



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E NANOBIOTECNOLOGIA-PPG/NANO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DESENVOLVIMENTO DA INTERAÇÃO NANOSONDA

MAGNÉTICA DE MAGNETITA-HEMÁCIA

ERNANI MARCO RODRIGUES DOS REIS

Brasília – DF, setembro de 2014

ERNANI MARCO RODRIGUES DOS REIS

DESENVOLVIMENTO DA INTERAÇÃO NANOSONDA

MAGNÉTICA DE MAGNETITA - HEMÁCIA

ORIENTADOR:

PROF. Dr. JUDES GONÇALVES DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Nanociência e Nanobiotecnologia.

Brasília – DF, setembro de 2014



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E NANOBIOTECNOLOGIA

Dissertação de Mestrado

Ernani Marco Rodrigues dos Reis

Título:

**“DESENVOLVIMENTO DA INTERAÇÃO NANOSONDA
MAGNÉTICA DE MAGNETITA-HEMÁCIA.”**

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Marcelo Henrique Sousa
Presidente
UnB / Nano

Prof. Dr. Jorge Luis Nepomuceno de Lima
Membro Titular Externo não Vinculado ao Programa
DFIS/UNIR

Prof. Dr. Judes Gonçalves dos Santos
Orientador
Membro Titular Externo Vinculado ao Programa
DFIS/UNIR

Brasília, 26 de setembro de 2014.

Agradeço a Deus por permitir que eu possa concluir mais esta etapa de minha vida com saúde. A minha esposa Elizandra e a minha filhinha Cristhinny pelo amor, carinho e pela compreensão durante minha ausência em momentos importantes para ambas.

DEDICATÓRIA

A minha Mãe Adelina Rodrigues Prates, meus irmãos Henrique Rodrigues dos Reis, Josias Zeferino dos Reis Junior e Daniel Rodrigues dos Reis, a meu pai Josias Zeferino dos Reis e a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A minha querida e amada esposa Elizandra Souza dos Santos Rodrigues, por me apoiar, me amar de maneira incondicional e por ser mais um motivo de inspiração para que eu pudesse ser alguém, imagino o quanto foi difícil pra você, passar por alguns momentos sozinhos sem que eu pudesse estar presente.

A pessoinha sem a qual não sei mais como viver, pelo seu sorriso que me serve de inspiração, minha amada filha Cristhinny Manuela Souza Rodrigues, espero que minha insistência em continuar estudando lhe sirva de inspiração e saiba que farei o que estiver ao meu alcance que você tenha uma educação de qualidade.

AGRADECIMENTOS

Neste pequeno espaço, agradeço primeiramente a DEUS e a todas as pessoas que sempre estiveram comigo me apoiando e que foi parte fundamental nesta caminhada nada fácil, apoio sem o qual não teria chegado até aqui.

Agradeço ao professor Dr. Judes Gonçalves dos Santos meu orientador por me orientar e por ter acreditado em mim em mais esta empreitada, sendo mais que um professor, mais um amigo a quem sempre pude contar.

Agradeço a professora Dra. Luciene Batista da Silveira por ajudar quando solicitado e pelos puxões de orelhas quando necessários.

Agradeço ao Professor Dr. Paulo Souza, pelas medidas de espectroscopia paramagnética, pelas discussões em torno deste trabalho e pela acolhida em Brasília na ocasião em que levei o material para análise.

Agradeço ao professor Dr. Ricardo Bentes, a Zélia Madeira por ter se empenhado em conseguir alojamento na colina, pelo apoio financeiro através do INCT – Nanobiotecnologia durante o curso de mestrado.

Agradeço também ao Luiz Miguel Ramirez pelas medidas de Espectroscopia Infra- Vermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Difração de Raios-X (DRX).

Agradeço a dona Alda e seu esposo Ribamar pela acolhida em Brasília, nunca

esquecerei o que fizeram por nós.

Aos professores que ministraram as disciplinas, pelo conhecimento adquirido e pela paciência com os meus erros e nervosismo.

Agradeço a Cláudia Targino pela coleta de sangue, pelos questionamentos sobre a pesquisa, os quais me fizeram refletir sobre o objetivo deste trabalho, agradeço também aos doadores do sangue, sem vocês essa pesquisa seria inviável.

Agradeço também à amiga, Irmã e quase mãe Juliana Bessa de Almeida pela força, por cultivar os sonhos e me dar força para continuar.

Epigrafe: do pó viemos e ao pó voltaremos (Gn: 3-19)

RESUMO

O objetivo deste projeto é estudar a interação da nanosonda magnética de magnetita com a hemácia sanguínea, utilizando polímero natural de andiroba. A nanosonda magnética foi sintetizada pelo método de coprecipitação, funcionalizada com ácido oleico e recoberta com polímero natural a base de óleo de andiroba. Depois de elaborada, a nanosonda foi complexada por um período de incubação com os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O^+ , O^- , por até duas horas e em seguida feitas as seguintes caracterizações usando as técnicas de *MET*, *EMB*, *NIR*, *FTIR*, *EDX*, *DRX*, η_s , *EPR*.

