



**CENTRO BRASILEIRO DE PESQUISAS FÍSICAS
CBPF**

Guilherme Conceição Concas

**NANOPLATAFORMAS MULTIFUNCIONAIS PARA
APLICAÇÕES EM TERAPIAS TÉRMICAS:
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO DECORADAS COM
OURO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas do Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Física.

Orientador: Flávio Garcia

Coorientadora: Evelyn Christyan da S. Santos

Rio de janeiro


Novembro de 2021

“NANOPLATAFORMAS MULTIFUNCIONAIS PARA APLICAÇÕES EM
TERAPIAS TÉRMICAS: NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO
DECORADAS COM OURO”

GUILHERME CONCEIÇÃO CONCAS

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


Flávio Garcia – Presidente/Orientador/CBPF


Evelyn Christyan Silva Santos – Coorientadora/CBPF


Diego Muraca - UNICAMP


João Paulo Sinnecker – CBPF

Rio de Janeiro, 03 de dezembro de 2021.

AGRADECIMENTOS

A meu orientador Flávio e minha coorientadora Evelyn por todo conhecimento compartilhado, auxílio, paciência e confiança dedicados a mim no curso deste trabalho, que fora executado em um momento excepcionalmente difícil e atípico.

A equipe do Laboratório de Materiais Magnéticos Multifuncionais, em particular ao Torrão, Célio, Wesley, Bianca e Richard sem os quais, certamente todo este trajeto seria muito mais difícil.

A minha família por todo suporte e carinho.

A Steffany pelo apoio todos os dias, de todas as formas possíveis.

A meus amigos pela infinita paciência em minha ausência.

A todos os trabalhadores permanentes e temporários do CBPF por toda a dedicação e esforço na manutenção do instituto.

A banca examinadora por aceitar o convite e pelas contribuições.

A CAPES pelo financiamento deste trabalho.

RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidos sistemas multifuncionais com potencial aplicação para a entrega controlada de calor por duas formas diferentes: hipertermia magnética, através da aplicação de campo magnético alternado e foto-hipertermia, através da absorção de luz por ressonância de plásmon de superfície. Para isso, os nanossistemas produzidos são formados por nanopartículas (NPs) magnéticas de óxido de ferro decoradas com NPs de ouro (Au). As NPs de óxido de ferro foram sintetizadas pelo método de redução solvotérmico com etilenoglicol, o qual forneceu dois grupos de amostras com boa distribuição de tamanhos, apresentando diâmetro de 228 ± 35 e 265 ± 31 nm, e atenderam adequadamente aos pré-requisitos para aplicações biomédicas. Através das medidas magnéticas pudemos observar que estas NPs magnéticas são compostas por uma única fase de óxido de ferro, sendo magnetita (Fe_3O_4) e/ou maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), apresentando ainda coercividade relativamente baixa (3 mT) e magnetização de saturação entre 71 e 63 Am^2/kg . A decoração com NPs de Au ocorreu por dois métodos: (I) Turkevich, que consiste na redução de Au^{3+} por citrato de sódio sob a superfície das NPs magnéticas e (II) deposição-precipitação, que consiste na deposição de hidróxido de ouro na superfície das NPs de óxido de ferro previamente modificada com grupamentos aminas e concomitante redução do Au^{3+} . Além disso, a modulação do tamanho das NPs de Au foram investigadas em função da adição consecutiva de Au^{3+} a fim de obter NPs de Au que possam interagir com a luz de forma diferente dependendo do seu tamanho. O método (I) se mostrou simples e rápido, no entanto não apresentou um recobrimento homogêneo, fornecendo NPs de Au com tamanhos entre 66 ± 17 e 88 ± 31 nm. Em contrapartida, o método (II) apresentou mais etapas, mas forneceu NPs decoradas homogeneamente com NPs de tamanho entre 12 ± 2 e 85 ± 20 nm. Neste trabalho investigamos apenas a eficiência na geração de calor pelas NPs através da incidência de campo magnético alternado ($f= 307$ kHz e $H= 20$ mT, ou seja, hipertermia magnética. Em água, as amostras apresentaram SAR (Taxa específica de absorção - Specific Absorption Rate) de 2,7 a 30,7 W/g.

Palavras-chave: nanopartículas magnéticas, hipertermia magnética, material teranóstico.

ABSTRACT

In this work, multifunctional systems were developed with potential applications for the controlled delivery of heat in two different ways: magnetic hyperthermia, through the application of an alternating magnetic field, and photothermal hyperthermia, through the absorption of light by surface plasmon resonance. The nanosystems produced are formed by magnetic iron oxide nanoparticles (NPs) decorated with gold (Au) NPs. Iron oxide NPs were synthesized by the ethylene glycol solvothermal reduction method, which provided two groups of samples with good size distribution, showing diameters of 228 ± 35 and 265 ± 31 nm, and adequately met the prerequisites for biomedical applications. Through magnetic measurements, we could observe that these magnetic NPs are composed of a single phase of iron oxide, being magnetite (Fe_3O_4) and/or maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), still showing relatively low coercivity (3 mT) and saturation magnetization between 71 and 63 Am^2/kg . Decoration with Au NPs occurred by two methods: (I) Turkevich, which consists of the reduction of Au^{3+} by sodium citrate under the surface of the magnetic NPs, and (II) deposition-precipitation, which consists of the deposition of gold hydroxide on the surface of iron oxide NPs previously modified with amine groups and concomitant reduction of Au^{3+} . Furthermore, the modulation of the size of Au NPs was investigated as a function of the consecutive addition of Au^{3+} in order to obtain Au NPs that can interact with light differently depending on their size. Method (I) proved to be simple and fast. Nonetheless, it did not present a homogeneous coating, providing Au NPs sizes between 66 ± 17 e 88 ± 31 nm. On the other hand, method (II) presented more steps but provided NPs decorated homogeneously with NPs of size between 12 ± 2 e 85 ± 20 nm. In this work, we investigate only the efficiency of heat generation by NPs through the incidence of alternating magnetic fields ($f= 307$ kHz and $H= 20$ mT), that is, magnetic hyperthermia. In water, the samples presented SAR (Specific Absorption Rate - Specific Absorption Rate) of 2.7 to 30.7 W/g.

Keywords: magnetic nanoparticles, magnetic hyperthermia, theranostic material.

Índice de Figuras

Figura 1: Curva de histerese magnética, destacando o Campo Coercivo (H_c), Magnetização de Saturação (M_s) e Remanência (M_r).....	20
Figura 2: Imagem esquemática mostrando a diminuição da energia magnetostática com a formação de domínios magnéticos. Imagem adaptada de SMITH, HASHEMI e PRESUEL-MORENO (2019).....	22
Figura 3: Dependência da magnetização em relação a direção plano cristalino onde o campo magnético é aplicado adaptado de GUIMARÃES (2009).....	23
Figura 4: A ilustração mostra os dois tipos de parede de domínio a) Bloch que gira perpendicular ao plano dos domínios adjacentes, enquanto b) Néel os domínios giram no plano. (FERNANDES et al., 2019).....	25
Figura 5: Esquema exibindo o aumento do campo coercivo em função do regime magnético, bem como a forma de distribuição dos momentos magnéticos no material e as curvas de magnetização por campo características. (RAJAN; SAHU, 2009) ..	27
Figura 6: Imagem esquemática da disposição dos momentos magnéticos (no plano (x,y)) em um vórtice magnético. (CHIEN; ZHU; ZHU, 2007)	29
Figura 7: Os quatro estados degenerados de um estado de vórtice magnético, com quiralidade $c = \pm 1$ e polarização do núcleo $p = \pm 1$. As flechas brancas indicam o sentido da rotação do spin no plano de magnetização. A magnetização no centro aponta para fora do plano. (BOHLENS, 2008).....	30
Figura 8: Histerese magnética de um vórtice magnético com eixo de fácil magnetização em y. (DIAS, 2014).....	31
Figura 9: Modelos de geração de calor em partículas magnéticas por aplicação de campo magnético alternado. Adaptado do trabalho de SURİYANTO; NG; KUMAR. (2017).	35
Figura 10: Dipolo elétrico oscilante induzido em uma partícula metálica a partir da incidência de luz. (SANTOS et al., 2016).....	37
Figura 11: a) Variação da excitação de RPS máxima em partículas com morfologia esférica. (JAIN et al., 2006)	38

Figura 12: Esquema de adesão e aquecimento das partículas de ouro sob as células cancerosas. a) os anticorpos primários F19 aderem às proteínas da superfície da célula. b) por irradiação formam bolhas que lesionam a célula. (ZHAROV et al., 2005)	39
Figura 13: Esquema de nanopartícula com estrutura caroço@casca, mostrando a composição de cada parte e suas dimensões. (Lee et al., 2011).....	41
Figura 14: a) Imagem de microscopia eletrônica de varredura de nanopartículas de óxido de ferro com morfologia anelar. b) Variação do SAR dos nanoanéis de óxido de ferro em função do campo magnético aplicado, com frequência de 400 kHz. Adaptado de Liu et al. (2015).	42
Figura 15:a) Imagem de microscopia de transmissão de partículas de óxido de ferro com morfologia de cubos. b) Curvas de aquecimento das partículas com apenas MHT, apenas LASER e DUAL e c) esquema do aparato experimental no trabalho de Espinosa et al. (2016).....	43
Figura 16: Imagem de microscopia eletrônica de transmissão NPs _{ouro} com morfologia de bastão utilizadas no tratamento. (El-Sayed et al., 2016).....	44
Figura 17: Gráfico da redução do volume dos tumores ao longo do tratamento por PPTT (Tratamento Fototérmico por ressonâncias plasmônica, do inglês <i>Plasmonic Photothermal Treatment</i>).....	45
Figura 18: a) Esquema de geração de bolhas de vapor por microcápsula carregada com nanobastões de ouro. B) Imagem obtida por Microscopia Eletrônica de Transmissão das microcápsulas carregadas com pequenos nanobastões de ouro. No detalhe é exibido a morfologia das partículas.	46
Figura 19:Gráfico exibindo a escala de tamanho das bolhas de vapor produzidas em função da intensidade do laser.	47
Figura 20: Histograma exibindo a diminuição da massa tumoral após tratamento..	48
Figura 21: Difractogramas representando os padrões de DRX obtidos após refinamento Rietveld das amostras a) 228nm e b) 265nm compostas por maghemita/magnetita, com os planos cristalinos indexados. Podemos ver um quadrado verde indicando o pico gerado pelo porta amostras, estrelas azuis indicam os planos da maghemita/magnetita.	51

Figura 22: Imagens MEV das nanopartículas a) 228nm, b) 265nm, e suas respectivas distribuições de tamanho.	53
Figura 23: Curvas de histerese magnética para amostras 228nm (círculos violeta) e 265nm (círculos ciano escuro).....	56
Figura 24: Curvas ZFC/FC das amostras a) 228nm e b) 265nm.....	57
Figura 25: Direção dos momentos magnéticos obtidos por simulação micromagnética no software MuMax3, para as amostras simuladas com 200 nm (linha superior) e com 260 nm (linha inferior). Partindo de um estado com os momentos magnéticos alinhados (monodomínio) e de um estado de vórtice magnético a); Distribuição dos cristalitos utilizados nas simulações b).....	58
Figura 26: Curvas de aquecimento das amostras 228nm (ciano escuro) e 228nm (vinho).....	59
Figura 27: Imagem esquemática do processo de recobrimento pelo método Turkevich das amostras 228nm.	61
Figura 28: Padrões de DRX das amostras 228nm_CIT com sucessivos recobrimentos, sendo indicada a porcentagem da fase de ouro em cada recobrimento. As estrelas azuis destacam os picos do óxido de ferro, as esferas em amarelo destacam os do ouro, com os respectivos índices de Miller indexados e quadrado verde sinal do porta amostras.....	63
Figura 29: Imagens obtidas por MEV a esquerda (escala de cinza) das quais foram feitos os mapas de EDS. Em azul para o sinal do ouro e em vermelho para o sinal do ferro. 228nm_CIT_1, b) 228nm_CIT_2 e c) 228nm_CIT_3.....	65
Figura 30: Imagens de MEV e distribuição de tamanho das amostras a) 228nm_CIT_1, b) 228nm_CIT_2 e c) 228nm_CIT_3	66
Figura 31: Gráfico da variação do tamanho do cristalito (barras azuis) e do diâmetro das partículas de ouro (barras pretas) nas amostras recobertas com citrato.....	67
Figura 32: Curvas de histerese magnética das amostras 228nm_CIT recobertas com ouro pelo método de citrato.	69
Figura 33: Porcentagem da fase de ouro obtida pelo refinamento Rietveld do padrão de DRX e pela diminuição da magnetização em função da concentração utilizada no recobrimento, para as amostras 228nm_CIT recobertas com método de Turkevich.	70

Figura 34: Curvas de aquecimento das amostras 228nm_CIT.	72
Figura 35: Imagem esquemática do processo de recobrimento pelo método DP das amostras a) 228nm e b) 265nm.	76
Figura 36: Esquema da NPs de óxido de ferro funcionalizada com grupos -NH ₂ (APTES). Onde NPsM representa os sistemas 228nm e 265nm.	77
Figura 37: Curvas de potencial ζ das amostras funcionalizadas com APTES. a) 228nm com APTES (quadrados vinho) e sem APTES (círculos vermelhos); b) 265nm com APTES (quadrados verde-escuros) e sem APTES (círculos verde-claros).	78
Figura 38: Curva de potencial ζ em função do pH para as amostras a) 228nm_APTES. E b) para as amostras 265nm_APTES.	81
Figura 39: Padrão de DRX das amostras 228nm_APTES com sucessivos recobrimentos, sendo indicada a porcentagem da fase de ouro em cada recobrimento. As estrelas azuis destacam o óxido de ferro, círculos em amarelo destacam o sinal do ouro com os respectivos índices de Miller indexados e o quadrado verde o sinal do porta amostras.	84
Figura 40: Padrão de DRX das amostras 265nm_APTES com sucessivos recobrimentos, sendo indicada a porcentagem da fase de ouro em cada recobrimento. As estrelas azuis destacam o óxido de ferro, círculos em amarelo destacam o sinal do ouro com os respectivos índices de Miller indexados e o quadrado verde o sinal do porta amostras.	85
Figura 41: Imagens de EDS das amostras a) 228nm_APTES_1, b) 228nmN_APTES_2, c) 228nm_APTES_3, d) 228nm_APTES_4 e e) 228nm_APTES_3DIR. Em azul o sinal do Au e em vermelho o sinal do Fe.	88
Figura 42: Imagens de EDS das amostras a) 265nm_APTES_1, b) 265nmN_APTES_2, c) 265nm_APTES_3DIR. Em azul o sinal do Au e em vermelho Fe.	89
Figura 43: Imagens MEV e distribuição de tamanho das amostras a) 228nm_APTES_1, b) 228nm_APTES_2, c) 228nm_APTES_3, d) 228nm_APTES_4 e e) 228nm_APTES_3DIR.	90
Figura 44: Imagens MEV e distribuição de tamanho das amostras a) 265nm_APTES_1, b) 265nm_APTES_2 e c) 265nm_APTES_3DIR.	91

Figura 45: Imagens MET e distribuição de tamanho das amostras a) 228nm_APTES_3DIR, b) 265nm_APTES_1 e c) 265nm_APTES_3DIR	92
Figura 46: Comparação entre o tamanho de cristalito obtido pelo DRX e diâmetro por MEV das amostras 265nm_APTES a) e 228nm_APTES b).....	94
Figura 47: Curvas de histerese magnética das amostras a) 228nm e b) 265nm em cada recobrimento.	96
Figura 48: Comparação da porcentagem (%) de ouro obtida pelo refinamento Rietveld do padrão de DRX e magnetização das amostras 228nm (a) e das amostras 265nm (b)) em função da concentração nominal utilizada no recobrimento, recobertas com Au pelo método DP. Os valores de concentração 2,5, 7,5 , 17,5 e 37,5 equivalem às amostras APTES_1, APTES_2, APTES_3 e APTES_4 respectivamente. (erro nas estimativas das fases é de menos de 1%, por tanto não foi considerado no gráfico)	99
Figura 49: Curvas de aquecimento dos grupos de amostra a) 228nm e b) 265nm.	100

Índice de Tabelas

Tabela 1: Comparação do tamanho das partículas obtidas por MEV ao tamanho do cristalito das amostras 228nm e 265nm, estimados pela equação de Scherrer (Anexo III).	54
Tabela 2: Parâmetros magnéticos das amostras 228nm e 265nm.	55
Tabela 3: Resultados dos testes de hipertermia magnética nas amostras 228nm e 265nm.	60
Tabela 4: Tamanho de cristalito obtido pela fórmula de Scherrer e fase de ouro obtida por refinamento Rietveld das amostras do grupo 228nm_CIT.	63
Tabela 5: Parâmetros magnéticos e fase de ouro obtida a partir da queda da magnetização das amostras 228nm_CIT recobertas com ouro pelo método Turkevich.	70
Tabela 6: Resultados dos testes de hipertermia magnética nas amostras 228nm_CIT.	73
Tabela 7: Tamanho de cristalito obtido pela fórmula de Scherrer e fase de ouro obtida por refinamento Rietveld das amostras do grupo 228nm_APTES e 265_APTES... ..	86
Tabela 8: Tamanho das partículas de ouro observadas por MEV nas amostras 228nm_APTES. Apresentaram duas distribuições de tamanho. * não foi encontrado distribuição de tamanho <50 nm. ** não foi encontrado distribuição de tamanho >50 nm.	91
Tabela 9: Tamanho das partículas de ouro observadas por MET nas amostras dos grupos 228nm_APTES e 265nm_APTES.	93
Tabela 10: Parâmetros magnéticos e fase de ouro (obtidas das curvas MxH) das amostras 228nm_APTES e 265nm_APTES recobertas com ouro.	98
Tabela 11: Resultados dos testes de hipertermia magnética nas amostras 228nm e 265nm.	101

Sumário

1. Introdução	14
2. Objetivo	17
2.1 Objetivos Gerais	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3. Magnetismo na matéria	19
3.1 Domínios magnéticos	19
3.2 Parede de domínio	24
3.3. Superparamagnetismo.....	26
3.4 Vórtices magnéticos.....	29
3.5 Hipertermia magnética.....	32
4. Estado da arte	40
4.1 Ferritas e óxido de ferro para aplicações a hipertermia magnética	40
4.3 NP _{SOURO} com morfologia de bastão para aplicações à Foto-hipertermia por RPS	44
4.4 Agregados de partículas de ouro para terapia fototérmica com bolhas de vapor.....	46
4.5 Considerações finais.....	48
5. Resultados e Discussão	49
5.1 Nanopartículas de óxido de ferro	49
5.1.1 Análise por Difração de Raios X de pó das amostras 228nm e 265nm	51
5.1.2 Análise morfológica e distribuição de tamanho das amostras 228nm e 265nm.....	52
5.1.3 Medidas Magnéticas	55
5.2 NPMs decoradas com NP _{Souro} pelo método de Turkevich.....	61
5.2.1 Difração de Raios X de pó da amostra 228nm_CIT.....	62

5.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura das amostras 228nm_CIT	65
5.2.3 Propriedades Magnéticas	69
5.2.4 Teste de Hipertermia Magnética	72
5.3 Nanopartículas de óxido de ferro decoradas com ouro pelo método de Deposição-precipitação (DP)	75
5.3.1 Difração de Raios X de pó para as amostras 228nm_APTES e 265nm_APTES	83
5.3.2 Microscopia Eletrônica	87
5.3.3 Propriedades Magnéticas	95
5.3.4 Teste de Hipertermia Magnética	100
6. Conclusões.....	103
6.1 Perspectivas	105
7. Referências Bibliográficas	106
ANEXO I.....	115
ANEXO II.....	123
ANEXO III.....	131

1. Introdução

Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), o câncer foi a segunda maior causa de mortes em 2018 (OPAS, 2020), sendo um problema de dimensão global. Dessa forma, pesquisas para desenvolvimento de novos métodos de tratamento e diagnóstico desta doença têm ganhado grande importância.

Com a ajuda da nanotecnologia, a produção de nanopartículas (NPs) com propriedades teranósticas, sistemas que podem conjugar técnicas de diagnóstico e tratamento ao mesmo tempo, é de fundamental importância para esta área. Neste trabalho utilizamos NPs's de óxido de ferro (NPsM) e ouro (NPs_{ouro}), visando a possibilidade de conjugação de técnicas de diagnóstico como imageamento por ressonância magnética e modificação química de sua superfície para carregamento de moléculas sinalizadoras, tendo aplicação em diagnóstico de doenças. Assim como técnicas de tratamento como carregamento de drogas pela funcionalização da superfície das NPs_{ouro} e foto-hipertermia por ressonância plásmon de superfície, bem como a utilização das propriedades magnéticas das NPsM em aplicações de hipertermia magnética, sendo este um dos principais objetivos. (BANERJEE et al., 2011; FONSECA et al., 2018; LEWINSKI; COLVIN; DREZEK, et al., 2008)

A hipertermia magnética é um tratamento alternativo que consiste na exposição dos tecidos cancerosos a temperaturas mais altas que a natural (~42 °C) por tempo relativamente prolongado, a fim de matar (apoptose* ou necrose†) ou danificar as células cancerosas, uma vez que essas têm menor capacidade de dissipação de calor em relação às células saudáveis. Em geral, o aquecimento de uma região extensa do corpo implica uma série de efeitos colaterais, tais como enjoos, náuseas, feridas na boca, etc. (INCA, 2021; STORM et al., 1979)

Esses efeitos podem ser minimizados limitando a área de ação do tratamento. A hipertermia magnética (HM) e/ou foto-hipertermia (FH) utilizando NPs se

* Apoptose é o regime onde a célula entra em um processo de morte autoinduzido, se dividindo em pequenos fragmentos e então sendo digeridos pelas células vizinhas, não causando inflamação.

† Necrose é causada devido a lesões na célula, gera um processo de inflamação devido a liberação de componentes celulares no ambiente extracelular que são eliminados pelo sistema imunológico.

apresentam como excelentes alternativas, pois produzem aquecimento localizado das nos tecidos cancerosos, evitando o dano de tecidos sadios adjacentes.

Existem diversos estudos focados na síntese de nanossistemas com maior eficiência calorífica para aplicações de hipertermia. Entretanto, para fins de aplicações biomédicas outros critérios devem ser atendidos, principalmente em relação à citotoxicidade[‡]. Existem características magnéticas específicas que devem ser atendidas, são essas: baixa magnetização de remanência (M_r) (a fim de evitar interações dipolares, que podem causar aglomerações e gerar entupimentos e/ou trombose) baixo campo coercivo (H_c) (evitando a necessidade de altos campos para eliminar a magnetização do sistema) e alta magnetização de saturação M_s (tendo assim uma maior resposta quando exposto ao campo magnético) possibilitando o tratamento com utilização de campos magnéticos biocompatíveis[§]. (LEWINSKI; COLVIN; DREZEK, 2008, SILVA et al., 2013; JAIN et al., 2006)

Portanto, o presente trabalho visa ao desenvolvimento de um sistema de NPsM de óxido de ferro decoradas com NPs de ouro como um potencial sistema teranóstico. A estratégia utilizada foi a combinação de materiais com diferentes características físico-químicas como óxidos magnéticos e metais, para a produção de uma nanoplataforma com resposta magnética e ótica simultaneamente. Neste sistema, o óxido de ferro proporciona características magnéticas necessárias para utilização em hipertermia magnética. A depender de sua morfologia e dimensão essas NPsM podem apresentar diferentes comportamentos magnéticos, como, superparamagnético, (monodomínio), multidomínios ou uma configuração de vórtice. Além da aplicação em hipertermia, o fato de ser magnético auxilia na vetorização do sistema e possibilita a recuperação e reutilização das NPsM através da aplicação de um campo magnético adequado. Por outro lado, as NPs de ouro apresentam ressonância plásmon de superfície sendo possível sua utilização em tratamentos fototérmicos (MIOLA et al., 2017; ZHAROV et al., 2005; FÉLIX et al., 2017). Diferentemente de um sistema core-shell (caroço-casca), o sistema decorado com NPs_{ouro} oferece a possibilidade de ajustar o tamanho das NPs, sendo possível

[‡] Nível de toxicidade causada em um tecido celular por determinado material.

[§] O campo magnético pode ser considerado biocompatível quando obedece ao critério proposto por Brezovich, no qual o produto entre o campo e a frequência seja de até $4,85 \cdot 10^8$ A/ms, não apresentando efeitos colaterais ao organismo do paciente em um período de até 1 hora de exposição.

adequar ao comprimento de onda da luz a ser incidida sobre as NPs para a geração de calor. Trazendo a possibilidade de criar um sistema bifuncionalizado, ou seja, funcionalizações distintas para as NPs_{ouro} e NPs_M para aplicações diversas.

2. Objetivo

2.1 Objetivos Gerais

A nanotecnologia é uma das maiores contribuições do desenvolvimento moderno, tendo desdobramentos em praticamente todas as áreas, sendo que uma das mais estudadas aplicações deste campo está no âmbito biomédico. Tratamentos que se utilizam de métodos vinculados a este ramo têm grande potencial para diminuição de sequelas e efeitos colaterais por serem de ação localizada (vetorizável), se comparadas a métodos tradicionais.

Nesta perspectiva, tivemos como objetivo neste trabalho sintetizar, caracterizar e estudar o comportamento magnético de sistemas formados por óxido de ferro e ouro a fim de desenvolver uma nanoplataforma multifuncional com propriedades teranósticas.

2.2 Objetivos Específicos

- I. Sintetizar partículas de óxido de ferro na escala nanométrica, utilizando rota solvotérmica e modificação química da superfície das NPs com grupos amina (-NH₂).
- II. Estudar o comportamento magnético das partículas de óxido de ferro a fim de verificar a existência de vórtices magnéticos.
- III. Acoplar partículas de ouro na superfície do óxido de ferro através de dois métodos: i) Turkevich e ii) deposição-precipitação (DP).
- IV. Caracterizar física e quimicamente as amostras pelas técnicas de: difração de raios X em pó, microscopia eletrônica de varredura, potencial zeta (ζ),

espectroscopia de energia dispersiva de raios x e medidas magnéticas. (A função dessas técnicas caracterizações está descrita no **Anexo III**)

- V. Estudar a dinâmica de crescimento das partículas de ouro sob a superfície do óxido de ferro, bem como as alterações em seu comportamento magnético devido à presença das NP de Au.

- VI. Investigar a capacidade de aquecimento das partículas por hipertermia magnética de acordo com as diferentes quantidades de ouro.

3. Magnetismo na matéria

Materiais diferentes podem apresentar características magnéticas diferentes em presença de um campo magnético. Estas características podem ser identificadas de diversas formas: observando as mudanças no campo nas vizinhanças da amostra, pela força exercida no material por uma distribuição de campos, pela diferença de potencial induzida, entre outros. (GUIMARÃES, 2009)

Para compreendermos os fenômenos magnéticos na escala nanométrica, necessitamos de conhecimentos em relação às grandezas básicas que regem estes eventos.

Os fenômenos magnéticos derivam sua origem principalmente do momento magnético eletrônico, proveniente de elétrons desemparelhados. Uma aproximação para os momentos magnéticos é considerar seu comportamento como o de pequenos ímãs.

3.1 Domínios magnéticos

O estado fundamental de materiais ferromagnéticos dificilmente possui magnetização total não-nula. Isso ocorre, pois esses materiais se organizam em pequenas regiões chamadas domínios magnéticos. Em cada um desses domínios os momentos magnéticos atômicos estão todos paralelos, ou seja, tal como esperado para um ordenamento ferromagnético. Contudo, a magnetização de cada domínio aponta em direções aleatórias, de modo a minimizar a magnetização total do sistema, ou seja, minimizar a energia magnetostática. Quando um material é submetido a um campo suficientemente grande H_s (campo de saturação), essa estrutura de domínios magnéticos é desfeita e os momentos magnéticos atômicos estarão todos alinhados ao campo, atingindo assim o que é chamado de magnetização de saturação (M_s). Ao retirar o campo magnético os momentos magnéticos voltam a se agrupar em domínios, de forma a diminuir a magnetização do material, diminuindo, assim, a energia magnetostática. Em alguns casos é possível que uma grande parte dos domínios se mantenham orientados na direção

de H_s , o que gera uma magnetização remanente (M_r) não nula. Para eliminar a magnetização é necessária a aplicação de um campo no sentido oposto ao campo aplicado no começo do ciclo (H_s). O valor do campo responsável onde a magnetização do sistema é zero é denominada campo coercivo (H_c). É possível observar estes parâmetros na figura 1. (BRIAN, 2004)

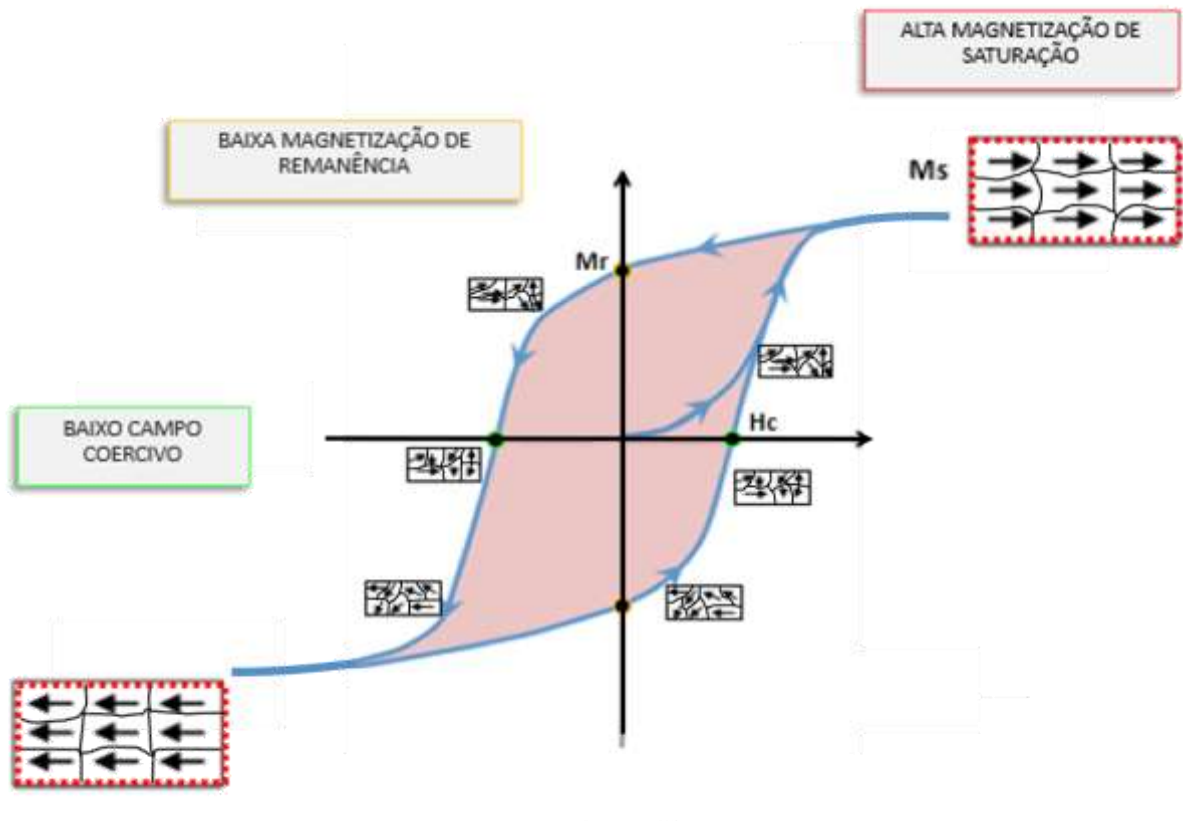


Figura 1: Curva de histerese magnética, destacando o Campo Coercivo (H_c), Magnetização de Saturação (M_s) e Remanência (M_r).

A configuração dos domínios magnéticos é moldada pela contribuição de diversas energias do sistema. A estrutura mais estável é atingida no estado onde há a minimização das energias potenciais que compõem o sistema. A energia total é descrita pela soma da contribuição das seguintes energias:

Energia de troca

A energia de troca está relacionada ao processo de ordenamento magnético proveniente da interação eletrostática entre átomos. Graças ao princípio de exclusão de Pauli, Heisenberg pôde descrevê-la pelo seguinte Hamiltoniano:

$$\vec{H}_{TROCA} = -\sum_{i \neq j} J \vec{S}_i \cdot \vec{S}_j \quad (3.1)$$

Sendo \vec{S}_i e \vec{S}_j os momentos magnéticos dos átomos i e j , respectivamente, e J é a constante de troca. Esta é uma interação de curto alcance, então são considerados apenas os primeiros vizinhos i dos átomos j . O valor de J define o regime magnético do material, no caso em que $J > 0$, a energia será minimizada quando o ângulo entre os vetores dos momentos magnéticos vizinhos for zero, estando estes alinhados paralelamente.

No caso de $J < 0$ e o módulo dos momentos vizinhos forem iguais, a minimização da energia ocorre quando o ângulo for π , estarão então alinhados antiparalelamente, e o regime do material será o antiferromagnético. Por outro lado, no caso em que os momentos magnéticos vizinhos são diferentes em módulo, o regime magnético será o ferrimagnético, como o caso do óxido de ferro, sendo esse um caso de troca direta.

Energia Magnetostática

É a energia potencial magnética de um material ferromagnético produzido pelo seu próprio campo magnético devido sua magnetização, uma vez que o material ferromagnético é exposto ao campo é gerado um campo magnético interno, conhecido como Campo de desmagnetização (H_d), a fim de diminuir a intensidade e extensão do campo magnético externo, como mostra a figura 2.

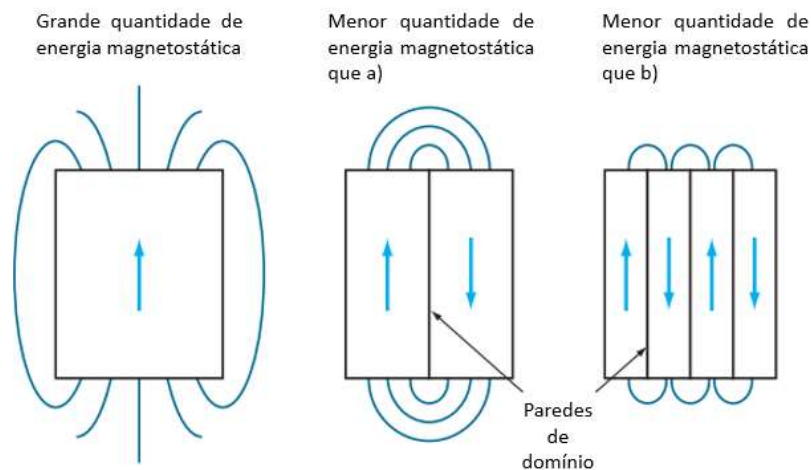


Figura 2: Imagem esquemática mostrando a diminuição da energia magnetostática com a formação de domínios magnéticos. Imagem adaptada de SMITH, HASHEMI e PRESUEL-MORENO (2019).

A energia magnetostática é dada pela energia de magnetização do campo desmagnetizante, definida como:

$$E_d = \mu_0 \int_0^M H dM \quad (3.2)$$

Energia de Anisotropia Magnetocristalina

A orientação cristalina de materiais possui influência em sua magnetização, devido as diferentes orientações dos cristais que compõem o material. Na figura 3, podemos observar a curva de magnetização em função do campo magnético ($M \times H$), quando esse é aplicado ao longo de diferentes direções cristalográficas de um material que apresenta estrutura cristalina cúbica de face centrada:

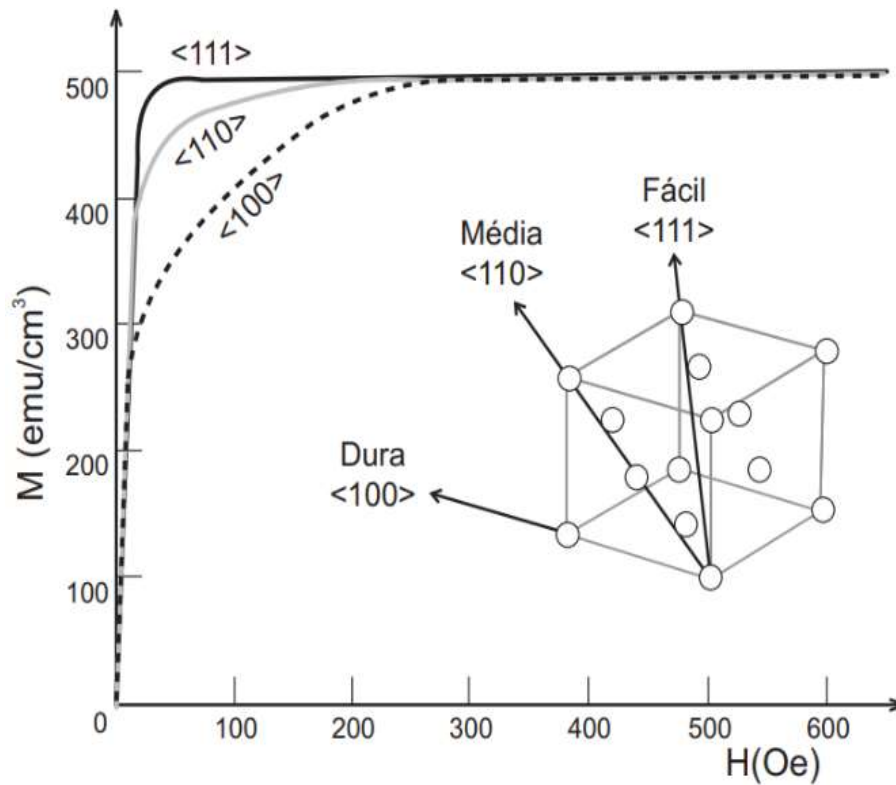


Figura 3: Dependência da magnetização em relação a direção plano cristalino onde o campo magnético é aplicado adaptado de GUIMARÃES (2009).

Na direção $\langle 111 \rangle$ do cristal, a saturação da magnetização é atingida mais facilmente (em campos mais baixos), tornando este um eixo de fácil magnetização. Enquanto para $\langle 100 \rangle$ a magnetização ocorre após a aplicação de um campo muito mais alto, isto indica que este pode ser uma direção de difícil magnetização (dura). Para um modelo que possui anisotropia uniaxial, podemos descrever a energia magnetocristalina como:

$$E = KV(\text{sen}(\theta))^2 \quad (3.3)$$

3.2 Parede de domínio

Parede de domínio é a região de transição entre domínios magnéticos vizinhos, orientados em diferentes direções. Esta região possui uma extensão finita, fazendo com que a transição de um domínio magnético para o outro seja gradual.

A largura da parede se deve ao equilíbrio de dois termos de energia principais: a energia de troca e a energia magnetocristalina. Quando há apenas uma pequena diferença entre a orientação dos polos de um dipolo, as forças de troca são minimizadas e energia de troca diminui. Logo, a energia de troca tenderá a alargar a parede. Porém, quanto maior a largura da parede, maior será o número de dipolos forçados a se alinhar em direção que não a de fácil magnetização, então haverá um aumento da energia de anisotropia magnetocristalina. Por fim, a largura será definida onde há um equilíbrio, que corresponde à minimização simultânea de ambas as energias. Existem dois principais tipos de paredes de domínio: parede de Bloch e de Néel. Elas se diferenciam pela orientação dos momentos magnéticos em sua extensão. Na parede de Bloch temos os momentos magnéticos girando em um plano perpendicular as orientações dos momentos magnéticos, enquanto na parede de Néel os momentos giram no plano paralelo à orientação dos momentos magnéticos vizinhos, como pode ser visto na figura 4.

