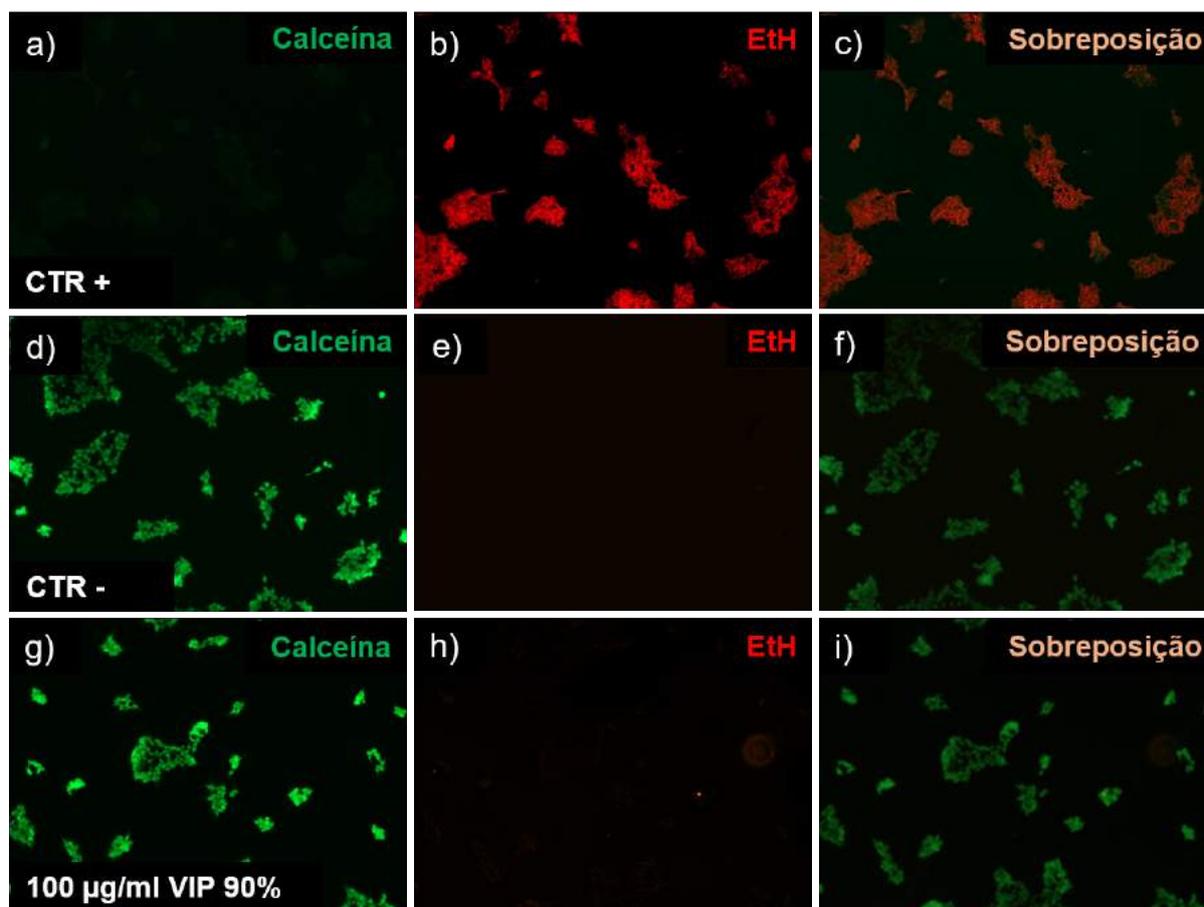


Figura 6.12: Mapeamento das células HEK vivas e mortas expostas às partículas 90% $Fe@Fe_3O_4$ numa concentração de $100\mu g/ml$ durante 24 h. As figuras a), b), c) correspondem ao controle positivo de morte celular enquanto as figuras d), e), f) correspondem ao controle negativo; as figuras g), h), i) correspondem aos resultados da exposição das células HEK às partículas 90% $Fe@Fe_3O_4$.

6.2.4.2 Citotoxicidade das $90\%Fe@Fe_3O_4$ para as células SAOS2

A figura 6.13 mostra a viabilidade, em porcentagem, das células SAOS2 incubadas por 24 horas com as nanopartículas $90\%Fe@Fe_3O_4$ em distintas concentrações. Estes resultados correspondem ao ensaio de MTT, no qual as medidas foram realizadas nas mesmas condições usadas para as células HEK. É possível observar que, neste caso, nenhuma das concentrações das partículas de $90\%Fe@Fe_3O_4$ foi capaz de induzir uma morte celular significativa, quando comparadas ao grupo de controle negativo.

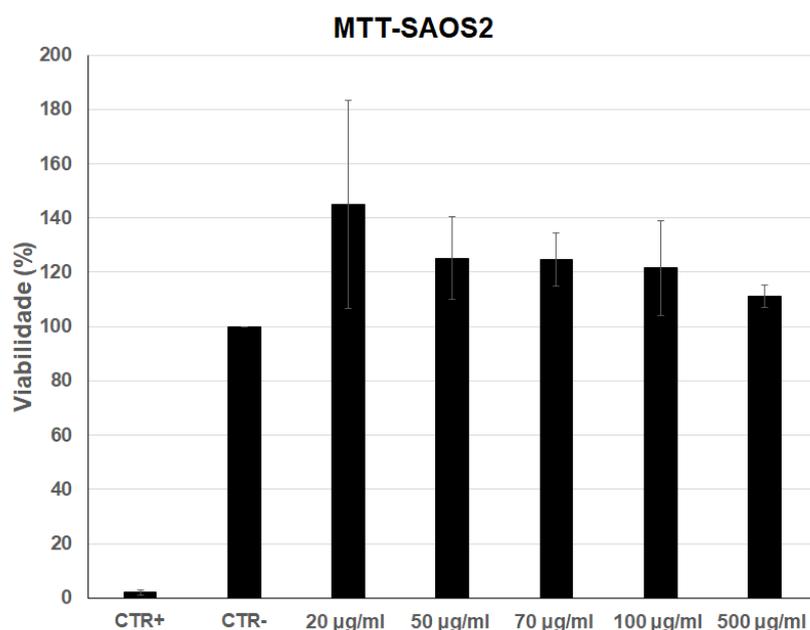


Figura 6.13: Viabilidade para as células SAOS2 expostas às partículas $90\%Fe@Fe_3O_4$ durante 24 h.

A figura 6.14 mostra o mapeamento correspondente ao ensaio *live and dead* das células SAOS2, após uma exposição de 24h às partículas $90\%Fe@Fe_3O_4$, numa concentração de $100\mu g/ml$. As figuras a), b), c) correspondem ao controle positivo de morte celular, enquanto as figuras d), e), f) correspondem ao controle negativo de morte celular. Já as figuras g), h), i) correspondem aos resultados da exposição das células SAOS2 às partículas $90\%Fe@Fe_3O_4$; nelas é possível observar que todas as células fluorescem na cor verde, ou

Células vivas e mortas

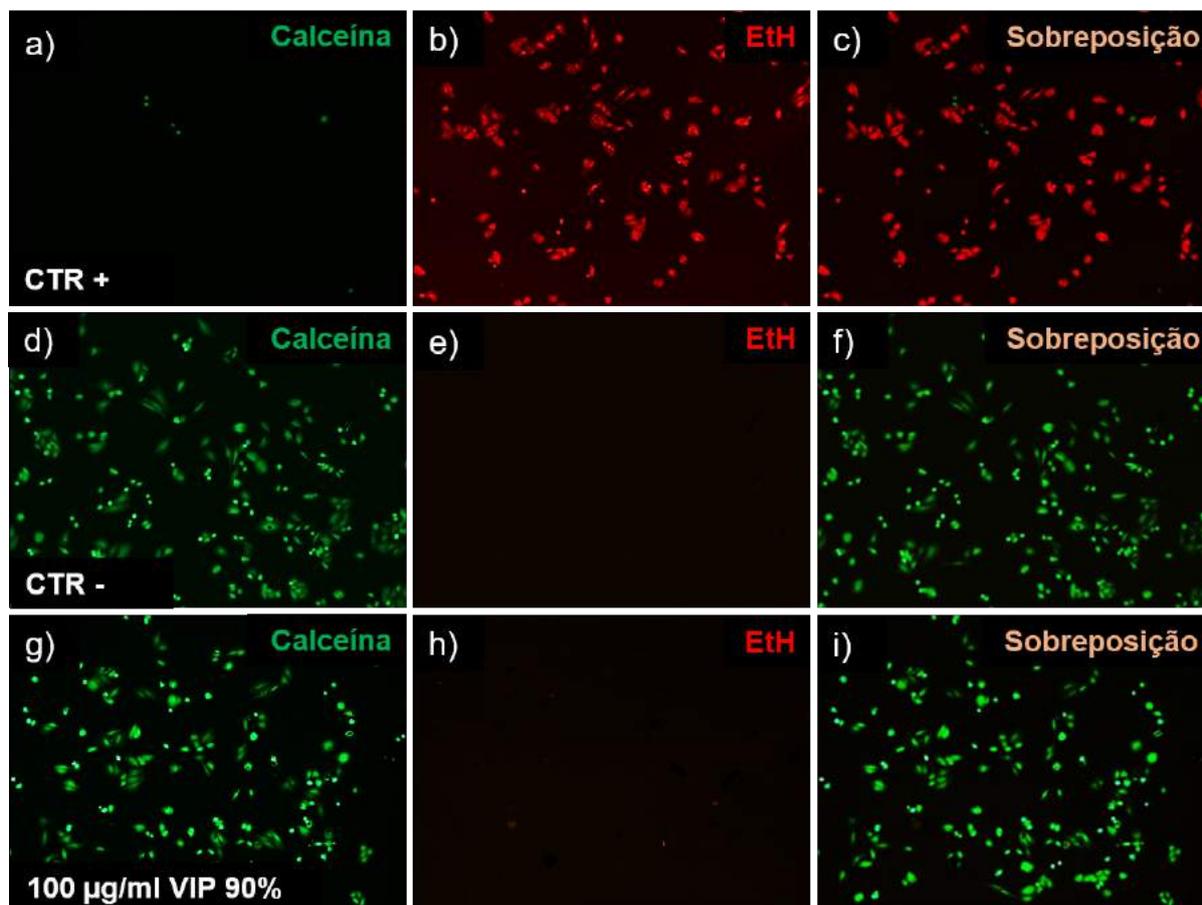


Figura 6.14: Mapeamento das células SAOS2 vivas e mortas expostas às partículas 90% $Fe@Fe_3O_4$ numa concentração de $100\mu g/ml$ durante 24h. As figuras a), b), c) correspondem ao controle positivo de morte celular enquanto as figuras d), e), f) correspondem ao controle negativo; as figuras g), h), i) correspondem aos resultados da exposição das células SAOS2 às partículas 90% $Fe@Fe_3O_4$ numa concentração de $100\mu g/ml$ durante 24h.

seja, todas elas se encontram vivas. Portanto, nas concentrações utilizadas, as partículas não foram capazes de produzir uma morte significativa das células SAOS2, quando comparado com o grupo de controle.