A largura de linha em função da concentração de polímeros para a interação nanosonda-hemácia, mostra uma variação constante para os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , O^+ e O^- . Já para o tipo sanguíneo B^+ há uma flutuação na variação da largura de linha. Isto sugere que a interação dipolar nanosonda-hemácia sofre flutuação no fator g (fator giro magnético) mostrando que há agregação na superfície da hemácia com proteínas receptoras.

Palavras-chave: Polímero de andiroba, Hemácia, nanosonda magnética.

ABSTRACT

The objective of this project is to study the interaction of magnetic nanosonda magnetite with blood red cells, using natural polymer andiroba. The magnetic nanosonda was synthesized by coprecipitation method, functionalized coated with oleic acid and natural polymer andiroba oil base. Once prepared, the nanosonda been complexed by an incubation period with the blood types A^+ , AB^+ , B^+ , O^+ , O^- , for two hours and then made using the following characterization techniques *MET*, *EMB*, *NIR*, *FTIR*, *EDX*, *DRX*, η_s , *EPR*.

The line width as a function of polymer concentration for nanosonda-erythrocyte interactions shows a constant variation for blood types A^+ , AB^+ , O^+ and O^- . As for the blood type B^+ there is a fluctuation in the line width variation. This suggests that the dipolar interaction nanosonda erythrocyte undergoes fluctuations in the factor g (rotating magnetic factor), showing that there is on the surface of erythrocyte aggregation with receptor proteins.

Keywords: Andiroba Polymer, red blood cell, magnetic nanosonda.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	25
1.1 Revisão Bibliográfica	25
1.2 Introdução	26
1.3 Colóide Magnético	28
1.4 Aplicações Biológicas	30
1.5 Sistema Sanguíneo	31
1.5.1 <i>Glóbulo Vermelho</i>	33
1.5.2 <i>Eritrócito</i>	34
1.6 Modelos Físicos para sistemas Hemodinâmicos	35
1.7 Óleo de Andiroba	36
CAPÍTULO 2 – PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	39
2.1 Extrações do Polímero	39
2.2 Preparação de amostra de sangue humano	40
2.2.1 <i>Preparação da Hemácia</i>	40
2.3 Preparação da nanosonda magnética de magnetita (NM)	41
CAPÍTULO 3 - TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	44
3.1 Espectroscopia Óptica	44
3.1.1 <i>Espectroscopias no infravermelho por transformada de Fourier – FTIR</i>	46
3.2 Espectrometria de Fluorescência de raios-X por energia dispersiva	47
3.3 Espectroscopias de Difração de Raios-X	51
3.4 – Espectroscopia Ressonância Paramagnética Eletrônica	55
3.4.1 <i>Teoria Fundamental de RPE</i>	55
3.4.1.1 <i>Parâmetros principais do espectro de RPE</i>	59

3.4.1.1.1	<i>Intensidades da Integral</i>	60
3.4.1.1.2	<i>Larguras de linha</i>	61
3.5	Espectroscopias Mossbauer	61
3.6	Microscopia Eletrônica de Transmissão	65
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO		67
4.1	Microscopia Eletrônica de Transmissão	67
4.2	Espectroscopia Mossbauer	69
4.3	Espectroscopia de Difração de Raios-X	74
4.4	Espectroscopia de Fluorescência de raios-X por energia dispersiva (EDX)	75
4.5	Espectroscopia do infravermelho Próximo - NIR	79
4.6	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR	85
4.7	Medida de Viscosidade do Sangue	101
4.8	Ressonância Paramagnética eletrônica	102
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES		113
CAPITULO 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		117

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentração da síntese de polímero poli(androba etidipolietilenoglicol).	39
Tabela 2: Amostras de polímero em diferentes concentrações com os tipos sanguíneos coletados.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: diagrama dos componentes do sangue.	32
Figura 2a: Esquema de Hemácia sanguínea.....	33
Figura 2b: Hemácia A^+	34
Figura 2c: Interação nanosonda-hemácia.....	34
Figura 3: Interação das nanopartículas com o ácido oleico.	41
Figura 4: Nanosonda magnética de magnetita composta de nanopartículas F_3O_4 no centro, membrana de ácido oleico adsorvida na superfície da nanopartícula através de ponte de Hidrogênio e/ou ligação covalente e a parte externa composta por polímero extraído do óleo de andiroba.....	43
Figura 5: Esquema de um Espectrofotômetro FTIR.	47
Figura 6: Diagrama dos níveis de energia e intensidades relativas de emissão dos raios X característicos emitidos pelo ferro.....	49
Figura 7: Esquema simplificado do princípio de funcionamento de um espectrômetro de EDX.....	51
Figura 8: Representação gráfica da lei de Bragg.	53
Figura 9: Variação dos estados de energia do spin em função do campo magnético aplicado.....	57
Figura 10: Sinal da integral de RPE.....	60
Figura 11: Largura de linha dada pela distância entre o pico máximo e o pico mínimo do espectro.	61
Figura 12: Representa a interação quadrupolar e o desvio isomérico.	63
Figura 13: Esquema do deslocamento Doppler de segunda ordem.....	63
Figura 14: Diagrama do decaimento Radioativo.	64
Figura 15: Esquema de Funcionamento do Microscópio Eletrônico de Transmissão.....	66
Figura 16: Fotomicrografia das nanopartículas de magnetita obtidas através da microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	68
Figura 17: Histograma da nanopartículas magnéticas de magnetita indicando o diâmetro médio (D_m) das mesmas e a polidispersão σ	69