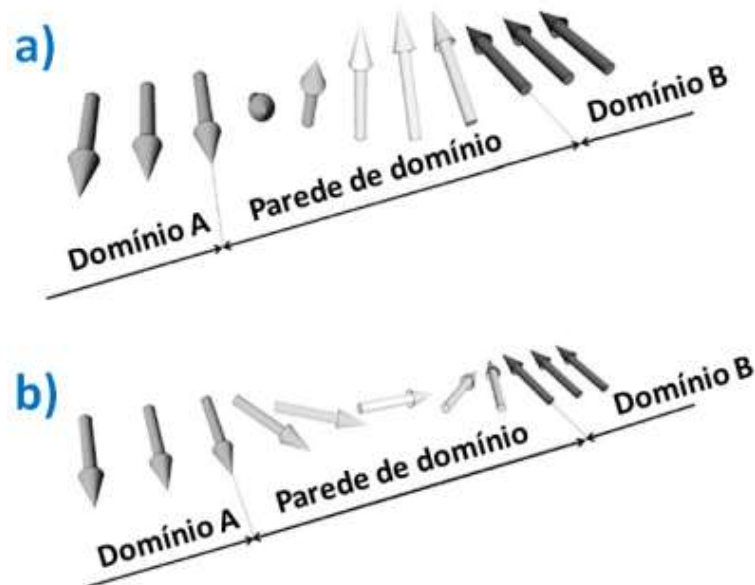


Figura 4: A ilustração mostra os dois tipos de parede de domínio a) Bloch que gira perpendicular ao plano dos domínios adjacentes, enquanto b) Néel os domínios giram no plano. (FERNANDES et al., 2019)

A energia da parede, no caso da de Bloch, é proporcional à $4\sqrt{AK}$, onde **A** é a constante de rigidez de troca, podendo ser entendida como a intensidade da interação de troca, e **K** a constante de anisotropia magnetocristalina uniaxial.

Considerando uma parede de domínios que satisfaça a condição de minimização de energia entre as energias de troca e de anisotropia, é possível descrever a largura de uma parede de domínios com **N** átomos com anisotropia **K** por:

$$\delta = Na = \frac{\pi S}{a^{1/2}} \sqrt{\frac{J}{K}} \quad (3.4)$$

sendo **a** a distância entre dois átomos. É possível ver que a largura da parede domínios é então diretamente proporcional a \sqrt{J} , relacionado à energia de troca e inversamente proporcional a \sqrt{K} , relacionada à energia de anisotropia.

3.3. Superparamagnetismo

Como visto na seção anterior, os domínios magnéticos são regidos por um balanço de energias potenciais. Abaixo de um determinado tamanho das partículas a energia para formar estes domínios, ou seja, a energia de uma parede, passa a ser maior que o ganho em energia magnetostática causado pela formação de domínios, fazendo com que a partícula passe do estado multidomínio para um estado monodomínio (GUIMARÃES, 2009).

Para o modelo de um sistema anisotrópico, cuja inversão da magnetização se dá por rotação coerente, com campo magnético aplicado em diversas direções, o comportamento da magnetização após a retirada do campo magnético pode ser descrito por:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{-1}{\tau_0} M \exp\left(\frac{-KV}{k_B T}\right) = -\frac{M}{\tau} \quad (3.5)$$

onde M é a magnetização, k_B a constante de Boltzmann, T a temperatura e τ_0 é o tempo de relaxação característico (seu valor depende do volume da partícula, e varia entre 10^{-9} e 10^{-10} s). O tempo de relaxação magnético é dado pela equação de Néel-Arrhenius:

$$\tau = \tau_0 \exp^{E/k_B T} \quad (3.6)$$

Que pode ser entendido como, o tempo médio em que o sistema fica em cada um de seus mínimos de energia, separados pela barreira KV , considerando uma partícula com anisotropia uniaxial.

No estado superparamagnético a energia térmica possui forte influência sob a magnetização das partículas. A magnetização de uma partícula neste regime em temperatura ambiente poderá variar entre seus mínimos de energia, separados por uma barreira de energia $E = KV$.

Como dito acima o regime superparamagnético é altamente dependente da temperatura. Um sistema estará neste regime quando a janela de tempo de uma medida magnética for muito maior que o tempo de relaxação ($t_m \gg \tau$) do sistema.

Isso implica em serem observados os macrospins alinhados aleatoriamente e por consequência uma magnetização total nula.

Enquanto no caso em que o tempo de medida é muito menor que o tempo de relaxação magnética ($t_m \ll \tau$), o sistema estará no estado bloqueado, neste estado o sistema apresentará histerese magnética. (GUIMARÃES, 2009)

Uma curva de magnetização característica do regime superparamagnético apresenta campo coercivo nulo, e magnetização de remanência nula, como pode ser visto na figura 5.

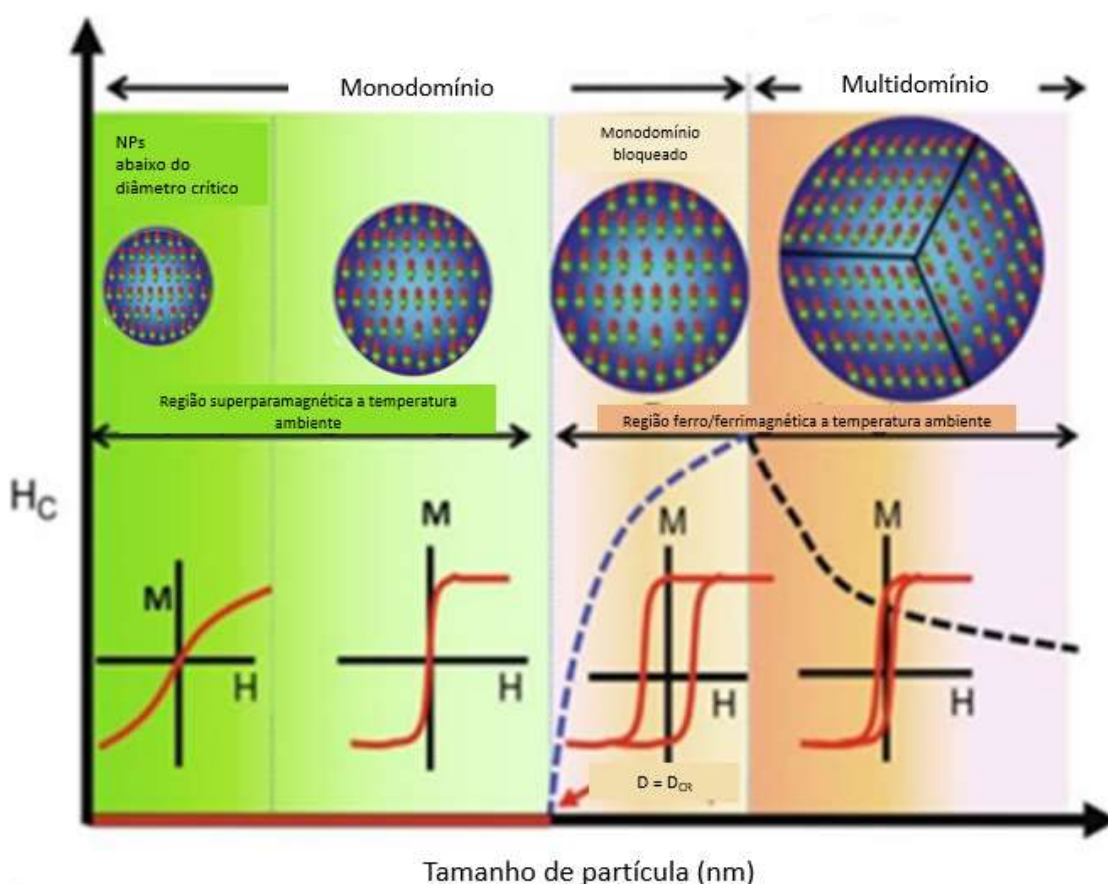


Figura 5: Esquema exibindo o aumento do campo coercivo em função do regime magnético, bem como a forma de distribuição dos momentos magnéticos no material e as curvas de magnetização por campo características. (RAJAN; SAHU, 2009)

A partir dessas definições, podemos estimar o volume crítico abaixo do qual uma partícula se encontrará no regime superparamagnético, como sendo:

$$V_{cr} \approx 25k_bT/K \quad (3.7)$$

considerando a partícula esférica, podemos estimar então o diâmetro crítico abaixo do qual a partícula estará no regime superparamagnético (GUIMARÃES, 2009):

$$D_{cr} = \left(\frac{6}{\pi} V_{cr} \right)^{1/3} \quad (3.8)$$

No regime monodomínio os momentos magnéticos em uma partícula podem ser considerados como se comportando de forma coesa (coerente), como se fossem um único momento magnético formado pela soma dos momentos magnéticos individuais. Usualmente, este único momento é conhecido como macrospin. As representantes mais comuns de nanopartículas neste regime são os óxidos de ferro, conhecidas como SPIONs (Nanopartículas de Óxido de Ferro Superparamagnéticas, do inglês *Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles*). O primeiro modelo utilizado para descrever o comportamento magnético de partículas de pequenas dimensões foi o de Stoner-Wholfarth, descrevendo a energia de um monodomínio magnético elipsoidal sob a influência de um campo magnético a temperatura $T = 0$ K. (STONER; WOHLFARTH, 1948).

Podemos considerar, por simplicidade, um conjunto de partículas magnéticas abaixo do diâmetro crítico, apresentando assim o comportamento de monodomínio, nesse caso a energia de cada partícula pode ser descrita pela equação:

$$E = KV \text{sen}^2 \theta - \mu_0 M_s (\theta - \varphi) \quad (3.9)$$

onde \mathbf{K} é a constante de anisotropia efetiva, \mathbf{V} o volume da partícula, θ o ângulo entre o momento e o eixo de fácil magnetização e φ o ângulo entre o campo magnético e o eixo de fácil magnetização.

A primeira parte da equação 3.9 descreve a energia de anisotropia total da partícula, e o segundo termo rege o comportamento da energia da partícula quando submetido a um campo magnético, conhecido como energia Zeeman.

3.4 Vórtices magnéticos

Como discutido nas seções 3.1-3.3 o comportamento magnético das nanopartículas tem grande dependência de suas dimensões. Partículas com tamanhos reduzidos tendem a apresentar o ordenamento monodomínio, enquanto o aumento do tamanho das partículas pode ser observado o regime de multidomínios. No limite entre esses dois regimes, pode ser observada uma configuração bem peculiar, conhecida como vórtice magnético, que ocorre para partículas de material magneticamente macio.

Neste estado, os momentos magnéticos assumem um alinhamento tangencial a círculos concêntricos paralelos ao plano (x, y) , enquanto que há um aumento gradual da inclinação em relação ao plano conforme se aproxima do centro do vórtice, como pode ser visto na figura 6. Esta configuração ocorre devido ao balanço entre as energias de troca e de anisotropia. (GASPARE; CASOLI, 2016)

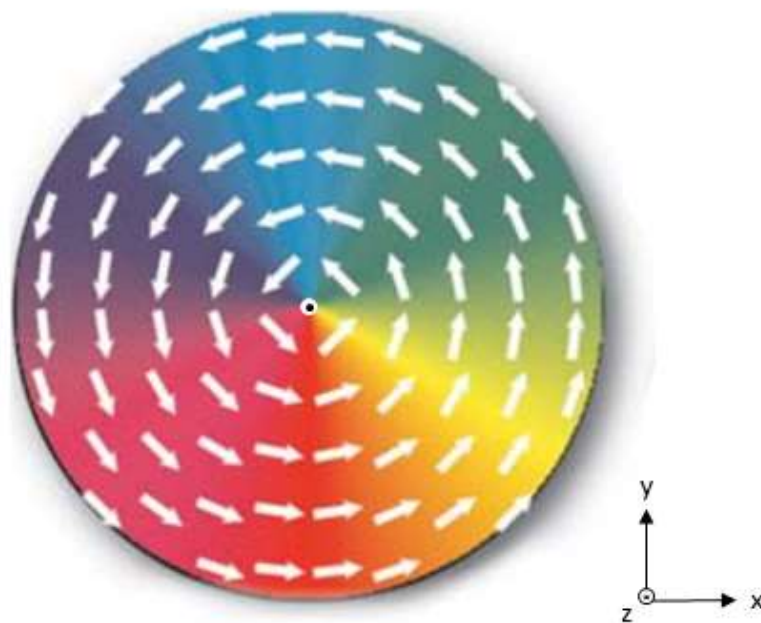


Figura 6: Imagem esquemática da disposição dos momentos magnéticos (no plano (x,y)) em um vórtice magnético. (CHIEN; ZHU; ZHU, 2007)

O ponto onde os momentos magnéticos estão alinhados perpendicularmente ao plano é chamado de núcleo do vórtice. Este surge para que o ângulo entre os

momentos magnéticos seja menor e haja uma variação contínua e suave entre os momentos, minimizando a energia de troca. A componente da magnetização no centro (eixo z) pode apontar para cima ou para baixo, o que define a polaridade p do vórtice, sendo para cima $p = 1$ e para baixo $p = -1$. O vórtice tem ainda um outro número que o caracteriza, que representa o sentido de sua circulação, que pode ser horário $c = 1$ ou anti-horário $c = -1$. Essas combinações que podem ser vistas na figura 7.

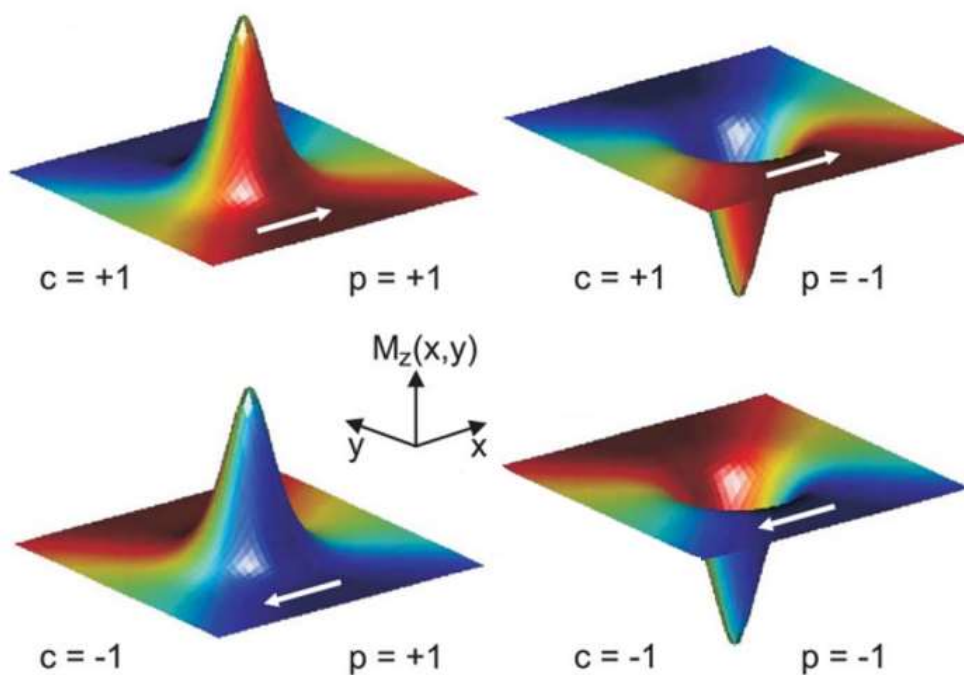


Figura 7: Os quatro estados degenerados de um estado de vórtice magnético, com quiralidade $c = \pm 1$ e polarização do núcleo $p = \pm 1$. As flechas brancas indicam o sentido da rotação do spin no plano de magnetização. A magnetização no centro aponta para fora do plano. (BOHLENS, 2008).

A figura 8 mostra uma curva de magnetização por campo magnético característica de um vórtice. Esta apresenta um formato característico, com o surgimento de histerese magnética a partir de um determinado valor de campo. O aumento do campo desloca o núcleo do vórtice perpendicularmente à direção do campo, tirando-o do centro. Após o núcleo do vórtice atingir a borda do sistema (no exemplo um disco) ele se aniquila, resultando em um salto abrupto na magnetização. A partir desse campo os momentos magnéticos ficam alinhados ao

campo magnético externo, portanto será atingida a saturação. O campo para o qual este efeito ocorre é denominado campo de aniquilação (há). Quando este campo é reduzido o vórtice volta a aparecer, gerando assim um novo salto na magnetização. Esse segundo salto é conhecido por campo de nucleação (H_N). Para valores menores de campo, ou seja, no entorno do campo nulo, reduz linearmente** e o sistema não exibe coercividade, ou seja, em campo nulo o núcleo volta ao centro do vórtice, considerando-se um campo magnético no regime estático.

Vórtices que apresentam esta curva de magnetização são de grande interesse para o escopo de aplicações de hipertermia magnética em métodos de tratamento de doenças por terapias térmicas, pois apresentam campo coercivo e magnetização de remanência nulos, dois dos principais requisitos para aplicação de nanopartículas magnéticas a sistemas biológicos. Apesar disso, diferentemente dos SPIONs, possuem histerese magnética, o que pode aumentar a eficiência na entrega de calor pelo sistema, como será visto na seção a seguir.

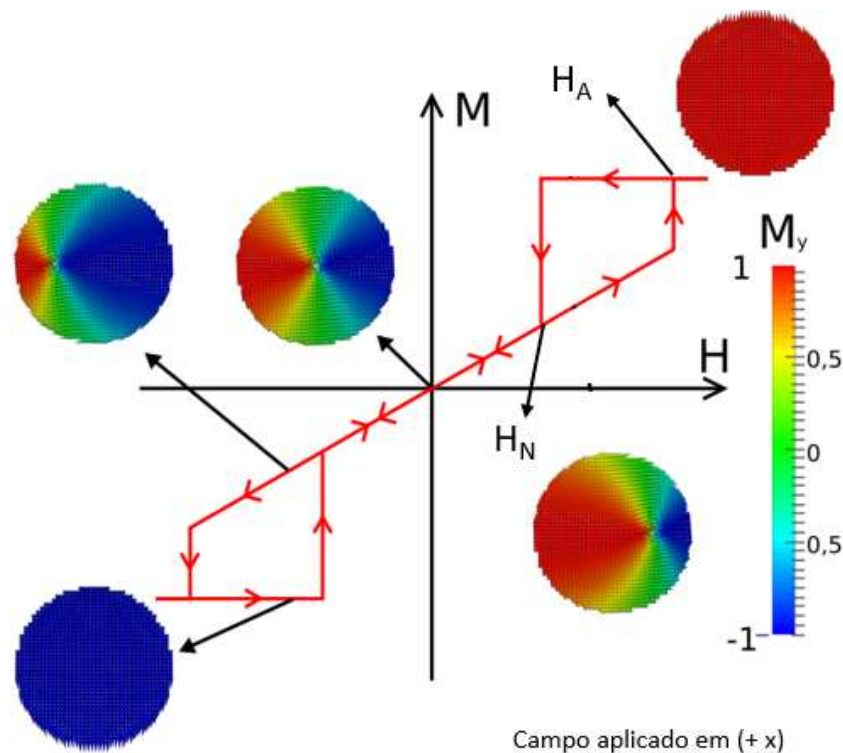


Figura 8: Histerese magnética de um vórtice magnético com eixo de fácil magnetização em y. (DIAS, 2014)

** Este comportamento não é geral para um vórtice magnético, sua curva de histerese pode assumir diversas formas, como pode ser visto no trabalho de CHIEN et al. (2007)

3.5 Hipertermia magnética

A hipertermia magnética é uma técnica que se utiliza de processos de magnetização de materiais magnéticos, para liberação de energia em forma de calor ao meio onde o material (sendo mais eficientes, de forma geral, os no regime ferromagnético) se encontra, quando submetido a um campo magnético alternado. O que acaba por gerar o aquecimento de uma determinada área. (HERGT ;DUTZ, 2007)

Esta técnica vem ganhando visibilidade graças a possibilidade de mitigação de efeitos colaterais em tratamentos de doenças como o câncer. Isso pode acontecer, pois com o desenvolvimento adequado de nanopartículas é possível que esse calor seja liberado em uma região de interesse bem determinada. Podendo ser utilizada como método terapêutico principal ou conjugado com carreamento de fármacos, foto-hipertermia entre outras. (FANG; CHEN, 2013; SANTOS et al., 2016; ZHAROV et al., 2005)

A aplicabilidade desta técnica se dá devido às células cancerosas resistirem a temperatura de até 42°C, devido à abnormal vascularização do tumor, impedindo que este tenha uma dissipação de calor eficiente. Enquanto as células saudáveis resistem a temperaturas de até 45°C. Sendo assim, um aquecimento controlado, a uma temperatura intermediária (entre 42 °C e 45 °C) espera-se ser possível causar danos às células cancerosas, sem lesão às saudáveis. (SURIYANTO; NG; KUMAR, 2017)

Nanopartículas magnéticas para serem utilizadas em hipertermia magnética devem satisfazer, obrigatoriamente, alguns critérios. São esses:

- I. Biocompatibilidade e baixa citotoxicidade;
- II. Campo coercivo e magnetização de remanência nula, evitando interações dipolares entre as partículas e assim a aglomeração das mesmas;

- III. Utilização de campos alternados biocompatíveis. A frequência (f) e a amplitude do campo magnético H utilizados devem obedecer ao produto: $H.f < 4,85 \cdot 10^8$ A/m.s, neste intervalo a utilização de campos magnéticos é segura ao paciente (HERGT; DUTZ, 2007);
- IV. Maior valor de magnetização de saturação possível, o que é ligado ao poder de aquecimento das partículas sob ação de um campo oscilante, uma vez que aumentando a magnetização de saturação, aumenta-se a área da curva de histerese.

A eficiência de dissipação de energia destas partículas é determinada por uma grandeza denominada taxa de absorção específica, do inglês *Specific Absortion Rate* (SAR), descrita pela seguinte equação:

$$SAR = \left(\frac{m_l C_l + m_{NP} C_{NP}}{m_{NP}} \right) \left(\frac{dT}{dt} \right)_{max} \quad (3.10)$$

nesta equação m_l e m_{NP} s representam a massa, e C_l e C_{NP} s o calor específico do líquido e das NPs respectivamente; $(dT/dt)_{max}$ é a variação de temperatura no tempo (K/s), a unidade da SAR é o (W/g). (NANOSCALE BIOMAGNETICS, 2001)

A dissipação de energia pode ocorrer por dois mecanismos: perdas por histerese e perdas por susceptibilidade. Essa segunda pode ser dividida em duas, relaxação de Brown e relaxação de Néel.

O processo de geração de calor por perdas histeréticas está relacionado ao processo histerético da magnetização do sistema. Quando aplicado um campo magnético em um ferromagneto, parte da energia é utilizada para alinhar os momentos magnéticos ao campo, quando o campo é zerado parte dessa energia não é devolvida ao sistema por conta da remanência. Por se encontrar em um

estado fora do equilíbrio, essa energia acaba por ser dissipada no meio em forma de calor, este processo ocorre de forma lenta, podendo ser acelerada com a utilização de um campo magnético oscilante. Em uma partícula que apresenta curva histerética a quantidade de calor dissipada é diretamente proporcional à área da histerese:

$$\text{Área} = \oint H dM \quad (3.11)$$

sendo μ_0 permeabilidade magnética no vácuo, H o módulo do campo magnético e M a magnetização da partícula. O SAR desse sistema é dado incluindo a frequência (f) na equação e μ_0 :

$$SAR = \mu_0 f \oint H dM \quad (3.12)$$

a partir desta equação podemos concluir que quanto maior o campo coercivo e a magnetização de saturação da partícula, maior será sua eficiência na geração de calor por hipertermia magnética. (ROSENWEIG et al., 2002)

No regime superparamagnético os métodos de geração de calor dominantes se devem, em grande parte, a instabilidade dos momentos magnéticos, permitindo que flutue entre os mínimos energéticos das partículas, podendo ser alterados por variações térmicas.

Estes estão relacionados ao processo de relaxação magnética do sistema, assim como o processo de perdas histeréticas, sendo ilustrados os processos ilustrados na figura 9:

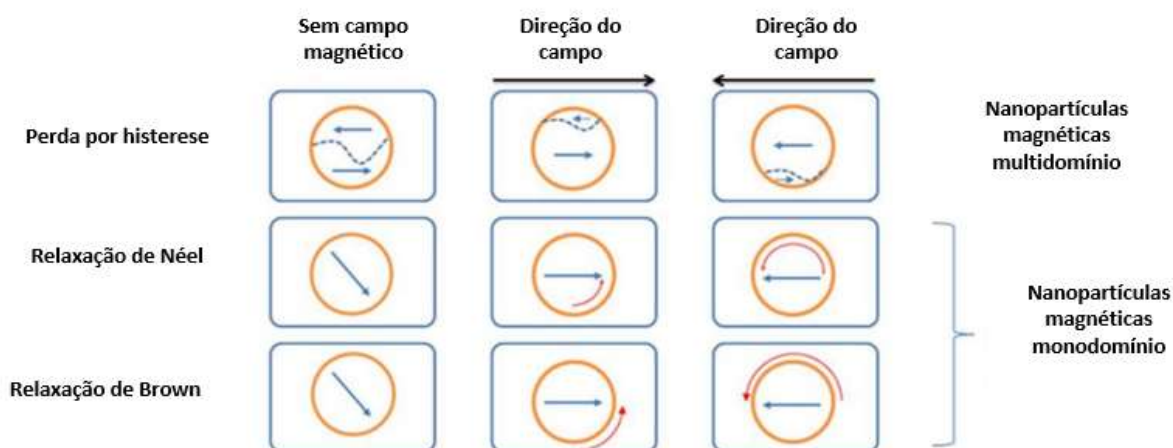


Figura 9: Modelos de geração de calor em partículas magnéticas por aplicação de campo magnético alternado. Adaptado do trabalho de SURİYANTO; NG; KUMAR. (2017).

Na relaxação de Brown, as partículas magnéticas se movimentam no líquido de forma a acompanharem o campo magnético aplicado. Com isso, acabam por dissipar calor devido ao atrito entre sua superfície e o fluido no qual estão imersas. O tempo de relaxação característico denominado tempo de relaxação de Brown (τ_B) depende da viscosidade do meio (η) e do volume hidrodinâmico da partícula (V_H). Sendo expresso por (ROSENWEIG et al., 2002):

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{k_B T} \quad (3.13)$$

Enquanto na relaxação de Néel, há a variação na direção dos momentos magnéticos sem o movimento físico das partículas. Quando um campo magnético alternado é aplicado sobre as partículas, os momentos passam ao processo de alinhamento e subsequente relaxação de acordo com a frequência utilizada. Sendo a frequência suficientemente alta, o sistema passa a poder ser identificado como bloqueado, estando fora do regime superparamagnético, apresentando uma histerese magnética, e conseqüentemente passando a dissipar calor no meio. Na relaxação de Néel o tempo característico é dado pela equação (ROSENWEIG et al., 2002):

$$\tau_N = \frac{\tau_0}{2} \sqrt{\frac{\pi k_B T}{KV}} \exp\left(\frac{KV}{k_B T}\right) \quad (3.17)$$

O fenômeno de relaxação de Brown e de Néel acontecem paralelamente, sendo possível descrever um tempo de relaxação magnética efetivo (τ_{ef}) da seguinte forma (ROSENWEIG et al., 2002):

$$\frac{1}{\tau_{ef}} = \frac{1}{\tau_B} + \frac{1}{\tau_N} \quad (3.18)$$

Observando os termos da equação, fica claro que o menor tempo de relaxação será o dominante. Logo, se estiver tratando de partículas pequenas em um meio com baixa viscosidade, há uma grande probabilidade de a relaxação de Brown reger o tempo de relaxação magnética no sistema.

Para estes mecanismos, a geração de calor é descrita pela equação:

$$SAR = \pi \mu_0 \chi_0 H^2 f \frac{2\pi f \tau_{ef}}{1 + (2\pi f \tau_{ef})^2} \quad (3.19)$$

onde χ_0 é a susceptibilidade magnética (sendo considerada constante neste caso) e f a frequência do campo magnético. (ROSENWEIG et al., 2002)

3.6 Ressonância plásmom de superfície e foto-hipertermia em nanopartículas de ouro

Tratamentos fototérmicos utilizam-se dos fótons como fontes de excitação para a geração de calor a partir dos elétrons da superfície de partículas.

O fenômeno no qual ocorre este efeito é denominado ressonância plásmom de superfície (RPS). Gerado devido à interação entre partículas polarizáveis e um

campo elétrico homogêneo. Esta interação induz um dipolo elétrico oscilante, fazendo com que os elétrons se desloquem em direção contrária ao campo. Como resultado há o surgimento de um campo elétrico restaurador, restaurando as cargas para o equilíbrio. O acoplamento destes efeitos é o que gera o fenômeno. Podendo ser desencadeado com a aplicação de um laser (de comprimento de onda específico), então os elétrons absorvem energia dos fótons e sofrem uma transição de energia para um estado excitado. Em seguida o sistema relaxa voltando ao estado de menor energia. Resultando em um aumento de energia cinética e consequente aquecimento no meio próximo ao objeto absorvedor. (HUANG et al., 2008)

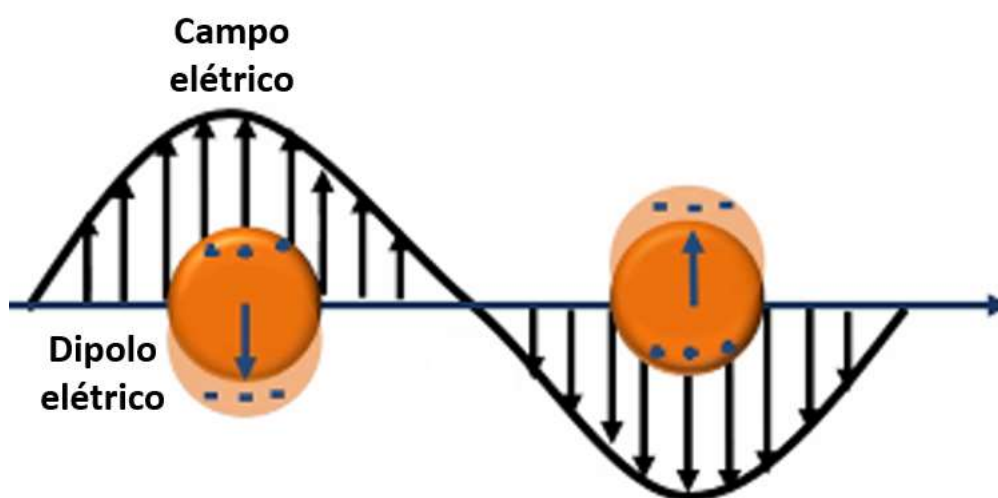


Figura 10: Dipolo elétrico oscilante induzido em uma partícula metálica a partir da incidência de luz. (SANTOS et al., 2016)

Este efeito é altamente dependente da forma, do tamanho e do nível de agregação das partículas usadas. Em particular quando se deseja utilizar esta técnica em sistemas biológicos, o comprimento de onda ideal está na faixa do infravermelho (IV) próximo (SHAO et al., 2015). O trabalho de JAIN et al. (2006) mostra o estudo da variação no comportamento do comprimento de onda de excitação para RPS utilizando nanopartículas de ouro com diversas morfologias, tamanhos e composições. Na figura 11 é apresentado um gráfico no qual é possível observar a variação do comprimento de onda no qual ocorre maior absorção de luz por partículas de ouro esféricas quando irradiadas, em função do tamanho das partículas. É possível concluir que o controle do tamanho das partículas de ouro

também permite o controle da faixa do espectro luminoso onde ocorrerá a excitação do sistema.

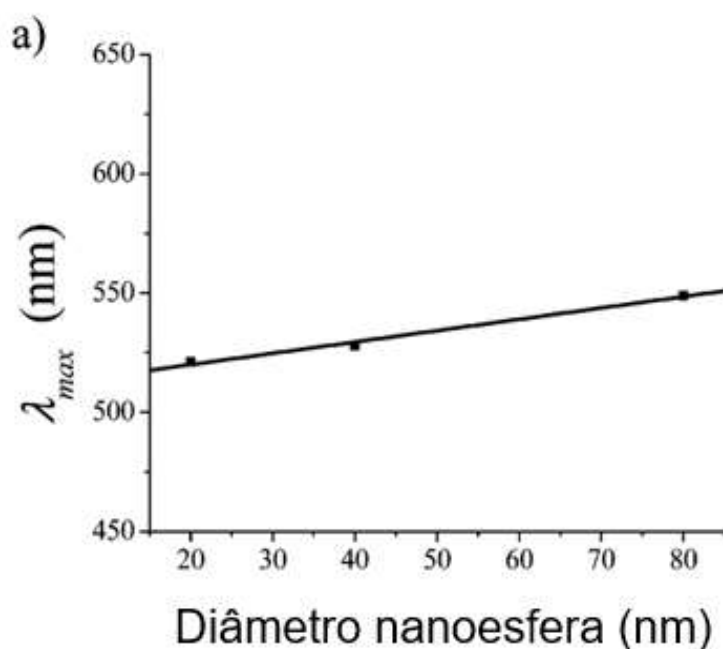


Figura 11: a) Variação da excitação de RPS máxima em partículas com morfologia esférica. (JAIN et al., 2006)

A partir dos resultados obtidos no trabalho de ZHAROV et al. (2005), é possível observar a eficiência da utilização das partículas de ouro para geração de calor em função de seu tamanho. O estudo utilizou partículas de ouro com diâmetros entre 20 e 40 nm em suspensão aquosa conjugadas com anticorpos monoclonais a fim de se ligarem à superfície de células cancerosas, formando agregados, como mostrado no esquema da figura 11. Como a RPS é altamente dependente das dimensões, o nível de agregação de nanopartículas também gera modificações no comprimento de onda onde ocorre a ressonância. Esses aglomerados sofrem um desvio para o vermelho no seu comprimento de onda de absorção devido ao acoplamento das diferentes faixas de RPS, mudando o comprimento de onda onde ocorre a excitação do espectro visível para o IV.

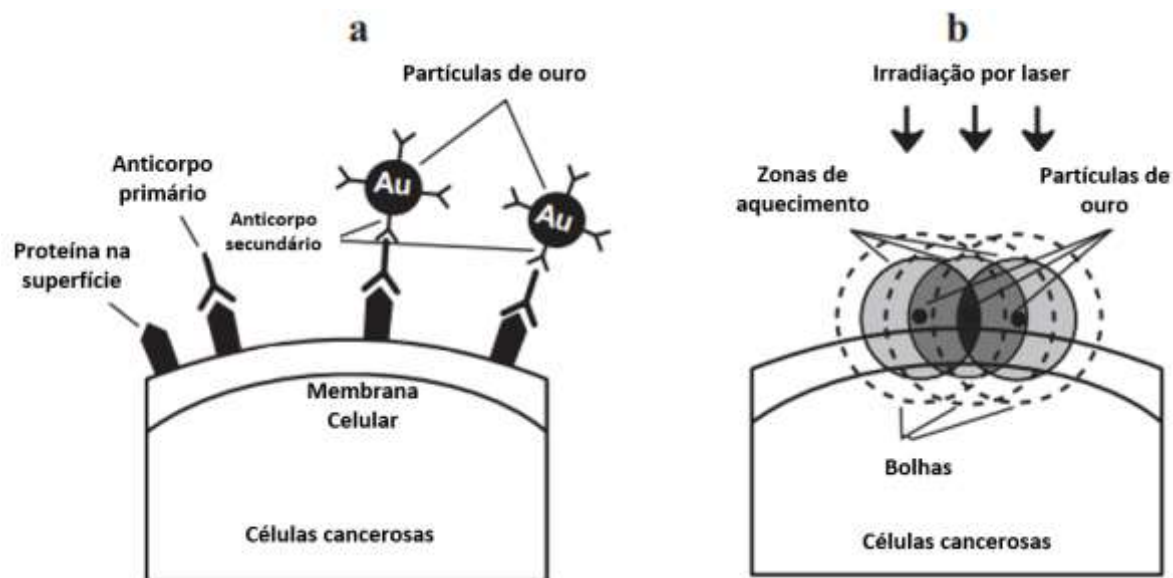


Figura 12: Esquema de adesão e aquecimento das partículas de ouro sob as células cancerosas. a) os anticorpos primários F19 aderem às proteínas da superfície da célula. b) por irradiação formam bolhas que lesionam a célula. (ZHAROV et al., 2005)

Foram feitos testes utilizando partículas e clusters, com aplicação de laser de comprimento de onda de 532 nm, resultando na redução da viabilidade das células cancerosas. Entretanto, com a irradiação por laser de comprimento de onda 1034 nm (IV) às partículas de ouro, não foi observado praticamente nenhum efeito, enquanto os clusters destruíram praticamente todas as células. Por fim, o estudo mostrou que para a utilização desta técnica os agregados de nanopartículas de ouro devem apresentar diâmetro entre 200 e 300 nm, sendo compostos por partículas entre 30 e 40 nm. (YU et al., 2017)

4. Estado da arte

Neste capítulo serão apresentados brevemente trabalhos encontrados na literatura com foco na pesquisa para otimização de nanopartículas de óxido de ferro e/ou ouro com propósito de entrega de calor.

4.1 Ferritas e óxido de ferro para aplicações a hipertermia magnética

O material mais usado em aplicações de hipertermia são os óxidos de ferro (magnetita e maghemita), devido à boa biocompatibilidade e simplicidade de obtenção em forma escalonável dessas NPs, sendo as partículas na fase maghemita mais estáveis devido a já estarem oxidadas, logo possuem menor potencial para gerar danos ao organismo devido a reações de oxidação. Em decorrência da forte dependência de parâmetros experimentais, tais como: intensidade e frequência do campo magnético aplicado, anisotropia, comportamento magnético, morfologia, diâmetro, interações entre partículas, viscosidade do meio e concentração das partículas, é possível observar diversos valores de SAR para partículas com a mesma composição. (HILGER et al., 2003; RIEHEMANN et al., 2009)

Na busca por sistemas mais eficientes em aplicações de hipertermia, a síntese de materiais com estruturas heterogêneas tem grande destaque, podendo-se combinar características magnéticas e morfológicas distintas, a fim de formar um novo sistema que possa produzir resultados superiores. Nesta perspectiva, o trabalho de Lee et al. (2011) faz a análise de diversas partículas magnéticas com diferentes materiais, apresentando o resultado de maior eficiência para partículas formadas por uma casca de $Zn_{0,4}Mn_{0,6}Fe_2O_4$ com núcleo de $Zn_{0,4}Co_{0,6}Fe_2O_4$. Esse sistema caroço@casca possui morfologia esférica, sendo o núcleo com diâmetro de 9 nm e a casca de 6 nm de espessura, como mostrado na figura 13. Este sistema apresentou SAR de 3886 W/g quando submetido a um campo com amplitude de 468,7 mT e frequência de 500 kHz.