Os resultados apresentados nesta seção demonstram que, mesmo tendo partículas com 90% da fase de ferro metálico, elas não são citotóxicas. Este fato é atribuído à camada de magnetita presente na superfície dos nanoanéis. É sabido, como já discutido

nesse trabalho, que há uma alta biocompatibilidade da magnetita na morfologia esférica. Recentemente, no trabalho de Dias et al., foi igualmente demonstrada a mesma biocompatibilidade na morfologia de nanoanel [1]. Dentre todas as partículas sintetizadas neste trabalho, as $90\%Fe@Fe_3O_4$ tinham um maior potencial de serem citotóxicas, devido à alta porcentagem de ferro metálico, contudo, não produzem morte celular significativa. Espera-se que as partículas com $\delta < 90\%$ apresentem o mesmo comportamento não citotóxico, devido à sua maior camada superficial de magnetita. Em um outro resultado, os ensaios de viabilidade celular mostraram que as células SAOS2 são mais resistentes às nanopartículas $90\%Fe@Fe_3O_4$, que as células HEK (ver figuras 6.11 e 6.13). A não toxicidade destas partículas em relação a essas células permite que estas possam, de fato, ser aplicadas na nanomedicina. Sendo assim, foram feitos os experimentos de hipertermia *in vitro*, cujos resultados serão apresentados na seção 6.5.

6.2.5 Propriedades magnéticas

Com o objetivo de estudar algumas propriedades magnéticas das partículas $\delta Fe@Fe_3O_4$, foram realizadas medidas de magnetização em função do campo a temperatura ambiente, como mostrado na figura 6.15 a). Nesta figura são indicados os valores da M_s de cada amostra. Devido à magnetização de saturação do ferro metálico ($M_{sFe} = 220emu/g$) ser maior que a da magnetita ($M_{sFe_3O_4} = 90emu/g$), M_s das amostras desta série cresce linearmente com o aumento da fase do ferro, ou seja, em função do δ . Isto é apresentado na figura 6.15 b), sendo a linha pontilhada preta a magnetização de saturação teórica (M_s^{teo}), dada pela equação 5.2, os pontos verdes os dados experimentais, que foram ajustados linearmente com a curva vermelha. Estes resultados mostram que, de fato, é possível obter distintas curvas de histerese, sobretudo diferentes M_s^{exp} , variando a porcentagem relativa das fases presentes nas amostras. Por outro lado, como o SAR é proporcional à área da curva de histerese (equação 2.34), espera-se que o SAR aumente proporcionalmente ao aumento da M_s , ou em outras palavras, que o SAR aumente proporcionalmente à por-

centagem de ferro metálico presente nas amostras.

Também foi analisada a coercividade de algumas amostras, para $\delta = 5, 50$ e 84% , obtendo-se um valor de 198, 156 e 175 Oe, respectivamente, como mostrado na figura 6.16.

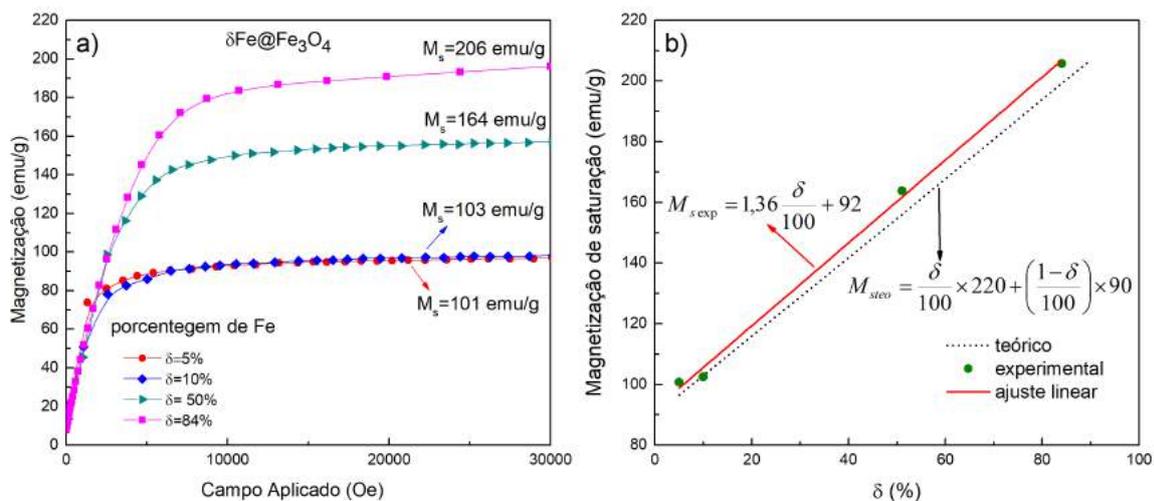


Figura 6.15: a) Curvas de magnetização em função do campo das partículas $\delta Fe@Fe_3O_4$ a temperatura ambiente; b) Comportamento linear da M_s em função da porcentagem da fase de ferro metálico presente nas amostras.

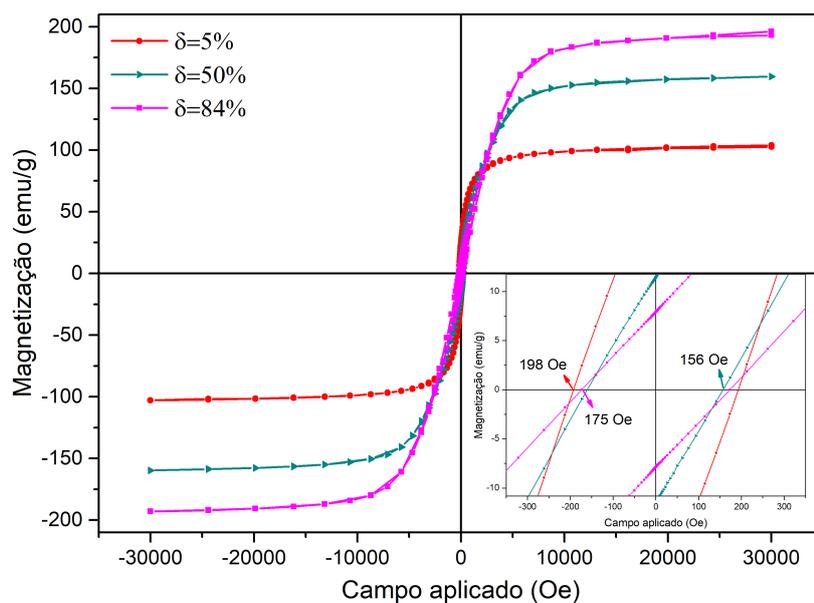


Figura 6.16: Curvas de histerese das partículas $\delta Fe@Fe_3O_4$, para $\delta = 5, 50$ e 84%

6.2.6 Absorção de Raios X

As medidas de XANES realizadas no LNLS (segundo a metodologia descrita na seção 5.7) permitiram acompanhar a dinâmica dos mecanismos químicos envolvidos no processo de redução da hematita. Como já descrito, os espectros de absorção de raios X foram medidos *in situ* durante a redução das amostras de hematita, numa temperatura de 400°C , durante $6h$. A mudança destes espectros pode ser observado na figura 6.17.

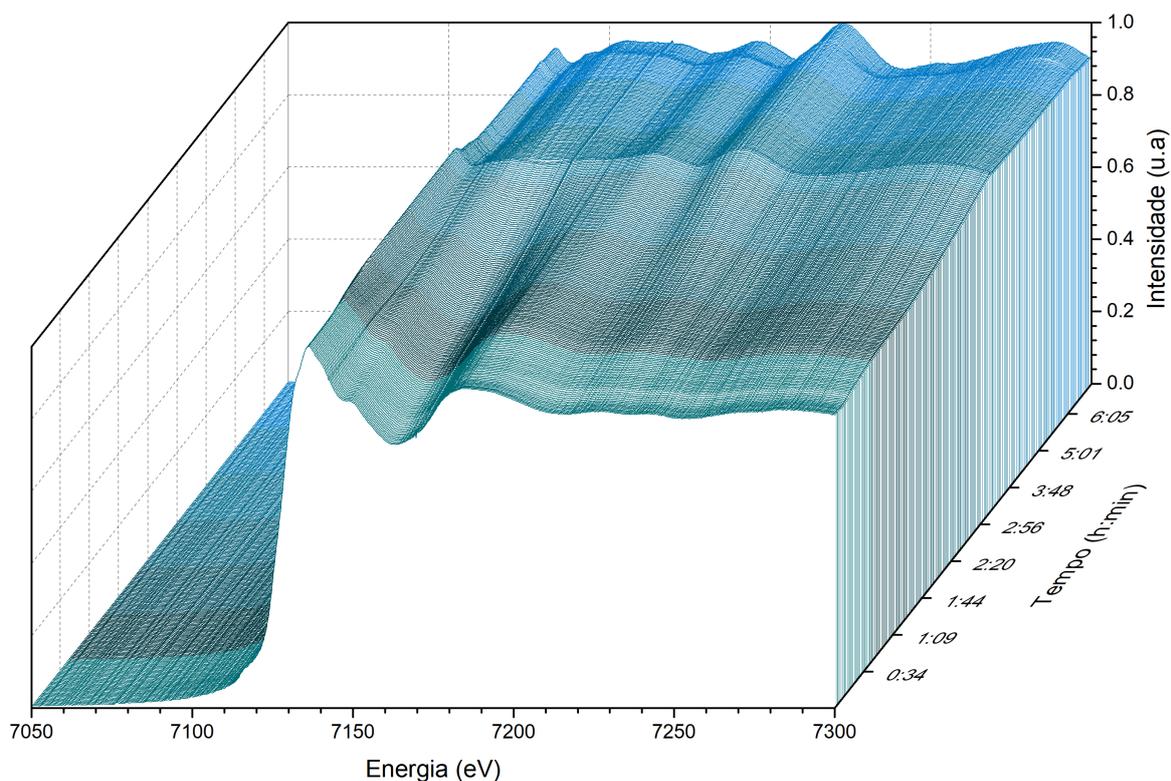


Figura 6.17: Espectros de absorção de raios X obtidos de maneira *in situ* durante a redução das partículas de hematita.