Figura 18: Dados do Isomer Shift em função do campo magnético Hiperfino (KOe). As curvas <i>IS</i> são para os tipos sanguíneos <i>O</i> , <i>O</i> ⁺ , <i>A</i> ⁺ , <i>B</i> ⁺ , <i>AB</i> ⁺ e nanopartículas de magnetita.	71
Figura 19: Dados do espalhamento Hiperfino quadrupolar em função do campo magnético Hiperfino (KOe). As curvas <i>QS</i> são para os tipos sanguíneos <i>O</i> , <i>O</i> ⁺ , <i>A</i> ⁺ , <i>B</i> ⁺ , <i>AB</i> ⁺ e nanopartículas de magnetita.	72
Figura 20: Dados da área dos espectros Mossbauer com transições dubletos, tripletos e sextetos de espalhamento hiperfino em função do campo magnético hiperfino (KOe). Curvas das áreas para tipos sanguíneos <i>O</i> ⁻ , <i>O</i> ⁺ , <i>A</i> ⁺ , <i>B</i> ⁺ , <i>AB</i> ⁺ e nanopartículas de magnetita.	73
Figura 21: Difratoograma de nanopartículas de magnetita (Fe ₃ O ₄) mostrando seis planos cristalinos característicos da estrutura espinélio conforme carta ASTM. O plano 311 aparece com maior intensidade no ângulo de 36,5 °.	75
Figura 22: Apresenta o espectro de EDX para o PL 1, composto de 12,5% v/v de PEPOM e o PL 2 composto de 25% de PEPOM.	76
Figura 23: Espectro de EDX para o Óleo de Andiroba (OA), o NMI, composto de 12,5% v/v de PEPOM a 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita, e o NM2 composto de 25% v/v de PEPOM a 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita.	77
Figura 24: Espectro do complexo formado pelo polímero PEPOM em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% v/v diluídas no tipo sanguíneo <i>O</i> ⁺	78
Figura 25: Espectro do complexo formado pelo polímero PEPOM em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% v/v diluídas no tipo sanguíneo <i>AB</i> ⁺	79
Figura 26: Espectro de reflectância NIR para amostra de sangue fator <i>A</i> ⁺ , <i>AB</i> ⁺ , <i>B</i> ⁺ , <i>O</i> e <i>O</i> ⁺	80
Figura 27: Espectro de reflectância NIR para o polímero PL 1, PL 2 e PL 3.	81
Figura 28: Espectro de reflectância NIR para polímero a 10% de nanopartículas de magnetita.	81
Figura 29: Espectro de reflectância NIR composto de sangue <i>A</i> ⁺ , polímero e 10% de nanopartículas de magnetita.	82

Figura 30:Espectro de refletância <i>NIR</i> composto de sangue AB^+ , polímero e 10% de nanopartículas de magnetita.	83
Figura 31:Espectro de refletância <i>NIR</i> composto de sangue B^+ , polímero e 10% de nanopartículas de magnetita.	83
Figura 32:Espectro de refletância <i>NIR</i> composto de sangue O^+ , polímero e 10% de nanopartículas de magnetita.	84
Figura 33:Espectro de refletância <i>NIR</i> composto de sangue O , polímero e 10% de nanopartículas de magnetita.	85
Figura 34:Espectro de absorbância <i>FTIR</i> para os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O e O^+	86
Figura 35:Espectro de transmitância <i>FTIR</i> para os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O e O	86
Figura 36:Espectro de Absorbância para os polímeros de andiroba $PL1$, $PL2$ e $PL3$ com 12,5%, 25% e 50% de (<i>PEPOM</i>).	87
Figura 37:Espectro de Transmitância para os polímeros $PL1$, $PL2$ e $PL3$ com andiroba <i>PEPOM</i> de 12,5%, 25% e 50%.....	88
Figura 38:Espectro de Absorbância para o $NM1$, $NM2$ e $NM3$	89
Figura 39:Espectro de transmitância para o $NM1$, $NM2$ e $NM3$	89
Figura 40:Espectro de absorbância para os reagentes <i>PEPOM</i> e ácido oleico... 90	
Figura 41:Espectro de transmitância para os reagentes <i>PEPOM</i> e ácido oleico. 91	
Figura 42: Espectro do complexo formado pelo polímero <i>PEPOM</i> em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue A^+	92
Figura 43: Mostra o espectro de transmissão para o complexo formado pelo polímero <i>PEPOM</i> em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue A^+	93
Figura 44:Mostra o espectro de absorbância para o complexo formado pelo polímero <i>PEPOM</i> em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue AB^+	94
Figura 45: Espectro de transmitância para o complexo formado pelo polímero <i>PEPOM</i> em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue AB^+	95