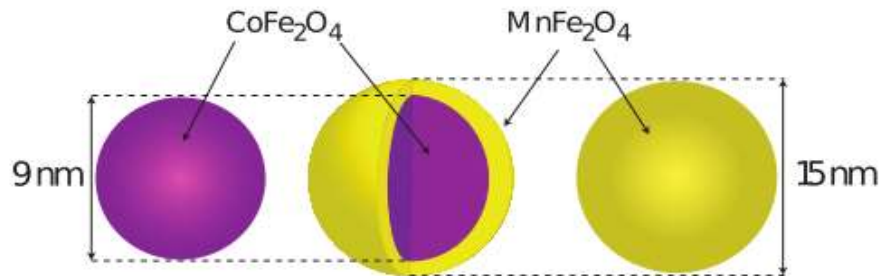


Figura 13: Esquema de nanopartícula com estrutura caroço@casca, mostrando a composição de cada parte e suas dimensões. (Lee et al., 2011)

Seguido pelo trabalho de Liu et al. (2015) que apresentou nanopartículas com morfologia de anel com 70 nm de diâmetro externo, 60 nm de diâmetro interno e altura de 50 nm, estas NPs apresentam SAR de 3050 W/g, este resultado em particular se deve ao fenômeno de vórtice magnético, pois como visto na **seção 3.4**, este regime apresenta uma maior área de histerese magnética, sendo essa diretamente proporcional ao SAR. Apesar de estes valores serem os maiores encontrados na literatura, como pode ser visto na figura 14 b), estes resultados foram obtidos a campos de frequência de 400 kHz e com amplitude na faixa de 80 mT, sendo fora do considerado campo magnético biocompatível.

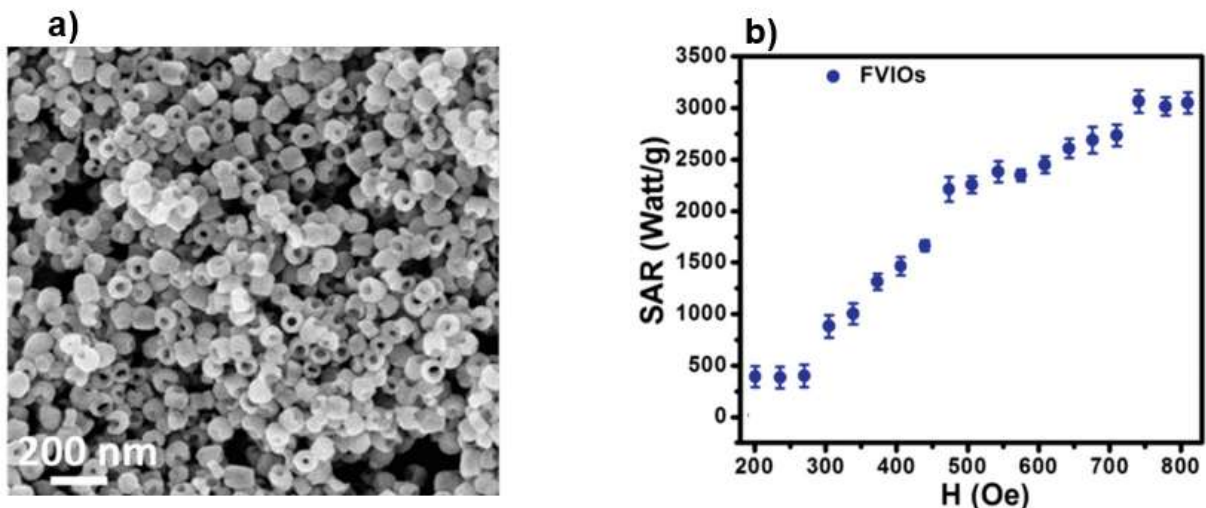


Figura 14: a) Imagem de microscopia eletrônica de varredura de nanopartículas de óxido de ferro com morfologia anelar. b) Variação do SAR dos nanoanéis de óxido de ferro em função do campo magnético aplicado, com frequência de 400 kHz. Adaptado de Liu et al. (2015).

4.2 Nanopartículas magnéticas como agentes para hipertermia magnética e foto-hipertermia para tratamento de câncer

Com o objetivo de tornar métodos de tratamento mais eficazes e possibilitar a diminuição ou até mesmo eliminar efeitos colaterais, diversas pesquisas se voltam para a área nanotecnológica.

O estudo e desenvolvimento de materiais multifuncionais traz a possibilidade de conjugação de mais de uma técnica utilizando uma mesmo material, isto atrai grande atenção por possibilitar o aprimoramento de diversos procedimentos. Neste viés Espinosa et al. (2016) demonstram resultados promissores na utilização de partículas de óxido de ferro para tratamento do câncer lançando mão de duas técnicas de aquecimento: hipertermia magnética e foto-hipertermia.

Nesse trabalho, os autores utilizaram partículas com morfologia cúbica com os lados de comprimento de 20 nm. As amostras foram colocadas no interior de bobina e irradiadas com laser. A temperatura foi monitorada com auxílio de uma câmera IV na parte inferior do porta amostras. Os testes foram feitos utilizando a técnica de hipertermia magnética (MHT) individualmente, foto-hipertermia (LASER) individualmente e ambas ao mesmo tempo (DUAL), cujo esquema experimental pode ser visto na figura 15. (ESPINOSA et al., 2016)

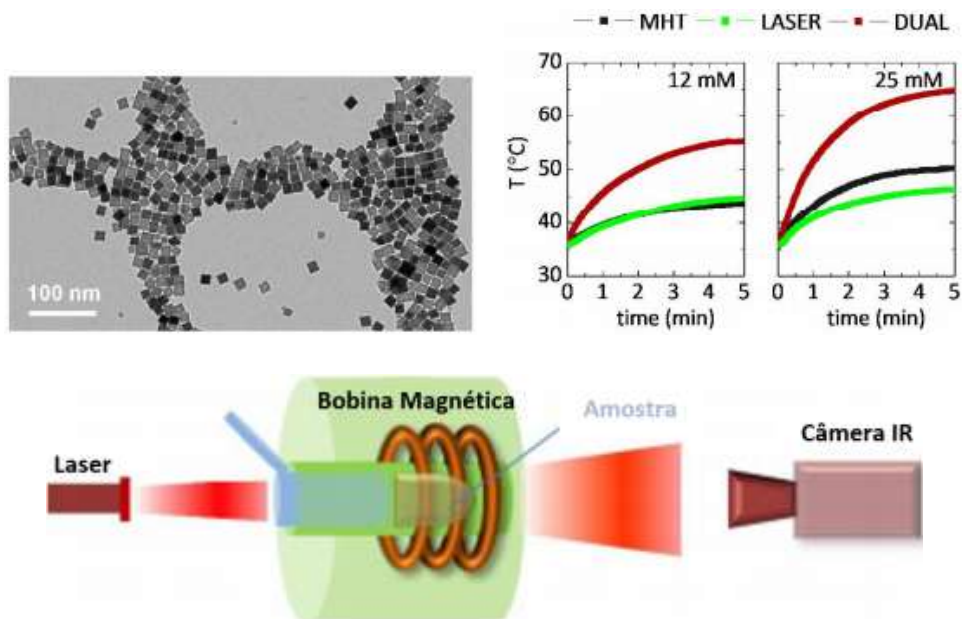


Figura 15:a) Imagem de microscopia de transmissão de partículas de óxido de ferro com morfologia de cubos. b) Curvas de aquecimento das partículas com apenas MHT, apenas LASER e DUAL e c) esquema do aparato experimental no trabalho de Espinosa et al. (2016).

O estudo mostrou que os resultados na eficiência calorífica das partículas aumentaram grandemente quando utilizadas as duas técnicas ao mesmo tempo, sendo possível obter um SAR de 5000 W/g com ambas as técnicas conjugadas. Com os dados obtidos os autores provam que este método tem maior eficiência e pode resolver problemas referentes à concentração de partículas, que por vezes passa a ser tóxica devido à necessidade de uma dose maior para que o método se torne viável. Em observância a estes resultados, é de grande interesse a decoração das partículas de óxido de ferro por partículas de ouro, uma vez que possibilitará a utilização também da RPS para o aquecimento, podendo assim gerar efeitos ainda maiores.

4.3 NPs_{ouro} com morfologia de bastão para aplicações à Foto-hipertermia por RPS

Na busca de métodos eficientes e não invasivos para o tratamento de tumores, a foto-hipertermia se mostra como uma opção de grande potencial. No trabalho de El-Sayed et al. (2016) foi feito o estudo da utilização de NPs_{ouro} com morfologia de bastão, o comprimento médio das partículas foi de 26 nm com uma largura de 5 nm, como pode ser visto na imagem 15, para aplicações a FH por ressonância plásmon de superfície no tratamento de câncer de mama não induzido artificialmente em cães e gatos.

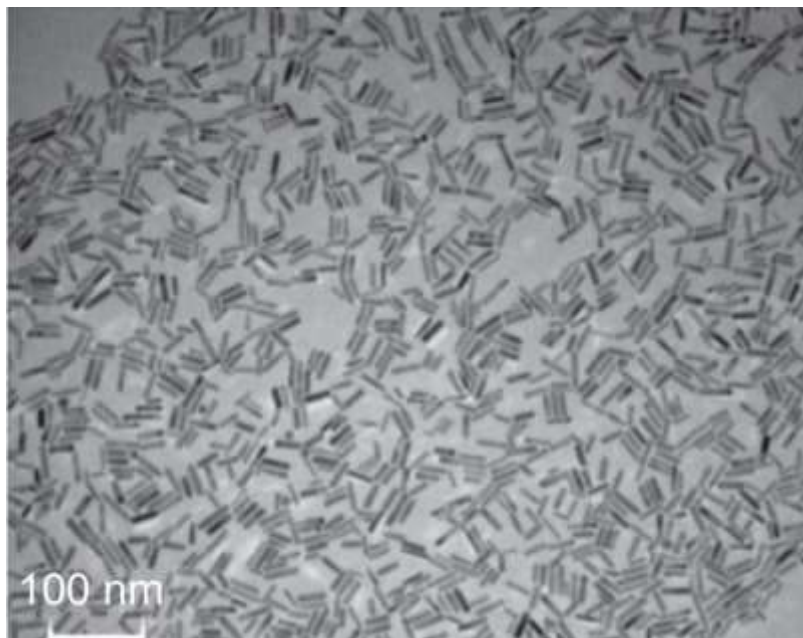


Figura 16: Imagem de microscopia eletrônica de transmissão NPs_{ouro} com morfologia de bastão utilizadas no tratamento. (El-Sayed et al., 2016)

O estudo utilizou inicialmente solução de NPs_{ouro} (7,5 nM) para cada 100 cm³. Essa concentração foi reduzida para a metade a cada seção de tratamento. A solução com as NPs_{ouro} foi injetada diretamente no tumor. O tumor foi irradiado utilizando um laser de diodo com comprimento de onda de 808 nm (potência de 5,8 W/cm²) em sessões de 2 a 5 minutos. A temperatura foi avaliada utilizando um termômetro em forma de agulha diretamente na área irradiada.

Na figura 17 é possível observar a regressão do tumor com a aplicação do tratamento, que durou ao todo 4 semanas. Em praticamente todos os casos, houve total regressão após a terceira sessão.

Os resultados mostraram que aquecimento dos tumores a uma temperatura entre 42-45 °C acarretou uma maior quantidade de apoptose das células cancerosas enquanto que o aquecimento a uma temperatura acima de 50° C causou mais casos de necrose. Os animais foram avaliados durante um ano após os tratamentos e não apresentaram casos de reincidência de câncer ou citotoxicidade, demonstrando assim que o método é seguro.

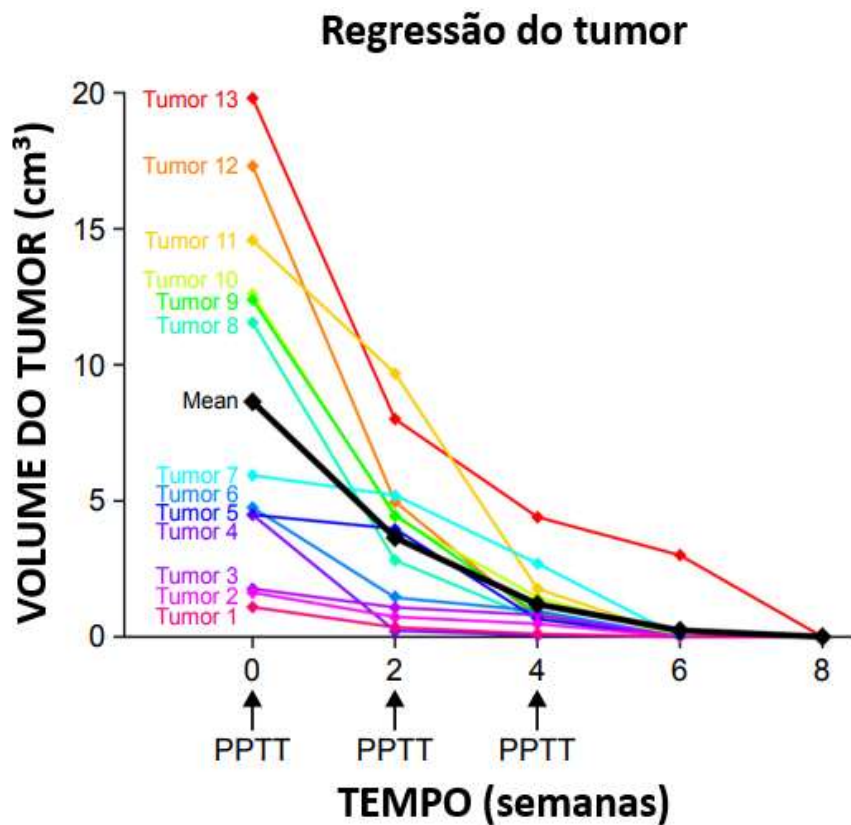


Figura 17: Gráfico da redução do volume dos tumores ao longo do tratamento por PPTT (Tratamento Fototérmico por ressonâncias plasmônica, do inglês *Plasmonic Photothermal Treatment*).

4.4 Agregados de partículas de ouro para terapia fototérmica com bolhas de vapor

No trabalho de Shao et al. (2015) é proposta a utilização de NPs_{ouro} com morfologia de bastão, para tratamento de tumores induzidos em ratos pela formação de bolhas de vapor.

Foram utilizados sistemas formados pela agregação de nanobastões de ouro com comprimento de 50 nm e diâmetro de 20 nm em microcápsulas, essas formadas por quitosana/alginato de sódio, como mostra a figura 18. Estas partículas quando em agregados podem ser utilizadas para gerar bolhas de vapor devido ao aquecimento do meio por FH quando irradiadas por laser. A geração de microbolhas de vapor explosivas na superfície das células gera dano mecanicamente. Estes danos podem ser irreversíveis, dificultando o trânsito de moléculas necessárias à sua manutenção, ou o simples rompimento da parede celular, levando em ambos os casos à morte da célula. Além disso, os sistemas podem ser funcionalizados e utilizados como agente fluorescente para marcação de tecidos.

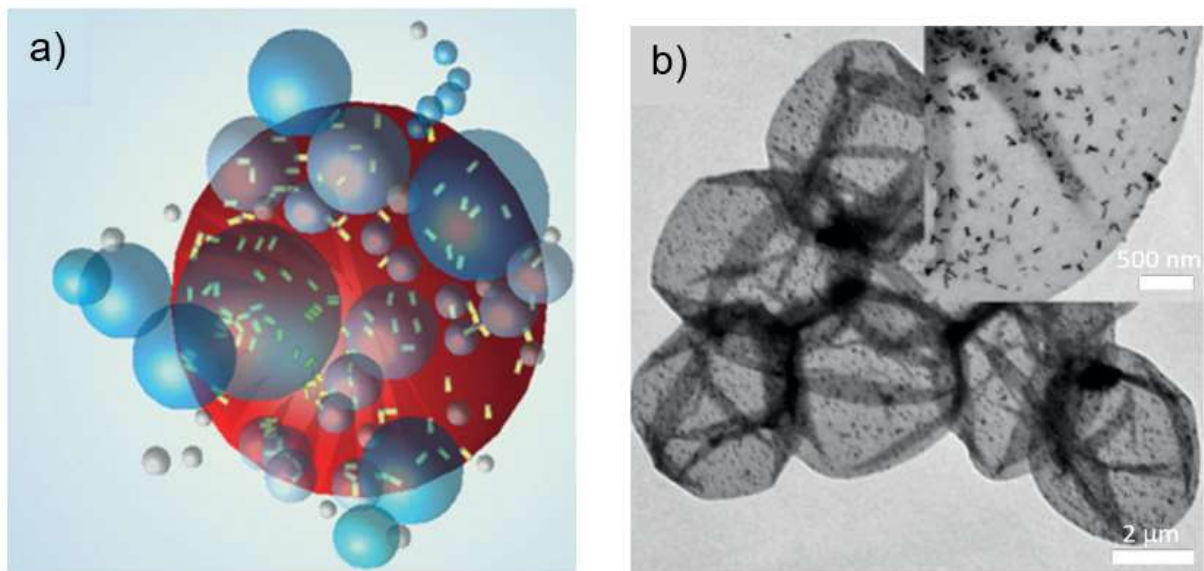


Figura 18: **a)** Esquema de geração de bolhas de vapor por microcápsula carregada com nanobastões de ouro. **B)** Imagem obtida por Microscopia Eletrônica de Transmissão das microcápsulas carregadas com pequenos nanobastões de ouro. No detalhe é exibido a morfologia das partículas.

O tamanho das bolhas formadas pode ser modulado variando a potência do laser utilizado para irradiação, ou seja, quanto maior a potência, maior a temperatura, e conseqüentemente maior o tamanho da bolha, como pode ser visto na figura 19.

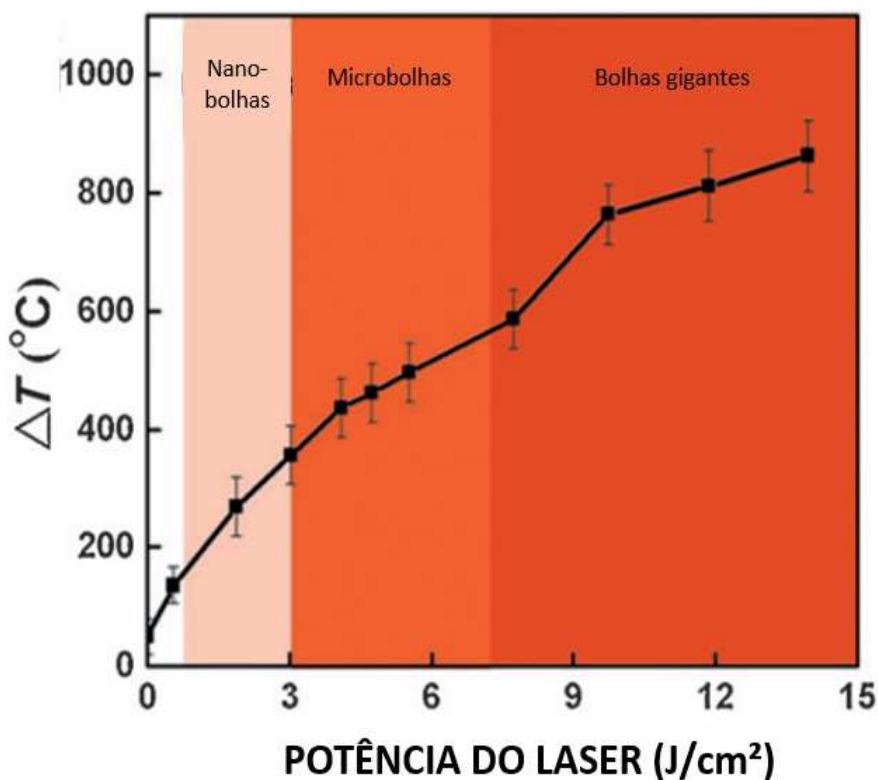


Figura 19: Gráfico exibindo a escala de tamanho das bolhas de vapor produzidas em função da intensidade do laser.

Os resultados obtidos mostraram grande eficiência na eliminação de células cancerosas, levando essas ao estado de necrose. A viabilidade dessas células foi reduzida entre 60-65% quando submetidas ao tratamento, como mostra a figura 20. Nessa figura é possível analisar a redução da viabilidade, indicada pela diminuição do peso do tumor, utilizando solução PBS (controle), capsulas sem laser, apenas o laser e as capsulas com irradiação por laser, essa última mostrando uma clara diminuição na massa tumoral. A partir dos resultados desse trabalho fica claro que este sistema tem potencial de ser utilizado em aplicações teranósticas.

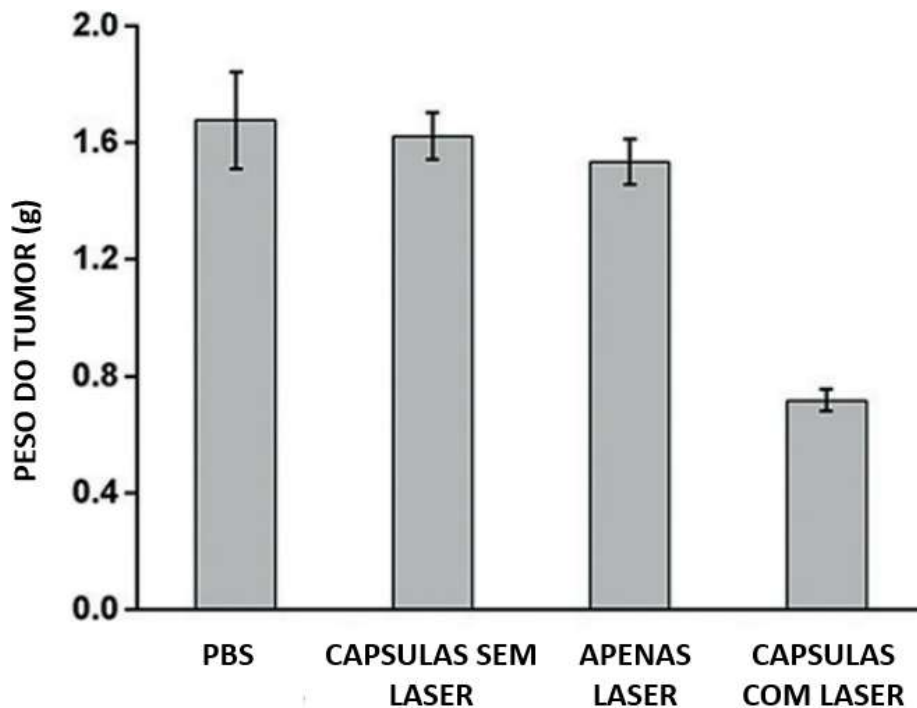


Figura 20: Histograma exibindo a diminuição da massa tumoral após tratamento.

4.5 Considerações finais

Neste trabalho propomos a síntese de uma nanoplataforma multifuncional que possa conjugar tanto os métodos de tratamento térmico provenientes do comportamento magnético (hipertermia magnética, proveniente da fase de magnetita/maghemita) quanto ótico (foto-hipertermia, proveniente da fase de ouro), a fim de aumentar a eficiência de entrega de calor do sistema, podendo assim serem utilizadas quantidades menores de material (menor dosagem) e também um menor tempo na sessão de tratamento.

Levando em consideração a importância do avanço de terapias alternativas para doenças como o câncer, que possam trazer maior conforto ao paciente e menos efeitos colaterais, este estudo apresenta grande interesse no cenário onde essa enfermidade desponta como um grande desafio ao campo da ciência.

5. Resultados e Discussão

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos e as principais análises estruturais e morfológicas das partículas sintetizadas neste trabalho, além de uma discussão sobre os resultados.

5.1 Nanopartículas de óxido de ferro

Nesta seção serão apresentadas as caracterizações das amostras de óxido de ferro sintetizadas pela rota solvotérmica. Esta rota é baseada em reações químicas heterogêneas na presença de um solvente não-aquoso (etilenoglicol, EG) acima da temperatura ambiente (200 °C) e com pressão autógena dentro de um sistema fechado ($P > 1$ atm) (LIU et al., 2011). Nestas condições ocorre a hidrólise e desidratação dos sais metálicos dos precursores com formação dos respectivos óxidos, que apresentam baixa solubilidade em tais condições. Foram produzidos dois lotes de NPs de óxido de ferro utilizando o mesmo procedimento.

Assim como em Liu et al. (2011), nesse trabalho utilizou-se sal de Fe^{3+} como precursor e o etilenoglicol (EG) como o agente redutor fraco para obtenção da magnetita (Fe^{2+} e Fe^{3+}). Em geral, NPs apresentam forte tendência a aglomerarem em meio aquoso, portanto, nesta rota sintética, adicionou-se ainda acetato de sódio para estabilização eletrostática das partículas, evitando assim a aglomeração. Por fim, o polietilenoglicol (PEG), foi adicionado como um surfactante e como um coadjuvante na prevenção contra a aglomeração das partículas por impedimento físico (repulsão estéril). (JI et al., 2018)

Toda a metodologia está descrita em detalhes no **Anexo I (p.113)**.

Como o objetivo do projeto é construir uma nanoplataforma multifuncional, precisamos considerar vários aspectos, tanto de ordem prática quanto científica.

Alguns aspectos que foram levados em conta, foram a dificuldade, infligida pela pandemia da COVID-19, onde muitos laboratórios estavam fechados e técnicas

experimentais indisponíveis. Uma desses foi a Microscopia Eletrônica de Transmissão, indispensável para a análise de amostras da ordem de nanômetros.

Outras considerações precisam ser ainda abordadas, como custo, reprodutibilidade, interesse prático entre outros. Nesse sentido, optamos por construir uma plataforma baseada em NPs esféricas, e com tamanhos maiores, facilitando sua análise em um MEV (disponível ao longo de boa parte da pandemia).

Essa escolha de nanopartículas maiores pode inviabilizar sua utilização em biomedicina, já que, certamente, para diâmetros maiores que poucos nm, o sistema sai do regime superparamagnético, passando a um bloqueado ou multidomínios (como discutido no capítulo 3).

Em ambas as situações, o ciclo de histerese, apresentará coercividade e remanência magnética não nulos, o que pode promover interação e aglomeração entre as nanopartículas, sendo altamente indesejado em aplicações biomédicas. Porém, uma escolha adequada de diâmetro, pode fornecer um regime especial, onde o sistema estabiliza em uma configuração de vórtice magnético.

Nesse caso, embora tenhamos amostras maiores que as SPIONs , esperamos que os pré-requisitos para aplicações biomédicas continuem sendo satisfeitos, ainda com a vantagem de seu ciclo apresentar histerese no regime quase estático, o que, segundo a equação 3.12, tem contribuição para o aumento do SAR.

Como dito na **seção 2.2**, utilizaremos dois métodos para a decoração das partículas de óxido de ferro. Sendo que somente a amostra 228nm será utilizada para o recobrimento pelo método Turkevich, pois ao fim do processo percebemos que esta metodologia não gerou os resultados desejados. Para o método deposição-precipitação utilizamos ambos os sistemas de óxido de ferro (228nm e 265nm).

5.1.1 Análise por Difração de Raios X de pó das amostras 228nm e 265nm

Com objetivo de avaliar a formação da fase magnetita/maghemita, foram feitas caracterizações por difração de pó (DRX) nas amostras 228nm e 265nm.

Na figura 21 é possível observar os padrões de DRX que foram utilizados para refinamento pelo método de Rietveld das amostras 228nm e 265nm. Nesta figura, podem-se ver 6 picos principais nas posições $2\theta = 30,3^\circ$, $35,5^\circ$, $43,2^\circ$, $53,7^\circ$, $57,2^\circ$ e $62,5^\circ$. Esses picos puderam ser indexados aos planos cristalinos (220), (311), (400), (422), (333) e (440), respectivamente. Esses picos correspondem às fases da magnetita/maghemita, e foram identificados no difratograma utilizando a bases de dados ICSD n° 30860. Vale ressaltar que por esta técnica não é possível distinguir entre a magnetita e a maghemita. Os resultados mostram que não foram identificadas fases espúrias, sendo o pico não indexado e indicado em verde na figura se tratando do sinal referente ao substrato.

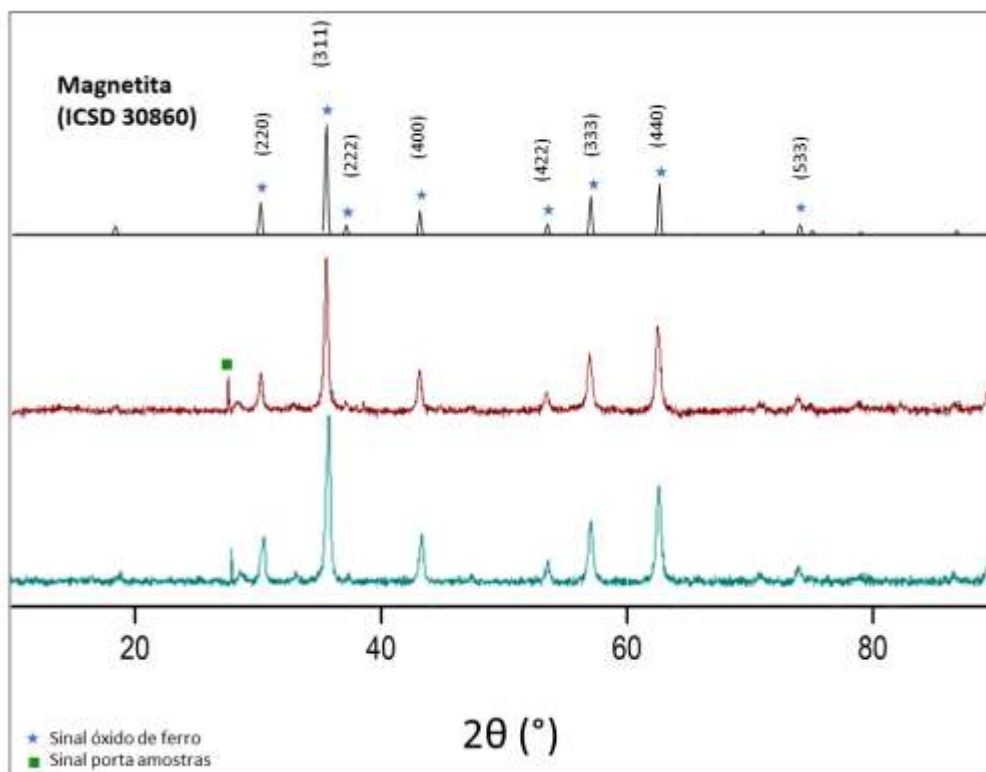


Figura 21: Difratogramas representando os padrões de DRX obtidos após refinamento Rietveld das amostras a) 228nm e b) 265nm compostas por maghemita/magnetita, com os planos cristalinos indexados. Podemos ver um quadrado verde indicando o pico gerado pelo porta amostras, estrelas azuis indicam os planos da maghemita/magnetita.

Foi possível calcular o tamanho médio dos cristalitos utilizando a equação de Scherrer, utilizando o pico indexado ao plano (311), o pico de maior intensidade, sendo de 22 ± 2 nm e 44 ± 8 nm para as amostras 228nm e 265nm respectivamente.

Estes valores serão comparados, mais a frente nesse trabalho com o tamanho médio das nanopartículas estimado pela análise das imagens de microscopia eletrônica de varredura. Com intuito de avaliar se os sistemas são monocristalinos, caso em que o tamanho de cristalito coincide com a dimensão da partícula obtida pelo MEV, ou policristalinos, no caso onde o tamanho de cristalito é muito menor que o diâmetro das nanopartículas estimados pelo MEV.

5.1.2 Análise morfológica e distribuição de tamanho das amostras 228nm e 265nm

As imagens da microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras 228nm e 265nm estão apresentadas na figura 22, juntamente com o gráfico de distribuição de tamanho. Como mencionado, o método solvotérmico é um bom método para obtenção de nanopartículas magnéticas uniformes e monodispersas. Verifica-se do gráfico de distribuição, que as partículas obtidas para os dois grupos de amostras são esféricas e possuem diâmetro médio centrado em 228 ± 35 nm e 265 ± 31 nm. O tamanho obtido é o esperado quando se utiliza o referido método de síntese, como visto e obtido por Liu et al. (2011,). Apesar de sua semelhança em dimensão e morfologia, as propriedades magnéticas apresentadas por cada sistema apresentam grande diferença, como poderá ser visto à frente nos resultados obtidos para os parâmetros magnéticos e para o teste de hipertermia magnética.

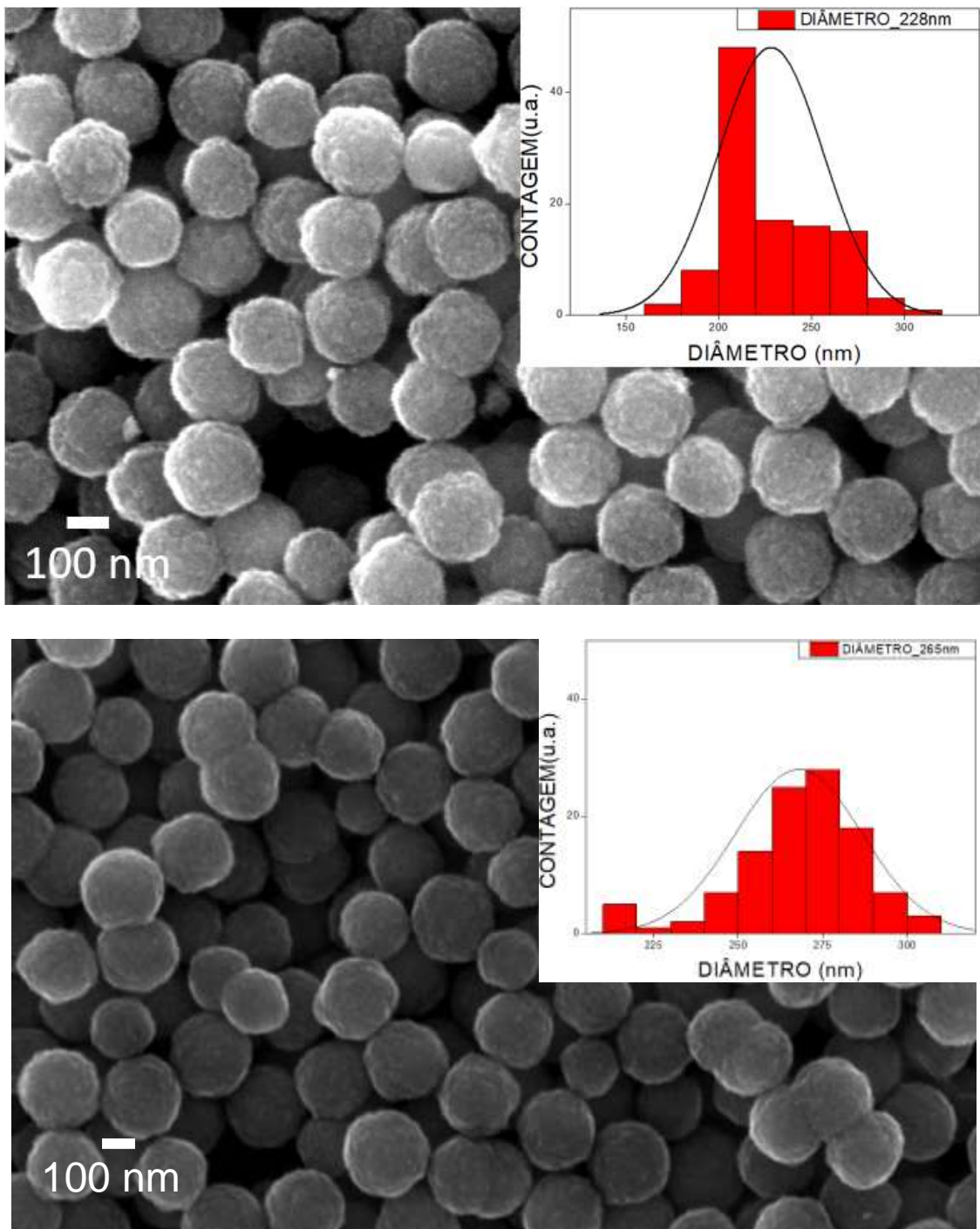


Figura 22: Imagens MEV das nanopartículas a) 228nm, b) 265nm, e suas respectivas distribuições de tamanho.

Como mostrado na tabela 1, os tamanhos obtidos pelo MEV são bem maiores que o tamanho do cristalito estimado pela equação de Scherrer. Isso pode ser um indício que esses sistemas sejam policristalinos. Contudo, somente uma análise detalhada de microscopia de transmissão é capaz de confirmar essa suposição.

Tabela 1: Comparação do tamanho das partículas obtidas por MEV ao tamanho do cristalito das amostras 228nm e 265nm, estimados pela equação de Scherrer (Anexo III).

Amostra	Tamanho da partícula por MEV	Tamanho do cristalito por DRX
228nm	228 ± 35 nm	22 ± 2
265nm	265 ± 31 nm	44 ± 8

5.1.3 Medidas Magnéticas

Para investigar as propriedades magnéticas obtidas nos sistemas 228nm e 265nm, foram feitas análises das curvas de magnetização (Am^2/kg) por campo magnético (mT) das amostras e da magnetização em função da temperatura (K) (MxT), exibidas nas figuras 23 e 24 respectivamente. Da figura 23, é possível obter os valores de M_s , H_c e M_r das partículas de óxido de ferro puras. Os valores dos parâmetros magnéticos estão sumarizados na tabela 2. (A preparação das amostras e descrição do equipamento pode ser vista no **Anexo III, p. 131**)

Tabela 2: Parâmetros magnéticos das amostras 228nm e 265nm.