Mediante a análise destes espectros foi possível determinar a formação e quantificação de cada uma das fases de óxido de ferro ao longo do tempo. Estes resultados são apresentados na figura 6.18. As rampas de aquecimento e esfriamento estão indicadas pelas

regiões hachuradas, nos instantes iniciais e finais, respectivamente. Em acordo com as medidas de DRX *ex-situ* (realizadas no CBPF, descritas na seção 4.2 e cujos resultados foram discutido na seção 6.2.1), esta análise mostrou que já nos primeiros minutos de redução, ainda durante a rampa de aquecimento, a hematita foi quase que inteiramente reduzida, passando para a fase de magnetita. Curiosamente, os resultados indicam que a magnetita se reduz em wustite e maghemita. E finalmente, estas duas se reduzem parcial, ou quase totalmente, para a formação do ferro metálico. Sendo assim, o primeiro resultado importante é que o mecanismo de redução é o de três passos, como discutido na seção 4.2, ou seja, temos a formação da fase intermediária da wustite.

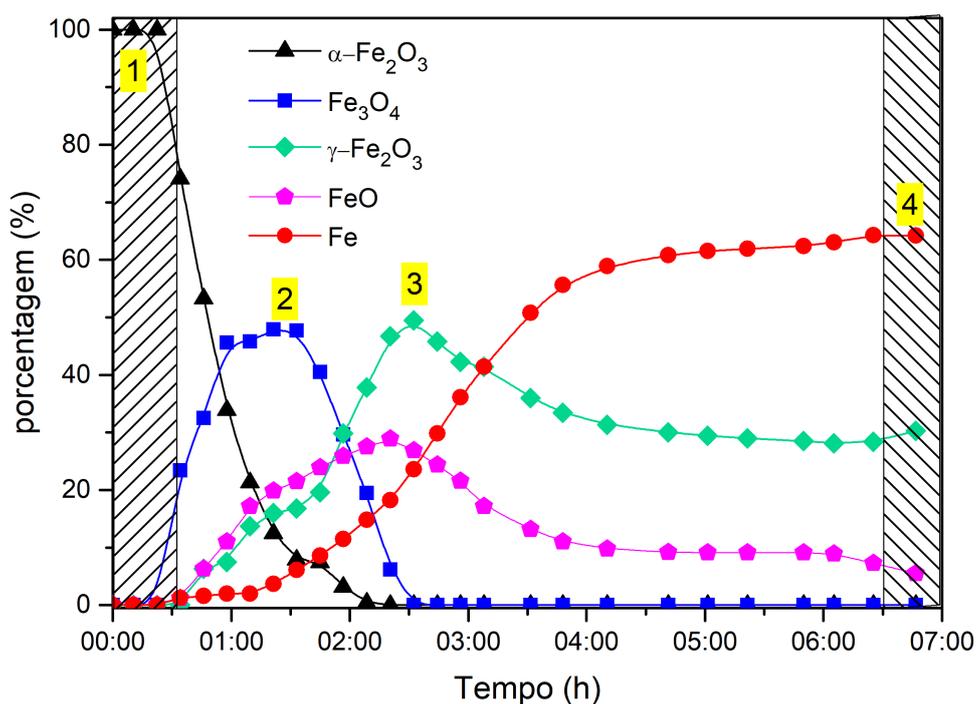


Figura 6.18: Quantificação das distintas fases formadas durante o processo de redução da hematita.

Em particular, ressaltamos que após 6h de redução, as principais fases obtidas foram de aproximadamente 70% de ferro metálico e 30% de maghemita. Este resultado difere

do obtido nos experimentos realizados no CBPF (descrito na seção 4.2 e cujo resultado foi discutido na seção 6.2.1), onde após de 4h de redução, a esta mesma temperatura, já foi obtido 90% da fase do ferro metálico. Esta diferença nas porcentagens é atribuída ao fato das concentrações do gás de H_2 utilizados nos experimentos terem sido diferentes, lembrando que nas reduções realizadas no CBPF a concentração foi de 10%. Já no LNLS, por questões de segurança da linha de luz, o máximo permitido é de apenas 5%, ou seja, a metade. Isto mostra que a concentração do gás é um parâmetro fundamental no processo de redução, o que concorda com a literatura [53]. Sendo assim, é esperado que nos experimentos realizados com uma maior concentração de H_2 , seja obtida uma maior porcentagem do ferro metálico.

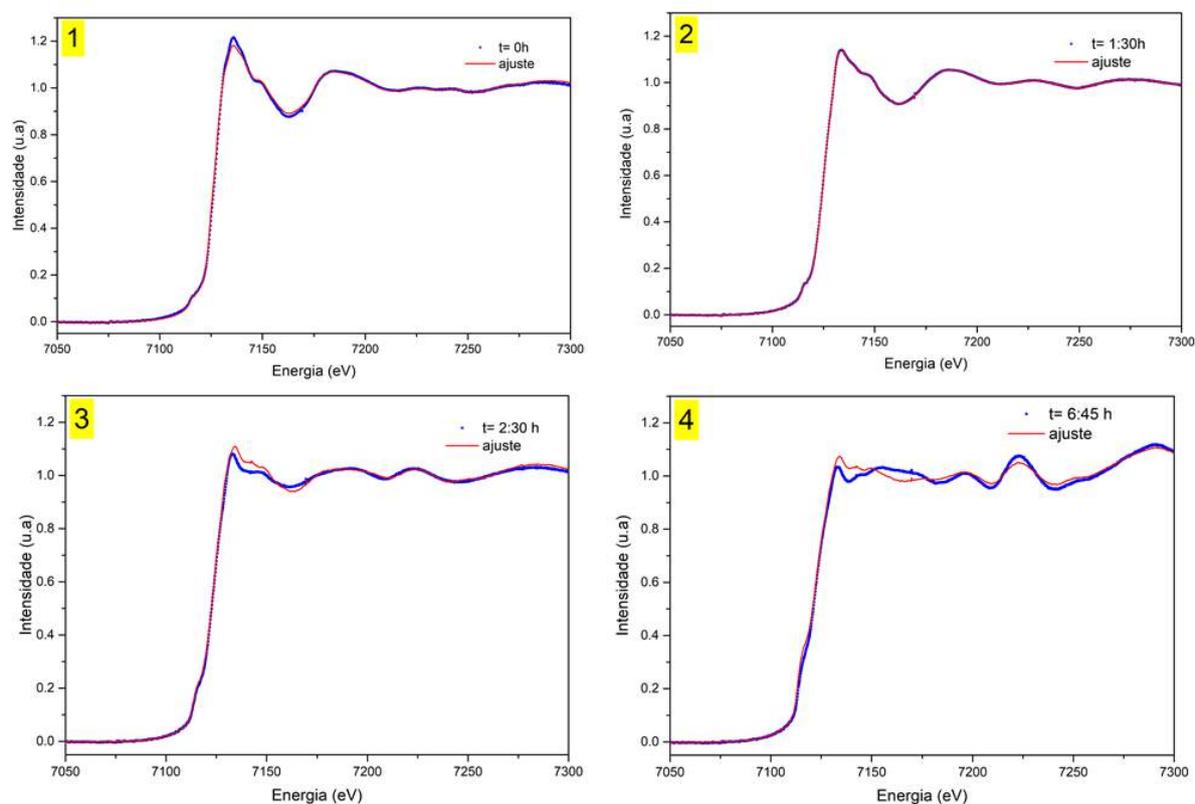


Figura 6.19: Espectros de XANES ajustados correspondentes a distintas regiões de interesse durante o processo de redução *in situ*

Na figura 6.18 se encontram ressaltadas em amarelo e enumeradas algumas regiões

consideradas as mais importantes durante o processo de redução: 1) o início, onde é mostrado que o experimento partiu de uma fase pura da hematita; 2) após 1 : 30h de redução, onde se tem um máximo da magnetita; 3) após 2 : 30h de redução onde se tem uma mistura das fases de maghemita, wustite e ferro metálico; 4) onde se observa o máximo da fase do ferro metálico. Os espectros analisados destas regiões de interesse são mostrados na figura 6.19, onde podem ser constatados que as combinações lineares dos espectros das amostras padrão, ajustam relativamente bem os espectros obtidos durante a dinâmica.

6.3 Partículas de $\delta Fe@Fe_3O_4$ recobertas com SiO_2

Nesta seção serão apresentadas as análises realizadas nas partículas sintetizadas como descritas na seção 4.3 e que permitem confirmar a eficiência do recobrimento.

6.3.1 Análise morfológica

Com o objetivo de analisar o crescimento da camada de sílica (SiO_2) na superfície das partículas de $\delta Fe@Fe_3O_4$, foram feitas imagens de MET e mapeamento de EDS das amostras, antes e depois do recobrimento realizado como descrito na seção 4.3. Na figura 6.20 temos o mapeamento de EDS das partículas $50\% Fe@Fe_3O_4$, onde a cor vermelha corresponde ao elemento ferro (figura 6.20 b)) e a cor azul (6.20 c)) corresponde ao oxigênio. Este mapeamento mostra que, os nanoaneis estão compostos pelos elementos Fe e O .