Figura 46:Espectro de Absorbância para o complexo formado pelo polímero <i>PEPOM</i> em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue B^+	96
Figura 47: Espectro de transmitância para o complexo formado pelo polímero <i>PEPOM</i> em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue B^+	97
Figura 48:Espectro de Absorbância para o complexo formado pelo polímero <i>PEPOM</i> em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue O^+	98
Figura 49: Espectro de transmitância para o complexo formado pelo polímero <i>PEPOM</i> em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue O^+	99
Figura 50:Espectro de Absorbância para o complexo formado pelo polímero <i>PEPOM</i> em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue O^-	100
Figura 51:Espectro de transmitância para o complexo formado pelo polímero <i>PEPOM</i> em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue O^+	101
Figura 52:Curva da viscosidade η_s dos tipos sanguíneos O , O^+ , A^+ , B^+ , AB^+ em função da concentração de polímero <i>PEPOM</i> realizadas a temperatura de 36,6 °C.	102
Figura 53: Espectro <i>EPR</i> da intensidade modulada e normalizada em função do campo magnético para amostra de nanopartículas magnéticas de magnetita ..	103
Figura 54: Espectros de <i>EPR</i> típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas com polímero <i>PL1</i> (12,5%), <i>PL2</i> (25%) e <i>PL3</i> (50%) que foram renomeadas por <i>NM 1</i> , <i>NM 2</i> e <i>NM 3</i>	104
Figura 55:Espectros de <i>EPR</i> típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero <i>PL1</i> (12,5%), <i>PL 2</i> (25%) e <i>PL 3</i> (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue A^+ que foram renomeadas por <i>N1 A⁺</i> , <i>N2 A⁺</i> e <i>N3 A⁺</i>	105
Figura 56: Espectros de <i>EPR</i> típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero <i>PL1</i> (12,5%), <i>PL 2</i> (25%) e <i>PL 3</i> (50%)	

e o complexo dopado com 1 ml de sangue AB^+ que foram renomeadas por $N1 AB^+$, $N2 AB^+$ e $N3 AB^+$	106
Figura 57: Espectros de <i>EPR</i> típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero <i>PL1</i> (12,5%), <i>PL 2</i> (25%) e <i>PL 3</i> (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue B^+ que foram renomeadas por $N1 B^+$, $N2 B^+$ e $N3 B^+$	107
Figura 58: Espectros de <i>EPR</i> típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero <i>PL1</i> (12,5%), <i>PL 2</i> (25%) e <i>PL 3</i> (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue O^- que foram renomeadas por $N1 O^-$, $N2 O^-$ e $N3 O^-$	108
Figura 59: Espectros de <i>EPR</i> típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero <i>PL1</i> (12,5%), <i>PL2</i> (25%) e <i>PL3</i> (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue O^+ que foram renomeadas por $N1 O^+$, $N2 O^+$ e $N3 O^+$	109
Figura 60: Espectro de <i>EPR</i> típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero <i>PL1</i> (12,5%), <i>PL2</i> (25%) e <i>PL3</i> (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue A^+ , AB^+ , B^+ , O^+ e O^- que foram renomeadas por NA^+ , NB^+ , NAB^+ , NO^+ e NO^-	110
Figura 61: Espectro de <i>EPR</i> típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero <i>PL1</i> (12,5%), <i>PL 2</i> (25%) e <i>PL 3</i> (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue A^+ , AB^+ , B^+ , O^+ e O^- que foram renomeadas por NA^+ , NB^+ , NAB^+ , NO^+ e NO^-	111
Figura 62: Curvas da concentração de hemácia em <i>mg/mol m</i> em função do tempo de incubação para as nanosonda com os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O^- e O^+	112

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLO

NMH – Nanosonda Magnética hemácia.

CM – Colóide Magnético.

FR – Ferro Fluido.

NASA – National Aeronautics and Space Administration.

F_{ex} – Força Externa.

T_c – Tensões de Cisalhamento.

Fe⁺² – Ferro.

Na⁺ Sódio.

DN – Difusão Newtoniana.

DNN – Difusão Não Newtoniana.

η – Viscosidade calculada conforme equação.

τ – Taxa de Cisalhamento.

η₀ = Viscosidade inicial.

α - I = inclinação da curva.

CGA – Carapa Guianess Aublet.

MQT – Método de Ataque Químico.

CIN – Craqueamento Químico.

QH- Químico – Hidrotérmico.

NM – Nanosonda – Magnética.

OA– Óleo de Andiroba.

ET – Etilenoglicol.