Amostra	M_s (Am^2/kg)	H_c (mT)	M_r (Am^2/kg)
228nm	71,3	2,8	2,8
265nm	62,6	2,2	2,3

Na figura 23 é possível observar as curvas de magnetização em função do campo magnético das amostras 228nm e 265nm. Comparando as M_s como as usualmente consideradas na literatura para a maghemita ($\sim 60 \text{ Am}^2/\text{kg}$) e para a magnetita ($\sim 90 \text{ Am}^2/\text{kg}$). A partir da magnetização características para as fases de óxido de ferro supracitadas, podemos fazer uma primeira estimativa de que as amostras 228nm são compostas por 60% da fase maghemita e 40% magnetita, enquanto a amostra 265nm é composta por 90% da fase de maghemita e 10% da fase de magnetita. (CORNELL; SCHWERTMANN, 2003)

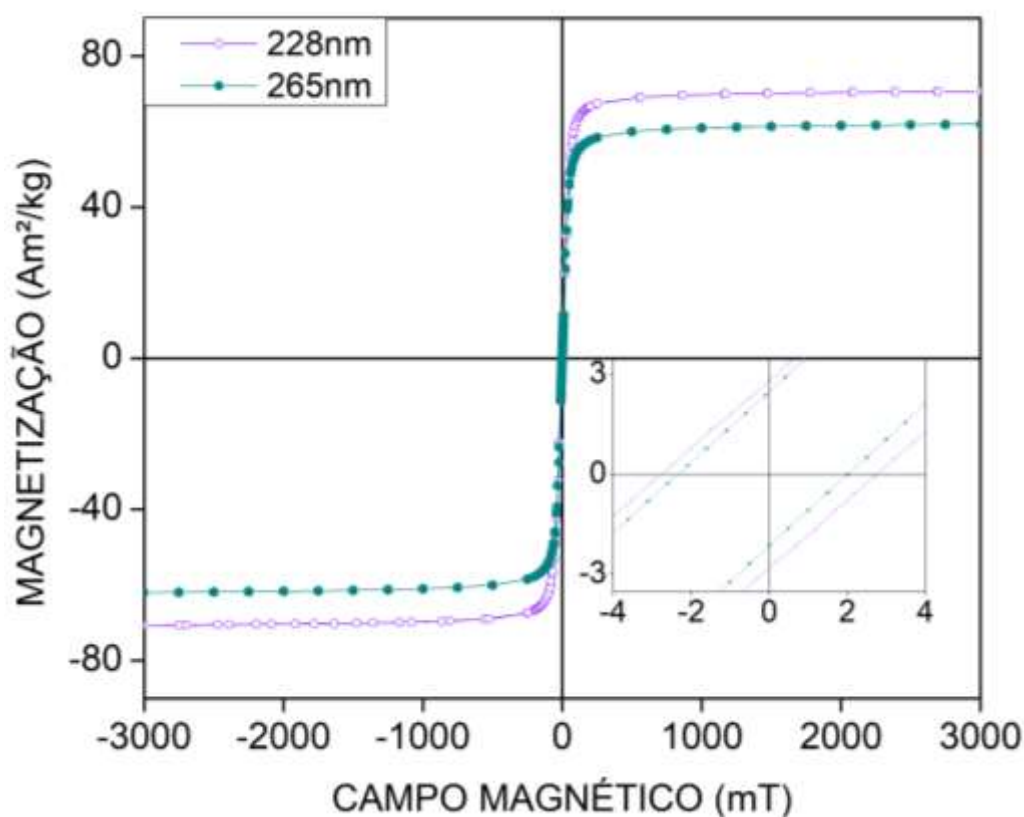


Figura 23: Curvas de histerese magnética para amostras 228nm (círculos violeta) e 265nm (círculos ciano escuro).

Pelo tamanho das nanopartículas, não é esperado que essas estejam no regime superparamagnético em temperatura ambiente, uma vez que com a variação do diâmetro o tempo de relaxação da partícula varia muito, tornando inviável uma partícula com 200 nm de diâmetro estar no estado superparamagnético, sendo esse regime magnético esperado para partículas com diâmetro menores que 17 nm. (GUIMARÃES, 2009). Isso em princípio, deveria inviabilizar sua aplicação em biomedicina. Contudo, como visto na tabela 6.3 a coercividade e remanência desse sistema são consideravelmente pequenas. Entretanto, como visto na seção 3, existe outro regime magnético no qual os critérios magnéticos necessários para aplicações biológicas são satisfeitos, o regime de vórtice magnético. Por essa razão, pode-se supor que esses diâmetros estão dentro dos limites onde o vórtice pode ocorrer.

Realizamos a análise das curvas de magnetização em função da temperatura (figura 24) para estas amostras, utilizando a metodologia ZFC/FC, resfriando a

amostra sem campo magnético e em seguida aplicando um campo magnético de 10 mT enquanto era realizado o aumento da temperatura. Em seguida resfriando a amostra já com campo aplicado, e novamente realizando o aquecimento. As curvas exibiram indício de que sua temperatura de bloqueio está acima da temperatura ambiente, uma vez que ambas as curvas passam a coincidir acima de 400 K para ambas as amostras, podendo essas estarem em uma configuração multidomínio ou em vórtice magnético.

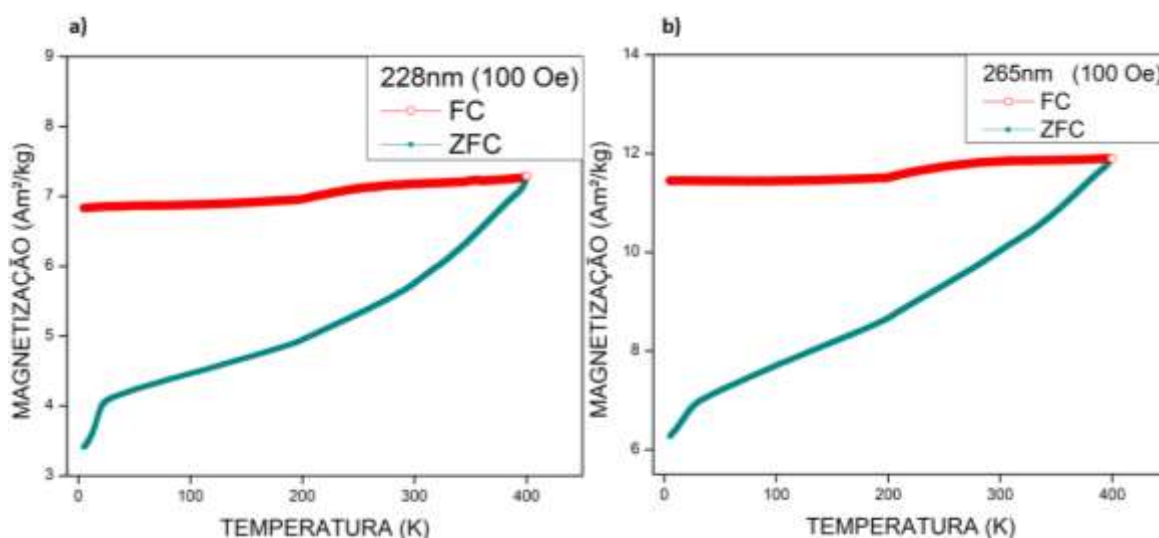
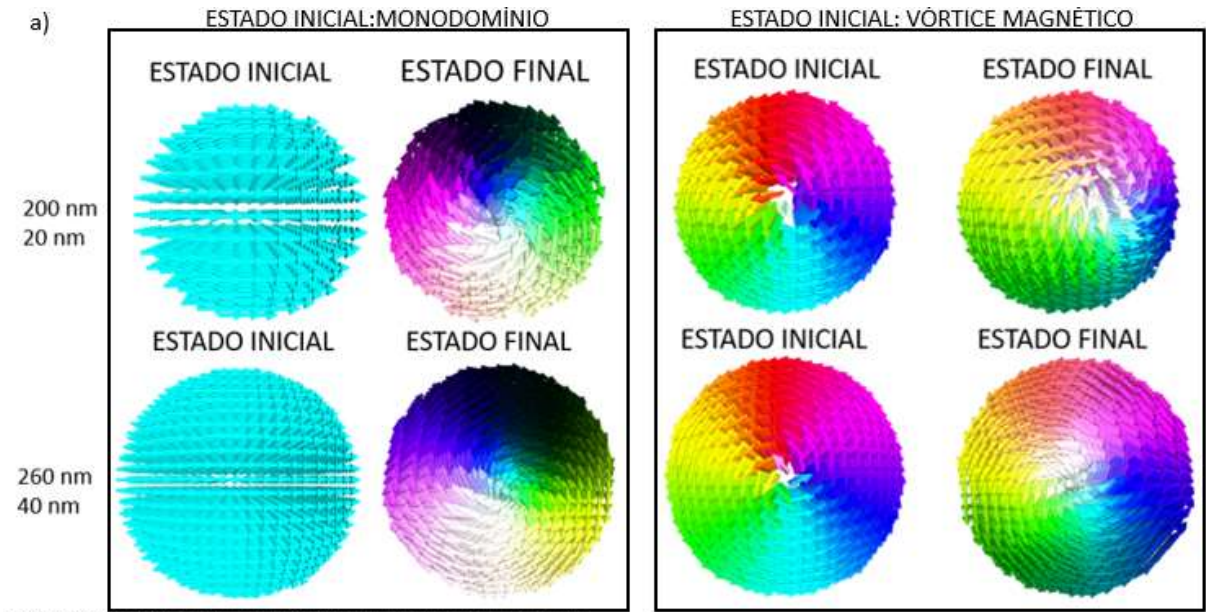


Figura 24: Curvas ZFC/FC das amostras a) 228nm e b) 265nm.

Para verificar essa hipótese, foram feitas simulações micromagnéticas com os parâmetros referentes às amostras 228nm e 265nm, utilizando o *software* Mumax3 (VANSTEENKISTE, 2014), constatando que o estado de menor energia para estas partículas é o de vórtice, como pode ser visto na figura 25 a). Este resultado abre a possibilidade de aplicações biológicas para este sistema, apesar de seu tamanho, pois apresentam H_c e M_r baixos, como pode ser visto na figura 22. Além disso, o sistema também apresenta histerese magnética, que ao contrário do regime superparamagnético, engloba a contribuição de aquecimento por perdas histeréticas, como visto na seção 3.



Simulações realizadas pelo aluno de doutorado Wesley Brito Jalil da Fonseca

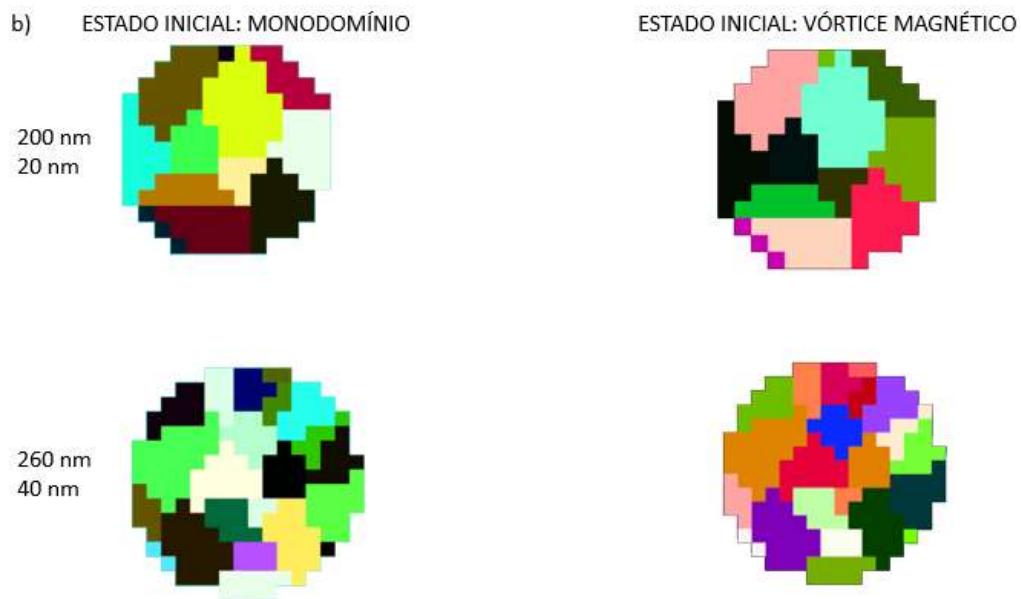


Figura 25: Direção dos momentos magnéticos obtidos por simulação micromagnética no software MuMax3, para as amostras simuladas com 200 nm (linha superior) e com 260 nm (linha inferior). Partindo de um estado com os momentos magnéticos alinhados (monodomínio) e de um estado de vórtice magnético a); Distribuição dos cristalitos utilizados nas simulações b).

5.1.4 Teste de Hipertermia Magnética

As amostras passaram por teste de hipertermia magnética, o procedimento realizado pode ser visto no **Anexo III (p. 129)** nos quais utilizamos campo de radiofrequência (RF) de 20 mT com frequência de 307 kHz, estando compreendido dentro dos limites definidos pelo critério de Brezovich, no qual o produto do campo magnético pela frequência utilizados deve ser inferior a $4,85 \cdot 10^8$ A/m.s, necessários para que possamos considerar estes campos magnéticos biocompatíveis, campos que não geram efeitos adversos ao organismo com exposição de até 1 hora. (LEWINSKI; COLVIN; DREZEK, 2008)

A figura 26 exibe as curvas de aquecimento das amostras 228nm e 265nm demonstrando uma clara diferença nas temperaturas alcançadas e na eficiência de aquecimento.

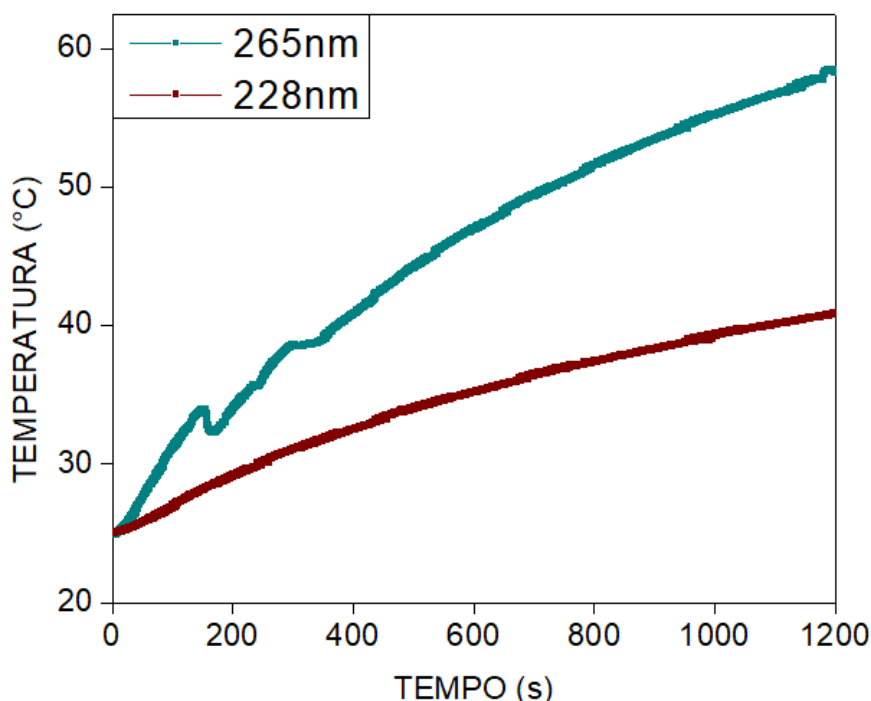


Figura 26: Curvas de aquecimento das amostras 265nm (verde) e 228nm (vermelha).

A tabela 3 exibe os resultados obtidos para as amostras do grupo 228nm e 265nm, sendo a maior eficiência na geração de calor para o grupo 265nm evidente. Como visto anteriormente, ambas apresentam estado de vórtice magnético, o que

possui potencial para aumentar o SAR, devido à presença de histerese magnética, estando ligada diretamente à área da curva de histerese magnética como mostra a equação 3.12.

Tabela 3: Resultados dos testes de hipertermia magnética nas amostras 228nm e 265nm. (*o erro na aferição da temperatura é de 0,2 °C)

Amostra	SAR (W/g)	Concentração (mg/ml)	ΔT^* em 20 min. (°C)	T_{max}^* em 20 min (°C)
228nm	15,4	9,8 ± 0,9	26,4	44,3
265nm	25,8	10,3 ± 0,9	33,6	58,6

Como ambas as amostras apresentaram resposta magnética semelhante, regime de vórtice, morfologia e tamanho relativamente semelhantes, os resultados obtidos para hipertermia magnética seriam também próximos, o que não ocorreu, tendo em vista os resultados obtidos na tabela 3. Assim, se faz necessário estudo mais profundo destas nanopartículas para compreensão dos fenômenos que acarretaram este comportamento.

5.2 NPMs decoradas com NPs_{ouro} pelo método de Turkevich

Nesta seção apresentaremos as caracterizações das amostras recobertas com ouro pelo método de Turkevich. Esse método de recobrimento foi escolhido pois apresenta simples manejo, pode ser produzido em pressão atmosférica e sem necessidade de aparato experimental específico.

Esta metodologia se utiliza da redução do Au^{3+} por um agente redutor fraco, formando partículas de ouro que coalescem sob a superfície das partículas de óxido de ferro. Foram utilizadas as NPMs previamente sintetizadas como plataforma para o crescimento das partículas de ouro. Assim como em Banerjee (2011) foi utilizado citrato de sódio como agente redutor. Os recobrimentos foram feitos utilizando as partículas recobertas anteriormente como precursores, como mostra o esquema abaixo (figura 27):

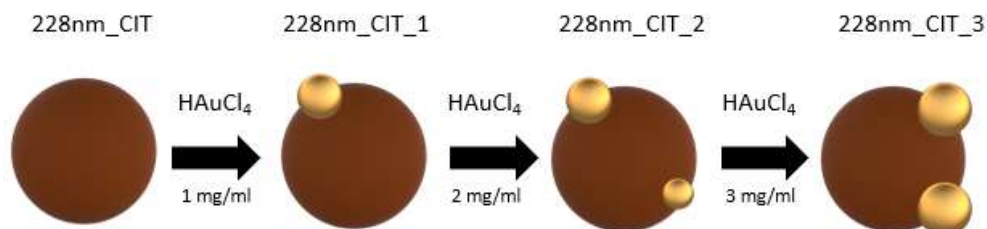


Figura 27: Imagem esquemática do processo de recobrimento pelo método Turkevich das amostras 228nm.

Além disso, o citrato de sódio possui função de estabilização eletrostática, potencializando uma maior estabilidade coloidal para o sistema formado. O recobrimento foi feito variando a concentração de $\text{H[AuCl}_4]$, a fim de observar a dinâmica de crescimento da fase de ouro, sendo acompanhada pelas subsequentes caracterizações a cada etapa de recobrimento. Os detalhes deste processo de síntese podem ser conferidos no **Anexo I (p. 113)**.

5.2.1 Difração de Raios X de pó da amostra 228nm_CIT

As partículas decoradas com ouro pelo método Turkevich foram caracterizadas por DRX, com o objetivo de observar o crescimento da fase de ouro. Além disso, foi possível obter a quantidade relativa de Au pelo método de refinamento Rietveld.

Na figura 28 são apresentados os padrões de DRX das amostras do grupo 228nm_CIT, com a quantidade (%) da fase de ouro estimada pelo método de refinamento Rietveld em destaque. Neles puderam ser indexados picos tanto da magnetita/maghemita, como já mostrado anteriormente, quanto os do ouro. Desse último, observaram-se os 4 picos mais intensos, situados em $2\theta = 38,2^\circ$, $44,4^\circ$, $64,5^\circ$ e $77,5^\circ$. Esses picos foram identificados como sendo da fase de ouro e foram indexados utilizando a base de dados ICSD nº 52700. Esses picos correspondem às famílias de planos (111), (200), (220) e (311), respectivamente.

Assim como feito para o caso das NPsM puras, foi calculado o tamanho do cristalito também das partículas de ouro utilizando a equação de Scherrer. Utilizou-se o pico referente ao plano (111), o de maior intensidade para aplicar esse método. Enquanto que o desvio relativo ao tamanho dos cristalitos foi feito levando em conta uma média obtida dos valores dos picos principais situados em $2\theta = 30,3^\circ$, $35,5^\circ$, $43,2^\circ$, $53,7^\circ$, $57,2^\circ$ e $62,5^\circ$ para a magnetita e $2\theta = 38,2^\circ$, $44,4^\circ$, $64,5^\circ$ e $77,5^\circ$ para o ouro.

Pudemos avaliar se estas partículas são monocristalinas ou policristalinas, comparando o valor obtido para o tamanho de cristalito e o valor obtido para o tamanho das nanopartículas. Os valores para os cristalitos para fase do ouro estão sumarizados na tabela 4.

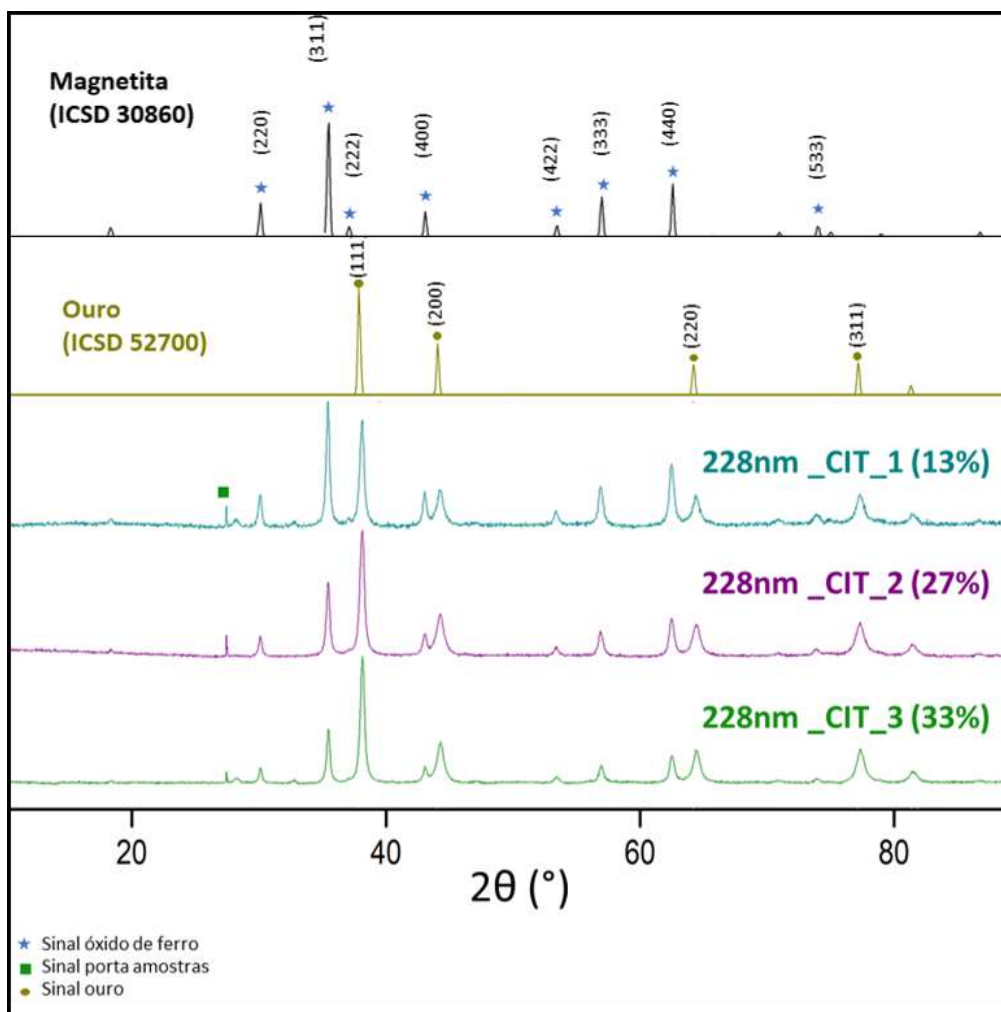


Figura 28: Padrões de DRX das amostras 228nm_CIT com sucessivos recobrimentos, sendo indicada a porcentagem da fase de ouro em cada recobrimento. As estrelas azuis destacam os picos do óxido de ferro, as esferas em amarelo destacam os do ouro, com os respectivos índices de Miller indexados e quadrado verde sinal do porta amostras.

Tabela 4: Tamanho de cristalito obtido pela fórmula de Scherrer e fase de ouro obtida por refinamento Rietveld das amostras do grupo 228nm_CIT.

Amostra	Tamanho do Cristalito do Ouro (nm)	Fase de Ouro (%)
228nm_CIT_1	38 ± 10	13,4 ± 0,1
228nm_CIT_2	36 ± 8	27,2 ± 0,1
228nm_CIT_3	19 ± 3	33,5 ± 0,3

O fato da quantidade de Au aumentar com o aumento da concentração de HAuCl_4 , é um primeiro indicativo da presença de partículas de ouro sob a superfície das de óxido de ferro.

Outra informação que podemos obter dessas análises é que o tamanho de cristalito diminui com o aumento da concentração de HAuCl_4 utilizada. Isso poderia ser interpretado como uma mudança de regime da cinética de crescimento das partículas de Au sob a superfície das NPsM. Levando a crer que quando são utilizadas baixas concentrações de HAuCl_4 , são criados poucos pontos de nucleação de nanopartículas e esses pontos servem de semente para o crescimento das nanopartículas. Já no caso de concentrações mais altas de HAuCl_4 , passariam a ser criados uma grande quantidade de pontos de nucleação de Au sob a superfície das NPsM, sem o subsequente crescimento das NPs. Porém, como será visto a frente, o que ocorre é o aumento no tamanho das partículas de ouro observados, sendo indício de que estas são grandes aglomerados de partículas de ouro menores.

5.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura das amostras 228nm_CIT

As imagens obtidas por MEV das amostras 228nm_CIT indicam a formação de duas estruturas heterogêneas, distintas em tamanho e brilho, como mostra a figura 27. As estruturas maiores, como visto anteriormente (**seção 5.1.2, p. 50**), são partículas de óxido de ferro, enquanto as menores são partículas de ouro como pode ser visto no mapa de EDS na figura 29.

Levando em consideração o tamanho do cristalito obtido pelos padrões de DRX (**seção 5.2.1, p. 60**) destas estruturas, há forte indício de serem aglomerados de partículas policristalinas, uma vez que os tamanhos de cristalito estimados foram de aproximadamente 38, 36 e 19 nm, para as amostras 228nm_CIT_1, 228nm_CIT_2 e 228nm_CIT_3 respectivamente.

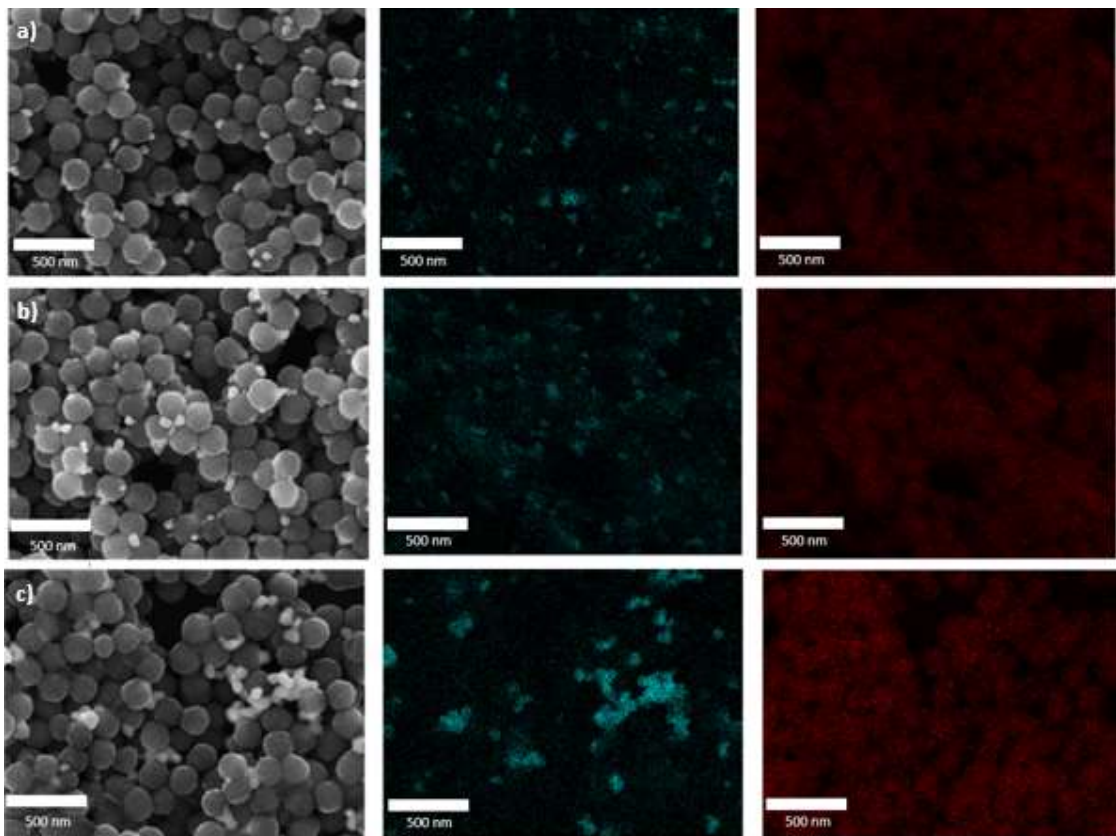


Figura 29: Imagens obtidas por MEV a esquerda (escala de cinza) das quais foram feitos os mapas de EDS. Em azul para o sinal do ouro e em vermelho para o sinal do ferro. 228nm_CIT_1, b) 228nm_CIT_2 e c) 228nm_CIT_3.

Foi feita a distribuição de tamanho das partículas de ouro aderidas sob a superfície NPsM. Estimou-se os diâmetros de 66 ± 17 nm, 73 ± 16 nm e 80 ± 23 nm para as amostras 228nm_CIT_1, 228nm_CIT_2 e 228nm_CIT_3 respectivamente, exibidos na figura 30. Fazendo a comparação entre os tamanhos das partículas de ouro e seus tamanhos de cristalito, somos levados a concluir que estas partículas tendem a se aglomerar sob as partículas já existentes quando adicionadas maiores concentrações de HAuCl_4 , uma vez que ao mesmo tempo que há a diminuição do cristalito, ocorre também o aumento do tamanho da partícula.

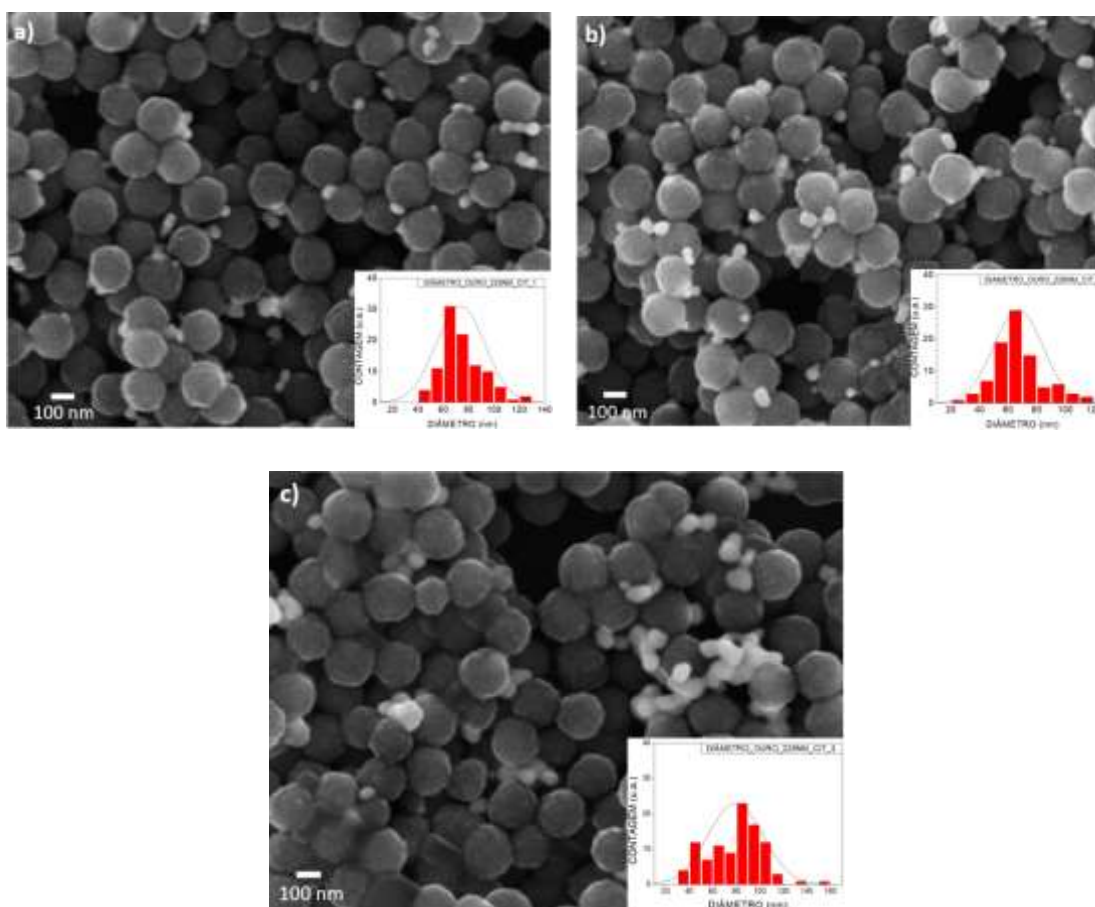


Figura 30: Imagens de MEV e distribuição de tamanho das amostras a) 228nm_CIT_1, b) 228nm_CIT_2 e c) 228nm_CIT_3

Como mostrado no **ANEXO II**, as amostras foram recobertas com concentrações diferentes de HAuCl_4 , sendo a amostra 228nm_CIT_3 a com maior concentração. É possível observar a aparição de aglomerados de partículas de ouro nesta última, podendo ser explicado pelo crescimento das partículas de ouro utilizando as já existentes como suporte, ao invés de criarem novos pontos de

nucleação sob a superfície das MNPs, o que não foi tão comum nas amostras 228nm_CIT_1 e 228nm_CIT_2, desta forma o tamanho das partículas aumenta, porém o dos cristalitos não tem grande variação, como pode ser visto na figura 31.

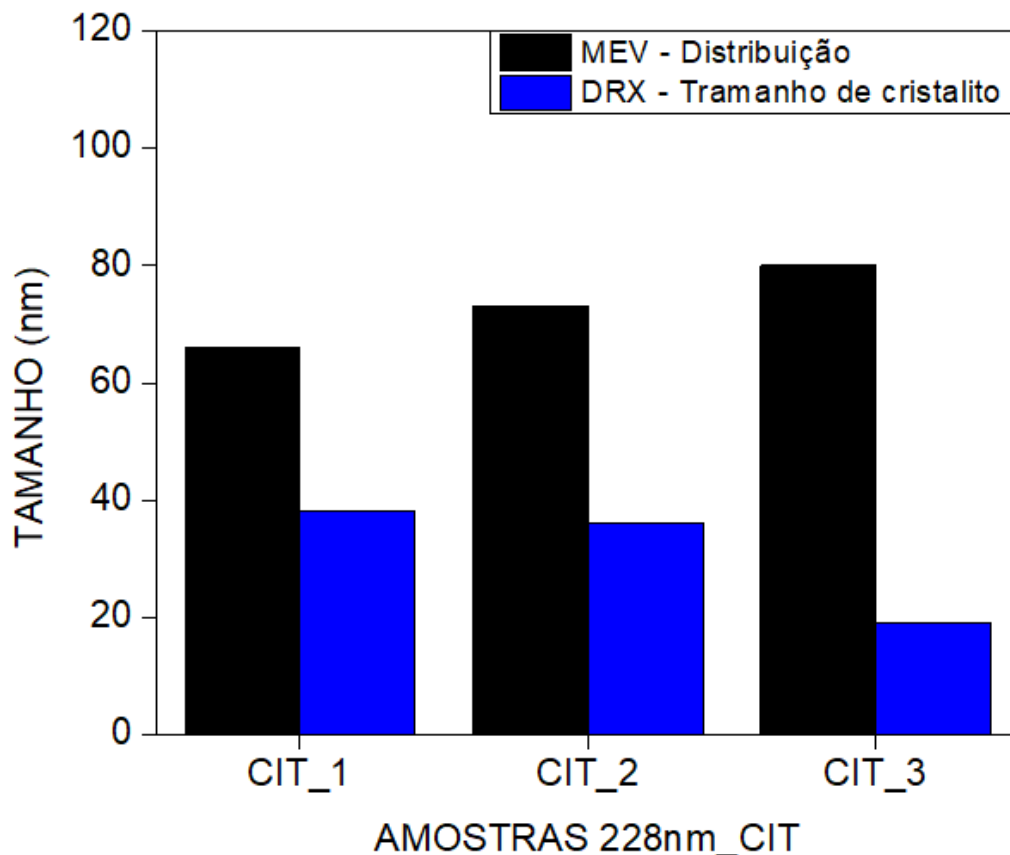


Figura 31: Gráfico da variação do tamanho do cristalito (barras azuis) e do diâmetro das partículas de ouro (barras pretas) nas amostras recobertas com citrato.

Este resultado pode ser interpretado como um indicativo de que acima da concentração utilizada, poderíamos ter ainda mais aglomerados, diminuindo a eficiência do recobrimento das partículas de óxido de ferro.

Levando em consideração o tamanho do cristalito obtido pelos padrões de DRX destas estruturas, as partículas de ouro podem ser policristalinas, uma vez que os tamanhos de cristalito estimados foram de 38, 36 e 19 nm, para as amostras 228nm_CIT_1, 228nm_CIT_2 e 228nm_CIT_3, respectivamente, bem menores que o tamanho das partículas de ouro.

Estes resultados nos ajudam a compreender a dinâmica de crescimento da fase de ouro, possibilitando o ajuste do diâmetro das nanopartículas e a superfície recoberta. O que para aplicações a FH é majoritário, uma vez que a ressonância de plásmon é altamente dependente da morfologia e do tamanho das partículas como discutido na **seção 3.6**.

5.2.3 Propriedades Magnéticas

Para investigar as propriedades magnéticas obtidas nos sistemas 228nm_CIT, foram feitas análises das curvas de magnetização (Am^2/kg) por campo magnético (Oe) das amostras, conforme pode ser visto na figura 32. Nesta figura, é possível ver a diminuição da M_s das partículas de óxido de ferro antes de seu recobrimento com o ouro, e como esta decai com a adição do ouro na amostra.

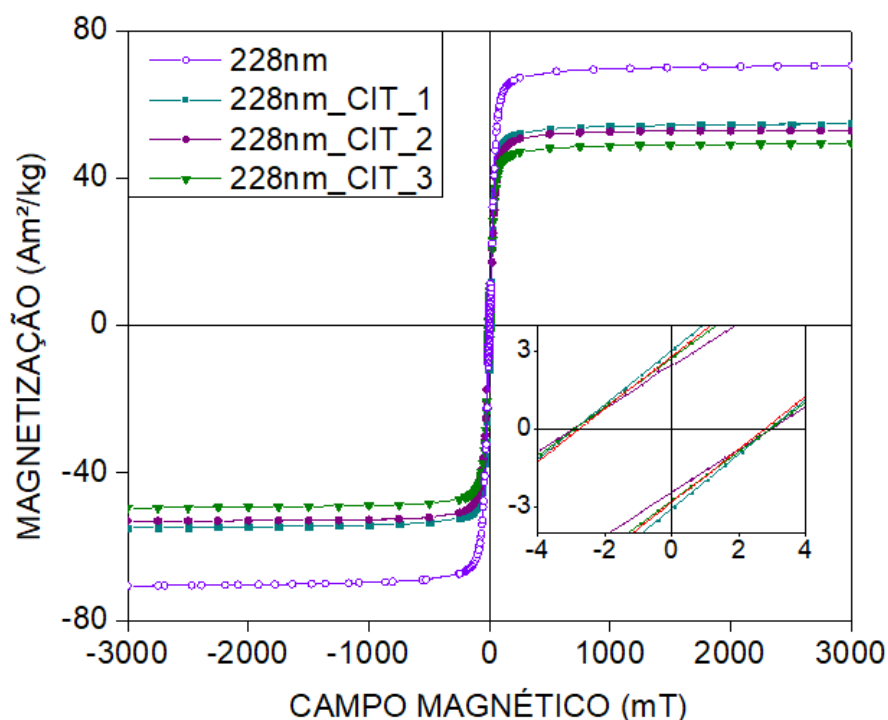


Figura 32: Curvas de histerese magnética das amostras 228nm_CIT recobertas com ouro pelo método de citrato.