Já na figura 6.21, temos o mapeamento de EDS da mesma amostra após o recobrimento, onde adicionalmente é possível observar o mapeamento correspondente ao silício na cor amarela (6.21 d)), o qual se encontra distribuído de maneira homogênea em toda a superfície da amostra, o que indica a formação da camada de SiO_2 .

Na imagem de TEM da figura 6.22 a) é possível observar a formação da camada de

sílica tanto na superfície externa como interna da partícula de $50\%Fe@Fe_3O_4$, mantendo o furo no meio e recobrando-a totalmente; a figura 6.22 b) mostra a natureza amorfa da sílica, que tem uma espessura uniforme de 4 nm . Sendo assim, foi possível sintetizar uma nova partícula *core – shell*, cujo *core* é o nanoanel de $50\%Fe@Fe_3O_4$ e sendo o *shell* a sílica. Este resultado também foi obtido no recobrimento da partícula de $5\%Fe@Fe_3O_4$, mantendo-se a mesma espessura da sílica.

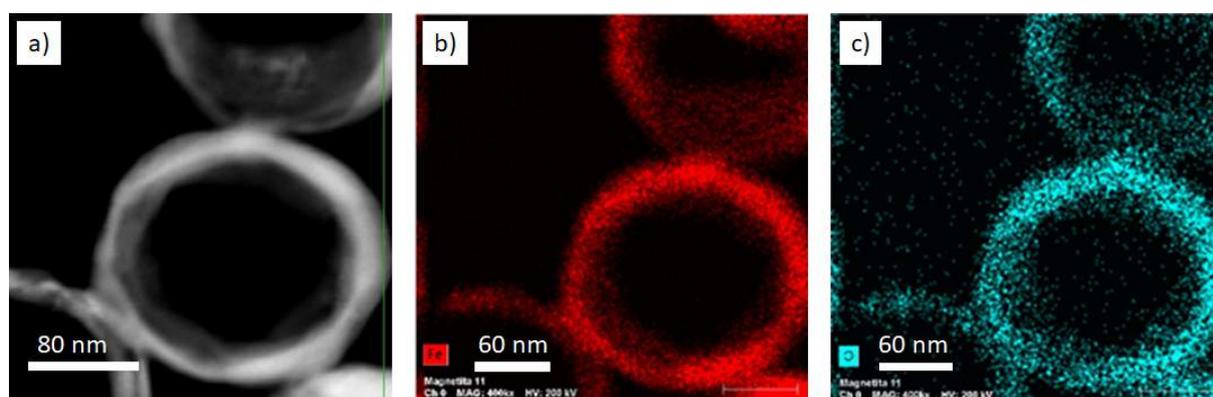


Figura 6.20: Mapeamento de EDS da partícula $50\%Fe@Fe_3O_4$: a) imagem de MET da partícula na qual foi feito o mapeamento de EDS; b) a cor vermelha corresponde ao ferro e c) em azul o oxigênio.

6.3.2 Propriedades magnéticas

Com a finalidade de comparar o valor da magnetização de saturação das partículas antes e depois do recobrimento com sílica, foram realizadas medidas de magnetização em função do campo a temperatura ambiente das partículas $\delta Fe@Fe_3O_4@SiO_2$. Na figura 6.23 se observa que para as partículas com $\delta = 50\%$, a magnetização de saturação caiu de 164 emu/g para 92 emu/g . Já para as partículas com $\delta = 5\%$, a magnetização de saturação caiu de 101 emu/g para 42 emu/g . Este fato é atribuído à presença da camada da sílica diamagnética na superfície das partículas, que não contribui na magnetização. O resultado mais ressaltante desta medida é que, para $\delta = 50\%$, mesmo tendo uma amostra recoberta com sílica, recuperamos um valor de M_s que é aproximadamente igual ao valor da magnetita pura ($M_{sFe_3O_4} = 90\text{ emu/g}$). Portanto, as partículas $50\%Fe@Fe_3O_4@SiO_2$

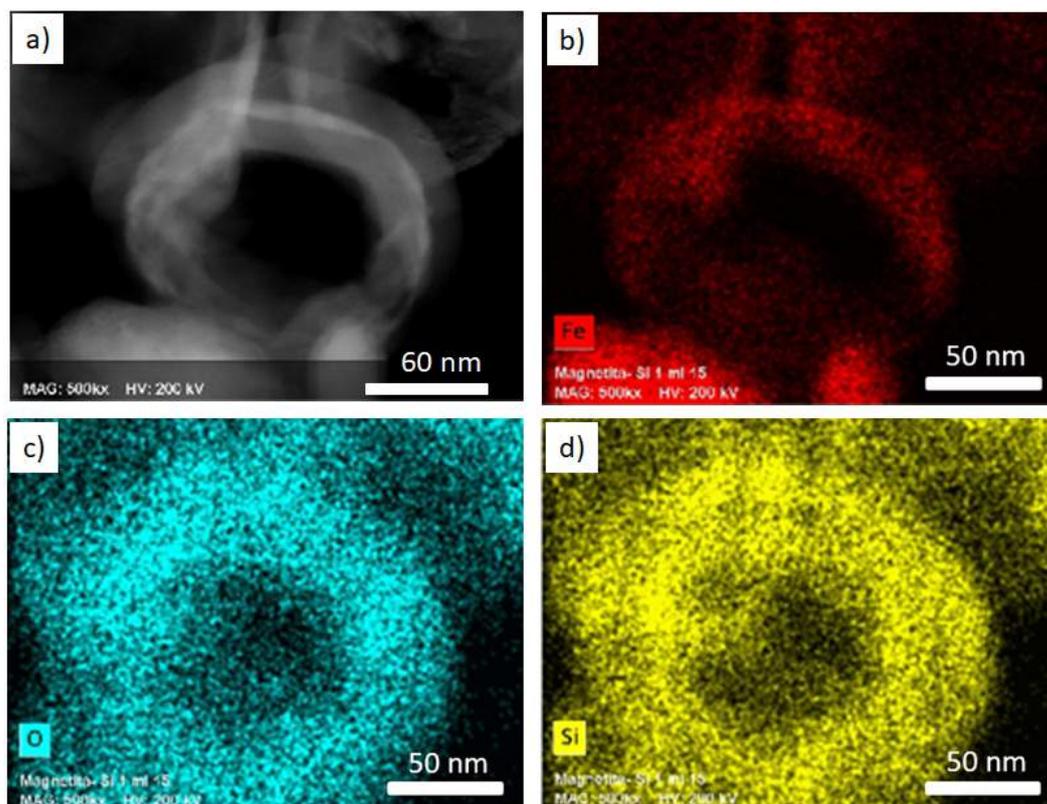


Figura 6.21: Mapeamento de EDS da partícula $50\%Fe@Fe_3O_4@SiO_2$: a) imagem de MET da partícula na qual foi feito o mapeamento de EDS; b) a cor vermelha corresponde ao ferro; c) em azul o oxigênio e d) em amarelo o silício.

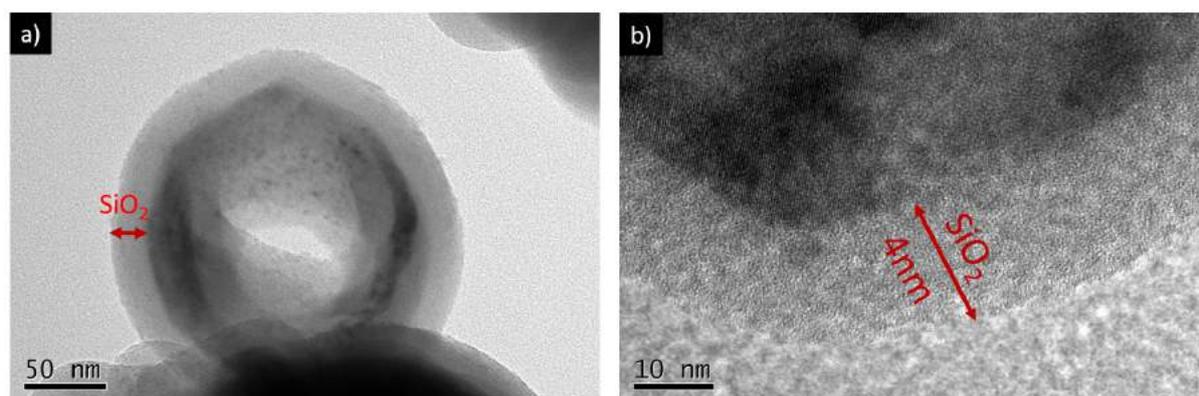


Figura 6.22: Imagem de MET das partículas $50\%Fe@Fe_3O_4@SiO_2$: em a) é possível observar a homogeneidade da camada da sílica na superfície do nanoanel, mantendo o furo no meio e b) imagem de alta resolução mostrando a natureza amorfa da sílica e sua espessura de 4 nm .

são promissoras para aplicações como separação magnética.

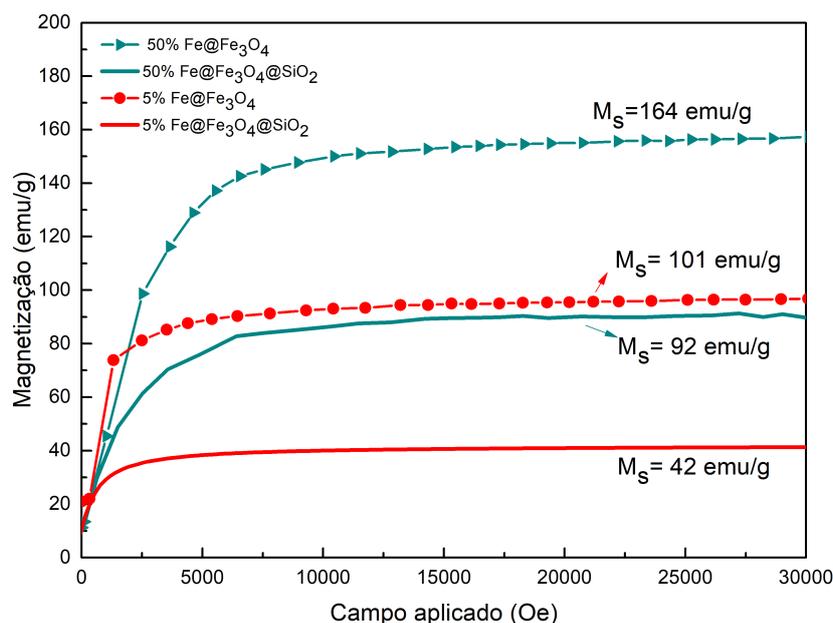


Figura 6.23: Comparação da magnetização em função do campo para as amostras $\delta Fe@Fe_3O_4$ e $\delta Fe@Fe_3O_4@SiO_2$, com δ sendo 5% e 50%

6.4 Comparação dos comportamentos magnéticos entre partículas com morfologia de anel e esférica

Nesta seção será comparado o comportamento magnético dos nanoanéis (sintetizadas neste trabalho) com o de partículas esféricas. As partículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONs) de 35 nm de diâmetro, foram fornecidas pelo grupo da professora Priscilla Finotelli da UFRJ.