DT – Dietilenoglicol.

PT – Polietilenoglicol.

PL1 – Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol) -12,5%.

PL2 – Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol) -25%.

PL3 – Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol) -50%.

NM1 – Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol) -12,5% + 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita.

NM2 – Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol) -25% + 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita.

NM3 – Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol) -50% + 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita.

PL1NMHA⁺- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol), 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo A⁺.

PL1NMHAB⁺- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol),
10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo AB⁺.

PL1NMHB⁺ - Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol),
10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo B⁺.

PL1NMHO⁺- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol),
10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo O⁺.

PL1NMHO⁻- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol),
10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo O⁻.

PL2NMHA⁺ - Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol),
10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo A⁺.

PL2NMHAB⁺- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol),
10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo B⁺.

PL2NMHB⁺-Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol),
10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo AB⁺.

PL2NMHO⁺- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol),
10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo O⁺.

PL2NMHO⁻-Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol),
10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo O⁻.

PL3NMHA⁺- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol), 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo A⁺.

PL3NMHAB⁺- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol), 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo AB⁺.

PL3NMHB⁺- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol), 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo B⁺.

PL3NMHO⁺- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol), 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1 ml de Sangue tipo O⁺.

PL3NMHO⁻- Complexo Formado por 12,5% de Poli (Andiroba Eti-Di-Polietilenoglicol), 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita e 1ml de Sangue tipo O⁻.

XRD – Difração de Raios – X.

TEM – Microscopia eletrônica de Transmissão.

EMB – Espectroscopia Mossbauer.

RPE – Ressonância Paramagnética eletrônica.

NIR – Infravermelho Próximo.

FTIR- Espectroscopia do Infravermelho com Transformada de Fourier.

MCA – Analisador Multicanal de Amplitude.

RSE – Ressonância de spin Eletrônica.

M_s – Projeção de spin eletrônico.

g – Fator espectroscópico.

μ_B = Magnéton de Bohr.

h = Constante de Planck.

$\Delta H_{1/2}$ – Largura da linha a meia altura.

ΔH_{pp} – Largura de pico a pico.

η_s (PEPOM) – Viscosidade do Sangue em função da concentração de polímero.

μm – Micrômetro.

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra acético.

LISTA DE EQUAÇÕES

Eq. 1.1 - Modelo de Ellis para Fluido não Newtoniano.

Eq. 1.2- Modelo de Carreau -Yasuda.

Eq. 3.1– Energia do fóton de raios-X.

Eq. 3.2– Energia de Ligação para os elétrons K e L.

Eq. 3.3 – Energia do Fóton.

Eq. 3.4 – Equação de Moseley.

Eq. 3.5 – Equação Moseley em termos de energia.

Eq. 3.6 – Lei de Bragg.

Eq. 3.7 – Índices de Miller e parâmetros de rede para estruturas cúbicas.

Eq. 3.8 - Índices de Miller e parâmetros de rede para estruturas ortorrômicas.

Eq. 3.9- Índices de Miller e parâmetros de rede para estruturas hexagonais.

Eq. 3.10 – Equação para o fenômeno da absorção ressonante.

Eq. 3.11 – Fator de interação do elétron com o campo magnético.

Eq. 3.12 – Condição de ressonância.

Eq. 4.1 – Viscosidade do Sangue em função da concentração de polímero.

CAPÍTULO 1

1.1 Revisão Bibliográfica

A interação de medicamentos coloidais com hemácias tem sido alvo de estudo por vários pesquisadores. Especificamente sistemas com moléculas compatíveis complexadas nas superfícies das nanopartículas tem facilitado a interação das mesmas com proteínas, por exemplo, do plasma de sangue humano. Aggarwal em 2008, num estudo de interação nanopartículas-proteínas verifica que proteínas do tipo albumina, macroglobulina e apolipoproteínas, ligam-se as superfícies de nanopartículas e materiais biológicos, em geral, imediatamente após a introdução dos materiais dentro de um ambiente fisiológico. A maior resposta biológica do organismo é influenciada pelo complexo nanopartículas-proteína. Por outro lado os pesquisadores da equipe observam que a composição química da superfície das nanopartículas ditam a extensão e especificidade de ligação às proteínas. Esta ligação é um dos elementos-chave que afeta a biodistribuição das nanopartículas em todo o corpo [1].

Dobrovolskia, em uma pesquisa realizada no ano de 2009 na Universidade de Maryland, observa que nanopartículas de tamanho e perfil de ligação com plasma contribuem para a longevidade de uma partícula na corrente sanguínea, o que pode ter consequências importantes para a eficácia terapêutica, no entanto não avalia a interação nanopartículas-hemácia (sangue humano) [2].