Esses valores estão sumarizados na tabela 5. Sendo possível concluir que os recobrimentos não alteram as outras características magnéticas, como H_c e M_r , como esperado.

Podemos correlacionar a queda da magnetização de saturação com o crescimento da fase de ouro no sistema, assim como descrito.

Tabela 5: Parâmetros magnéticos e fase de ouro obtida a partir da queda da magnetização das amostras 228nm_CIT recobertas com ouro pelo método Turkevich. (*o erro padrão das medidas magnéticas na opção VSM é de 0,5%)

Amostra	M_s (Am ² /kg)	H_c (mT)	M_r (Am ² /kg)	Fase Ouro (%)
228nm	71,3	2,8	2,8	0
228nm_CIT_1	55,3	2,9	3,0	22,4
228nm_CIT_2	53,1	2,9	2,4	25,5
228nm_CIT_3	49,9	2,9	2,7	30,0

Foi feita a correlação entre a fase de ouro obtida pela diminuição na magnetização de saturação, com a fase de ouro obtida pelo método de refinamento Rietveld, como pode ser visto na figura 33.

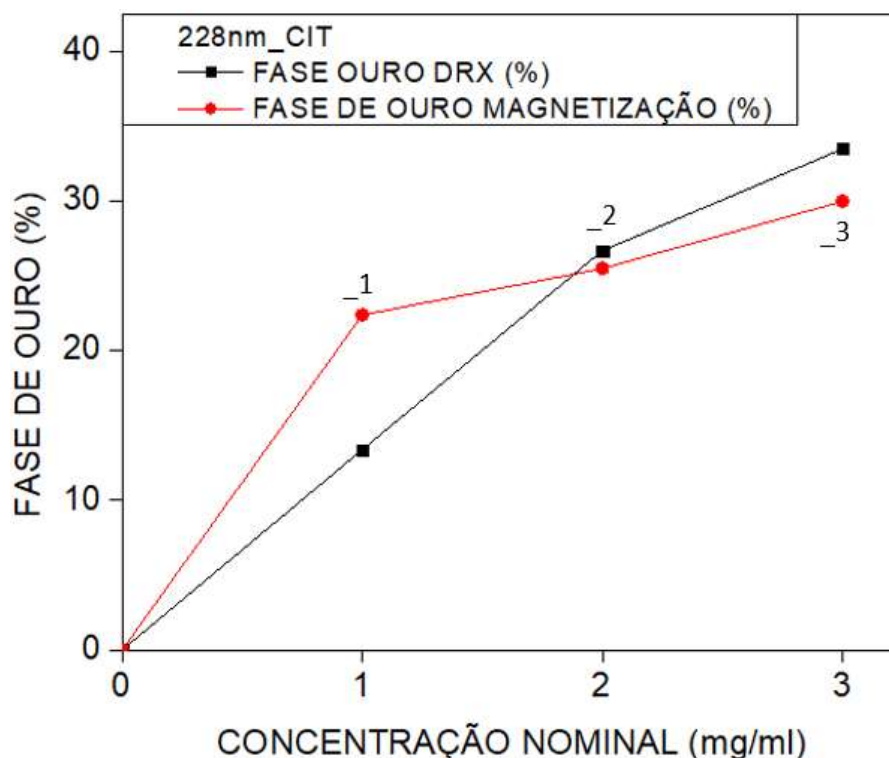


Figura 33: Porcentagem da fase de ouro obtida pelo refinamento Rietveld do padrão de DRX e pela diminuição da magnetização em função da concentração utilizada no recobrimento, para as amostras 228nm_CIT recobertas com método de Turkevich.

É possível ver uma coerência entre os valores das fases de ouro obtidas pelos dois métodos nas amostras 228nm. Portanto, pode-se concluir que há um crescimento da fase com tendência linear em relação à concentração de HAuCl_4 utilizada para o recobrimento das partículas de óxido de ferro.

5.2.4 Teste de Hipertermia Magnética

As amostras passaram por teste de hipertermia magnética, nos quais utilizamos campo de radiofrequência (RF) de 20 mT com frequência de 307 kHz, estando compreendido dentro dos limites definidos pelo critério de Brezovich, no qual o produto do campo magnético pela frequência utilizados deve ser inferior a $4,85 \cdot 10^8$ A/m.s, necessários para que possamos considerar estes campos magnéticos biocompatíveis, campos que não geram efeitos adversos ao organismo com exposição de até 1 hora. (LEWINSKI; COLVIN; DREZEK, 2008)

Na figura 34 são exibidas as curvas de aquecimento dos testes de hipertermia magnética das amostras produzidos pelo método Turkevich.

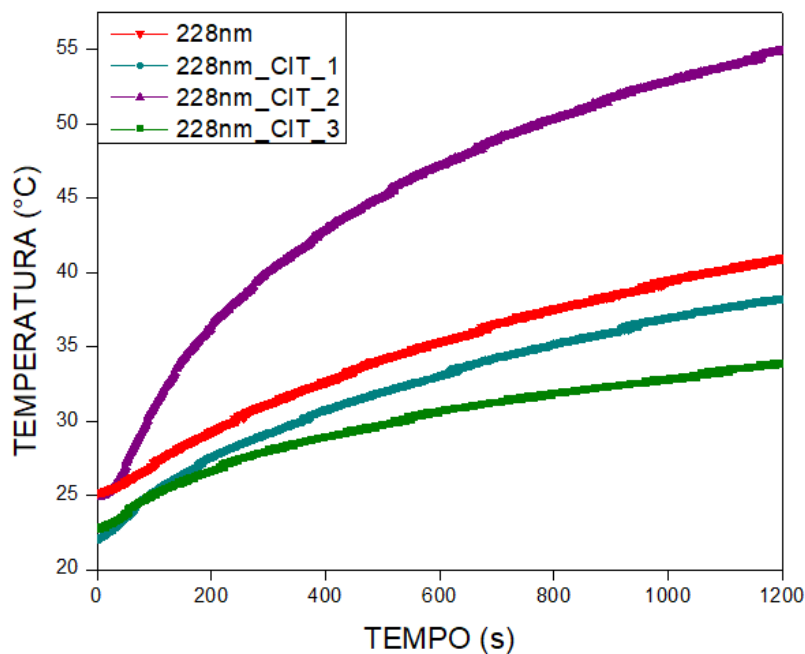


Figura 34: Curvas de aquecimento das amostras 228nm_CIT.

Tabela 6: Resultados dos testes de hipertermia magnética nas amostras 228nm_CIT. (* o erro de aferição da temperatura é de $\pm 0,2$)

Amostra	SAR (W/g)	SAR _{norm} (W/g)	Concentração (mg/ml)	ΔT^* em 20 min. (°C)	T _{max} * em 20 min (°C)
228nm	15,4 \pm 1,4	15,4	9,8 \pm 0,8	26,4	44,3
228nm_CIT_1	23,4 \pm 2,1	28,4	10,8 \pm 0,9	27,9	41,0
228nm_CIT_2	30,7 \pm 2,8	41,6	10,8 \pm 0,9	29,6	54,9
228nm_CIT_3	14,3 \pm 1,3	20,9	8,0 \pm 0,8	12,3	36,0

Devido à diferença de concentração utilizada nas medidas de hipertermia magnética, foi realizada a normalização do SAR das amostras pela massa do óxido de ferro (SAR_{norm}), considerando a média da fase de óxido de ferro presente nas amostras obtidas pelo método de Refinamento Rietveld e pela diminuição da magnetização de saturação, levando em conta que apenas as NPsMs são responsáveis pelo aquecimento.

Na tabela 6 é possível observar um aumento do SAR para as amostras 228nm_CIT_1 e 228nm_CIT_2. Esse comportamento parece se inverter, voltando a reduzir, a partir da amostra 228nm_CIT_3, com o aumento na fase de ouro.

O aumento do SAR nas amostras com maior fase de ouro foi inesperado, uma vez que a M_s das amostras recobertas se reduz com o aumento da fase de ouro como pode ser visto na figura 33 (p. 68), gerando conseqüentemente a diminuição da área da curva de histerese magnética, e conseqüentemente o SAR gerado por perdas histeréticas deve ser reduzido, pois este é diretamente proporcional à área da curva de histerese, como visto na **seção 3.5 (p. 30)**. Por outro lado, existem estudos da utilização de partículas de ouro para geração de calor. No trabalho de revisão feito por Collins et al. (2014,), foram observados casos em que houve aquecimento de partículas de ouro irradiadas por RF, como o estudo feito por Kruse et al. (2011,), que utilizou partículas de ouro de 5 a 50 nm sob a influência de radiação RF com potência de 125 W e frequência de 13,56 MHz, gerando um aquecimento de de 0 – 50 °C.

Em observância aos resultados obtidos, a amostra 228nm_CIT_2 apresenta maior potencial para utilização conjugada das técnicas de hipertermia magnética e

foto-hipertermia, por alcançar temperatura necessária para tratamento de tumores (~42 °) com utilização apenas de hipertermia magnética, sendo a técnica de foto-hipertermia capaz de aumentar a eficiência da entrega de calor.

5.3 Nanopartículas de óxido de ferro decoradas com ouro pelo método de Deposição-precipitação (DP)

Como visto na **seção 5.2**, as partículas óxido de ferro decoradas com Au pelo método Turkevich não apresentaram um bom recobrimento. Formaram-se poucas partículas, distribuídas de forma aleatória em algumas das partículas de óxido de ferro. Além disso verificou-se que as NPs_{ouro} tendem a formar aglomerados quando utilizada maior concentração de HAuCl₄. Isto pode ser creditado ao citrato de sódio ter um baixo poder de redução, e às partículas de ouro coalescerem sob os pontos já nucleados, fazendo com que menos áreas sejam recobertas. Dessa forma decidimos utilizar a técnica de deposição-precipitação seguindo o procedimento descrito por Miola et al. (2017). O processo de recobrimento se deu utilizando as partículas recobertas anteriormente como precursor, sendo feito utilizando o grupo de amostras 228nm e 265nm. Foram executadas duas formas de adição de HAuCl₄, em alíquotas e utilizando uma maior concentração em uma só porção, a fim de se investigar o processo de crescimento da fase de ouro, como mostra o esquema abaixo (figura 35):

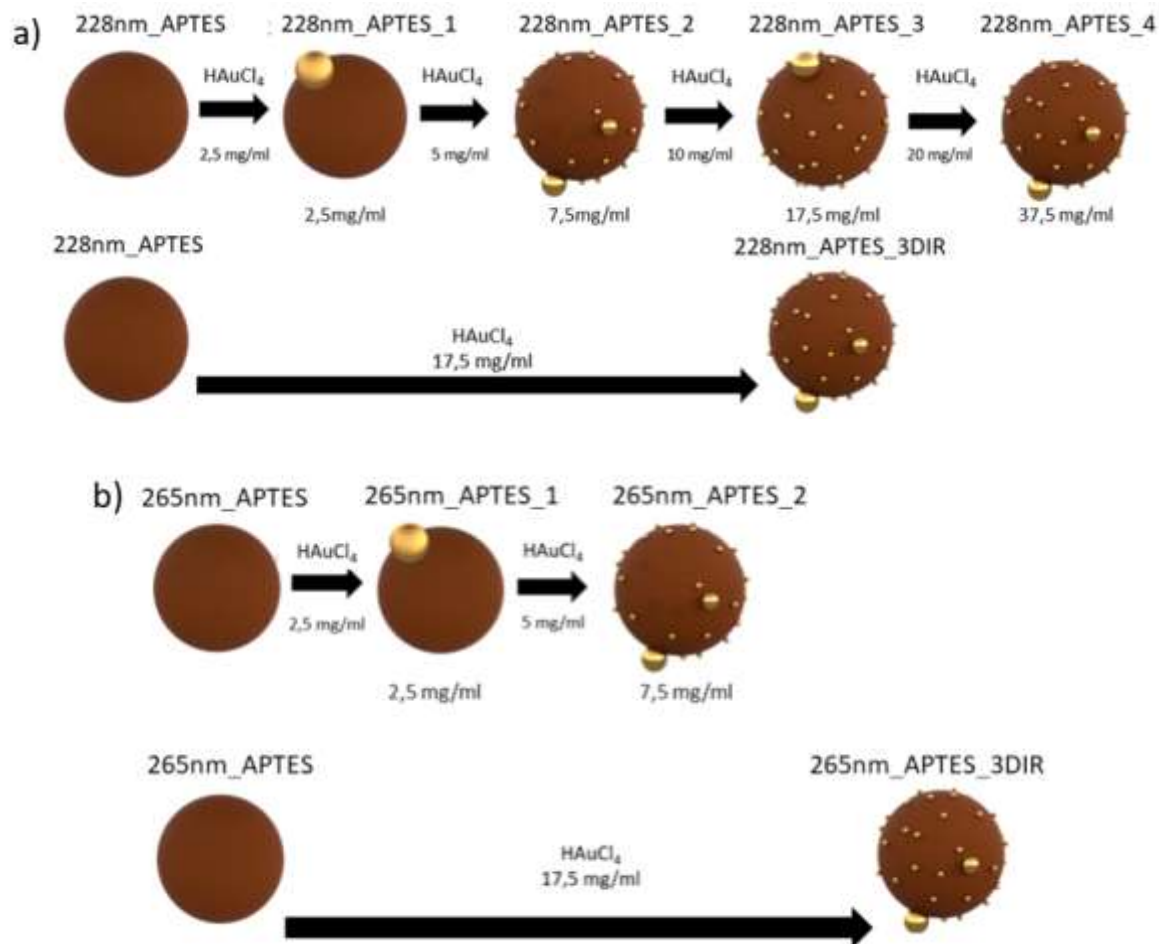


Figura 35: Imagem esquemática do processo de recobrimento pelo método DP das amostras a) 228nm e b) 265nm.

Este procedimento baseia-se na deposição eletrostática do Au^{3+} coloidal nas NPs de óxido de ferro, as quais foram previamente modificadas com o organossilano APTES com grupos aminos terminais $-\text{NH}_2$ (Figura 36). A presença desses grupos torna a superfície do óxido de ferro positiva para aderência Au^{3+} coloidal e subsequente redução a Au metálico. Espera-se que essa carga superficial seja capaz de promover a deposição eletrostática do Au coloidal que é negativo. Os detalhes deste método de recobrimento podem ser vistos no **Anexo I (p. 111)**.

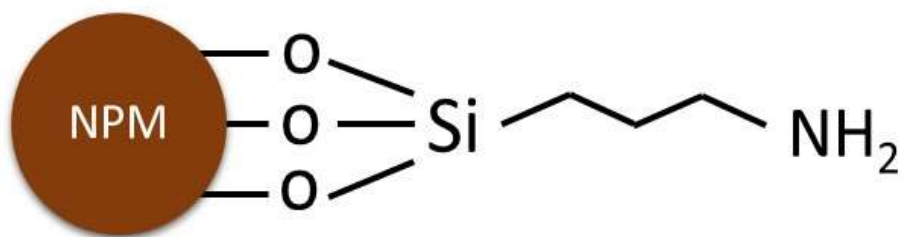


Figura 36: Esquema da NPs de óxido de ferro funcionalizada com grupos -NH₂ (APTES). Onde NPsM representa os sistemas 228nm e 265nm.

Na figura 37 estão representadas as curvas de potencial ζ em função do pH (2 – 12) dos grupos 228nm (figura 37 a)) e 265nm (figura 37 b)) com e sem APTES. Podemos observar analisando essas curvas que os PIE dos sistemas 228nm e 265nm variaram de pH 3,7 e 5,3 para 8,3 e 7,8, respectivamente, depois de funcionalizados com APTES, confirmando a modificação com os grupos -NH₂.

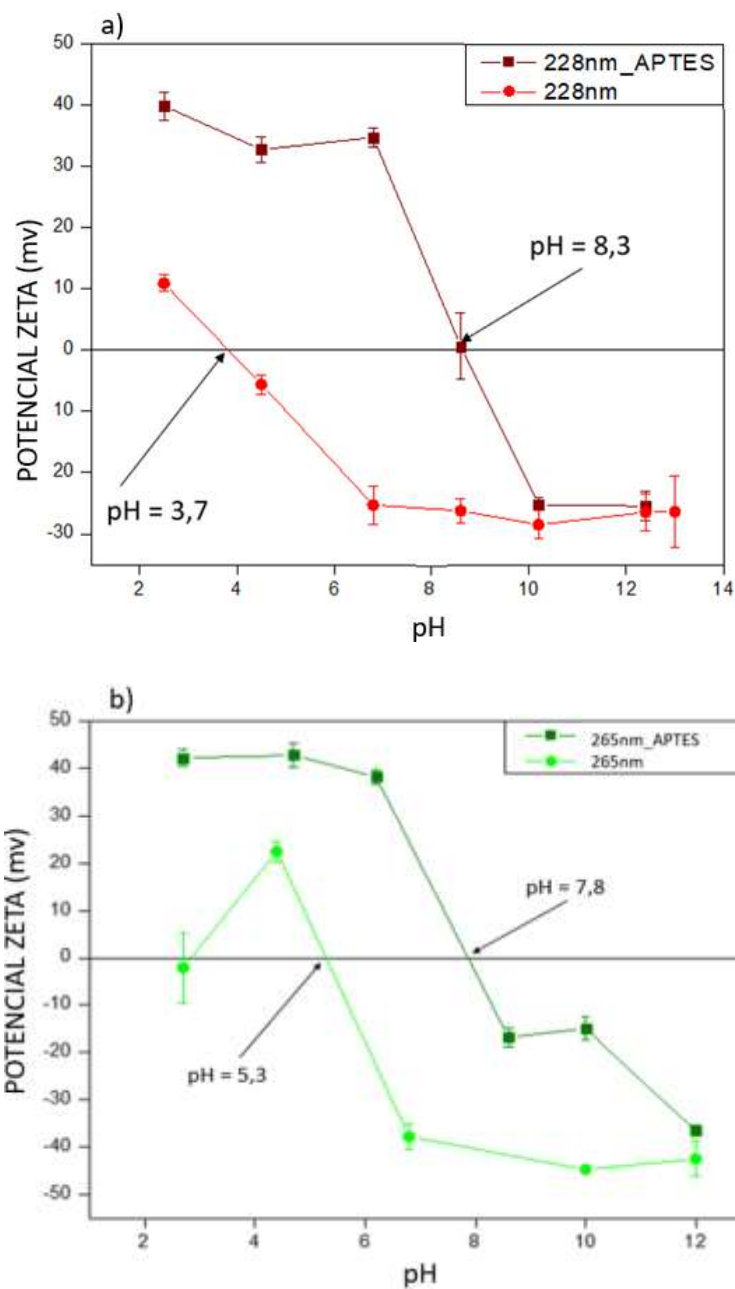


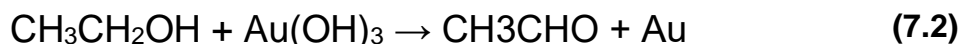
Figura 37: Curvas de potencial ζ das amostras funcionalizadas com APTES. a) 228nm com APTES (quadrados vinho) e sem APTES (círculos vermelhos); b) 265nm com APTES (quadrados verde-escuros) e sem APTES (círculos verde-claros).

Após confirmação da funcionalização dos sistemas com APTES, procedeu-se com a adição do Au^{3+} coloidal previamente preparado, como descrito na equação 7.3.



A suspensão coloidal de ouro consiste na hidrólise da espécie HAuCl_4 pela adição controlada de uma solução de hidróxido de sódio, até pH 8.

Após a mistura (228nm-APTES e 265nm-APTES com o Au coloidal), o pH final foi mantido entre 7- 8 para adesão do Au^{3+} coloidal na superfície das NPs. Pode ser verificado na figura 38, que ao contrário dos sistemas não funcionalizados com APTES, na faixa de pH (7-8), o potencial ζ para 228nm_APTES_1 e 265nm_APTES_1 apresenta valores positivos, ou seja, carga de superfície positiva. Isso ocorre, pois os grupos funcionais do APTES encontram-se protonados ($-\text{NH}_3^+$, um átomo de hidrogênio a mais ligado ao nitrogênio) neste pH. Dessa forma, o Au^{3+} coloidal pode ser aderido de forma eletrostática. Como podemos ver na figura 38, o valor PIE do 228nm_APTES_1 e 265nm_APTES_1 deslocaram de pH 8,3 e 7,8 para pH 6,1 e 6,9 após a mistura com o Au^{3+} coloidal. A redução a Au metálico ocorreu através das propriedades redutoras do etanol presente no solvente, conforme a equação 7.4.



Outra hipótese é a redução do Au coloidal pelos íons de ferro (II), que podem estar presentes na superfície das partículas de óxido de ferro, como mostrado na equação 7.5.



Com o objetivo de avaliar a dinâmica de crescimento das partículas de Au por esse método (DP), os sistemas 228nm-APTES-1 e 265nm-APTES-1 foram submetidos a um novo processo de recobrimento com Au^{3+} coloidal. Utilizou-se sempre o precursor do último processo, até obter os sistemas 228nm-APTES-4 e 265nm-APTES-2, após 4 (228nm) e 2 (265nm) recobrimentos sucessivos. Para efeito de comparação, foi realizado um recobrimento utilizando uma concentração maior de Au em uma só porção.

Para cada etapa de recobrimento foram feitas as medidas de potencial ζ em função do pH (2 -12), a fim de observar a carga superficial das partículas. A figura 38 mostra o comportamento dos sistemas 228nm_APTES e 265nm_APTES em todas as etapas de recobrimento com Au. Foi observado que a cada etapa do recobrimento, o PIE das amostras foi deslocado para valores de pH cada vez mais próximos de pH= 4, que são os valores de PIE observados para os materiais sem funcionalização com APTES, 228nm e 265nm. Uma hipótese para explicar este resultado é que o Au^{3+} coloidal adicionado em etapas neutraliza gradativamente o excesso das espécies $-\text{NH}_3^+$. Após a neutralização completa, a carga observada pelo potencial ζ é devida às espécies $-\text{OH}$ que ainda estão expostas na superfície do óxido de ferro.

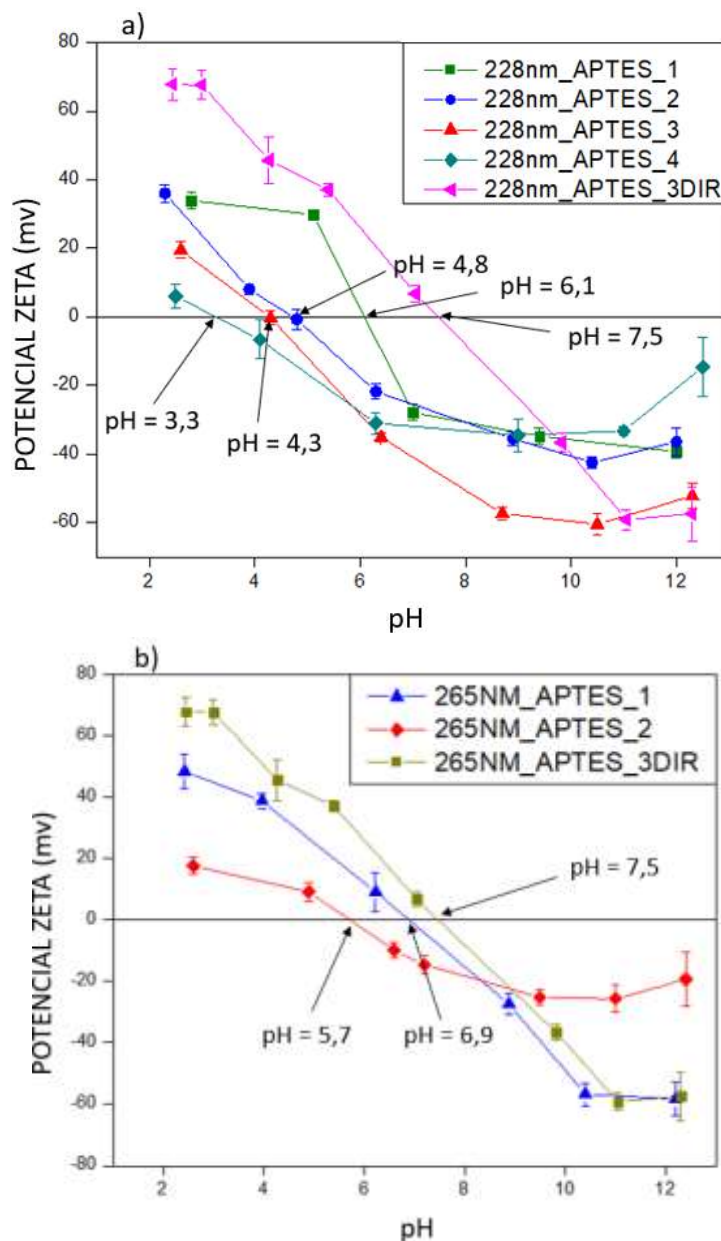


Figura 38: Curva de potencial ζ em função do pH para as amostras a) 228nm_APTES. E b) para as amostras 265nm_APTES.

A comparação da adição de pequenas alíquotas em etapas com a adição direta de uma quantidade maior de Au^{3+} coloidal também foi avaliada. Na figura 38 podemos ver as curvas de potencial ζ em função do pH (2-12) para os sistemas 228nm_APTES_3DIR (a) e 265nm_APTES_3DIR (b), que são equivalentes em quantidade de Au ao sistema 228nm_APTES_3 obtido sob as mesmas condições de síntese. Observamos que o PIE das amostras 228nm_APTES_3DIR e 265nm_APTES_3DIR se encontra em $\text{pH} = 7,5$ para ambos e estão bem próximos aos valores dos seus precursores (228nm_APTES e 265nm_APTES, figura 36), em

pH 8,3 e 7,8, respectivamente. E são maiores do que os valores vistos para seu equivalente 228nm_APTES_3 (pH 4,3). Dessa forma, podemos concluir que houve um recobrimento parcial do Au coloidal das NPs na adição de maior porção de H_{AuCl}₄.

A seguir serão mostradas as caracterizações indicando a presença das nanopartículas de Au metálico nesses sistemas.

5.3.1 Difração de Raios X de pó para as amostras 228nm_APTES e 265nm_APTES

As amostras decoradas com ouro pelo método DP foram caracterizadas por DRX após cada etapa de recobrimento, a fim de avaliar o crescimento das NPs de ouro nas amostras.

As figuras 39 e 40 mostram os padrões de difração de raios x dos grupos de amostras 228nm, 265nm. Os padrões teóricos da magnetita/maghemita obtidos na base de dados de estruturas cristalinas de materiais inorgânicos (do Inglês *Inorganic Crystal Structure Database*) são exibidos como referência. Como visto na **seção 5.2.1, p. 60**, os mesmos picos referentes aos planos cristalinos das NPs de óxido de ferro, também são encontrados nestas amostras, mostrando que o recobrimento não afetou a estrutura cristalina dos materiais, como esperado. Por outro lado, podemos ver o surgimento de picos em $2\theta = 38,2^\circ$, $44,4^\circ$, $64,5^\circ$ e $77,5^\circ$, nas amostras recobertas com Au. Esses correspondendo à estrutura cristalina do Au. Os dados das fases de Au foram obtidos pelo refinamento de Rietveld e são mostrados em **Anexo II (p. 121)**.

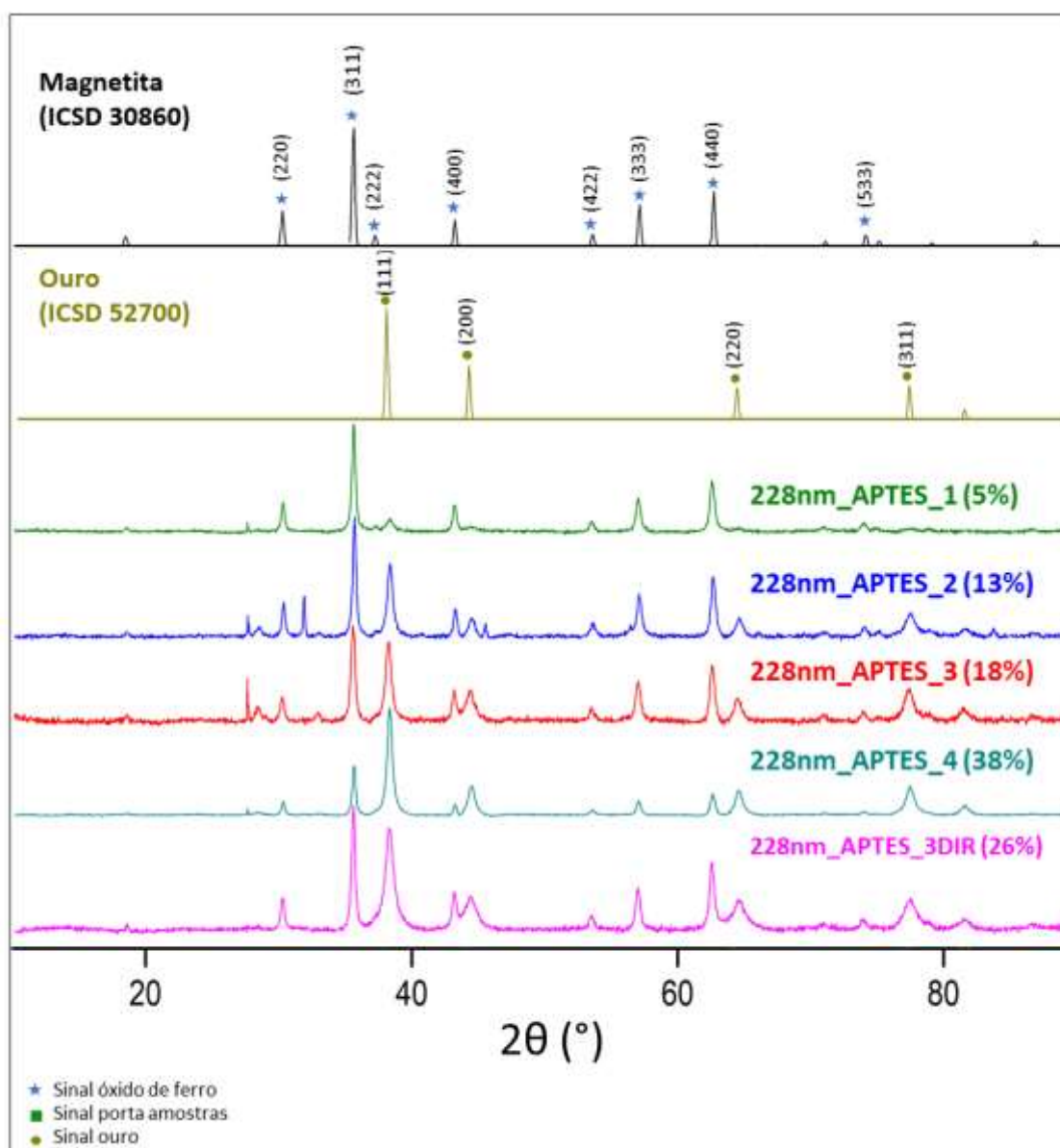


Figura 39: Padrão de DRX das amostras 228nm_APTES com sucessivos recobrimentos, sendo indicada a porcentagem da fase de ouro em cada recobrimento. As estrelas azuis destacam o óxido de ferro, círculos em amarelo destacam o sinal do ouro com os respectivos índices de Miller indexados e o quadrado verde o sinal do porta amostras.

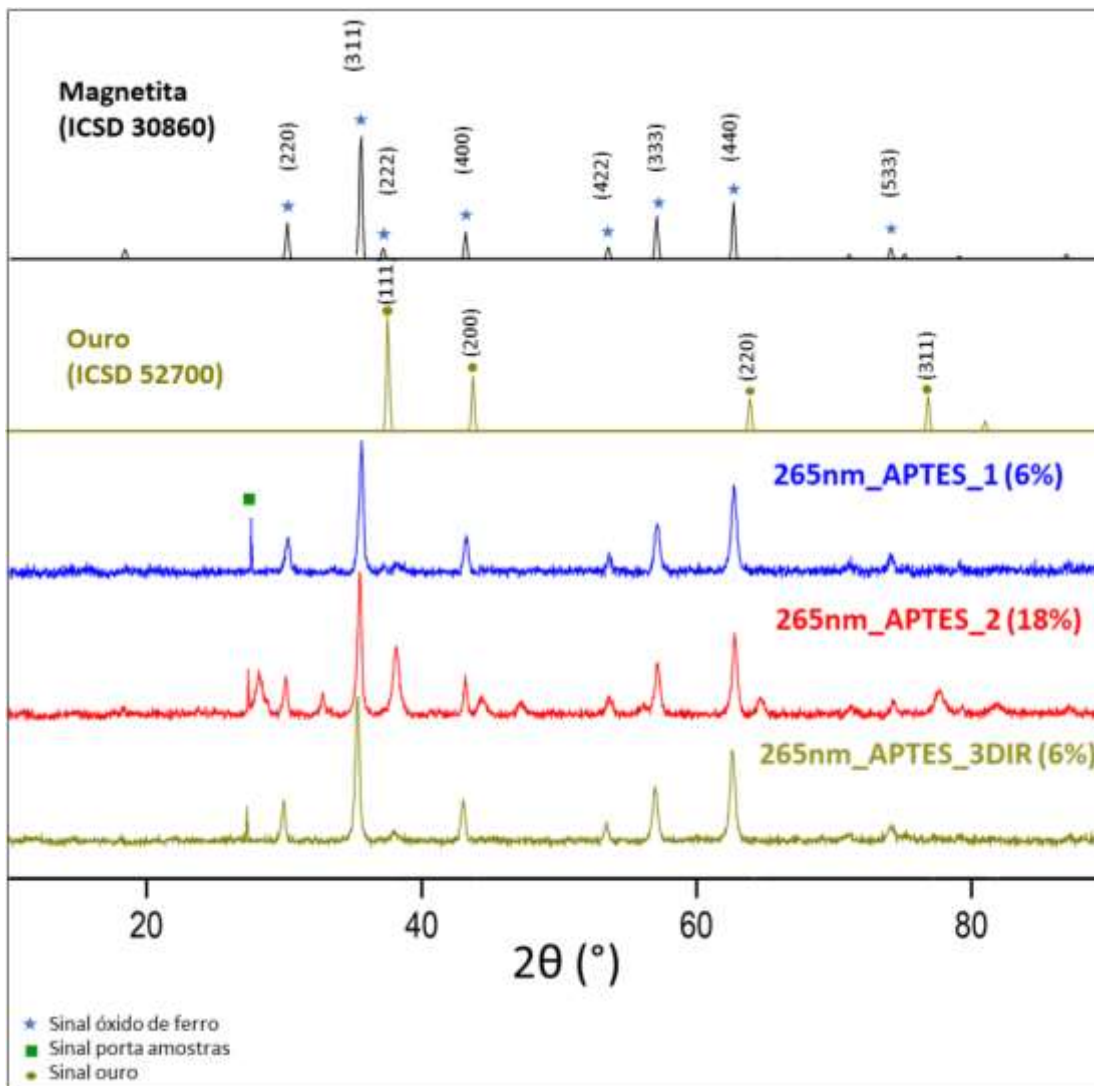


Figura 40: Padrão de DRX das amostras 265nm_APTES com sucessivos recobrimentos, sendo indicada a porcentagem da fase de ouro em cada recobrimento. As estrelas azuis destacam o óxido de ferro, círculos em amarelo destacam o sinal do ouro com os respectivos índices de Miller indexados e o quadrado verde o sinal do porta amostras.

Conforme esperado a fase de ouro aumenta gradativamente com a adição de ouro nos dois grupos de amostras em cada processo de recobrimento. Além disso, é possível ver o aumento do tamanho do cristalito do primeiro para o segundo recobrimento, resumidos na tabela 7. Nos padrões obtidos para as amostras 265nm_APTES_1 e 265nm_APTES_3DIR o pico referente ao plano (311) fica praticamente imperceptível devido à baixa contribuição da fase de ouro. O tamanho dos cristalitos foi calculado conforme descrito na seção 5.2.1 (p. 60).

Tabela 7: Tamanho de cristalito obtido pela fórmula de Scherrer e fase de ouro obtida por refinamento Rietveld das amostras do grupo 228nm_APTES e 265_APTES.

Amostra	Tamanho do Cristalito do Ouro (nm)	Fase de Ouro (%)
228nm_APTES_1	8 ± 2	5,0 ± 0,7
228nm_APTES_2	28 ± 8	13,0 ± 0,2
228nm_APTES_3	30 ± 8	18,0 ± 0,6
228nm_APTES_4	26 ± 7	38,0 ± 0,4
228nm_APTES_3DIR	26 ± 5	26,0 ± 0,2
265nm_APTES_1	10 ± 2	2,1 ± 0,1
265nm_APTES_2	38 ± 3	10,7 ± 0,2
265nm_APTES_3DIR	8 ± 1	6 ± 1,1

Por outro lado, o tamanho do cristalito não aumenta a partir do segundo recobrimento no grupo de amostras 228nm_APTES. Já para a amostra com recobrimento direto (228nm_APTES_3DIR) observamos um aumento de 8% na quantidade de Au em relação ao seu equivalente (228nm_APTES_3). Este resultado não corrobora os dados observados de potencial ζ da figura 38, (p. 79), que indicam que o material 228nm_APTES_3DIR (PIE no pH 7,5) parece estar menos decorado com Au que o 228nm_APTES_3 (PIE em pH 4,3). No entanto, o sistema 265nm_APTES_3 parece concordar com os dados do potencial ζ , apresentando 12% menos Au em relação ao 228nm_APTES_3.

5.3.2 Microscopia Eletrônica

Os mapas de Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios x (EDS) (figuras 41 e 42) foram utilizados para analisar qualitativamente a composição das amostras. As imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram utilizadas para analisar a morfologia e dimensões das partículas de ouro presentes nas amostras. A partir dos dados coletados, foram produzidos gráficos de distribuições de tamanhos para os grupos das 228nm e 265nm recobertas com Au (figuras 43 e 44). Na tabela 7.7 encontram-se resumidos os dados de distribuição mono e bimodal do tamanho das NPs de ouro obtidos dos gráficos de distribuição.