De modo a fazer referência ao comportamento magnético das partículas, renomeamos os nanoanéis $\delta Fe@Fe_3O_4$ como $VIP\delta$. Já para as partículas recobertas com sílica, damos os nomes de $VIP\delta@SiO_2$ e $SPION@SiO_2$, respectivamente.

A figura 6.24 mostra a comparação das curvas de histerese entre os dois sistemas, onde se observa que as $VIP5\%$ têm maior magnetização de saturação. Quanto à coercividade, as SPIONs têm um H_c quase nulo, característico do seu estado superparamagnético; já a

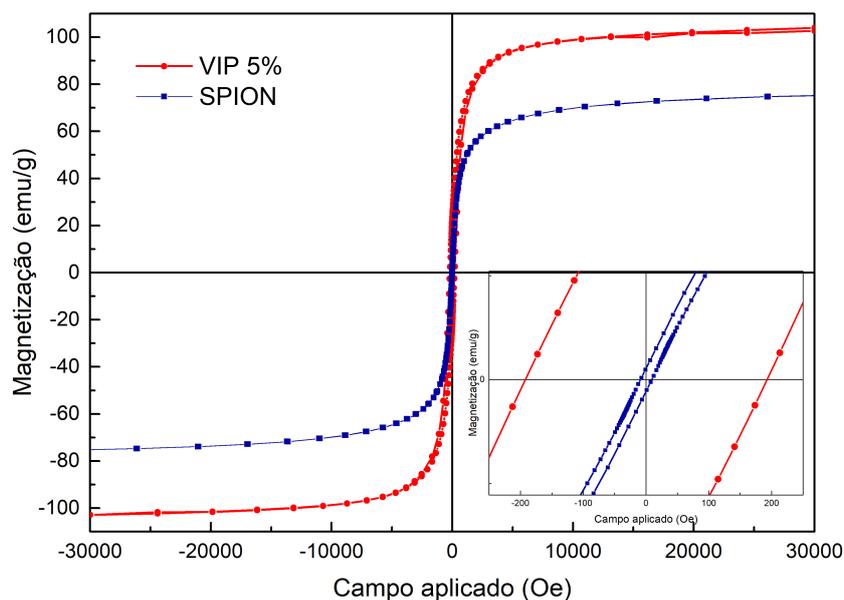


Figura 6.24: Comparação das curvas de histerese das partículas VIP5% e SPIONs

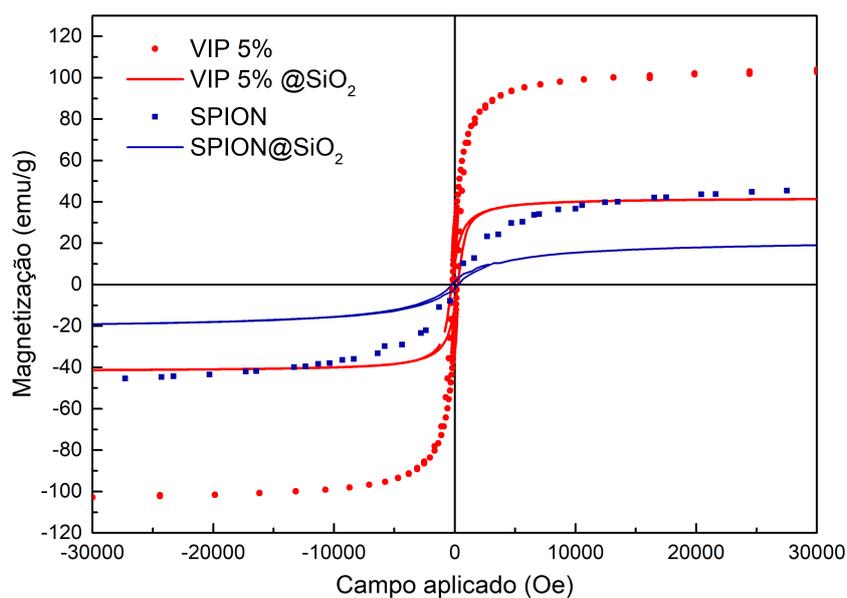


Figura 6.25: Comparação das curvas de histerese das partículas VIP5% e SPIONs, antes e depois do recobrimento com sílica

coercividade das VIP5% é bem maior, tendo um valor de 198 Oe, como foi mostrado na seção 6.2.5.

Uma outra comparação interessante, é o da magnetização de saturação entre as partículas

com distintas morfologias, antes e depois do recobrimento com sílica, como se observa na figura 6.25. O resultado mais ressaltante desta medida é que, para as $VIP5\%@SiO_2$ (linha vermelha) temos uma magnetização de saturação igual às SPIONs sem recobrimento (pontos azuis). Em outras palavras, nos nanoanéis com pouca porcentagem de ferro e tendo a camada da sílica na superfície, recuperamos a magnetização de saturação de uma partícula esférica de óxido de ferro (magnetita ou maghemita). Já as partículas $SPION@SiO_2$ têm uma magnetização de saturação muito baixa, de aproximadamente 20 emu/g , o que não é desejável para aplicações como separação ou hipertermia magnética.

6.5 Hipertermia magnética

As medidas de hipertermia magnética foram realizadas como descritas na seção 5.6, utilizando as partículas com morfologia de nanoanel $VIP\delta$ e partículas esféricas cuja composição química também é ferro-magnetita, as quais nomeamos $SPION\delta$. Estas últimas também foram fornecidas pelo grupo da professora Priscila Finotelli da UFRJ, e possuem 35 nm de diâmetro.

A figura 6.26 mostra a curva de aquecimento durante a medida de hipertermia num campo de 300 Oe e 300 kHz de frequência durante 180 s ; a figura 6.27 mostra os valores do SAR obtidos em função da porcentagem da fase de ferro metálico presente em cada amostra. É possível observar que entre as partículas do grupo $SPION\delta$, a que tem maior potencial de aquecimento é a $SPION70\%$ (figura 6.26 curva azul) gerando um $SAR = 946W/g$, enquanto o SPIONs convencional gera um $SAR = 468W/g$, ou seja, o valor do SAR acompanha o aumento da fase de ferro metálico; este resultado concorda com os encontrados na literatura [39] [40]. Entre as partículas do grupo $VIP\delta$, a que tem maior potencial de aquecimento é a $VIP5\%$ (figura 6.26, curva laranja) gerando um $SAR = 1139W/g$, entretanto, a partícula com menor potencial de aquecimento é a $VIP70\%$ com um $SAR = 615W/g$. A figura 6.27 mostra que para as partículas $VIP\delta$, o valor do SAR

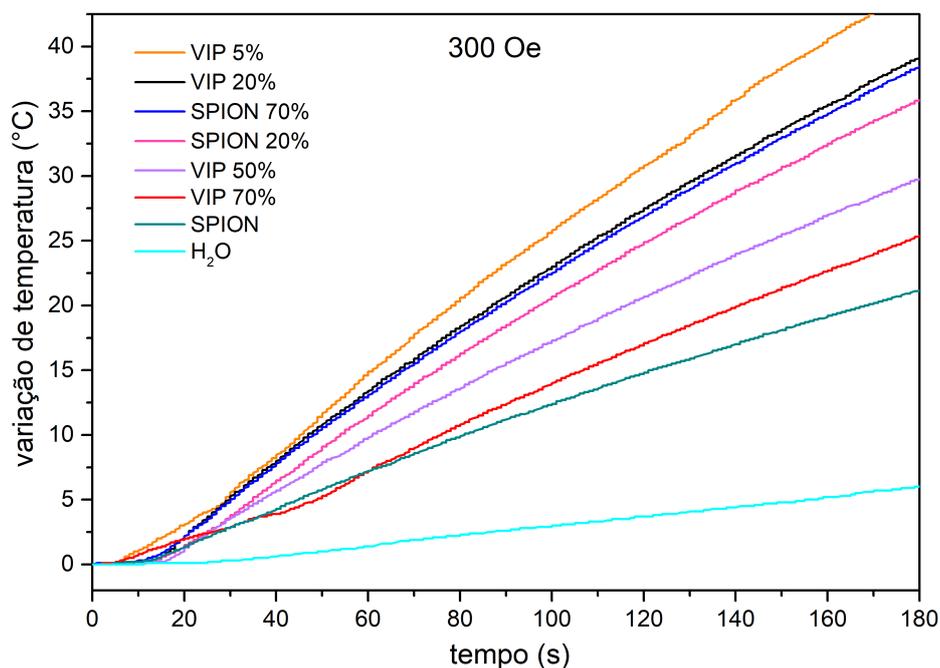


Figura 6.26: Medidas de hipertermia magnética realizadas num campo magnético de 300 Oe e 300kHz de frequência.