Devika ao pesquisar a captação intracelular, o transporte e o processamento de nanoestruturas em células cancerígenas em 2009 na Universidade Health no Canadá, afirma que o avanço de pesquisas utilizando a nanotecnologia tem sido usado para fornecer ferramentas de pesquisas biomédicas avançadas em diagnóstico por imagem e terapia, o que requer direcionamento de nanopartículas (*NPs*) para células individuais e compartimentos subcelulares. No entanto, uma compreensão completa da absorção intracelular, transporte e distribuição celular de materiais nanoestruturados permanece limitado [3].

Diante da existência da interação da nanopartícula magnética com proteínas presentes no sangue, foi desenvolvido um estudo referente à interação da nanopartícula apenas com a hemácia sanguínea, não considerando a interação com outras proteínas existentes que já são alvo de vários estudos.

1.2 Introdução

O estudo da interação nanosonda magnética-hemácia (*NMH*) que consiste na interação nanopartícula recoberta com moléculas biocompatíveis e que possa interagir com componentes do sangue é importante para que possamos entender mecanismos até então desconhecidos nas aplicações de colóides magnéticos tanto *in vitro* quanto *in vivo*, também emulsões magnéticas e outros sistemas que envolvam sonda nanoscópica de caráter

magnético. A interação de nanopartículas magnéticas com o meio de aplicação não tem sido bem discutida na literatura, principalmente quando se trata da aplicação em meios biológicos.

No estudo da citotoxicidade, é realizada corriqueiramente a análise preliminar do sistema coloidal, antes de qualquer proposta de aplicação em meio biológico. Dependendo da maneira que o colóide magnético é injetado, por exemplo, para atingir o sistema circulatório e/ou sistema de barreira que induz a permeabilidade, ocorrerão eventos microscópicos e nanoscópicos do ponto de vista físico, desencadeando uma série de interações com leucócitos, eritrócitos e trombócitos tais como choque elástico e inelástico com dependência explícita da viscosidade, características reológicas e morfológicas dos componentes do sangue e do colóide magnético. Por outro lado, observa-se que o sistema circulatório é composto de capilares variando de um nanômetro (capilar de junção estreita do sistema cerebral) até veias com raio de 100 micrometros [4].

Desta forma é possível fazer um estudo da interação nanosonda-hemácia *in vitro* observando a influência dos sistemas envolvidos. Para tanto é preciso fazer aplicações *in vitro* em condições ideais de viscosidade e condutividade do sistema magnético coloidal, observando todas as possíveis interações da cobertura da nanosonda magnética e a partir deste ponto relacionar informações que possam ser importantes para o estudo e aplicação *in vivo* em um sistema mais complexo.

1.3 Colóide Magnético

O Colóide Magnético (*CM*) ou Ferrofluidos (*FR*) se originaram na década de 1960, em tentativas da agência americana NASA – National Aeronautics and Space Administration de criar combustíveis que pudessem ser controlados na ausência de gravidade [5]. A solução encontrada foi moer partículas magnéticas e dispersá-las no combustível, de modo que elas pudessem ser direcionadas por meio da aplicação de um campo magnético. Desde então, as técnicas de síntese se aperfeiçoaram, e hoje se produz fluidos magnéticos das mais diferentes formas e características, usadas nas mais diversas aplicações tecnológicas e biomédicas. Embora o nome sugira de outra forma, os ferrofluidos não indicam o ferromagnetismo, visto que não conseguem reter a magnetização na ausência de um campo externo [6].

Na verdade os ferrofluidos são superparamagnéticos [7], devido a sua grande susceptibilidade magnética [8]. Esse comportamento é resultado da grande tendência de alinhamento dos momentos magnéticos das partículas com o campo magnético aplicado [9]. Campos magnéticos da ordem de 1 Tesla, que na maioria dos materiais não induz magnetização observável, pode levar a um nível de alinhamento dos momentos magnéticos próximo de 100% (correspondente a todos os momentos magnéticos perfeitamente alinhados com o campo magnético externo) [10].

Colóides magnéticos permanecem como os únicos líquidos com propriedades magnéticas acentuadas e úteis para aplicações [11]. O que chamamos de fluido magnético é uma suspensão de pequenas partículas (de cerca de 10 nm) magnéticas em um líquido carreador apropriado de modo a formar uma dispersão coloidal estável [12]. A suspensão das nanopartículas superparamagnéticas deve ser estável no tempo, inclusive quando submetidos a forças magnéticas [13].

A alta estabilidade coloidal do fluido magnético deve-se ao balanço de interações do tipo partícula-partícula e da partícula com moléculas ou íons do líquido dispersante. Podem-se listar quatro parâmetros fundamentais para a manutenção desta estabilidade [14]:

- Agitação Térmica.
- Interações entre os dipolos magnéticos.
- Interação de Van der Waals.
- Repulsão gerada pela cobertura da partícula podendo ser: histérica (por contato), eletrostáticas, ou ambas as anteriores.