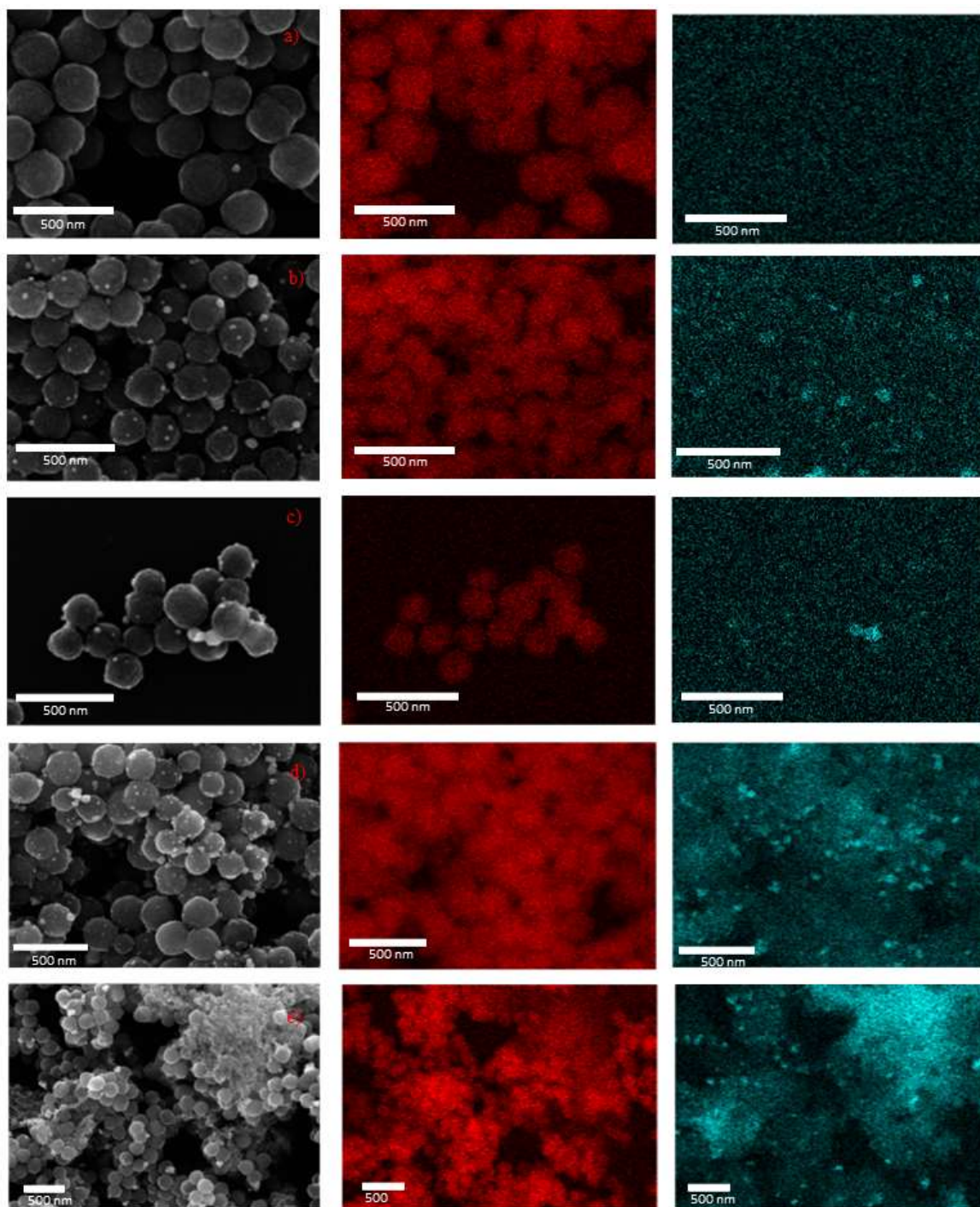


Figura 41: Imagens de EDS das amostras a) 228nm_APTES_1, b) 228nmN_APTES_2, c) 228nm_APTES_3, d) 228nm_APTES_4 e e) 228nm_APTES_3DIR. Em azul o sinal do Au e em vermelho o sinal do Fe.

Podemos observar nas Figuras 41 e 42, os mapas elementares de EDS obtidos para os grupos 228nm e 265nm recobertas com Au, onde o Fe está representado pela cor vermelha e o Au pela cor azul. Observou-se, de forma

qualitativa, a presença do elemento Au em todos os materiais, com exceção dos sistemas 228nm_APTES_1 (Figura 41 a)) e 265nm_APTES_3DIR (Figura 42 c)), o que pode ser devido ao pequeno tamanho das NPs de ouro formadas em relação aos outros sistemas. Neste caso, o EDS não possui resolução suficiente para detectar tais NPs.

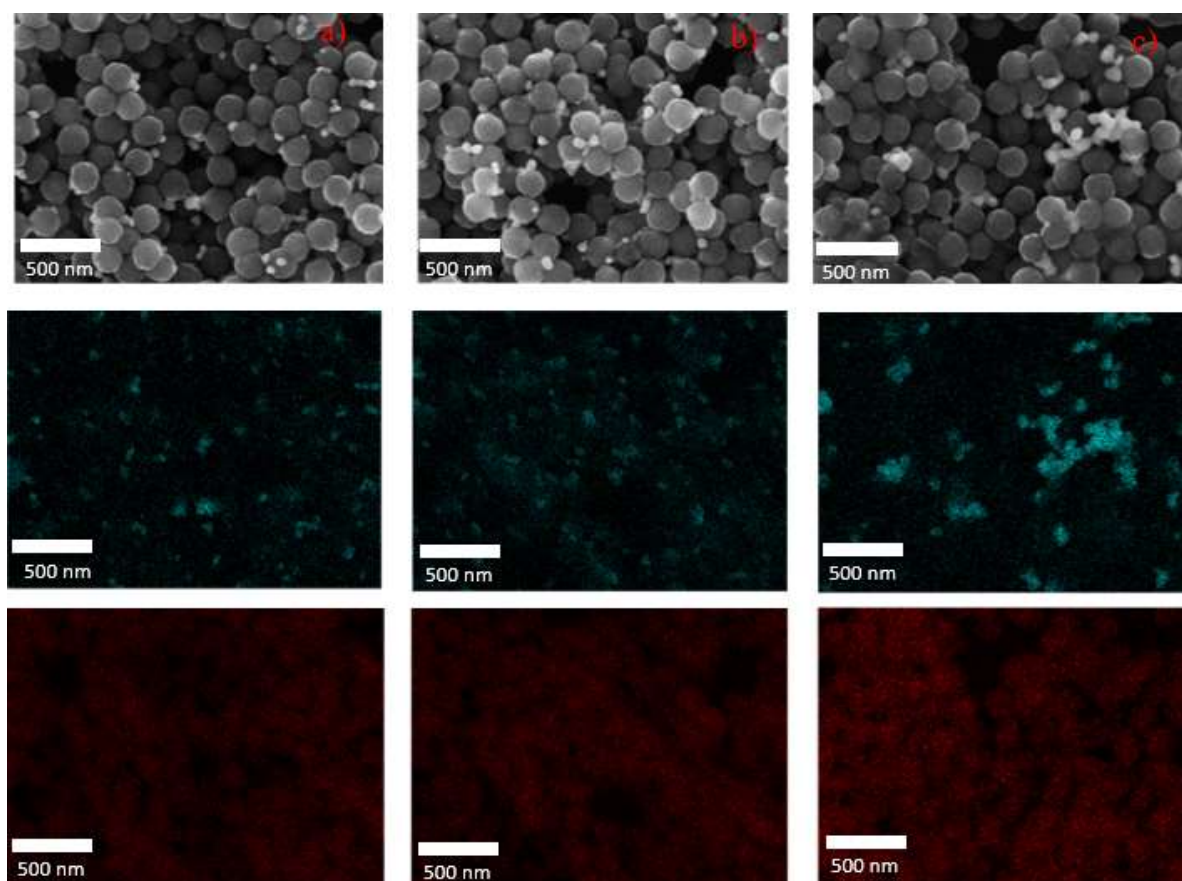


Figura 42: Imagens de EDS das amostras a) 265nm_APTES_1, b) 265nmN_APTES_2, c) 265nm_APTES_3DIR. Em azul o sinal do Au e em vermelho Fe.

Nas figuras 43 e 44, e na tabela 8 estão os dados de distribuição de tamanho das NPs de ouro que decoram as amostras 228nm e 265nm. Com exceção das amostras 228nm_APTES_1, 228nm_APTES_3DIR e 265nm_APTES_3DIR, todas as outras amostras apresentaram distribuição de tamanho bimodal. Na figura 43 são mostradas comparações dos dados de tamanho obtidos pelo DRX (cristalito) e pelo MEV do grupo de amostras 228nm (figura 41) e 265nm (Figura 42). Nos dois grupos de amostras podemos perceber que as partículas com distribuição <50 nm obtidas

pelos MEV estão próximas em tamanho estimado pelo DRX (cristalito). Portanto, estas NPs podem ser consideradas como monocristalinas.

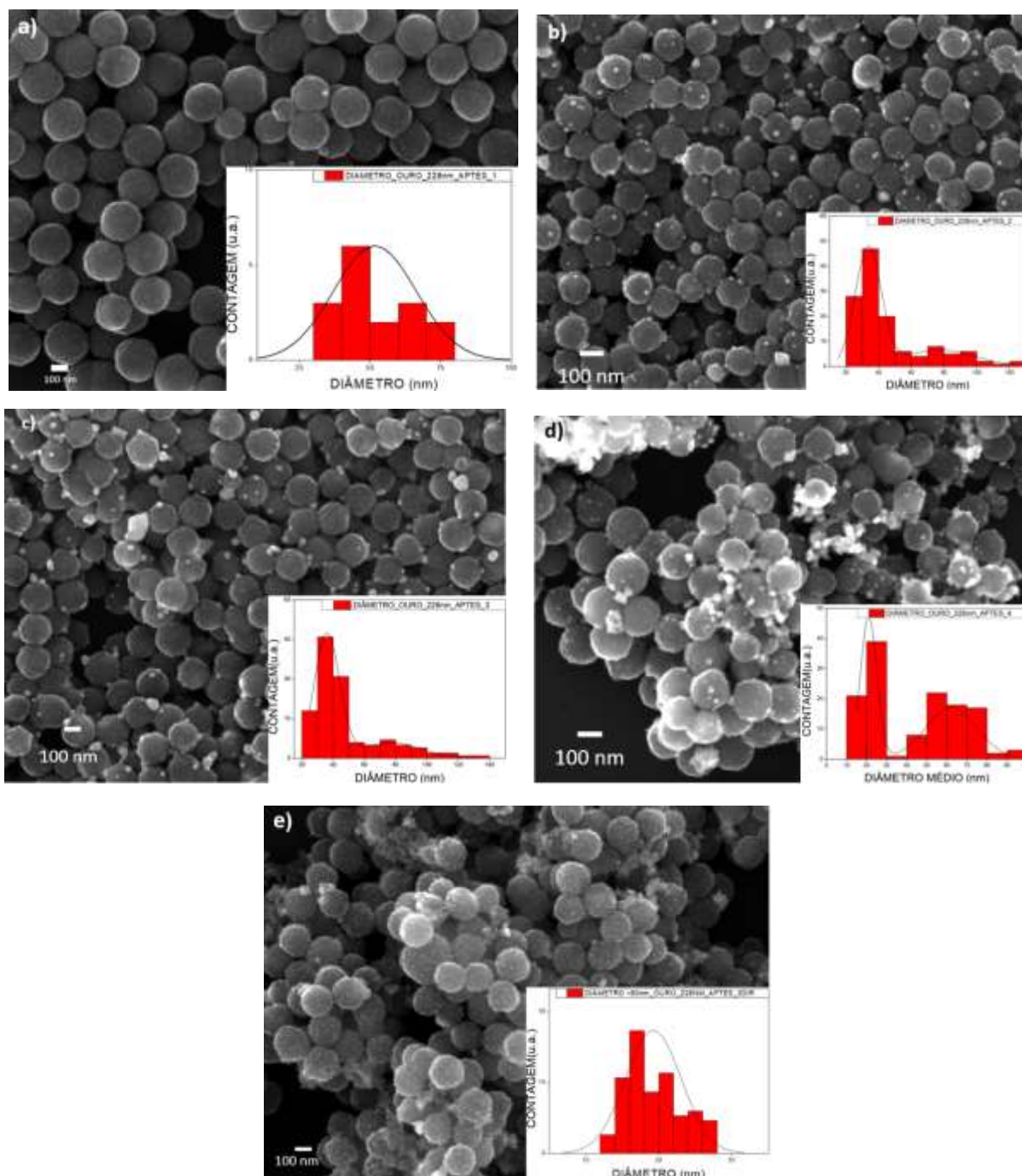


Figura 43: Imagens MEV e distribuição de tamanho das amostras a) 228nm_APTES_1, b) 228nm_APTES_2, c) 228nm_APTES_3, d) 228nm_APTES_4 e e) 228nm_APTES_3DIR.

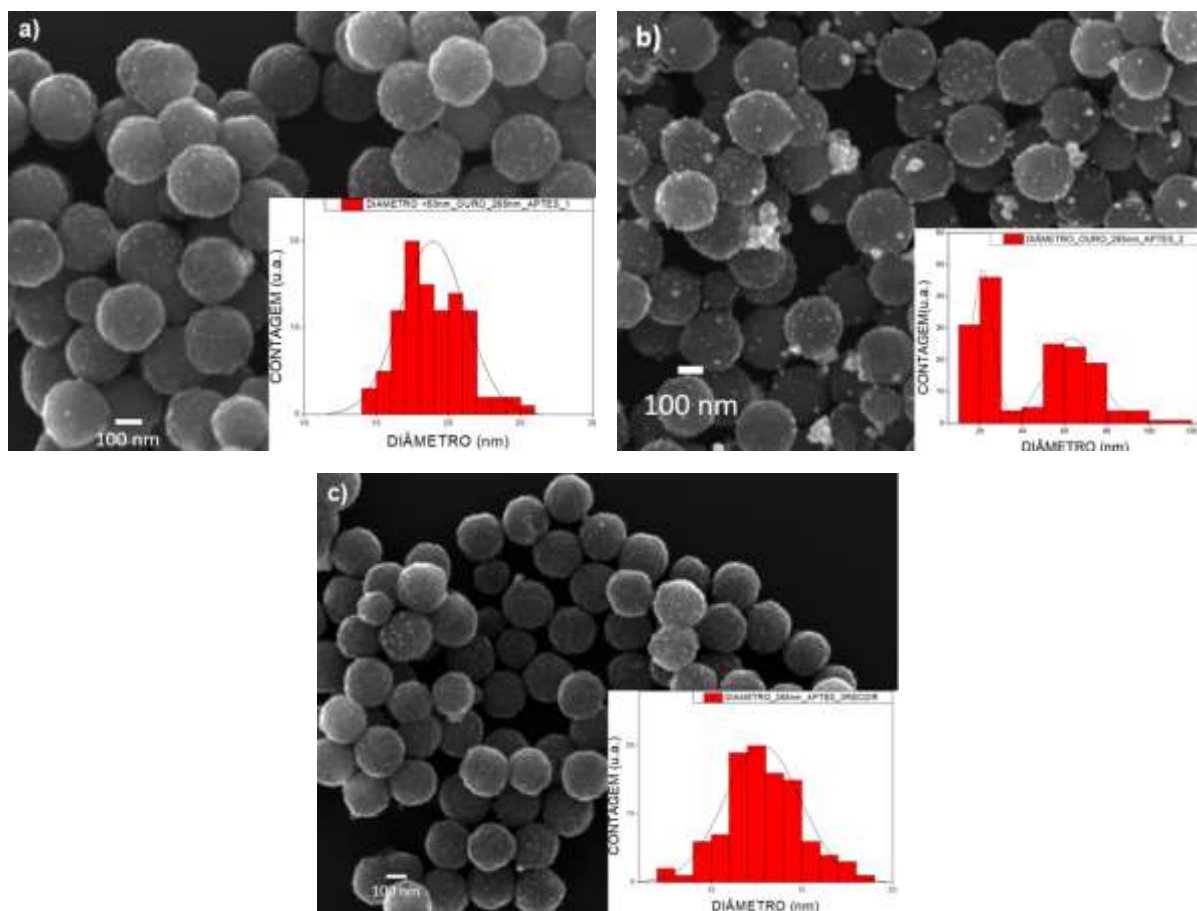


Figura 44: Imagens MEV e distribuição de tamanho das amostras a) 265nm_APTES_1, b) 265nm_APTES_2 e c) 265nm_APTES_3DIR.

Tabela 8: Tamanho das partículas de ouro observadas por MEV nas amostras 228nm_APTES. Apresentaram duas distribuições de tamanho. * não foi encontrado distribuição de tamanho <50 nm. ** não foi encontrado distribuição de tamanho >50 nm.

Amostra	Distribuição < 50 nm	Distribuição > 50 nm
228nm_APTES_1	*	50 ± 14
228nm_APTES_2	35 ± 7	85 ± 20
228nm_APTES_3	37 ± 7	84 ± 19
228nm_APTES_4	23 ± 4	64 ± 12
228nm_APTES_3DIR	19 ± 4	**
265nm_APTES_1	19 ± 2	**
265nm_APTES_2	21 ± 4	66 ± 13
265nm_APTES_3DIR	12 ± 2	**

As amostras 228nm_APTES_3DIR, 265nm_APTES_1 e 265nm_APTES_3DIR apresentaram partículas de ouro bem pequenas em comparação às exibidas no restante dos grupos, com dimensões próximas ao limite de resolução do Microscópio Eletrônico De Varredura (MEV) (**Anexo II**) utilizado para o imageamento. Portanto, nestas amostras fizemos imagens utilizando o Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET) (**Anexo II**), a fim de obter um tamanho mais confiável. As imagens podem ser vistas na figura 45 e os respectivos valores dos diâmetros estão exibidos na tabela 9.

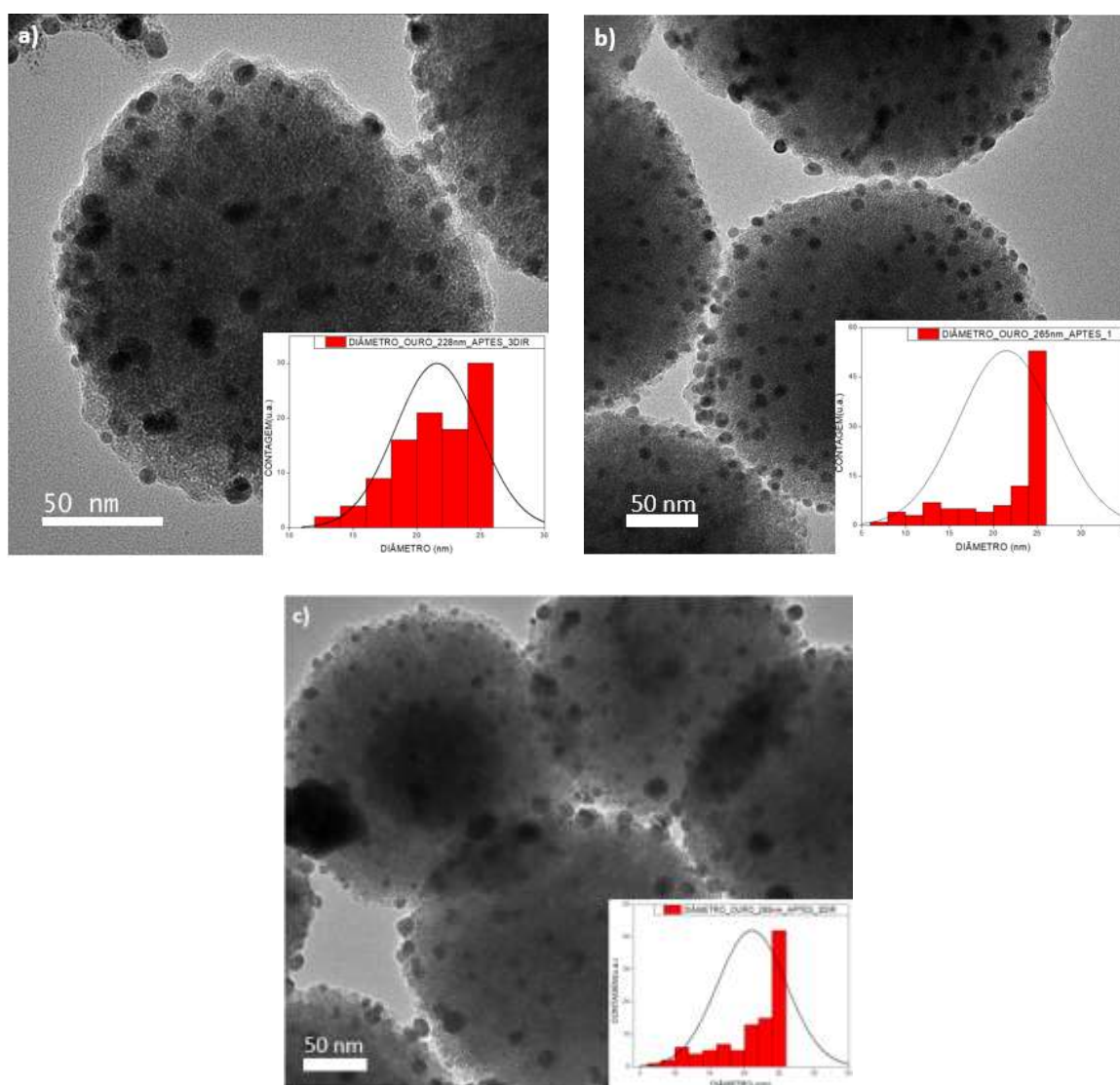


Figura 45: Imagens MET e distribuição de tamanho das amostras a) 228nm_APTES_3DIR, b) 265nm_APTES_1 e c) 265nm_APTES_3DIR

Tabela 9: Tamanho das partículas de ouro observadas por MET nas amostras dos grupos 228nm_APTES e 265nm_APTES.

Amostra	Distribuição < 50 nm	Distribuição > 50 nm
228nm_APTES_3DIR	21 ± 3	**
265nm_APTES_1	21 ± 5	**
265nm_APTES_3DIR	21 ± 5	**

Os resultados obtidos por MET e MEV são compatíveis, exceto para a amostra 265nm_APTES_3DIR, na qual a distribuição de tamanhos obtida pelo MET foi exibiu um tamanho médio das partículas de ouro superior à obtida pelo MEV.

Em observância aos resultados obtidos, é possível concluir que quando procedemos com os sucessivos recobrimentos com Au, ou seja, aumento da concentração de Au, há o surgimento de uma distribuição de tamanho de partículas >50 nm. Estas partículas são maiores que os cristalitos visto pelo DRX. Dessa forma, podemos 93ayer93era-las como policristalinas. Como discutido previamente, as partículas formadas no primeiro recobrimento servem como pontos de nucleação para o crescimento, aumentando o tamanho das NPs_{ouro}. Outro ponto a ser destacado é que os sistemas recobertos diretamente também não apresentaram distribuição com partículas > 50 nm. Como mostrado nas figuras 43 e) e 44 c), que representam as imagens de MEV para 228nm_APTES_3DIR e 265nm_APTES_3DIR, as NPs de Au aparecem como pequenos pontos homogeneamente distribuídos ao sob a superfície das NPs de óxido de ferro, sendo necessário imagens de microscopia eletrônica de transmissão para estimar com mais exatidão o tamanho dessas NPs. Assim, o recobrimento com a adição direta de uma maior quantidade de H₂AuCl₄, favorece a formação de pontos de nucleação das partículas de Au em detrimento do crescimento, ao contrário do observado na adição em alíquotas, que utilizam as partículas de ouro existentes como sementes, gerando partículas com diâmetros maiores.

Na figura 46, são exibidos gráficos onde é possível comparar os valores obtidos para o tamanho de cristalito em relação à presença de distribuições bimodais das partículas de ouro.

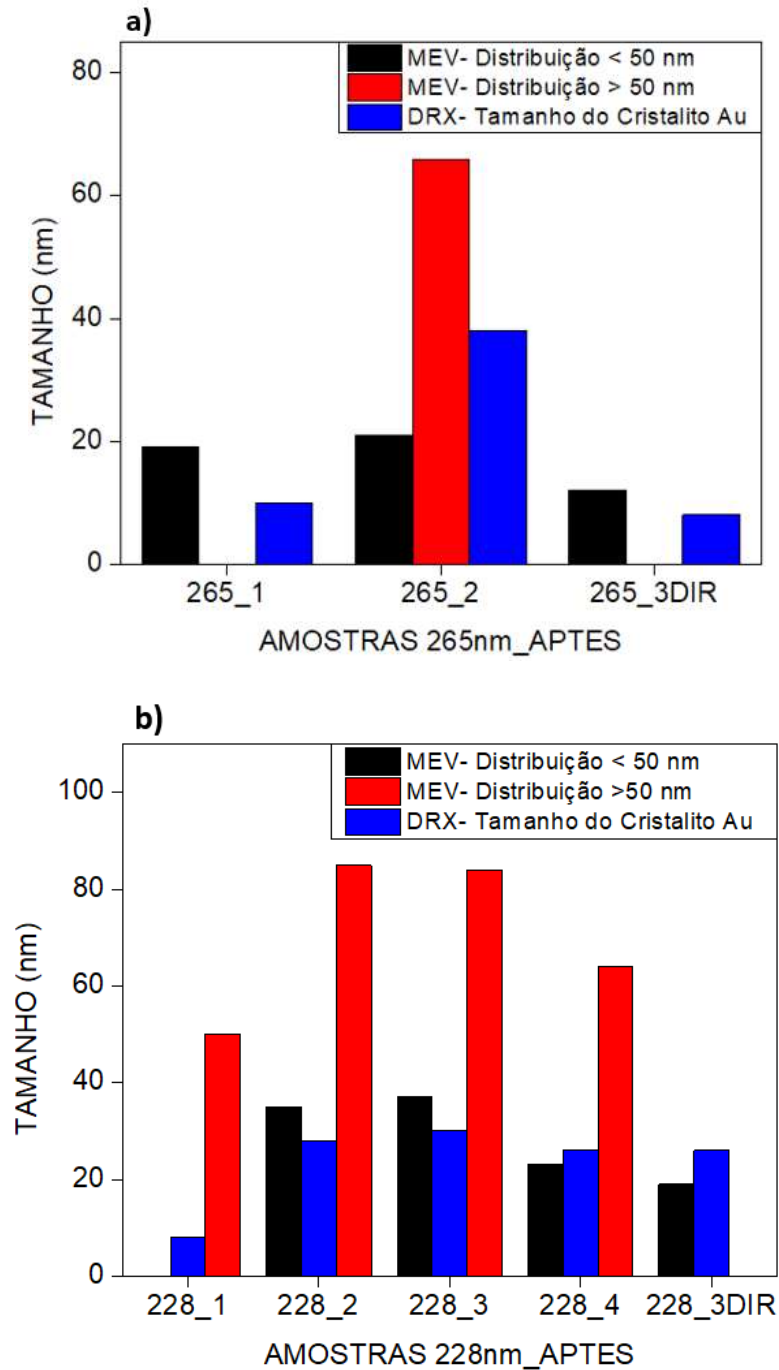


Figura 46: Comparação entre o tamanho de cristalito obtido pelo DRX e diâmetro por MEV das amostras 265nm_APTES a) e 228nm_APTES b).

5.3.3 Propriedades Magnéticas

As propriedades magnéticas dos sistemas foram investigadas após cada recobrimento com Au.

Na figura 47 a) e 47 b) são apresentadas as curvas de magnetização em função do campo aplicado ($M \times H$) do grupo de amostras 228nm_APTES e 265nm_APTES, respectivamente. Na tabela 11 são mostrados resumidamente os parâmetros magnéticos obtidos pelas curvas MxH (M_s , H_c e M_r), e também da estimativa da quantidade de Au nas amostras pelas medidas de magnetização. Podemos observar, que houve a diminuição da M_s das amostras 228nm e 265nm em função do aumento da quantidade de Au nas amostras, pois este não contribui para o aumento da magnetização total do sistema devido ao seu comportamento diamagnético.

No entanto, como um resultado não esperado, foi observado para a amostra 228nm_APTES_2 uma magnetização de saturação menor que a 228nm_APTES_3. Este resultado pode estar associado a um erro de pesagem. Outro ponto a ser mencionado é que a M_s aumentou após a funcionalização com APTES para a amostra 265nm (figura 47 b)).

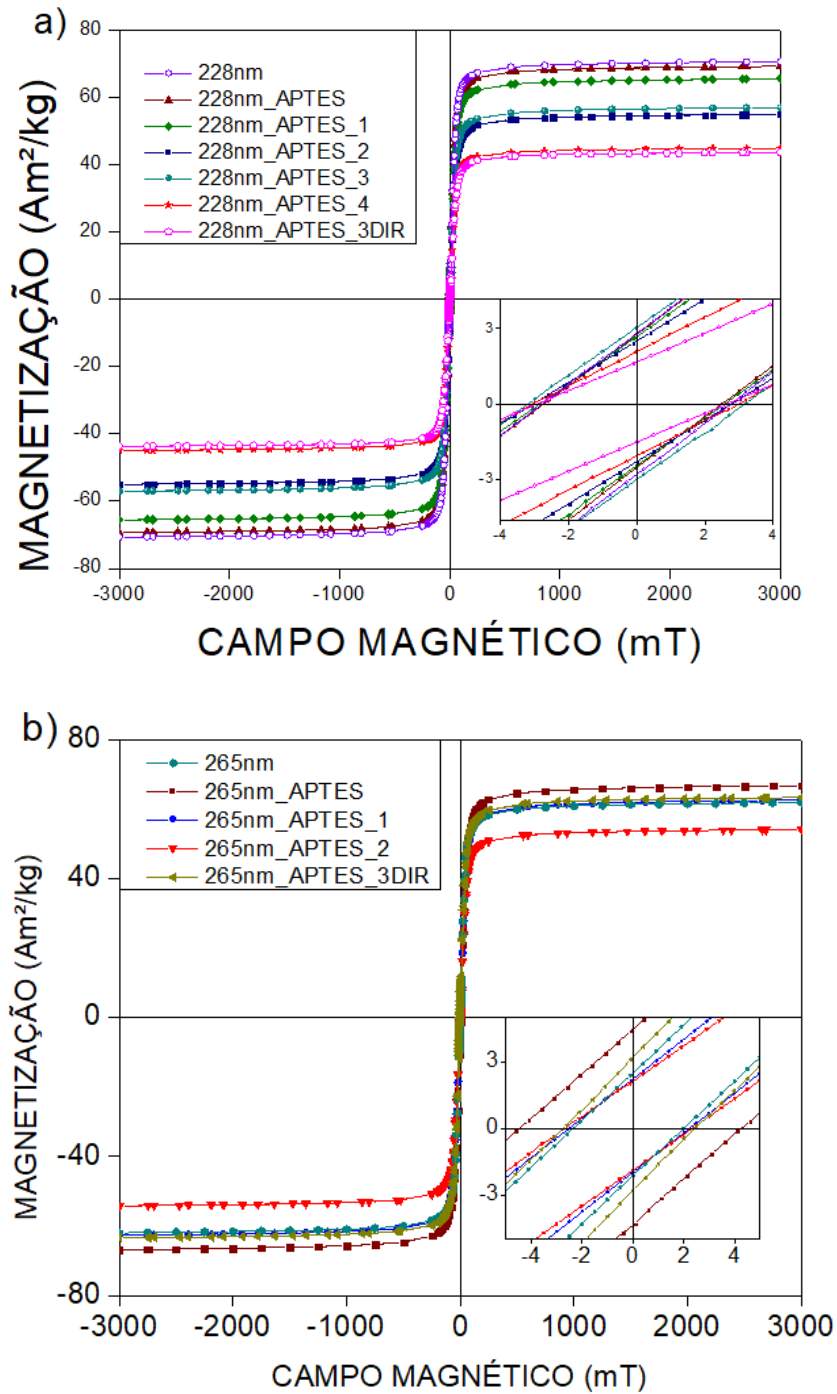


Figura 47: Curvas de histerese magnética das amostras a) 228nm e b) 265nm em cada recobrimento.

A amostra 228nm_APTES_3DIR demonstrou uma grande queda da M_s concordando com o valor esperado da fase de ouro encontrada do padrão de DRX pelo método de Rietveld.

Pela tabela 10 ainda podemos ver que os valores de H_c e M_r permaneceram sem significativas alterações em seus valores ao longo das etapas de recobrimento com Au para todas as amostras.

Fica evidente a diminuição da M_s conforme as amostras são submetidas ao processo de recobrimento, enquanto a fase de ouro obtida pelo método de refinamento Rietveld aumenta. Como visto anteriormente, utilizamos a diminuição na magnetização também para estimar a fase de ouro. A tabela 10 mostra os parâmetros obtidos a partir das curvas $M \times H$, das quais foi possível obter M_s , H_c e M_r .

Tabela 10: Parâmetros magnéticos e fase de ouro (obtidas das curvas MxH) das amostras 228nm_APTES e 265nm_APTES recobertas com ouro. (*o erro padrão das medidas magnéticas na opção VSM é de 0,5%)

Amostra	M_s^* (Am ² /kg)	H_c^* (mT)	M_r^* (Am ² /kg)	Fase de Ouro (%)
228nm	71,3	2,8	2,8	0
228nm_APTES	69,8	2,6	2,6	0
228nm_APTES_1	66,1	2,7	2,6	5
228nm_APTES_2	55,5	2,9	2,4	20
228nm_APTES_3	57,7	3,2	3,0	17
228nm_APTES_4	45,5	3,0	2,1	35
228nm_APTES_3DIR	44,0	2,9	1,6	38
265nm	62,6	2,2	2,3	0
265nm_APTES	67,4	4,4	4,4	0
265nm_APTES_1	63,3	2,3	2,1	6
265nm_APTES_2	54,7	2,5	1,9	18
265nm_APTES_3DIR	63,9	2,4	2,1	5

Nos gráficos exibidos na figura 48 foram relacionadas a fase de ouro obtida pelo refinamento Rietveld dos padrões de DRX, com a obtida pelas curvas MxH. É possível ver que os resultados são bem semelhantes, exceto pela segunda amostra. Estes resultados são indícios de que o crescimento das fases de ouro é quase que linear com a concentração nos recobrimentos das amostras 228nm.

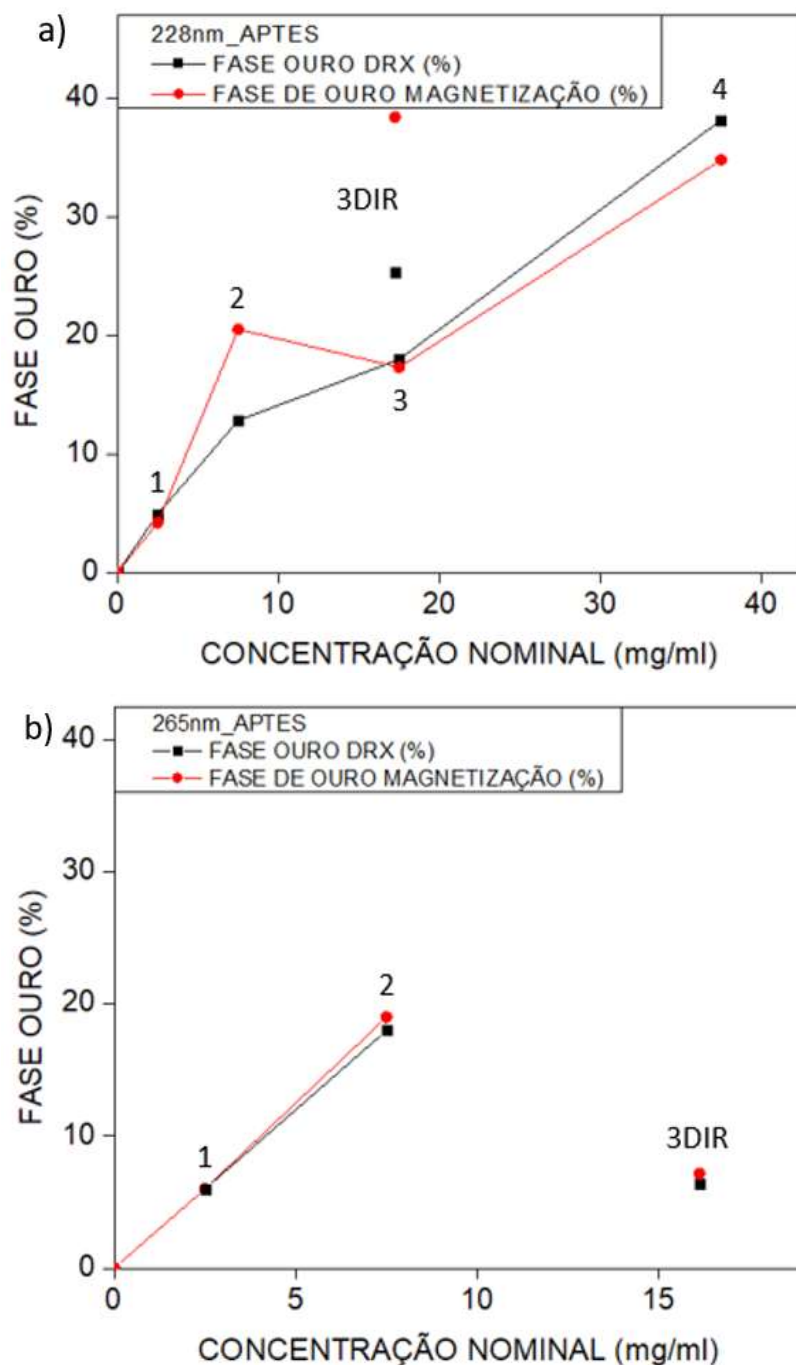


Figura 48: Comparação da porcentagem (%) de ouro obtida pelo refinamento Rietveld do padrão de DRX e magnetização das amostras 228nm (a) e das amostras 265nm (b) em função da concentração nominal utilizada no recobrimento, recobertas com Au pelo método DP. Os valores de concentração 2,5, 7,5, 17,5 e 37,5 equivalem às amostras APTES_1, APTES_2, APTES_3 e APTES_4 respectivamente. (erro nas estimativas das fases é de menos de 1%, por tanto não foi considerado no gráfico)

Enquanto para a amostra 265nm o mesmo não ocorreu, os resultados obtidos foram coerentes entre si, entretanto ao contrário das amostras 228nm, as amostras

265nm_APTES_3DIR tiveram uma porcentagem da fase de Au inferior, o que concorda com o PIE observado na seção 5.3, pois houve uma pequena modificação da superfície das amostras.

5.3.4 Teste de Hipertermia Magnética

As medidas de hipertermia magnética foram tomadas conforme descrito no **Anexo III, p. 128**. A figura 49 a) exibe a curva de aquecimento do grupo de amostras 228nm_APTES e b) para o grupo de amostras 265nm_APTES.

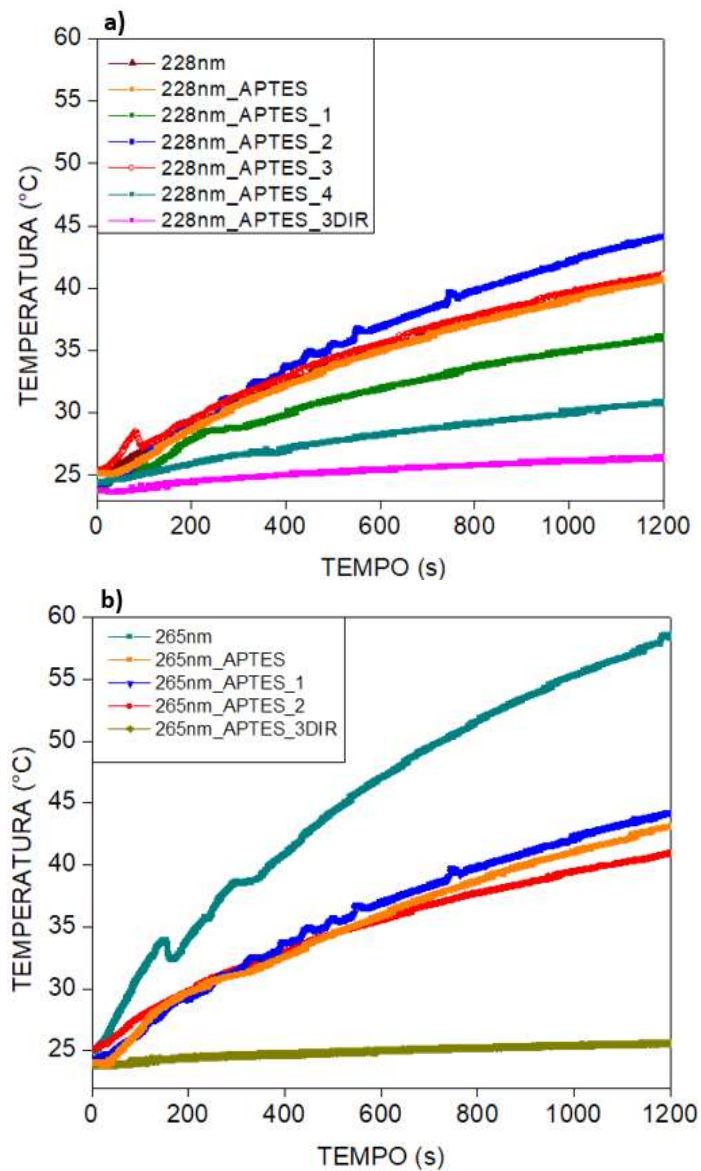


Figura 49: Curvas de aquecimento dos grupos de amostra a) 228nm e b) 265nm.