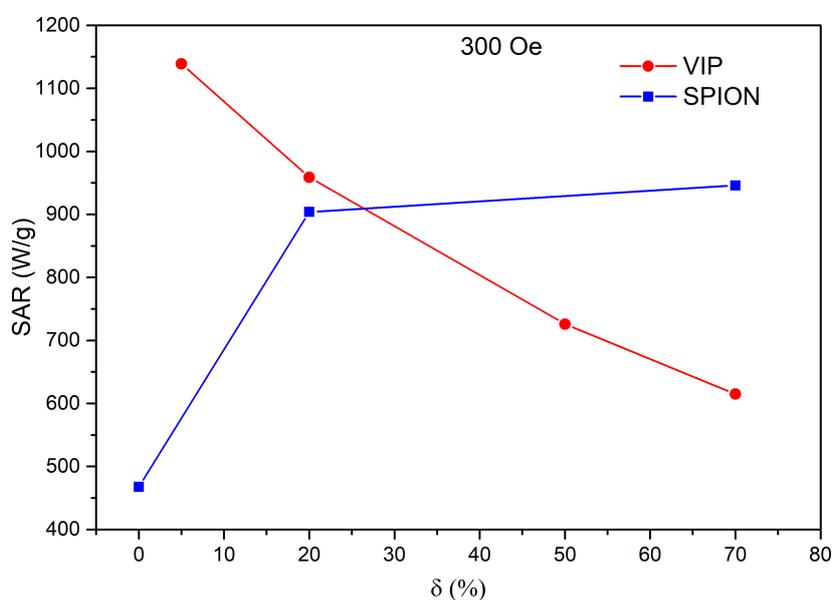


Figura 6.27: Comparação dos valores de SAR para as partículas do grupo $VIP\delta$ e $SPION\delta$ num campo de 300Oe e 300kHz de frequência.

diminui com o aumento da fase de ferro metálico, contrário ao resultado esperado e ao que acontece com as $SPION\delta$.

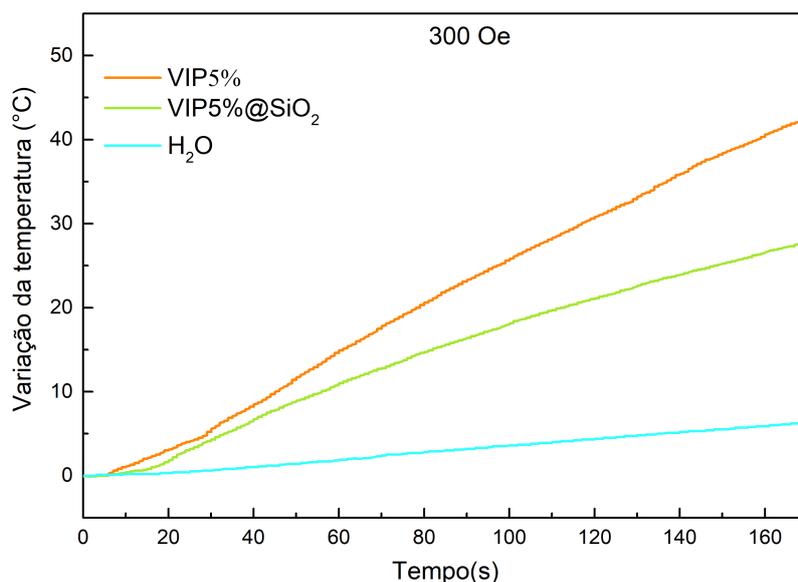


Figura 6.28: Medidas de hipotermia magnética realizadas num campo magnético de 300Oe e 300kHz de frequência para as partícula *VIP5%* e *VIP5%@SiO₂*

Por outro lado, é importante ressaltar que, quando comparamos a *VIP5%* com as *SPION δ* , a primeira tem um maior potencial de aquecimento, mesmo tendo uma menor quantidade da fase de ferro metálico, como se observa na figura 6.27, este comportamento é atribuído a perdas por histerese, fazendo com que a *VIP5%* seja a partícula mais eficiente. A partir disto, foi realizada a medida de hipotermia magnética nas partículas *VIP5%@SiO₂*, cuja curva de aquecimento se mostra na figura 6.28 e que gerou um SAR de 693 *W/g*, ou seja, devido ao recobrimento, o SAR diminuiu num valor de 60%, o que concorda com a diminuição da M_s para a amostra recoberta. É importante ressaltar que a partícula *VIP5%@SiO₂* gerou um SAR maior do que uma SPIONs convencional, mesmo tendo a camada da sílica diamagnética na superfície, o que faz que as VIPs sejam mais eficientes para aplicação em hipotermia magnética.

Capítulo 7

Conclusões e perspectivas futuras

Neste trabalho foram sintetizadas nanopartículas com morfologia de nanoanéis com composição química $\delta Fe@Fe_3O_4$ (*ferro@magnetita*). O processo da síntese consistiu em duas etapas: a primeira, uma síntese hidrotérmica de nanoanéis de hematita ($\alpha - Fe_2O_3$), seguida da sua redução formando o sistema $\delta Fe@Fe_3O_4$.

Para o desenvolvimento destas duas etapas foi necessário o desenho e confecção de dois tipos de reatores. Para a primeira etapa, o reator teria que ser capaz de suportar altas temperaturas, ao mesmo tempo, devia fornecer altas pressões na síntese hidrotérmica, o que foi atingido utilizando um copo de teflon coberto com um copo de aço inox. A esse tipo de reator dá-se o nome de hidrotérmico. Neste reator foram sintetizadas as partículas de hematita, cuja morfologia de nanoanéis e sua razão de aspecto (razão entre a altura e o diâmetro externo do anel) foi determinada pela adsorção de íons de fosfato (PO_4^{-3}) e sulfato (SO_4^{-2}) na superfície dos íons férricos (Fe^{3+}). Neste trabalho foi escolhido trabalhar com concentrações relativas de fosfato e sulfato que possibilitasse a obtenção de nanoanéis, cuja razão de aspecto seja próxima de 1, ou seja, um sistema tal que a altura seja aproximadamente igual ao diâmetro externo dos nanoanéis.

Para a etapa seguinte, também foi projetado e desenvolvido um segundo reator. Este

consistiu num tubo de vidro com uma placa porosa, de modo que as partículas de hematita possam ser permeadas pelo gás de H_2 enquanto são aquecidas por meio de um forno. As amostras foram submetidas a tratamentos térmicos em distintas condições, onde foram variados o tempo de tratamento e a temperatura. Após estes tratamentos os nanoanéis de hematita terminaram por ser reduzidos a $\delta Fe@Fe_3O_4$, onde δ é a concentração de Fe em uma nanopartícula. A variação dos parâmetros de tratamento permitiu a obtenção de partículas com distintas porcentagens de cada uma das fases, ou seja, possibilitou que pudesse ser selecionado um determinado valor de δ , de forma reprodutível.

A análise de DRX das partículas obtidas na síntese hidrotérmica confirmou a formação de uma fase pura de hematita. As análises das imagens de MEV conformaram sua morfologia de nanoanel, além da análise de distribuição de tamanho de cada uma das amostras. Outro dado importante obtido da microscopia eletrônica foi a confirmação da razão de aspecto igual a um, ou seja, a razão altura dos nanoanéis e seu diâmetro externo ser igual a um, como desejado.

O refinamento Rietveld dos difratogramas correspondentes às amostras reduzidas, em diferentes condições de tratamento térmico, mostraram a formação das fases de ferro metálico e o óxido de ferro (maghemita ou magnetita), em distintas porcentagens. Por ser uma medida *bulk*, a análise de DRX, pode somente confirmar a possibilidade de sintetizar sistemas que possuam diferentes percentuais de Fe e óxido de ferro. Um outro resultado interessante é que, embora os parâmetros de rede do Fe metálico e da hematita sejam bem diferentes, imagens de MEV mostraram que as amostras continuam tendo a mesma morfologia de nanoanéis após o processo de redução, ainda que em grandes proporções de Fe metálico. Mesmo no caso de reduções severas, onde foi determinado por DRX que o percentual de Fe metálico era da ordem de 90%, análises de XPS mostraram que a superfície dos nanoanéis é composta, majoritariamente, por magnetita, ou seja, o

percentual de Fe_3O_4 na superfície é de $\approx 85\%$ (ou ≈ 15 ou concentração de Fe^0). Como o XPS é uma técnica extremamente sensível à superfície, esse resultado leva a concluir que efetivamente as amostras são do tipo *core@shell*, onde o *core* corresponde ao ferro metálico e o *shell* à magnetita.

Visando às aplicações biomédicas e, sabendo que segundo a literatura a magnetita é biocompatível, nos levou a formular a hipótese de que as partículas $\delta Fe@Fe_3O_4$ também seriam biocompatíveis devido à sua camada de magnetita na superfície. Isto foi confirmado nos ensaios de viabilidade celular para as células de linhagem renal HEK e para as de tecidos ósseo SAOS2, os quais mostraram que, novamente mesmo, as partículas com 90% de ferro metálico não são citotóxicas. Portanto, espera-se que partículas com menor porcentagem de ferro metálico, em outras palavras, com uma camada superficial maior de magnetita, também sejam biocompatíveis.

A análise das propriedades magnéticas do sistema demonstrou ser possível obter distintos tipos de curvas de histerese, simplesmente variando as porcentagens relativas das fases de ferro metálico e magnetita, ou seja, variando δ . Isto se traduz em que, um dado conjunto de parâmetros no processo de redução (tempo e temperatura), implicará em um determinado δ , que por sua vez, determinará as propriedades magnéticas do sistema, e consequentemente a forma de sua curva de histerese. Isto é devido ao fato de que o ferro metálico tem uma magnetização de saturação maior do que da magnetita, portanto para o sistema $\delta Fe@Fe_3O_4$, a magnetização de saturação aumenta linearmente com a porcentagem da fase do ferro metálico.

Com o objetivo de compreender a dinâmica do processo de redução das partículas de hematita, foram realizadas medidas de XANES *in situ* na linha de luz DXAS do LNLS. A análise dos espectros de absorção mostrou a dinâmica da redução, permitindo conhecer

as fases dos óxidos de ferro formadas durante todo o processo. Ao comparar os processos de redução realizados na linha de luz DXAS com o realizado no CBPF, se observou que no segundo experimento foi obtida uma maior quantidade porcentual da fase de ferro metálico, o que foi atribuído à utilização de um fluxo de gás de H_2 mais concentrado. Isto se mostrou um parâmetro fundamental na dinâmica de redução da hematita [53].