Desta forma existem três tipos de fluidos magnéticos: surfactados, iônicos e híbridos. Nos fluidos surfactados há aglomeração das partículas, provocadas pela interação magnética atrativa de longo alcance (interação dipolar), é impedida através de uma cadeia polimérica (apolar) que não permite a aproximação entre estas por forças históricas. Já no

fluido iônico, a aglomeração é impedida através da repulsão eletrostática, visto que a carga em torno das partículas pode ser positiva quando estão dispersas em um meio ácido, ou negativa quando em meio básico. No fluido híbrido os dois efeitos são encontrados, ou seja, moléculas orgânicas são quimiosorvidas na superfície das nanopartículas deixando grupos ionizáveis voltados para o fluido dispersante [15].

1.4 Aplicações Biológicas

Para aplicações de natureza biológica e biomédica foram desenvolvidos fluidos magnéticos biocompatíveis [16]. O comportamento magnético das nanopartículas desses fluidos é distribuído por todo líquido. Assim, as nanopartículas podem ser guiadas ou localizadas em um alvo específico por gradientes de campos magnéticos externos [17]. Entre as aplicações biológicas mais importantes destacam-se as biomédicas. De maneira geral compreendem as que envolvem sua administração *in vivo* classificada como terapêuticas e diagnósticas *in vitro*, compreendendo essencialmente as aplicações diagnósticas. Nas aplicações biomédicas as nanopartículas devem atravessar a parede dos vasos sanguíneos e se acumular especificamente nas células alvo, sem danos às células normais. Estas características podem ser atingidas por meio do recobrimento das nanopartículas com um material biologicamente ativo [18]. Por outro lado, em vez de estarem na forma de um fluido magnético, as nanopartículas magnéticas podem estar encapsuladas em lipossomas [19],

vesículas similares a estruturas celulares, que apresentam características adequadas para aplicações biomédicas. As aplicações em *in vivo* são feitas via oral ou endovenosa que são as mais eficientes.

No primeiro caso o colóide magnético entra em processo de digestão assim que ingerido. O colóide magnético pode sofrer desestabilização deixando as nanopartículas magnéticas livres no sistema digestivo.

No segundo caso, o colóide magnético é injetado no sistema sanguíneo e teoricamente é possível manter estável por mais tempo a estrutura do colóide e dessa forma necessitamos compreender processos de interação que se sucedem no sistema sanguíneo.

1.5 Sistema Sanguíneo

O sangue é o meio líquido que flui pelo sistema circulatório entre os diversos órgãos, transportando nutrientes, hormônios, eletrólitos, água, resíduos do metabolismo celular e outras substâncias (Figura 1). A fisiologia do sangue estuda as suas múltiplas funções em interação com a nutrição dos demais tecidos do organismo. O deslocamento do sangue no sistema circulatório depende da ação da bomba cardíaca e da condução pelas artérias (μm), veias e capilares (μm). O sangue circula no organismo humano, transportando oxigênio, dos pulmões para os tecidos, onde é liberado nos capilares. Ao retornar dos tecidos,

o sangue conduz o dióxido de carbono e os demais resíduos do metabolismo celular, para eliminação através da respiração, do suor, da urina ou das fezes.

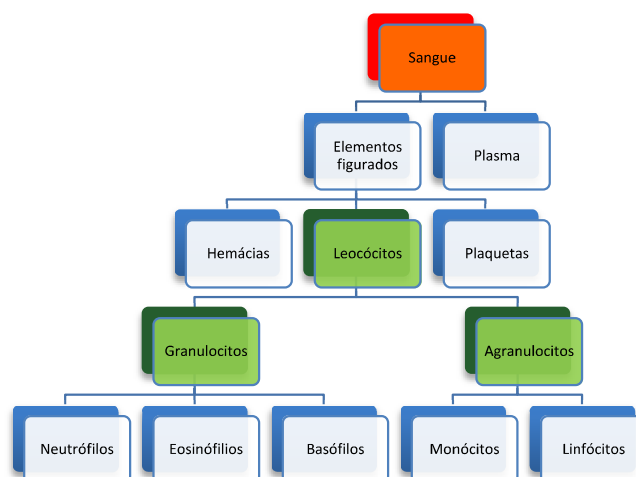


Figura 1: diagrama dos componentes do sangue.

O sistema de defesa do organismo contra doenças e a invasão de germes patogênicos está concentrado no sangue. O equilíbrio e a distribuição de água, a regulação do pH através dos sistemas tampões, o controle da coagulação e a regulação da temperatura correspondem a outras importantes funções desempenhadas pelo sangue.

As células que existem em maior quantidade são as hemácias e eritrócitos, sendo determinantes para definir as propriedades reológicas do sangue. A sua concentração volumétrica, o hematócrito H , varia com a temperatura e o estado de saúde da pessoa, mas está em torno dos 42 – 45 % em situação normal. O sangue comporta-se como um fluido não newtoniano (NN), sobretudo para valores baixos da taxa de deformação ($\dot{\gamma} < 100 s^{-1}$) e quando circula em vasos de pequenas dimensões ($d < 1 nm$).

Neste último caso o sistema bifásico da suspensão, plasma com 45% de glóbulos vermelhos, torna-se importante. Isto se acentua ainda mais quando o diâmetro dos vasos é da mesma ordem de grandeza das dimensões dos glóbulos vermelhos como acontece nos capilares [4].