A tabela 11 mostra o SAR obtido nos primeiros 5 minutos de medida, levando em consideração que para aplicações biológicas o tempo de exposição deve ser curto. Além disso foram utilizados campos magnéticos biocompatíveis, obedecendo ao critério de Brezovich no qual o produto entre o campo e a frequência seja de até $4,85 \cdot 10^8$ A/m.s.

Tabela 11: Resultados dos testes de hipertermia magnética nas amostras 228nm e 265nm. (* o erro de aferição da temperatura é de $\pm 0,2$)

Amostra	SAR (W/g)	SAR _{norm} (W/g)	Concentração (mg/ml)	ΔT^* em 20 min. (°C)	T _{max} * em 20 min. (°C)
228nm	15,4 \pm 1,3	15,4	9,8 \pm 0,9	26,4	51,9
228nm_APTES	7,0 \pm 0,6	7,0	13,4 \pm 1,0	14,4	41,7
228nm_APTES_1	6,6 \pm 0,6	6,9	14,0 \pm 1,0	12,2	36,8
228nm_APTES_2	12,4 \pm 0,9	14,8	10,4 \pm 1,0	24,5	48,8
228nm_APTES_3	10,5 \pm 0,9	12,7	10,0 \pm 1,1	18,1	43,5
228nm_APTES_4	2,9 \pm 0,2	4,6	11,1 \pm 1,0	7,3	36,2
228nm_APTES_3DIR	3,8 \pm 0,3	5,7	9,2 \pm 1,1	3,0	26,5
265nm	25,8 \pm 2,3	25,8	10,3 \pm 0,9	33,6	58,6
265nm_APTES	20,5 \pm 1,8	20,5	10,0 \pm 0,9	19,3	43,2
265nm_APTES_1	18,2 \pm 1,6	18,9	10,0 \pm 0,9	17,6	41,2
265nm_APTES_2	21,6 \pm 1,9	25,2	15,0 \pm 1,0	46,1	44,5
265nm_APTES_3DIR	2,7 \pm 0,2	2,8	9,8 \pm 0,9	2,9	26,7

Devido à diferença de concentração utilizada nas medidas de hipertermia magnética, foi realizada a normalização do SAR das amostras pela massa do óxido de ferro (SAR_{norm}), considerando a média da fase de óxido de ferro presente nas amostras obtidas pelo método de Refinamento Rietveld e pela diminuição da magnetização de saturação, levando em conta que apenas as NPsMs são responsáveis pelo aquecimento.

Como esperado o SAR das partículas com maior magnetização de saturação tem um melhor resultado, uma vez que o SAR é diretamente proporcional a área da curva de histerese magnética como mostrado na **seção 3.5, p. 30**.

Entretanto surgem flutuações nas amostras 228nm_APTES_2 e 228nm_APTES_3, que exibem ouro em sua superfície. Nestas amostras temos um SAR maior do que na amostra apenas funcionalizadas por APTES, este resultado pode estar associado ao fenômeno de aquecimento visto também no grupo de amostras feitos pelo método de Turkevich, discutido na **seção 5.2.4, p. 70**.

Enquanto as amostras 228nm_APTES_4 e 228nm_APTES_3DIR, que apresentam maior fase de ouro, tiveram uma diminuição drástica no valor do SAR e no aquecimento apresentado, o que está associado ao comportamento diamagnético das amostras de ouro.

Como visto na **seção 5.3.1, p. 81**, ambas as partículas magnéticas apresentaram indícios da presença do regime de vórtice magnético, sendo este o regime ideal para aplicações a hipertermia magnética por atender a todos os requisitos magnéticos essenciais (baixa magnetização de remanência, baixo campo coercivo e alta magnetização de saturação) e ao mesmo tempo apresentar o mecanismo de perdas por histerese. Na tabela 11 podemos observar que as amostras 228nm_APTES_2, e 265nm_APTES_2, são as que apresentam maiores valores de SAR para amostras decoradas com ouro pelo método DP. Estas amostras podem ser consideradas ideais para conjugar as técnicas de hipertermia magnética e foto-hipertermia, levando em consideração que em ambas as amostras foram alcançadas as temperaturas necessárias para tratamento em terapias térmicas (~42 °C) (STORM et al., 1979; SURIYANTO; NG; KUMAR, 2017), e com a aplicação da foto-hipertermia existe a possibilidade de um aumento na eficiência calorífica dos nanossistemas.

6. Conclusões

Neste trabalho fizemos o estudo do processo de crescimento de partículas de ouro sobre a superfície de partículas de óxido de ferro, a fim de produzir uma nanoplateforma com potencial para aplicações em tratamentos térmicos.

Os sistemas produzidos possuem grande potencial para aplicações biológicas, pois apresentaram baixo H_c (~3 mT) e M_r (~2 Am²/kg), características necessárias para aplicações biomédicas.

O comportamento magnético das partículas foi analisado após cada recobrimento, verificando que não houve alteração significativa nestes parâmetros, apenas a queda da M_s , o que já era esperado devido ao comportamento diamagnético do ouro que contribuiu para a diminuição da magnetização total do sistema. Estes resultados indicam que a presença do ouro não causou alteração no regime magnético do óxido de ferro. A partir do decréscimo da M_s foi possível estimar a fase de ouro presente nas amostras, que foi comparada às fases obtidas a partir do refinamento dos padrões de DRX pelo método Rietveld. Os resultados concordaram, mostrando um aumento gradativo desta fase com a adição de concentrações maiores de HAuCl₄, sendo essas informações de grande valia para a compreensão da dinâmica de crescimento da fase de ouro.

Pela decoração com o método Turkevich foi observada a formação de partículas de diâmetro entre 60 nm e 80 nm, em menor quantidade, que tenderam a aumentar de tamanho com a adição de HAuCl₄, esta metodologia apresentou uma formação não uniforme com tendência a aglomeração das partículas de ouro com o aumento da concentração de HAuCl₄.

Utilizando o método DP, foi possível aumentar gradativamente a fase de ouro, fazendo a adição de Au(OH)₃ em alíquotas, desta forma obtendo uma distribuição bimodal (partículas de ouro na faixa de 20 nm e acima de 60 nm) a partir do segundo recobrimento. Também foi feita a adição do Au(OH)₃ em uma só porção, demonstrando que neste caso as partículas de ouro formadas foram bem pequenas (na faixa de 20 nm).

Estes resultados levam a crer que as partículas de óxido de ferro são utilizadas como ponto de nucleação no método DP, entretanto o ouro apresenta maior afinidade por outras partículas de ouro, acarretando assim o aumento do surgimento de partículas de ouro de maior dimensão, utilizando as partículas já existentes como sementes e crescendo sobre estas. É clara uma alta dependência das dimensões destas partículas, em relação ao método de adição do HAuCl_4 .

Enquanto o efeito é inverso no método Turkevich, apresentando partículas de ouro com maior diâmetro quando utilizadas maiores concentrações.

Mostramos que tanto o grupo 228nm quanto o 265nm apresentam aquecimento após o recobrimento por ouro. No entanto, considerando as amostras que apresentaram também a fase de ouro, as amostras 228nm_CIT_2, 228nm_APTES_2 e 265nm_APTES_1, apresentaram maior eficiência considerado o SAR_{norm} ; e maior temperatura alcançada dentro de seus grupos: 54,9 °C, 48,8 °C e 44,5 °C, respectivamente. São estas as que apresentam maior potencial para conjugação das técnicas de hipertermia magnética e foto-hipertermia, uma vez que apresentaram, além da eficiência para HM, recobrimento com ouro em sua superfície, possibilitando direta aplicação de laser para teste de aquecimento.

6.1 Perspectivas

Para próximos trabalhos desejamos realizar um estudo mais profundo sobre as propriedades magnéticas das partículas de óxido de ferro, a fim de melhorar a compreensão da diferença entre os dois grupos, uma vez que este efeito é visível de forma mais concreta no teste de hipertermia apresentando uma grande diferença na eficiência da geração de calor.

Estudar a interação das partículas de ouro com o campo RF a fim de avaliar as interações deste campo com as nanoplataformas produzidas, uma vez que algumas partículas apresentaram maior eficiência na geração de calor com maior fase de ouro, em comparação às sem fase de ouro.

Realizar testes de citotoxicidade destes sistemas em células, objetivando avaliar a viabilidade de sua aplicação em organismos vivos.

Otimizar o processo de recobrimento das partículas magnéticas por ouro, variando não só a quantidade, como também a morfologia das partículas, com objetivo de otimizar a faixa do comprimento de onda onde há o efeito RPS a fim de utilizar a técnica de foto-hipertermia.

Realizar testes de geração de calor por foto-hipertermia a partir da ressonância plásmon de superfície fornecida pelas partículas de ouro presentes no sistema, variar sua morfologia a fim de encontrar a faixa do espectro que melhor se adequa ao tratamento.

Funcionalizar estas partículas a fim de carrear fármacos ou moléculas sinalizadoras, verificando a possibilidade de conjugar hipertermia magnética, foto-hipertermia, carreamento de drogas e imageamento em um só sistema, gerando assim uma nanoplataforma multifuncional com propriedades teranósticas.

7. Referências Bibliográficas

AHMAD, T. et al. Gold-Coated Iron Oxide Nanoparticles as a T2 Contrast Agent in Magnetic Resonance Imaging. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 12, n. 7, p. 5132-5137, 2012.

ARSALANI, S. et al. Magnetic Fe₃O₄ nanoparticles coated by natural rubber latex as MRI contrast agent. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 475, p. 458-464, 2019.

BANERJEE, S et al. Iron oxide nanoparticles coated with gold: enhanced magnetic moment due to interfacial effects. *Journal Of Applied Physics*, v. 109, n. 12, p. 123902, 2011.

BELOUSOV, O. et al. Formation of Bimetallic Au–Pd and Au–Pt Nanoparticles under Hydrothermal Conditions and Microwave Irradiation. *Langmuir*, v. 27, n. 18, p. 11697-11703, 2011.

BOHLENS, S. et al. Current controlled random-access memory based on magnetic vortex handedness. *Applied Physics Letters*, v. 93, n. 14, p. 142508, 2008.

BRASIL. Instituto Nacional Do Câncer. Quimioterapia. 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tratamento/quimioterapia>. Acessado em: 06 set. 2021.

BRIAN, S. M. An introduction to materials engineering and science for chemical and materials engineers. New Jersey:John Wiley & Sons, 2004

BROWN, K. R.; WALTER, D. G.; NATAN, M. J. Seeding of Colloidal Au Nanoparticle Solutions. 2. Improved Control of Particle Size and Shape. *Chemistry Of Materials*, v. 12, n. 2, p. 306-313, 2000.

CHIEN, C. L.; ZHU, F. Q.; ZHU, J. Patterned nanomagnets. *Physics Today*, v. 60, n. 6, p. 40-45, 2007.

COEY, J. M. D., "Magnetism and Magnetic Materials", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 46, n. 1–2, p. 151–156, 1984.

COLLINS, C. B. et al. Radiofrequency heating pathways for gold nanoparticles. *Nanoscale*, v. 6, n. 15, p. 8459-8472, 2014.

CORNELL, R. M.; SCHWERTMANN, U. *The Iron Oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses*. 2. Ed. Darmstadt: Wiley-Vch, 2003.

DIAS, Carlos Sato Baraldi. Estudo de vórtice magnético em nanopartículas para aplicações em hipertermia magnética, p. 159. Tese (Doutorado) - Curso de Física, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

EL-SAYED, M. A. et al. Treatment of natural mammary gland tumors in canines and felines using gold nanorods-assisted plasmonic photothermal therapy to induce tumor apoptosis. *International Journal of Nanomedicine*, v. 11, p. 4849-4863, 2016.

ESPINOSA, A. et al. Duality of Iron Oxide Nanoparticles in Cancer Therapy: amplification of heating efficiency by magnetic hyperthermia and photothermal bimodal treatment. *Acs Nano*, v. 10, n. 2, p. 2436-2446, 2016.

FANG, J.; CHEN, Y. Nanomaterials for Photohyperthermia: a review. *Current Pharmaceutical Design*, v. 19, n. 37, p. 6622-6634, 2013.

FÉLIX, Lizbet León. Síntese e Caracterização de Nanopartículas de Magnetita com e sem recobrimento de ouro para aplicações em Hipertermia Magnética, p. 133. Tese (Doutorado) - Curso de Física, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

FÉLIX, L. L. et al. Structural and magnetic properties of core-shell Au/Fe₃O₄ nanoparticles. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, 2017.

FERNANDES, T. et al. A Self-Assembled AMF-Responsive Nanoplatform Based on Pillar(5)arene and Superparamagnetic Nanoparticles for Controlled Release of Doxorubicin. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 30, p. 2452-2463, 2019.

FONSECA, Wesley Brito Jalil da. *Sistemas Modelo para aplicações Biomédicas*, p. 83. Dissertação (Mestrado) - Curso de Física, Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, Rio de Janeiro, 2018.

GOLDSTEIN, J. I. et al. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. 4. ed. New York: Springer, 2018.

GUIMARÃES, A. P. *Magnetismo e Ressonância Magnética em Sólidos*. Rio de Janeiro: EDUSP, 2009.

GUIMARÃES, A. P. *Principles of Nanomagnetism*. New York: Springer, 2009.

GASPARE, Varvaro; CASOLI, Francesca. *Ultra-high-density magnetic recording: storage materials and media designs*. CRC Press, 2016.

HERGT, R.; DUTZ, S. Magnetic particle hyperthermia a biophysical limitations of a visionary tumour therapy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 311, n. 1, p. 187–192, 2007.

HILGER, I. et al. Cytotoxicity of selected magnetic fluids on human adenocarcinoma cells. *Journal Of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 261, n. 1-2, p. 7-12, 2003

HUANG X. et al. Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles. *Lasers Med Sci.*, v. 23, n. 3, p. 217-228, 2008

JAIN, P. K. et al. Calculated Absorption and Scattering Properties of Gold Nanoparticles of Different Size, Shape, and Composition: applications in biological imaging and biomedicine. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 110, n. 14, p. 7238-7248, 2006.

JI, J. et al. Electromagnetic Wave Absorption Performance on Fe₃O₄ Polycrystalline Synthesized by the Synergy Reduction of Ethylene Glycol and Diethylene Glycol. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 122, n. 6, p. 3628-3637, 2018.

KHAN, I.; SAEED, K.; KHAN, I. Nanoparticles: properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 12, n. 7, p. 908-931, 2019.

KRUSE, D. et al. A Radio-Frequency Coupling Network for Heating of Citrate-Coated Gold Nanoparticles for Cancer Therapy: design and analysis. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, v. 58, n. 7, p. 2002-2012, 2011.

LAURENT, S. et al. Magnetic fluid hyperthermia: focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Advances In Colloid and Interface Science*, v. 166, n. 1-2, p. 8-23, 2011.

LEE, J. et al. Exchange-coupled magnetic nanoparticles for efficient heat induction. *Nature Nanotechnology*, v. 6, n. 7, p. 418-422, 2011

LEVE, F. et al. Gold nanoparticles regulate tight junctions and improve cetuximab effect in colon cancer cells. *Nanomedicine*, v. 14, n. 12, p. 1565-1578, 2019.

LEWINSKI, N.; COLVIN, V.; DREZEK, R. Cytotoxicity of Nanoparticles. *Small*, v. 4, n. 1, p. 26-49, 2008.

LI, Y. et al. Theranostic Iron@Gold Core–Shell Nanoparticles for Simultaneous Hyperthermia-Chemotherapy upon Photo-Stimulation. *Particle & Particle Systems Characterization*, v. 36, n. 6, p. 1800419, 2019.

Leibniz Institute for Information Infrastructure (Germany). Inorganic Crystal Structure Database. Disponível em: <https://icsd.fiz-karlsruhe.de/>. Acesso em: 21 jun. 2021.

LING, D.; HYEON, T. Chemical Design of Biocompatible Iron Oxide Nanoparticles for Medical Applications. *Small*, v. 9, n. 9-10, p. 1450-1466, 2012.

LIU, X. et al. Magnetic Vortex Nanorings: a new class of hyperthermia agent for highly efficient in vivo regression of tumors. *Advanced Materials*, v. 27, n. 11, p. 1939-1944, 2015

LIU, B. et al. Highly-Controllable Molecular Imprinting at Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Ultrafast Enrichment and Separation. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 115, n. 35, p. 17320-17327, 2011.

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

LUXBACHER, Thomas. *The Zeta Potential for Solid Surface Analysis: a practical guide to streaming potential measurement*. Austria: Anton Paar GmbH, 2014.

LYON, J. L. et al. Synthesis of Fe Oxide Core/Au Shell Nanoparticles by Iterative Hydroxylamine Seeding. *Nano Letters*, v. 4, n. 4, p. 719-723, 2004.

MANDAL, M. et al. Magnetite nanoparticles with tunable gold or silver shell. *Journal Of Colloid and Interface Science*, v. 286, n. 1, p. 187-194, 2005.

MIOLA, M. et al. Reductant-free synthesis of magnetoplasmonic iron oxide-gold nanoparticles. *Ceramics International*, v. 43, n. 17, p. 15258-15265, 2017.

NANOCOMPOSIX .: ZETA POTENTIAL ANALYSIS OF NANOPARTICLES. ed.: 1.3, 2020. 7 p. Disponível em: https://cdn.shopify.com/s/files/1/0257/8237/files/nanoComposix_Guidelines_for_Zeta_Potential_Analysis_of_Nanoparticles.pdf. Acesso em: 21 jun. 2021.

NANOSCALE BIOMAGNETICS (org.). Literature Review: some experiences reported by DM100 users. Some experiences reported by DM100 users. Disponível em: <https://www.nbnanoscale.com/wp-content/uploads/2016/03/DM100-Literature-review.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2021.

NANOSCALE BIOMAGNETICS. Specific Power Absorption & Intrinsic Loss Power Values. 2001. Disponível em: <https://www.nbnanoscale.com/calculation-specific-power-absorption-intrinsic-loss-power-values-experiments-magnetic-heating-nanoparticles/>. Acesso em: 06 set. 2021.

Organização Pan-Americana da Saúde. Câncer. 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>. Acesso em: 06 set. 2021.

PARK, H. et al. Fabrication of Magnetic Core@Shell Fe Oxide@Au Nanoparticles for Interfacial Bioactivity and Bio-separation. *Langmuir*, v. 23, n. 17, p. 9050-9056, 2007.

PARK, S. et al. Prolonged heating of Fe₃O₄-Au hybrid nanoparticles in a radiofrequency solenoid coil. *Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 538, p. 304-309, 2018.

PHAM, T. T. H.; CAO, C; SIM, S. J. Application of citrate-stabilized gold-coated ferric oxide composite nanoparticles for biological separations. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 320, n. 15, p. 2049-2055, 2008.

RAJAN, A.; SAHU, N. K. Review on magnetic nanoparticle-mediated hyperthermia for cancer therapy. *Journal of Nanoparticle Research*, v. 22, n. 11, p. 319, 2020.

RIEHMANN, K. et al. Nanomedicine-Challenge and Perspectives. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 48, n. 5, p. 872-897, 2009.

ROSENSWEIG, R.E. Heating magnetic fluid with alternating magnetic field. *Journal of Magnetism And Magnetic Materials*, v. 252, p. 370-374, 2002.

SANTOS, Evelyn Christyan da Silva. Nanopartículas Magnéticas de óxido de ferro e Nanoválvulas como Sistemas De Veiculação De Fármacos Para O Tratamento Do Câncer. 2018. p. 209, Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018

SANTOS, Jacqueline; SANTOS, Marcos; THESING, Anderson; TAVARES, Fabiele; GRIEP, Jordana; RODRIGUES, Marcos. Ressonância de plásmon de superfície localizado e aplicação em biossensores e células solares. *Química Nova*, v. 39, 2016.

SILVA, V.A.J.; ANDRADE, P.L.; SILVA, M.P.C.; D., A. Bustamante; VALLADARES, Luis de Los Santos; AGUIAR, J. Albino. Synthesis and characterization of Fe₃O₄ nanoparticles coated with fucan polysaccharides. *Journal Of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 343, p. 138-143, 2013.

SERGEY P. G. Magnetic nanoparticles. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Germany, 2009.

SOUZA, C. D.; NOGUEIRA, B. R.; ROSTELATO, M. E. C. M. Review of the methodologies used in the synthesis gold nanoparticles by chemical reduction. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 798, p. 714-740, 2019.

SHAO, J. et al. Near-Infrared-Activated Nanocalorifiers in Microcapsules: vapor bubble generation for invivo enhanced cancer therapy. *Angewandte Chemie*, v. 127, n. 43, p. 12973-12978, 2015.

SCHÄRTL, Wolfgang. Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions. Leipzig: Springer-Verlag, 2007.

SMITH, W. F.; HASHEMI, J.; PRESUEL-MORENO, F. Foundations of Materials Science and Engineering. 6. ed. New York: McGraw-Hill Education, 2019.

STONER E.C.; WOHLFARTH E.P. A mechanism of magnetic hysteresis in heterogeneous alloys, Philosophical Transactions of The Royal Society A, v. 240, p. 599–642, 1948.

STORM, F. K., HARRISON, W. H., ELLIOTT, R. S.; MORTON, D. L. Normal tissue and solid tumor effects of hyperthermia in animal models and clinical trials. Cancer Res. 39, 2245–51, 1979.

SURIYANTO; NG, E. Y. K.; KUMAR, S. D. Physical mechanism and modeling of heat generation and transfer in magnetic fluid hyperthermia through Néelian and Brownian relaxation: a review. Biomedical Engineering Online, v. 16, n. 1, 2017.

The FullProf Team. Fullprof suite. <https://www.ill.eu/sites/fullprof/>, 2006. (Online; acessado em 21/07/2021)

TOMITAKA, A. et al. Development of magneto-plasmonic nanoparticles for multimodal image-guided therapy to the brain. Nanoscale, v. 9, n. 2, p. 764-773, 2017.

VANSTEENKISTE, A. et al. The design and verification of MuMax3. Aip Advances, v. 4, n. 10, p. 107133, 2014.

VILLAR, Bianca Monserrat Galeano. Estudo de vórtices magnéticos em nanoanéis de Fe@Fe₃O₄ recobertos por SiO₂, p. 126 . Dissertação (Mestrado) - Curso de Física, Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, Rio de Janeiro, 2019.

WILLIAMS, David B.; CARTER, C. Barry. Transmission Electron Microscopy: a textbook for materials science. 2. ed. New York: Springer, 2009.

WASEDA, Yoshio; MATSUBARA, Eiichiro; SHINODA, Kozo. X-Ray Diffraction Crystallography: X-ray diffraction crystallography. New York: Springer Heidelberg Dordrecht London, 2011.

WU, A.; OU, P.; ZENG, L. BIOMEDICAL APPLICATIONS OF MAGNETIC NANOPARTICLES. *Nano*, v. 05, n. 05, p. 245-270, 2010.

XU, Z.; HOU, Y.; SUN, S. Magnetic Core/Shell Fe₃O₄/Au and Fe₃O₄/Au/Ag Nanoparticles with Tunable Plasmonic Properties. *Journal of The American Chemical Society*, v. 129, n. 28, p. 8698-8699, 2007.

YANG, Y. et al. Stable vortex magnetite nanorings colloid: micromagnetic simulation and experimental demonstration. *Journal of Applied Physics*, v. 111, n. 4, p. 0443–3 - 044303-9, 2012

YU, E. Y. et al. Magnetic Particle Imaging: a novel in vivo imaging platform for cancer detection. *Nano Letters*, v. 17, n. 3, p. 1648-1654, 2017.

ZHAROV, V. P. et al. Synergistic enhancement of selective nanophotothermolysis with gold nanoclusters: potential for cancer therapy. *Lasers In Surgery and Medicine*, v. 37, n. 3, p. 219-226, 2005.

ZHOU, H. et al. Ultrasensitive DNA monitoring by Au–Fe₃O₄ nanocomplex. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 163, n. 1, p. 224-232, 2012.

ANEXO I

PROCESSO DE SÍNTESE

Nesta seção serão apresentados os reagentes e metodologias utilizados na síntese dos nanossistemas de óxido de ferro e ouro.

I.1 Reagentes e solventes

Para as sínteses foram utilizados os seguintes reagentes do fabricante Sigma-Aldrich: sulfato de ferro (II) heptaidratado (99%), cloreto de ferro (III) (97%), ácido cítrico P.A., 3-aminopropiltrióxissilano (95 %) (APTES), hidróxido de sódio, sódio citrato tribásico P.A., cloreto de ouro (III) trihidratado, acetato de sódio, etilenoglicol (EG) e polietilenoglicol (PEG).

Os solventes utilizados foram: etanol, acetona e hidróxido de amônio.

I.2 Síntese de partículas de óxido de ferro por rota solvotérmica

As nanopartículas de óxido de ferro foram sintetizadas pelo método solvo térmico seguindo o trabalho descrito por Liu et al. (2011).

Procedimento: foi preparada uma solução de 1,35 g de cloreto de ferro (III) em 40 ml de etilenoglicol, levada ao banho de ultrassom até completa homogeneização. Em seguida, adicionou-se 3,6 g de acetato de sódio e 1 g de PEG, que foram deixados sob banho de ultrassom novamente. Após o processo de homogeneização, a mistura foi transferida para um copo de teflon (figura I1), com capacidade volumétrica de 100 ml. O copo de teflon contendo a mistura foi adicionado e selado em uma auto-clave de aço inox. O reator foi levado a um forno mufla, permanecendo sob aquecimento de 200 °C durante 5 horas com rampa de 10

°C/min. O produto foi então decantado com auxílio de um ímã e lavado com etanol diversas vezes. Por fim o precipitado foi suspenso novamente em etanol e levado a estufa para secagem e posteriores caracterizações. Este processo foi feito em dois lotes distintos, do qual foram originadas partículas com tamanhos de 228 ± 35 nm e 265 ± 31 nm, nomeadas 228nm e 265nm, respectivamente.



Figura I.1: Reator hidrotérmico composto por um copo de aço inox e um copo de teflon com capacidade de 100 ml.

I.3 NPsM decoradas com NPs_{ouro} (228nm) pelo método Turkevich

As partículas de óxido de ferro (228nm) obtidas por rota solvotérmica, foram decoradas com Au utilizando o método de redução com citrato de sódio, seguindo trabalho de Tomitaka (2017). Foram feitos recobrimentos sucessivos com Au sempre utilizando o sistema anterior recoberto para avaliar o crescimento da partícula de ouro.

Para o primeiro recobrimento, 20 mg das NPs 228nm, foram dispersas em 5 ml de água ultrapura e levadas ao banho de ultrassom. Essa dispersão foi adicionada a uma solução contendo 20 mg de citrato de sódio em 5 ml de água ultrapura. E levada ao ultrassom de ponta por 10 minutos. Após esse tempo, a suspensão foi aquecida até 70-75 °C sob constante agitação mecânica (figura I2 a)) e então adicionou-se gota-a-gota uma solução aquosa de HAuCl₄ (5 ml, 1 mg/ml). O produto foi separado do sobrenadante através de um ímã (figura I2 b)), lavado com água destilada, seco em estufa à 50 °C e nomeado 228nm_CIT_1. O mesmo procedimento foi repetido utilizando partículas 228nm CIT_1 como partida, variando a concentração de HAuCl₄. Dessa forma, 228nm_CIT_1, 228nm_CIT_2 e 228nm_CIT_3 apresentam concentrações de 1, 2 e 3 mg/ml de HAuCl₄, respectivamente (Tabela I1).

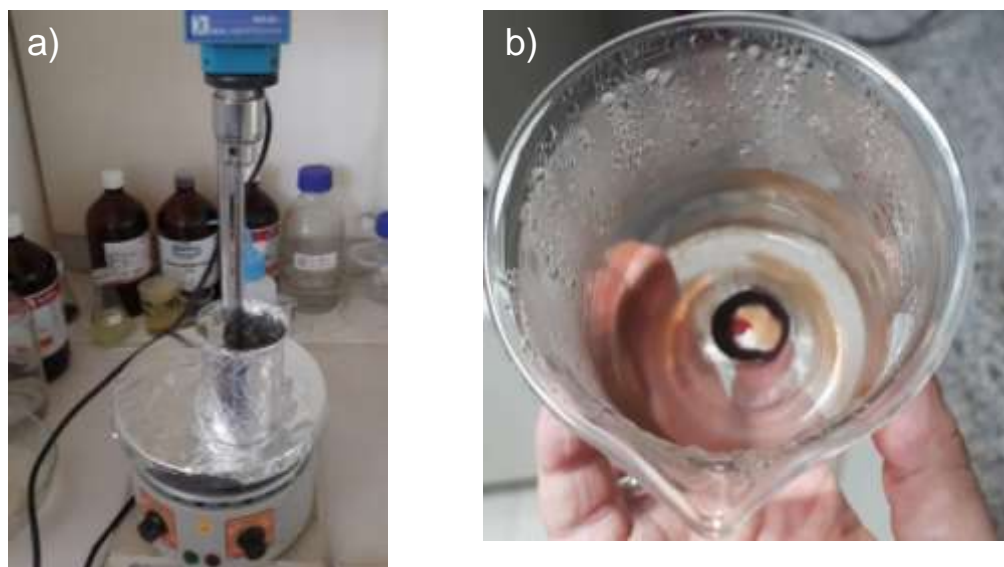


Figura I.2: a) processo de recobrimento da amostra de óxido de ferro por redução por citrato, sob aquecimento e agitação mecânica; b) amostra após separação magnética.

Amostra	
228nm_CIT_1	Fe ₃ O ₄ + HAuCl ₄ (5 mg)
228nm_CIT_2	Fe ₃ O ₄ + HAuCl ₄ (10 mg)
228nm_CIT_3	Fe ₃ O ₄ + HAuCl ₄ (15 mg)

Tabela I1: mostras 228nm recobertas com NPs_{ouro} com método de Turkevich.

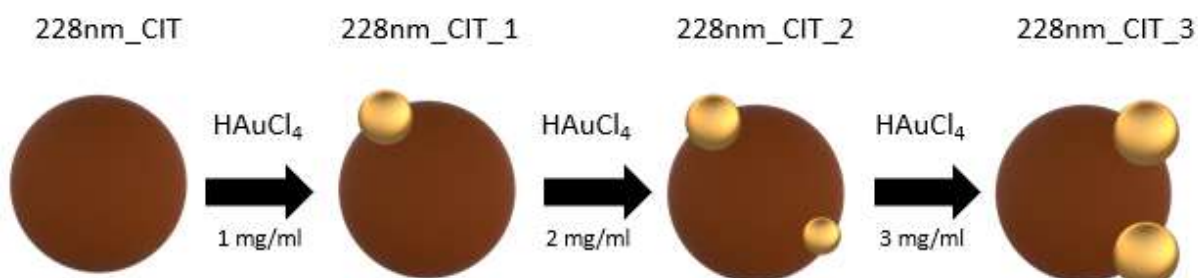


Figura I.3: Esquema de decoração por ouro das amostras 228nm pelo método Turkevich.

I.4 Modificação química da superfície das 228nm e 265nm com APTES

O processo de funcionalização por 3-aminopropiltroxissilano foi adaptado do trabalho de Miola (2017). Este processo foi executado separadamente em ambos os grupos (228nm e 265nm) de NPs de óxido de ferro sintetizadas pela síntese solvotérmica.

Procedimento: foram pesados 200 mg de partículas 265nm e dispersos em uma solução de 100 ml (98% etanol e 2% água destilada). A mistura foi adicionada a um balão de três vias acoplado a um condensador e mantida sob agitação magnética, o aparato experimental pode ser visto na figura I.3. Após a mistura atingir 60 °C, adicionou-se uma alíquota de 2 ml de APTES, com auxílio de uma seringa. A reação seguiu durante 3 horas, quando fora adicionado mais uma alíquota de 2 ml de APTES. Após uma hora, foi retirada uma alíquota da solução a fim de confirmar a alteração da carga superficial das partículas na suspensão. Após a confirmação, o produto foi transferido para um béquer de 500 ml, separado magneticamente do sobrenadante. lavado com etanol 3 vezes e levadas a estufa a 50 °C para secar. Estas partículas foram nomeadas 228nm_APTES e 265nm_APTES.

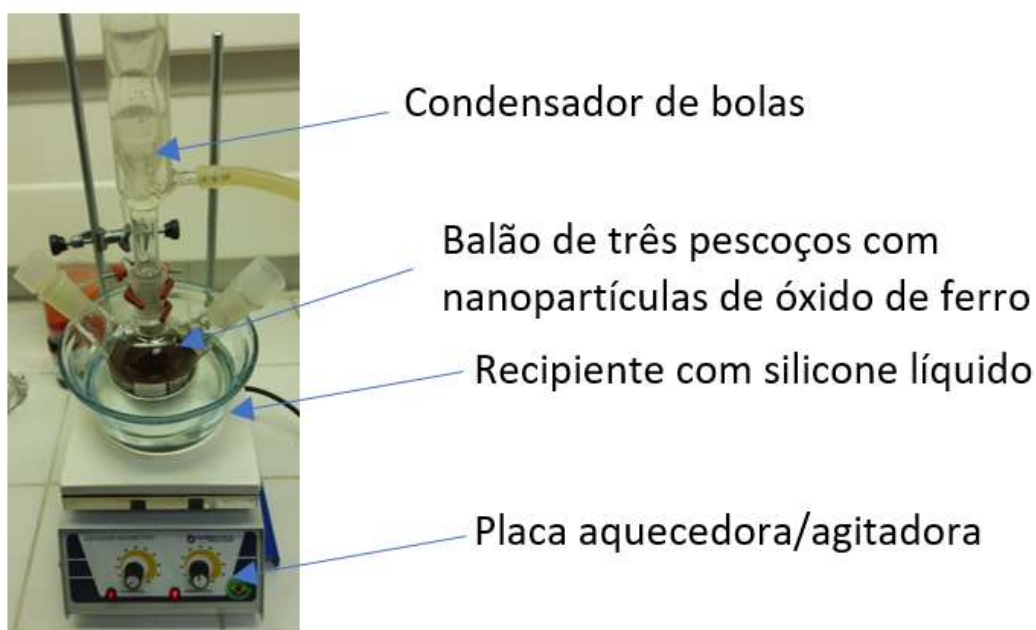


Figura I.4: Processo de funcionalização de partículas de óxido de ferro por APTES.

I.5 Decoração das 228nm_APTES com Au pelo método de deposição-precipitação (DP)

Este método se utiliza do processo de adsorção eletrostática do hidróxido de ouro sob a superfície funcionalizada das partículas de óxido de ferro com APTES, também descrito no trabalho de Miola et al. (2017). Executamos o recobrimento por duas formas: (i) adicionando o reagente HAuCl_4 em alíquotas e (ii) adicionando uma concentração maior de HAuCl_4 em uma só porção. Isto foi feito a fim de verificar a dinâmica de crescimento da fase de ouro, uma vez que a carga superficial das NPsM tende a se tornar negativa com a presença do ouro, desejamos observar a influência de uma maior quantidade do reagente frente a adição gradativa.

Procedimento: 100 mg de 228nm foram adicionadas a 1,3 ml de água destilada. Separadamente, ajustou-se o pH da solução de HAuCl_4 (4,1 ml, 2,5 mg/ml) para 8 pela adição de uma solução de hidróxido de sódio (1 mol/L), para formar hidróxido de ouro. A cor da solução foi de amarelo para incolor no processo. Esta solução então foi vertida na dispersão aquosa das NPs e mantidas sob aquecimento e agitação magnética por 3 minutos após atingir a temperatura de 70 °C. Ao final a reação apresentou pH próximo de 7. As partículas foram então decantadas com ajuda de um ímã e lavadas com etanol. O precipitado foi redisperso em etanol após a lavagem e levado a estufa a 50 °C para secagem. A este primeiro recobrimento foi dado o código 228nm_APTES_1.

Este processo foi repetido utilizando as partículas já recobertas como precursoras, como pode ser visto no esquema exibido na figura I.4. Foi mantida a concentração de 228nm fixa e a proporção de volume da solução de 228nm para solução com HAuCl_4 foi fixada em 1:4 (Tabela I2).

Tabela I2: Amostras 228nm_APTES recobertas pelo método de funcionalização por APTES.

Amostra	
228nm_APTES_1	228nm_APTES + HAuCl ₄ (2,5 mg/ml)
228nm_APTES_2	228nm_APTES_1 + HAuCl ₄ (5 mg/ml)
228nm_APTES_3	228nm_APTES_2 + HAuCl ₄ (10 mg/ml)
228nm_APTES_4	228nm_APTES_3 + HAuCl ₄ (20 mg/ml)
228nm_APTES_3DIR	228nm_APTES + HAuCl ₄ (17,5 mg/ml)

Como dito acima, fizemos também um recobrimento com ouro utilizando uma concentração maior (17,5 mg/ml de HAuCl₄), sendo igual a soma das três primeiras concentrações (228nm_APTES_1 a 228nm_APTES_3). Esta amostra foi nomeada: 228nm_APTES_3DIR.

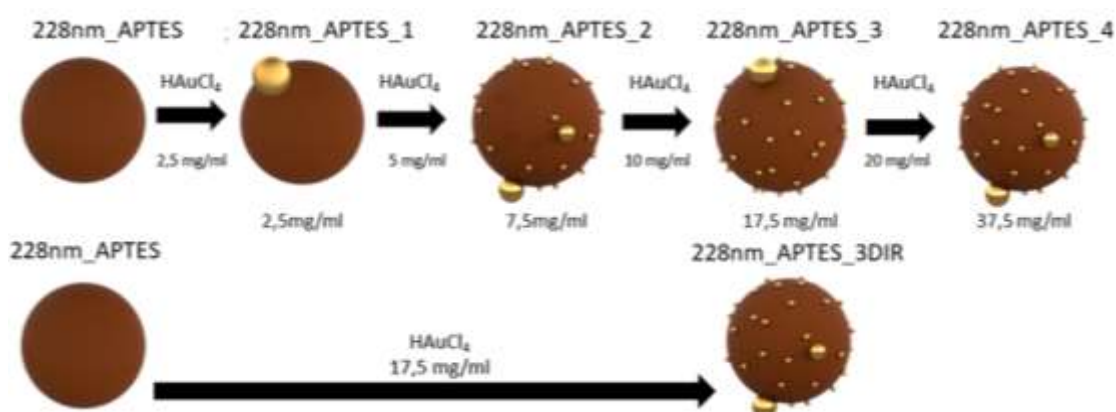


Figura I.5: Esquema de decoração por ouro da amostra 228nm_APTES.