No que diz respeito ao segundo objetivo deste trabalho, ou seja, no recobrimento dos nanoanéis $\delta Fe@Fe_3O_4$ com um material não magnético, mas que seja facilmente funcionalizável. Foi escolhida a sílica (SiO_2) para essa finalidade. Imagens de MET e o mapeamento por EDS demonstraram que é possível recobrir estas partículas com uma camada homogênea de sílica (SiO_2) e ainda manter a morfologia dos nanoanéis, obtendo assim uma partícula $\delta Fe@Fe_3O_4@SiO_2$. Em relação às propriedades magnéticas destas novas partículas, foi observada a queda da magnetização de saturação; este é um resultado esperado devido à presença da sílica diamagnética na superfície das amostras. Em particular, foi observado que a magnetização de saturação das partículas $50\% Fe@Fe_3O_4@SiO_2$ é maior que a de uma partícula de magnetita com morfologia esférica. Isto faz com que as $50\% Fe@Fe_3O_4@SiO_2$ sejam promissoras para aplicações como separação magnética.

Voltando ao foco de aplicações biomédicas, foram realizadas as medidas de hipertermia magnética nas amostras com a mesma composição química $\delta Fe@Fe_3O_4$ e cujas morfologias foram tanto nanoanéis, quanto esféricas, visando a comparar o efeito morfológico. A partir deste ponto, o primeiro grupo de amostra foi denominado de $VIP\delta$ (nanoanéis) e o segundo foi nomeado como $SPION\delta$ (esferas). Nestes experimentos, era esperado que o SAR gerado pelas $VIP\delta$ fosse maior do que o gerado pelos $SPION\delta$ (considerando sempre uma comparação entre amostras com a mesma porcentagem da fase do ferro metálico). Porém, isto não foi observado, já que o SAR do grupo $VIP\delta$ diminuiu com o aumento da fase do ferro metálico, no entanto o SAR das $SPION\delta$ aumentou. Infelizmente, neste

trabalho não foi possível determinar a razão da queda do SAR com o aumento da fase do ferro metálico nas amostras $VIP\delta$, e formulamos a hipótese da sua relação com a coercividade dinâmica das partículas, que passa a ser um campo que deve ser explorado no futuro.

No entanto, ao comparar o maior SAR obtido no grupo $SPION\delta$ (com $\delta = 70\%$) com o maior SAR obtido no grupo $VIP\delta$ (com $\delta = 5\%$), o segundo conjunto de nanopartículas mostrou-se mais eficiente. Já as partículas $VIP5\%@SiO_2$ apresentaram um valor menor do SAR quando comparadas ao mesmo grupo de partículas sem recobrimento, este fato é atribuído à camada de sílica na superfície, que por ser não magnética não contribui na geração do SAR . Por outro lado, as partículas $VIP5\%@SiO_2$ geraram um SAR maior do que a $SPION$. Com isto fica evidente que a morfologia de nanoanel é mais eficiente para a hipertermia magnética do que a esférica, mesmo tendo uma partícula recoberta com um material não magnético.

Perspectivas

As perspectivas para trabalhos futuros, o primeiro passo consistiria na confecção de um reator do processo de redução maior, onde possa ser sintetizada uma maior quantidade de amostra, já que atualmente somente é possível a síntese de aproximadamente 30 mg, que é uma quantidade muito pequena para ter um bom controle das propriedades das amostras.

O segundo passo consistiria num estudo mais detalhado da coercividade dinâmica das partículas $\delta Fe@Fe_3O_4$, o que permitirá entender seu mecanismo de perdas de energia quando submetidas a um campo magnético externo. Isto facilitaria mais ainda a previsão de mais e mais aplicações.

O terceiro passo seria a funcionalização das partículas $\delta Fe@Fe_3O_4@SiO_2$, que pos-

sam outorgar a elas um caráter de vector, de modo a cumprir uma determinada função exclusivamente sob a ação de estímulos externos como o campo magnético.

Devido ao fato das partículas *VIP5%* terem mostrado a maior eficiência na hipertermia magnética, podem ser pensadas análises mais avançadas destas amostras em sistemas biológicos, como por exemplo, o estudo da sua internalização celular através de técnicas como crio-microscopia.

Referências Bibliográficas

- [1] Carlos SB Dias, Talita DM Hanchuk, Heberton Wender, Willian T Shigeyosi, Jörg Kobarg, André L Rossi, Marcelo N Tanaka, Mateus B Cardoso, and Flávio Garcia. Shape tailored magnetic nanorings for intracellular hyperthermia cancer therapy. *Scientific Reports*, 7(1):14843, 2017.
- [2] Stephanie Tran, Peter-Joseph DeGiovanni, Brandon Piel, and Prakash Rai. Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. *Clinical and Translational Medicine*, 6(1):44, 2017.
- [3] Patrick Boisseau and Bertrand Loubaton. Nanomedicine, nanotechnology in medicine. *Comptes Rendus Physique*, 12(7):620–636, 2011.
- [4] Pui Yan Lee and Kenneth KY Wong. Nanomedicine: a new frontier in cancer therapeutics. *Current Drug Delivery*, 8(3):245–253, 2011.
- [5] Jinjun Shi, Alexander R Votruba, Omid C Farokhzad, and Robert Langer. Nanotechnology in drug delivery and tissue engineering: from discovery to applications. *Nano Letters*, 10(9):3223–3230, 2010.
- [6] Abolfazl Akbarzadeh, Mohammad Samiei, and Soodabeh Davaran. Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties, and applications in biomedicine. *Nanoscale Research Letters*, 7(1):144, 2012.

- [7] Yuanyuan Ma, Tianxiang Chen, Muhammad Zubair Iqbal, Fang Yang, Norbert Hampp, Aiguo Wu, and Liqiang Luo. Applications of magnetic materials separation in biological nanomedicine. *Electrophoresis*, 40:2028–2019, 2019.
- [8] Boubker Mehdaoui, Anca Meffre, Julian Carrey, Sébastien Lachaize, Lise-Marie Lacroix, Michel Gougeon, Bruno Chaudret, and Marc Respaud. Optimal size of nanoparticles for magnetic hyperthermia: a combined theoretical and experimental study. *Advanced Functional Materials*, 21(23):4573–4581, 2011.
- [9] RR Wildeboer, P Southern, and QA Pankhurst. On the reliable measurement of specific absorption rates and intrinsic loss parameters in magnetic hyperthermia materials. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 47(49):495003, 2014.
- [10] Sergey P Gubin. *Magnetic nanoparticles*. John Wiley & Sons, 2009.
- [11] Bashar Issa, Ihab Obaidat, Borhan Albiss, and Yousef Haik. Magnetic nanoparticles: surface effects and properties related to biomedicine applications. *International journal of Molecular Sciences*, 14(11):21266–21305, 2013.
- [12] Byeong-Su Kim, Jiao-Ming Qiu, Jian-Ping Wang, and T Andrew Taton. Magnetomicelles: composite nanostructures from magnetic nanoparticles and cross-linked amphiphilic block copolymers. *Nano Letters*, 5(10):1987–1991, 2005.
- [13] Chen-Wen Lu, Yann Hung, Jong-Kai Hsiao, Ming Yao, Tsai-Hua Chung, Yu-Shen Lin, Si-Han Wu, Szu-Chun Hsu, Hon-Man Liu, Chung-Yuan Mou, et al. Bifunctional magnetic silica nanoparticles for highly efficient human stem cell labeling. *Nano Letters*, 7(1):149–154, 2007.
- [14] Hye Young Lee, Doo Ri Bae, Ji Chan Park, Hyunjoon Song, Won Seok Han, and Jong Hwa Jung. A selective fluoroionophore based on bodipy-functionalized magne-

- tic silica nanoparticles: removal of pb2+ from human blood. *Angewandte Chemie*, 121(7):1265–1269, 2009.
- [15] Quentin A Pankhurst, J Connolly, SK Jones, and J Dobson. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 36(13):R167, 2003.
- [16] Liu Xiao-Li, Yang Yong, Wu Jian-Peng, Zhang Yi-Fan, Fan Hai-Ming, and Ding Jun. Novel magnetic vortex nanorings/nanodiscs: Synthesis and theranostic applications. *Chinese Physics B*, 24(12):127505, 2015.
- [17] Alberto Passos Guimarães. *Magnetism and magnetic resonance in solids*. Wiley, 1998.
- [18] Alberto P. Guimarães. *Principles of nanomagnetism*. Springer, second edition, 2009.
- [19] Rochelle M Cornell and Udo Schwertmann. *The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses*. John Wiley & Sons, 2003.
- [20] Sergey P Gubin. *Magnetic nanoparticles*. John Wiley & Sons, 2009.
- [21] Georgia C Papaefthymiou. Nanoparticle magnetism. *Nano Today*, 4(5):438–447, 2009.
- [22] William F.. Smith and Javad Hashemi. *Foundations of materials science and engineering*. McGraw-Hill Publishing, 2006.
- [23] Gaspare Varvaro and Francesca Casoli. *Ultra-high-density magnetic recording: storage materials and media designs*. CRC Press, 2016.
- [24] M Sajjia, A Baroutaji, and AG Olabi. The introduction of cobalt ferrite nanoparticles as a solution for magnetostrictive applications. *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*, 2017.

- [25] Chris Binns. *Nanomagnetism: fundamentals and applications*, volume 6. Newnes, 2014.
- [26] Sophie Laurent, Céline Henoumont, Dimitri Stanicki, Sébastien Boutry, Estelle Lipani, Sarah Belaid, Robert N Muller, and Luce Vander Elst. *MRI contrast agents: from molecules to particles*. Springer, 2017.
- [27] Tobias Neuberger, Bernhard Schöpf, Heinrich Hofmann, Margarete Hofmann, and Brigitte Von Rechenberg. Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: possibilities and limitations of a new drug delivery system. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 293(1):483–496, 2005.
- [28] Carlos Sato Baraldi Dias. *Engineering of magnetic vortex nanoparticle for magnetic hyperthermia*. PhD thesis, Universidade Estadual de Campinas, 2014.
- [29] Yong Yang, Xiao-Li Liu, Jia-bao Yi, Yang Yang, Hai-Ming Fan, and Jun Ding. Stable vortex magnetite nanorings colloid: micromagnetic simulation and experimental demonstration. *Journal of Applied Physics*, 111(4):044303, 2012.
- [30] Piotr Gas. Essential facts on the history of hyperthermia and their connections with electromedicine. *PRZEGLAD ELEKTROTECHNICKY*, 2017.
- [31] Manuel Bañobre-López, Antonio Teijeiro, and Jose Rivas. Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment. *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*, 18(6):397–400, 2013.
- [32] Mathew Kallumadil, Masaru Tada, Takashi Nakagawa, Masanori Abe, Paul Southern, and Quentin A Pankhurst. Suitability of commercial colloids for magnetic hyperthermia. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 321(10):1509–1513, 2009.

- [33] Alison E Deatsch and Benjamin A Evans. Heating efficiency in magnetic nanoparticle hyperthermia. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 354:163–172, 2014.
- [34] Julian Carrey, Boubker Mehdaoui, and Marc Respaud. Simple models for dynamic hysteresis loop calculations of magnetic single-domain nanoparticles: Application to magnetic hyperthermia optimization. *Journal of Applied Physics*, 109(8):083921, 2011.
- [35] Huan Zhang, Xiao Li Liu, Yi Fan Zhang, Fei Gao, Ga Long Li, Yuan He, Ming Li Peng, and Hai Ming Fan. Magnetic nanoparticles based cancer therapy: current status and applications. *Science China Life Sciences*, pages 1–16, 2018.
- [36] Pradyot Patnaik. *Handbook of inorganic chemicals*, volume 529. McGraw-Hill New York, 2003.
- [37] M Yamaura, RL Camilo, LC Sampaio, MA Macedo, M Nakamura, and HE Toma. Preparation and characterization of (3-aminopropyl) triethoxysilane-coated magnetite nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 279(2-3):210–217, 2004.
- [38] Yanglong Hou, Junfeng Yu, and Song Gao. Solvothermal reduction synthesis and characterization of superparamagnetic magnetite nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry*, 13(8):1983–1987, 2003.
- [39] Guandong Zhang, Yifeng Liao, and Ian Baker. Surface engineering of core/shell iron/iron oxide nanoparticles from microemulsions for hyperthermia. *Materials Science and Engineering: C*, 30(1):92–97, 2010.
- [40] Z Nemati, J Alonso, H Khurshid, MH Phan, and H Srikanth. Core/shell iron/iron oxide nanoparticles: are they promising for magnetic hyperthermia? *RSC Advances*, 6(45):38697–38702, 2016.

- [41] Grant S Henderson, Frank MF De Groot, and Benjamin JA Moulton. X-ray absorption near-edge structure (xanes) spectroscopy. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 78(1):75–138, 2014.
- [42] Ana Espinosa, Riccardo Di Corato, Jelena Kolosnjaj-Tabi, Patrice Flaud, Teresa Pellegrino, and Claire Wilhelm. Duality of iron oxide nanoparticles in cancer therapy: amplification of heating efficiency by magnetic hyperthermia and photothermal bimodal treatment. *ACS nano*, 10(2):2436–2446, 2016.
- [43] Evelyn C da S Santos, Amanda Watanabe, Maria D Vargas, Marcelo N Tanaka, Flavio Garcia, and Célia M Ronconi. Amf-responsive doxorubicin loaded β -cyclodextrin-decorated superparamagnetic nanoparticles. *New Journal of Chemistry*, 42(1):671–680, 2018.
- [44] Sudipta Senapati, Arun Kumar Mahanta, Sunil Kumar, and Pralay Maiti. Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal Transduction and Targeted therapy*, 3(1):7, 2018.
- [45] FM Martín-Saavedra, E Ruíz-Hernández, A Boré, D Arcos, M Vallet-Regí, and N Vilaboa. Magnetic mesoporous silica spheres for hyperthermia therapy. *Acta Biomaterialia*, 6(12):4522–4531, 2010.
- [46] Antonio Sica, Tiziana Schioppa, Alberto Mantovani, and Paola Allavena. Tumour-associated macrophages are a distinct m2 polarised population promoting tumour progression: potential targets of anti-cancer therapy. *European Journal of Cancer*, 42(6):717–727, 2006.
- [47] Quan Zhang, Fang Liu, Kim Truc Nguyen, Xing Ma, Xiaojun Wang, Bengang Xing, and Yanli Zhao. Multifunctional mesoporous silica nanoparticles for cancer-targeted and controlled drug delivery. *Advanced Functional Materials*, 22(24):5144–5156, 2012.

- [48] Chun-Jiang Jia, Ling-Dong Sun, Feng Luo, Xiao-Dong Han, Laura J Heyderman, Zheng-Guang Yan, Chun-Hua Yan, Kun Zheng, Ze Zhang, Mikio Takano, Naoaki Hayashi, Matthias Eltschka, Mathias Klaui, Ulrich Rudiger, Takeshi Kasama, Lionel Cervera-Gontard, Geaorge Dunin-Borkowski, Rafal E. and Tzvetkov, and Jorg Raabe. Large-scale synthesis of single-crystalline iron oxide magnetic nanorings. *Journal of the American Chemical Society*, 130(50):16968–16977, 2008.
- [49] Xiao Li Liu, Yong Yang, Cheng Teng Ng, Ling Yun Zhao, Ying Zhang, Boon Huat Bay, Hai Ming Fan, and Jun Ding. Magnetic vortex nanorings: a new class of hyperthermia agent for highly efficient in vivo regression of tumors. *Advanced Materials*, 27(11):1939–1944, 2015.
- [50] Peter Reimer and Thomas Balzer. Ferucarbotran (resovist): a new clinically approved res-specific contrast agent for contrast-enhanced mri of the liver: properties, clinical development, and applications. *European Radiology*, 13(6):1266–1276, 2003.
- [51] Yi-Xiang J Wang. Current status of superparamagnetic iron oxide contrast agents for liver magnetic resonance imaging. *World Journal of Gastroenterology*, 21(47):13400, 2015.
- [52] Raymond Chang. Principios esenciales de química general. 2006.
- [53] Jerzy Zieliński, Ilona Zglinicka, Leszek Znak, and Zbigniew Kaszukur. Reduction of Fe_2O_3 with hydrogen. *Applied Catalysis A: General*, 381(1-2):191–196, 2010.
- [54] Werner Stöber, Arthur Fink, and Ernst Bohn. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *Journal of Colloid and Interface Science*, 26(1):62–69, 1968.
- [55] Hwa-Min Kim, Chang-Hyun Lee, and Bonghwan Kim. Sonochemical synthesis of silica particles and their size control. *Applied Surface Science*, 380:305–308, 2016.

- [56] Lingyun Chen, Zhengxiong Xu, Hong Dai, and Shengtao Zhang. Facile synthesis and magnetic properties of monodisperse Fe_3O_4 /silica nanocomposite microspheres with embedded structures via a direct solution-based route. *Journal of Alloys and Compounds*, 497(1-2):221–227, 2010.
- [57] Bernard Dennis Cullity. *Elements of X-ray Diffraction*. Second edition, 2001.
- [58] Brian S Mitchell. *An introduction to materials engineering and science for chemical and materials engineers*. John Wiley & Sons, 2004.
- [59] Charles Kittel, Paul McEuen, and Paul McEuen. *Introduction to solid state physics*, volume 8. Wiley New York, first edition, 1996.
- [60] Peter EJ Flewitt and Robert K Wild. *Physical methods for materials characterisation*. CRC Press, 2017.
- [61] The FullProf Team. Fullprof suite. <https://www.ill.eu/sites/fullprof/>, 2006. [Online; acessado em 25-03-2019].
- [62] Bruce Ravel. Introduction to X-ray Absorption Spectroscopy. <https://www.bnl.gov/ps/userguide/lectures/Lecture-4-Ravel.pdf>, 2015. [Online; acessado em 24-01-2019].
- [63] Claudia S Schnohr and Mark C Ridgway. *Introduction to x-ray absorption spectroscopy*. Springer, 2015.
- [64] EE Alp, SM Mini, and M Ramanathan. X-ray absorption spectroscopy: Exafs and xanes-a versatile tool to study the atomic and electronic structure of materials. Technical report, 1990.
- [65] Julio C Cezar, Narcizo M Souza-Neto, Cinthia Piamonteze, Edilson Tamura, Flavio Garcia, Edson J Carvalho, Régis T Neueschwander, Aline Y Ramos, Helio CN Tolentino, Alberto Caneiro, NE Massa, MJ Martinez-Lope, JA Alonso, and JP Itiã©.

- Energy-dispersive x-ray absorption spectroscopy at InIs: investigation on strongly correlated metal oxides. *Journal of Synchrotron Radiation*, 17(1):93–102, 2010.
- [66] Joseph I Goldstein, Dale E Newbury, Joseph R Michael, Nicholas WM Ritchie, John Henry J Scott, and David C Joy. *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*. Springer, 2017.
- [67] Nano Science Instrument. Scanning Electron Microscopy . <https://www.nanoscience.com/techniques/scanning-electron-microscopy/>, 2019. [Online; acessado em 18-01-2019].
- [68] Antonis Nanakoudis. Thermo Fisher Scientific. What is SEM? Scanning electron microscope technology explained. <http://blog.phenom-world.com/what-is-sem>, 2018. [Online; acessado em 17-01-2019].
- [69] David C. Joy Brian J. Ford Savile Bradbury. British Encyclopedia. Transmission Electron Microscopy. <https://www.britannica.com/technology/transmission-electron-microscope>, 2019. [Online; acessado em 18-01-2019].
- [70] Microscopy Australia. My scope. Background information - What is energy dispersive X-ray spectroscopy? <https://myscope.training/legacy/analysis/eds/>, 2014. [Online; acessado em 17-01-2019].
- [71] JF Moulder, WF Stickle, PE Sobol, and KD Bomben. *Handbook of X-Ray Photoelectron Spectroscopy (Perkin-Elmer, Eden Prairie, MN, 1992)*. Physical Electronics.
- [72] NS McIntyre and DG Zetaruk. X-ray photoelectron spectroscopic studies of iron oxides. *Analytical Chemistry*, 49(11):1521–1529, 1977.