Fizemos recobrimentos também nas partículas de óxido de ferro 265nm seguindo metodologia semelhante a aplicada as 228nm, mostrado no esquema exibido na figura I5. As amostras foram denominadas conforme mostra a tabela I3.

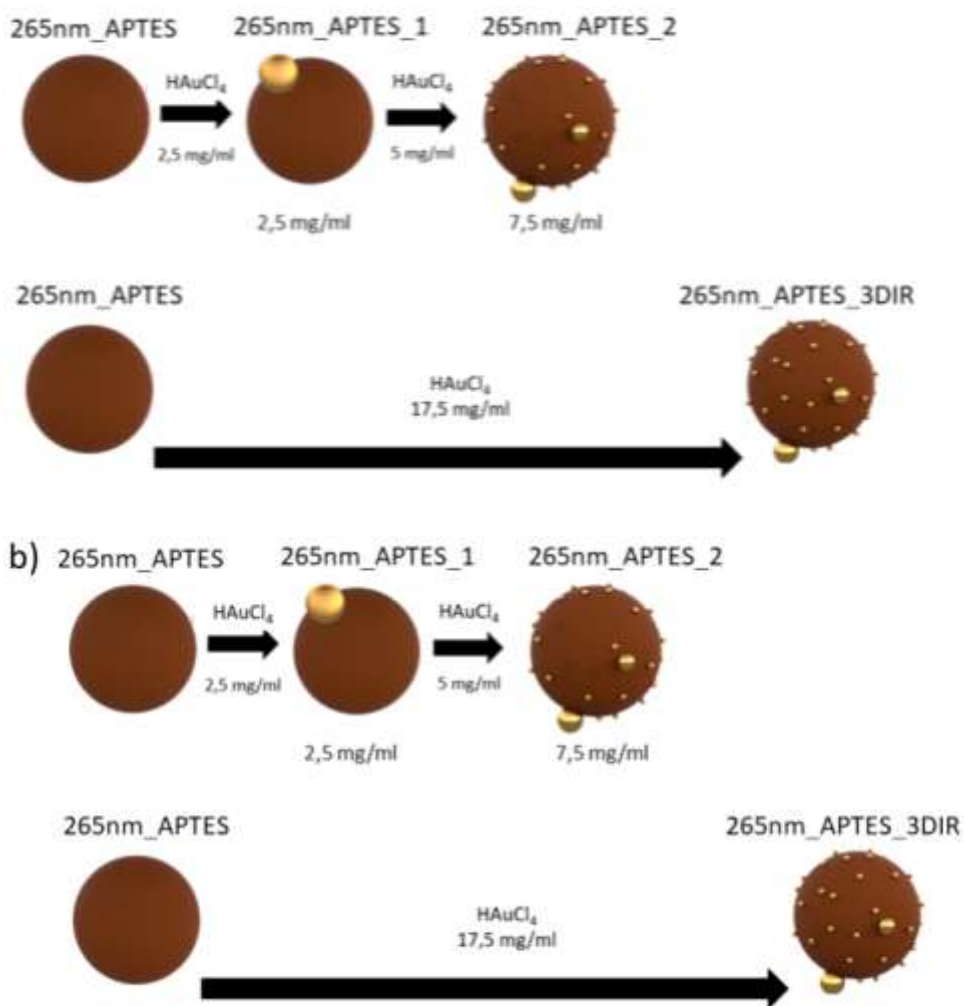
Note que, apesar de os recobrimentos gradativos não terem sido feitos até a terceira deposição, ou seja, para obtenção da 265nm_APTES_3, decidimos fazer a decoração direta com a concentração de 17,5 mg/ml de HAuCl₄, para que pudéssemos comparar este material com o sistema 228nm_APTES_3DIR. Dessa

forma, não obtivemos o material 265nm_APTES_3 com adições de Au em alíquotas, apenas adição direta.

Tabela I3: Amostras 228nm_APTES recobertas pelo método de funcionalização por APTES.

Amostra	
265nm_APTES_1	265nm_APTES + HAuCl ₄ (2,5 mg/ml)
265nm_APTES_2	265nm_APTES_1 + HAuCl ₄ (5 mg/ml)
265nm_APTES_3DIR	265nm_APTES + HAuCl ₄ (17,5 mg/ml)

Figura I.6: Esquema de decoração por ouro da amostra 265nm_APTES.



ANEXO II

DADOS DOS PADRÕES DE DRX DAS AMOSTRAS

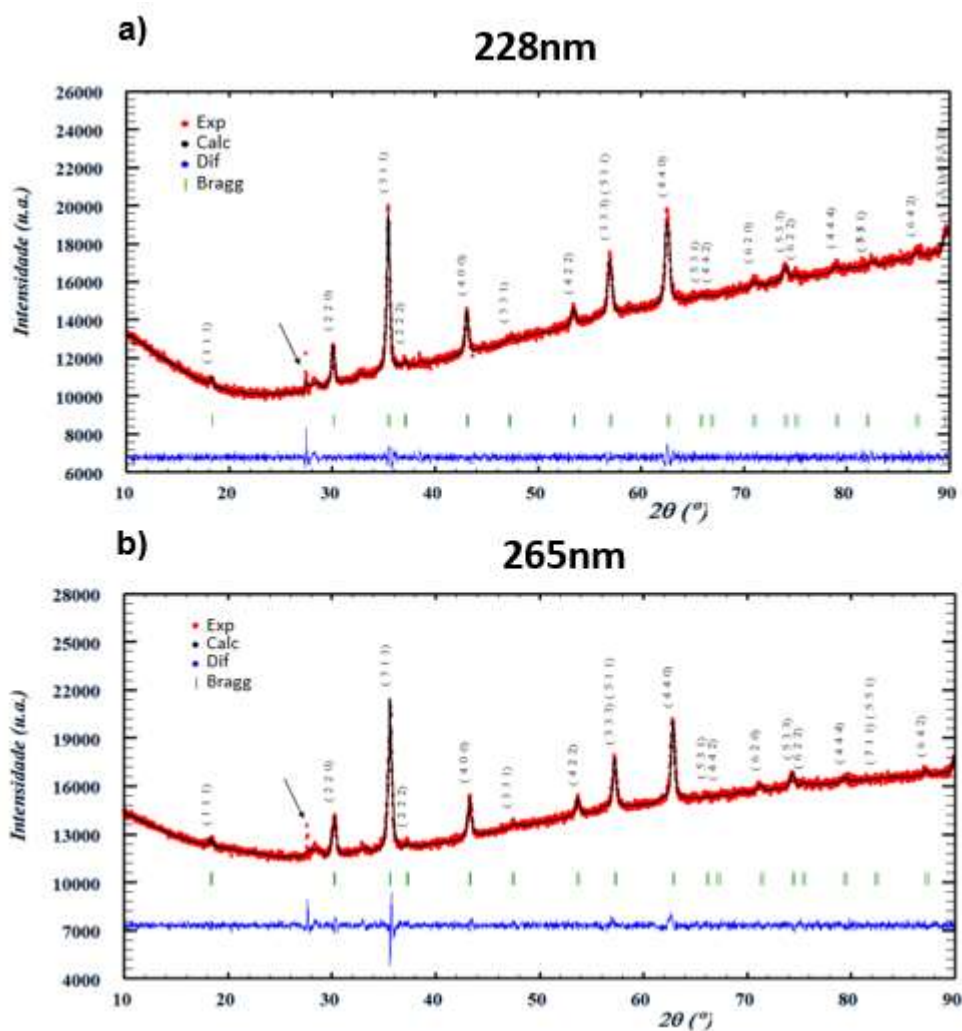


Figura II1: Difratogramas representando os padrões de DRX obtidos após refinamento Rietveld das amostras a) 228nm e b) 265nm compostas por maghemita/magnetita, com os planos cristalinos indexados. A seta indica o pico gerado pelo porta amostras.

Na tabela II1 é possível ver os parâmetros teóricos em comparação aos refinados.

Tabela II1: Parâmetros refinados pelo método de Rietveld das amostras de magnetita/maghemita

Amostra	Parâmetros Refinados	Valor Teórico	Valor Calculado
228nm	a=b=c	8.3958	8.3931
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°
265nm	a=b=c	8.3958	8.3580
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°

Parâmetros obtidos pelo refinamento de Rietveld e respectivos padrões de DRX das amostras após recobrimento.

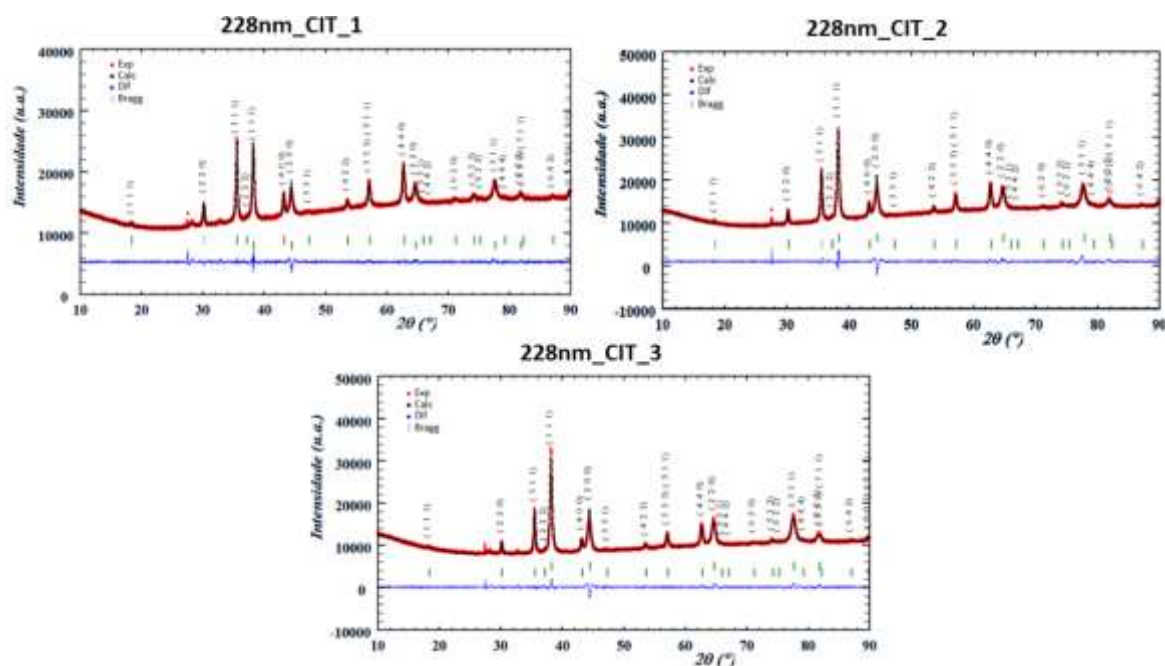


Figura II2: Padrões de DRX das amostras 228nm_CIT após refinamento de Rietveld, com planos cristalinos indexados aos picos de maior intensidade de maghemita/magnetita (triângulos) e de ouro (estrela). As intensidades teórica e calculada podem ser vistas em preto e vermelho respectivamente, em azul a diferença entre as intensidades e em verde as posições de Bragg.

Tabela II2: Parâmetros obtidos pelo padrão de DRX da amostra 228nm_CIT para a fase de ouro

Amostra	Parâmetros Refinados	Valor Teórico	Valor Calculado
228nm_CIT_1	a=b=c	4.078940	4.077366
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°
228nm_CIT_2	a=b=c	4.078940	4.071473
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°
228nm_CIT_3	a=b=c	4.078940	4.079569
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°

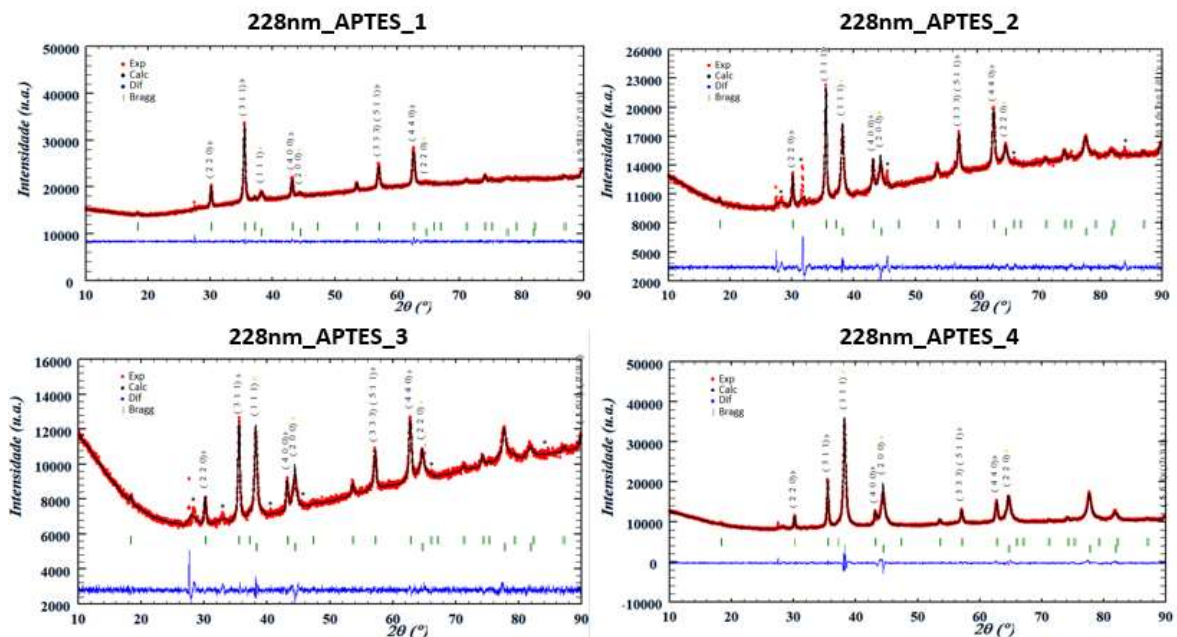


Figura II3: Padrões de DRX das amostras 228nm_APTES após refinamento de Rietveld, com planos cristalinos indexados aos picos de maior intensidade de maghemita/magnetita (triângulos) e de ouro (estrela). As intensidades teórica e calculada podem ser vistos em preto e vermelho respectivamente, em azul a diferença entre as intensidades e em verde as posições de Bragg. Os picos que representam contaminação na amostras estão representados por *.

Tabela II3: Parâmetros obtidos pelo padrão de DRX da amostra 228nm_APTES para a fase de ouro.

Amostra	Parâmetros Refinados	Valor Teórico	Valor Calculado
228nm_APTES_1	a=b=c	4.078940	4.076963
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°
228nm_APTES_2	a=b=c	4.078940	4.079277
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°
228nm_APTES_3	a=b=c	4.078940	4.074550
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°
228nm_APTES_4	a=b=c	4.078940	4.075483
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°

Tabela II4: Dados obtidos pelo refinamento Rietveld das amostras do grupo 228nm_APTES.

Amostra	Tamanho do Cristalito do Ouro (nm)	Fase de Ouro (%)
228nm_APTES_1	8 ± 2	5
228nm_APTES_2	28 ± 8	13
228nm_APTES_3	30 ± 8	18
228nm_APTES_4	26 ± 7	38
228nm_APTES_3DIR	26 ± 5	26

Conforme esperado a fase de ouro aumenta gradativamente com a adição de ouro às amostras em cada processo de recobrimento. Além disso é possível ver o aumento do tamanho de cristalito do primeiro para o segundo recobrimento, e em seguida uma estabilização no seu crescimento, mantendo-se na faixa dos 30 nm.

Já na amostra 228nm_APTES_3DIR obtivemos o padrão de DRX mostrado na figura II.4, é possível ver o pico principal do ouro ($2\theta = 38,2^\circ$) e da magnetita/maghemita ($2\theta = 35,5^\circ$) claramente.

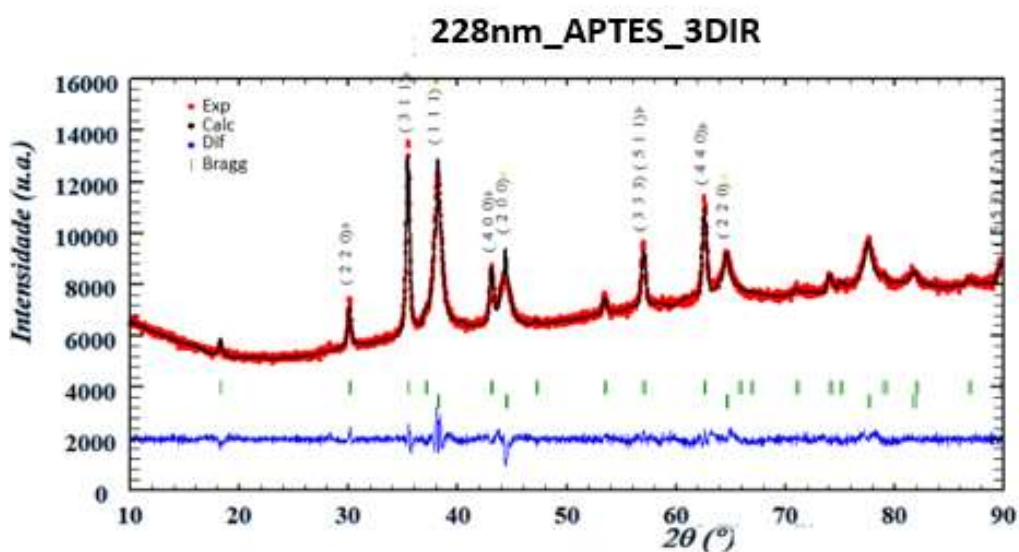


Figura II4: Padrão de DRX da amostra 228nm_APTES_3DIR após refinamento de Rietveld, com planos cristalinos indexados aos picos de maior intensidade de maghemita/magnetita (triângulos) e de ouro (estrela). As intensidades teórica e calculada podem ser vistas em preto e vermelho respectivamente, em azul a diferença entre as intensidades e em verde as posições de Bragg.

Assim como as amostras 228nm_APTES, as amostras 265nm_APTES também foram recobertas com partículas de ouro utilizando-se do processo de adsorção eletrostática. A partir destas amostras obtivemos os seguintes padrões de DRX:

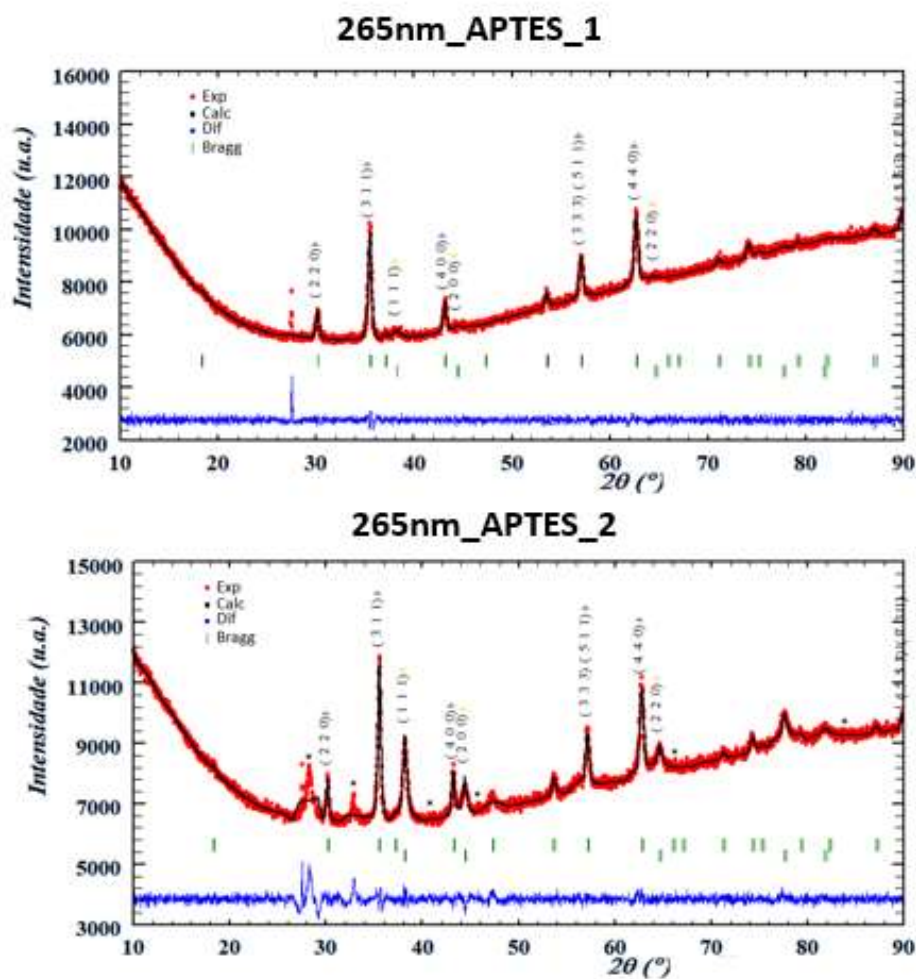


Figura II5: Padrões de DRX das amostras 265nm_APTES após refinamento de Rietveld, com planos cristalinos indexados aos picos de maior intensidade de maghemita/magnetita (triângulos) e de ouro (estrela). As intensidades teórica e calculada podem ser vistos em preto e vermelho respectivamente, em azul a diferença entre as intensidades e em verde as posições de Bragg. Os picos que representam contaminação na amostras estão representados por *.

Nas amostras 265nm_APTES_1 e 2 é possível observar o surgimento e aumento da intensidade do pico principal de ouro ($2\theta = 38,2^\circ$), sendo um indicativo do surgimento e crescimento da fase de ouro.

Tabela II5: Parâmetros obtidos pelo padrão de DRX da amostra 265nm_APTES para a fase de ouro.

Amostra	Parâmetros Refinados	Valor Teórico	Valor Calculado
228nm_APTES_1	a=b=c	4.078940	4.076145
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°
228nm_APTES_2	a=b=c	4.078940	4.077364
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°

Com o processo de refinamento Rietveld, podemos estimar a porcentagem de fase de ouro encontrada nestas amostras e o tamanho de seus cristalitos, indicados na tabela II6.

Tab. II6: Dados obtidos pelo refinamento Rietveld das amostras do grupo 265nm_APTES.

Amostra	Tamanho do Cristalito do Ouro (nm)	Fase de Ouro (%)
265nm_APTES_1	10 ± 2	2,1
265nm_APTES_2	38 ± 3	10,7
265nm_APTES_3DIR	8 ± 1	6

Mais uma vez obtivemos um comportamento de aumento quase que linear com a concentração de H_{AuCl}₄ utilizado no processo de recobrimento, como já observado nas amostras 228nm, apresentando partículas de ouro com tamanho de cristalito na faixa dos 30 nm, este sendo maior nas amostras recobertas pela segunda vez, corroborando a possibilidade de as partículas de ouro terem a função de sementes para partículas maiores.

Para a amostra com maior concentração de H_{AuCl}₄ (17,5 mg/ml) obtivemos o padrão exibido na figura II.6.

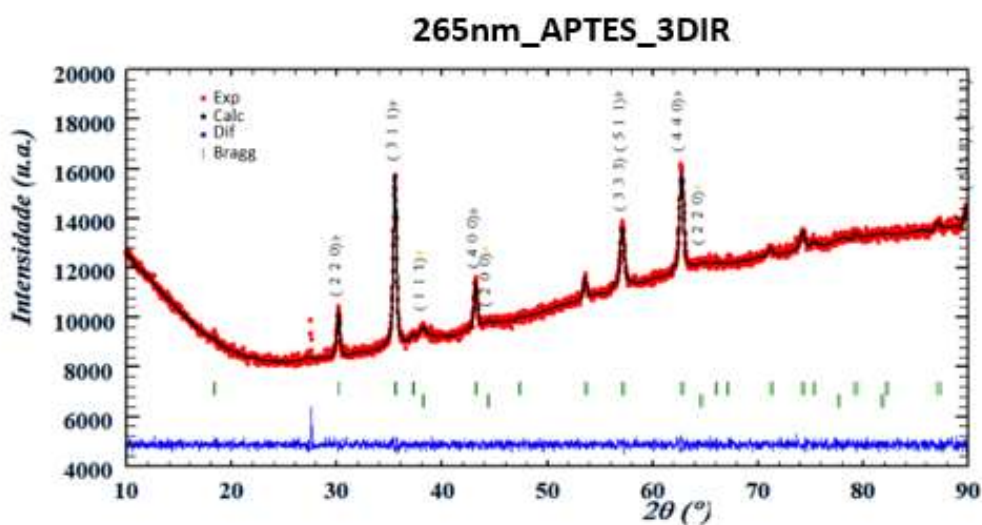


Figura II6: Padrão de DRX da amostra 228nm_APTES_3DIR após refinamento de Rietveld, com planos cristalinos indexados aos picos de maior intensidade de maghemita/magnetita (triângulos) e de ouro (estrela). As intensidades teórica e calculada podem ser vistos em preto e vermelho respectivamente, em azul a diferença entre as intensidades e em verde as posições de Bragg.

Tabela II7: Parâmetros obtidos pelo padrão de DRX da amostra 265nm_APTES_3DIR para a fase de ouro.

Amostra	Parâmetros Refinados	Valor Teórico	Valor Calculado
265nm_APTES_3DIR	$a=b=c$	4.078940	4.081050
	$\alpha=\beta=\gamma$	90°	90°

Onde é visível o sinal do ouro, porém com uma intensidade menor que a vista na amostra equivalente do grupo 228nm_APTES, e por consequência obtendo uma menor porcentagem desta fase.

ANEXO III

TÉCNICAS EXPERIMENTAIS

Nesta seção serão apresentadas as técnicas utilizadas no processo de caracterização dos nanossistemas.

III.1 Difração de Raios X de pó

As medidas de difração de raios x em pó foram tomadas com o equipamento da PanAlytical modelo Empyrean 3ª geração, disponível no Laboratório Multiusuário de Raios X do CBPF (LabX). O equipamento opera em geometria Bragg-Bretano tendo como fonte de raios x um tubo de cobre, cujo comprimento de onda é $K\alpha_1 = 1,540598 \text{ \AA}$.

As amostras foram preparadas sobre substrato de silício de baixo ruído (zero background) e as medidas foram feitas varrendo 2θ de 10° a 90° , com passo $0,0263^\circ$.

Os padrões de difração permitiram estimar o tamanho de cristalito das amostras, levando em consideração o pico principal (pico de maior intensidade) obtido nos padrões, fazendo utilização da equação de Scherrer:

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

onde D é o tamanho do cristalito em nanômetros, λ o comprimento de onda utilizado, K o parâmetro de forma (utilizado 0,84 para partículas esféricas), β a largura a meia altura do pico analisado e θ o ângulo de difração ambos em radiano. (WASEDA; MATSUBARA; SHINODA, 2011) Este parâmetro permite observar se as partículas formadas se tratam de sistemas monocristalino ou policristalino. No caso particular do ouro, estes resultados permitem observar se houve mudança de sistemas monocristalinos para policristalinos após os processos de recobrimento, podendo ser entendido como um indicativo do processo de crescimento destas nanopartículas.

Os padrões foram refinados pelo método de Rietveld, utilizando o pacote aberto Full Prof. Foram utilizados padrões teóricos disponíveis na base de dados de materiais cristalinos inorgânicos (do inglês Inorganic Crystal Structure Database, ICSD). (Li et al., 2019)

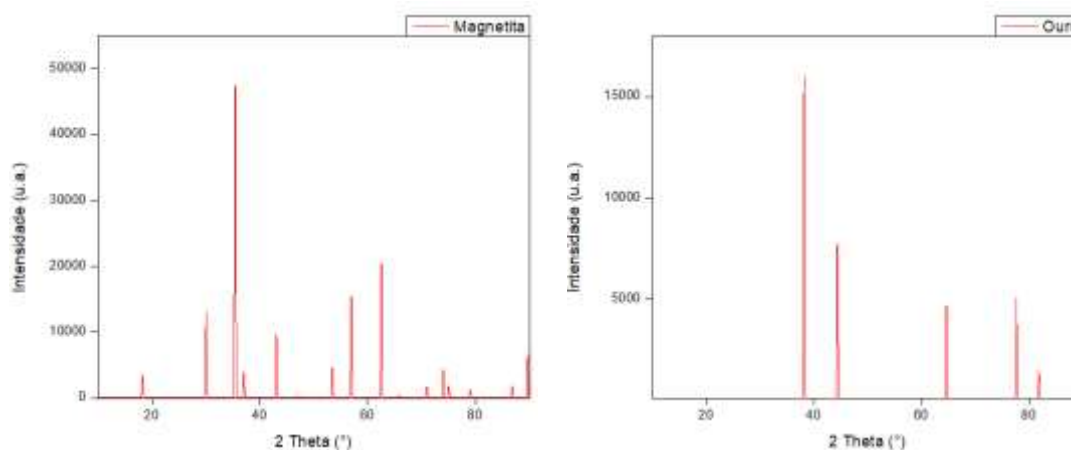


Figura III1: Padrões de DRX teóricos, a esquerda a magnetita e a direita o ouro.

Vale destacar que a estrutura cristalina da magnetita e da maghemita são muito semelhantes, impossibilitando a diferenciação de ambas no refinamento.

III.2 Microscopia Eletrônica

Os microscópios eletrônicos utilizam uma fonte de elétrons para geração de imagens. Há dois tipos principais de microscópios eletrônicos: Microscópios Eletrônicos de Varredura (MEV) e Microscópios Eletrônicos de Transmissão (MET).

No atual trabalho foi utilizado o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) de Emissão de Campo de alta resolução Jeol 7100 (SEM-FEG) equipado com detector anular de campo escuro de alto ângulo (HAADF) e o Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET) JEOL 2100F equipado com uma câmera de 11 megapixels CCD (GATAN Orius), disponíveis no Laboratório Multiusuário de Nanociência e Nanotecnologia (LABNANO) do CBPF.

As amostras foram analisadas antes e depois do processo de recobrimento com ouro, a fim de verificar a morfologia inicial e final das partículas. A distribuição

de tamanhos das nanopartículas foi feita com uma contagem de 100 nanopartículas utilizando o software Image J, os valores foram então utilizados para a construção de histogramas com o software Origin, sendo ajustados por uma curva gaussiana.

Com o objetivo de verificar a composição superficial das partículas foi utilizada a técnica de Espectroscopia de raios X por energia dispersiva, disponível no equipamento MEV, selecionando a faixa de energia referente ao Au e ao Fe.

Por estarmos analisando uma área pequena em relação à amostra total, não podemos afirmar com certeza a quantidade total de ouro na amostra, por isso a técnica foi utilizada como confirmação da existência de partículas de ouro no sistema sintetizado.

III.3 Medidas Magnéticas

As medidas magnéticas foram tomadas no aparelho Physical Property Measurement System (PPMS) DynaCool da Quantum Design, com a opção Vibrating Sample Magnetometer (VSM). Neste trabalho foram realizadas medidas $M \times H$ variando o campo magnético entre -3 e 3 T e de $M \times T$ com o campo fixo em 10 mT e temperatura variando entre 5 e 400 K. Para isto foram determinadas as massas das amostras em pó sobre uma fita de teflon antes do início da caracterização magnética, utilizando uma balança analítica da Mettler Toledo, modelo AB204-S. As amostras foram então encasuladas pela fita de teflon, e posicionadas no porta amostras de latão do equipamento.

A partir das medidas, M_s foi obtida pela extrapolação linear da curva da $M \times 1/H$, para os valores os 5 pontos de maior módulo de H .

É possível ter uma estimativa da quantidade de ouro na amostra, considerando a magnetização de saturação da amostra antes da adição de decorada com Au. Esperamos que M_s seja reduzido segundo a expressão:

$$P_{ouro} = \frac{M_{rec}}{M_{NP}} \cdot 100 \quad (\text{III.2})$$

Sendo P_{ouro} a porcentagem de ouro estimada, em vista da diminuição da magnetização de saturação, M_{rec} a magnetização da amostra após o recobrimento e M_{NP} a magnetização da amostra antes do recobrimento.

III.4 Potencial Zeta (ζ)

Esta técnica permite avaliar a carga superficial de partículas em suspensão, podendo assim estimar pontos de maior ou menor estabilidade coloidal do sistema, a repulsão se deve a forças eletrostática geradas por íons existentes na superfície das partículas em análise. (NANOSCALE, 2016)

As partículas são consideradas estáveis em suspensão quando apresentam potencial acima de 30 mV em módulo, enquanto que o ponto de menor estabilidade é onde a carga da superfície é zero, ponto onde o potencial também é zero, este é conhecido como Potencial Isoelétrico (PIE)

Em meio líquido, alguns materiais tendem a atrair íons para sua superfície, esta camada mais fortemente ligada a superfície da partícula, é chamada de camada Stern e possui carga inversa à carga real da superfície.

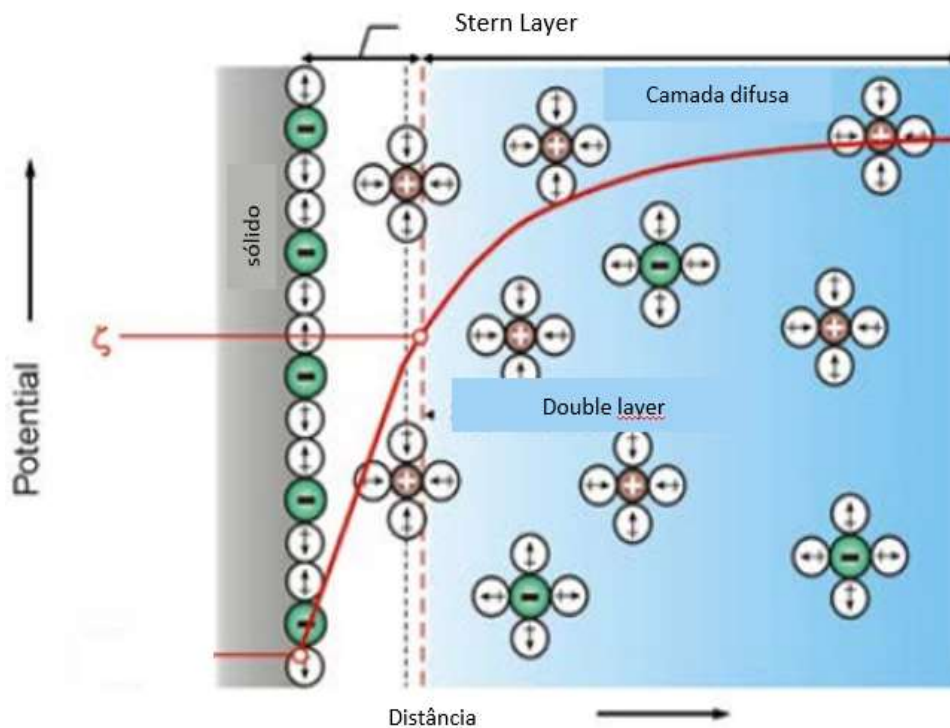


Figura III2: Modelo do *double layer* eletroquímico na interface entre o sólido e o meio líquido. Figura adaptada de LUXBACHER (2014).

O potencial ζ é definido como a voltagem fornecida por íons em suspensão que aderem fracamente à camada Stern, formando uma camada denominada “double layer”.

A medida é tomada observando a velocidade de deslocamento das partículas quando submetidas a um campo elétrico, medida com auxílio de um laser aplicado a suspensão.

As medidas foram feitas no equipamento Zeta Plus Zeta Potencial Analyzer, da Brookhaven Instruments Corporation, tomadas variando o pH entre 2 e 13, com isso foi possível obter o PIE. Estas medidas foram de extrema importância neste trabalho, pois confirmaram o sucesso na funcionalização da superfície do óxido de ferro, sendo possível a visualização devido ao deslocamento do PIE.

III.5 Simulações micromagnéticas

Simulações magnéticas são métodos utilizados para analisar estruturas magnéticas nas escalas nano e micrométricas. Os sistemas foram simulados pelo aluno de doutorado Wesley Brito Jalil da Fonseca. Neste trabalho foram utilizadas para compreender melhor o comportamento magnético das partículas de óxido de ferro sintetizadas. Foi utilizado o software MuMax3 desenvolvido pelo grupo DyNaMat (Dynamics of Functional Nano Materials) na Universidade de Ghent, Bélgica. O software é um recurso *open-source* (do inglês fonte aberta), disponibilizado gratuitamente, necessitando-se obrigatoriamente de uma GPU NVIDIA.

Utiliza-se da linguagem Go, permitindo a simulação de nanoestruturas a partir da definição de diversos parâmetros físicos, sendo estes definidos em células ortorrômicas 2D ou 3D. Os cálculos são baseados no Método de Diferenças Finitas (MDF) que tem por princípio transformar derivadas espaciais em quocientes de diferenças finitas, processo conhecido como discretização, a solução é então obtida por soluções numéricas em um processo iterativo.

O sistema trabalha a partir de scripts que simplificam a utilização do software tendo funções pré-definidas como a função `relax ()` ou `minimize ()`, que tem por objetivo encontrar o estado de mínima energia. (Vansteenkiste et al., 2014)

Para a finalidade deste trabalho os parâmetros principais analisados foram: partículas esféricas de diâmetro de 200 e 260 nm com tamanho de grãos de 20 e 40 nm respectivamente. Cada partícula teve associada duas energias de anisotropia magnetocristalina em acordo com o esperado de partículas de magnetita. As partículas foram então simuladas partindo de dois estados iniciais (I) momentos magnéticos totalmente saturados; (II) estado de vórtice magnético e permitidas relaxar até o estado de menor energia.

III.6 Medidas de Hipertermia Magnética

Para avaliação da eficiência de aquecimento das amostras, foi utilizado um sistema de aquecimento por indução magnética da NanoScale Biomagnetics, modelo DM2, que gera um campo de RF, com frequência de 307 kHz e intensidade de até 20 mT.

As amostras secas e em pó foram preparadas em um porta amostras de vidro. As partículas foram dispersas em água em uma concentração de 10 mg/ml. Um termômetro de fibra ótica introduzido no centro do porta amostras monitora o aquecimento do sistema. A amostra foi posicionada no centro da bobina de RF, em um calorímetro protegido termicamente por um isolamento de vácuo gerado por uma bomba turbo. Os controles de tempo, campo de RF e temperatura foram realizados pelo programa de controle do equipamento.

Foi possível obter o SAR em W/g das amostras a partir do software disponível também no equipamento, que utiliza a **equação 3.10 da seção 3.5**. Foi realizado um fit exponencial nos gráficos da variação de temperatura em função do tempo, considerando os primeiros cinco minutos, porém os testes foram realizados durante 20 minutos.

Também é possível obter o ILP das partículas, utilizando a **equação 3.11 da seção 3.5**, essa equação permite a comparação direta entre medidas tomadas com diferentes parâmetros de campo e frequência. A unidade do ILP é nHm²/kg. (NANOSCALE BIOMAGNETICS, 2021)