1.5.1 *Glóbulo Vermelho*

A célula vermelha do sangue é a hemácia (Figura 2) constituída por um citoesqueleto formada basicamente de globulina e hemoglobina, coberto com uma camada dupla de membrana, onde a globulina e a hemoglobina tem forma bicôncava no seu estado nativo com um diâmetro de cerca de $8\mu\text{m}$, uma superfície de $135\mu\text{m}^2$ e um volume de $94\mu\text{m}^3$. A estrutura é construída a partir de 33.000 hexágonos que contêm diferentes proteínas tais como Spektrin e Aktin.

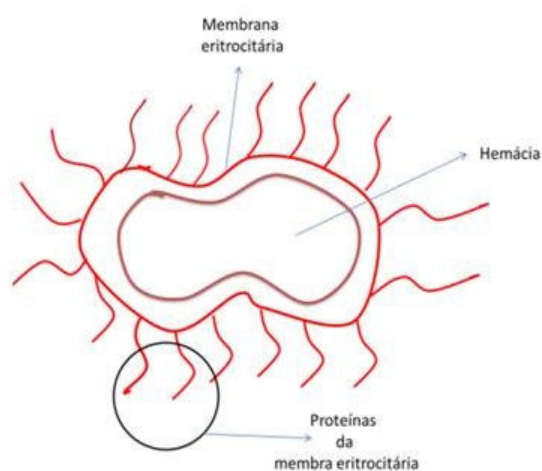


Figura 2a: Esquema de Hemácia sanguínea



Figura 2b: Hemácia A^+



Figura 2c: Interação nanosonda-hemácia

Em seu estado solto quase não há força de interação entre essas proteínas. Se houver uma força externa (F_{ex}) que age sobre o citoesqueleto da célula, a mesma se expande e fica esticada. A membrana é uma camada quase invisível em relação ao plano e tensões de cisalhamento (T_c), mas por causa de suas propriedades elásticas elas fazem seu caminho usando-o em forma de um projétil [20].

1.5.2 *Eritrócito*

A presença do eritrócito como componente do sangue é manter sempre em equilíbrio os mecanismos capazes de evitar a oxidação de seus constituintes, principalmente o ferro (Fe^{+2}) e a mioglobina. Da mesma forma deve evitar a hiper-hidratação através da retirada de sódio (Na^+) de seu interior. Esta célula é desprovida de mitocôndrias e a energia necessária à sua manutenção provém da glicólise que, pela ação da hexoquinase, transforma-

se em glicose-6-fosfato sendo catalisada por duas vias, a de Embden - Meyerhof e a da hexose Monofosfato.

1.6 Modelos Físicos para sistemas Hemodinâmicos

Os modelos físicos para difusão de líquidos podem ser do tipo *DN* (difusão newtoniana) e/ou *DNN* (difusão não newtoniana) aparece em muitas situações em sistemas de transporte dinâmicos no caso do sistema circulatório sanguíneo. Por outro lado, em alguns sistemas de difusão, a ocorrência da redução de arrasto está relacionada com as propriedades viscoelástica e de cisalhamento do fluido α , de acordo com [21,22] e outros pesquisadores, está ligado à forte tensão imposta ao alongamento das moléculas e seus efeitos sobre a viscosidade η . Nestes trabalhos a viscosidade segue uma lei empírica da potência n , onde n varia entre 0,39 (Pa·s) a 0,9 (Pa·s). Vários modelos que descrevem o movimento de fluidos não Newtonianos são citados abaixo.

O modelo de Ellis que mostra [23] a viscosidade em função da taxa de cisalhamento (τ).

$$\frac{\eta_0}{\eta} = 1 + \left(\frac{\tau}{\tau_{1/2}} \right)^{\alpha-1} \quad 1.1$$

η_0 é viscosidade inicial, η é a viscosidade calculada conforme equação 1.1, τ a taxa de cisalhamento e $\alpha-1$ é a inclinação da curva.

O modelo de Carreau-Yasuda [24],

$$\frac{\eta-\eta_0}{\eta_0-\eta_\infty} = 1 + (\lambda e^a)^{\frac{n-1}{a}} \quad 1.2$$

onde a viscosidade infinita η_∞ , a constante de tempo e a taxa de cisalhamento τ são importantes para determinar o movimento do fluido no duto, como o sistema circulatório humano. Outros modelos como o Bingham, Herschell-Bulkley e Power-Law são importantes para estudar o movimento de fluidos de *DNN* como o sangue.

1.7 Óleo de Andiroba

A andiroba (*Carapa guianensis Aublet CGA*) pode ser encontrada em todo o Brasil, especialmente em toda a Região Norte. Produz um óleo que é muito utilizado na medicina popular em picadas de insetos e animais, contra doenças infecciosas, resfriados e gripes, doenças de pele, reumatismo etc. Além do uso *in natura*, a andiroba pode ser agregada a outros componentes para a fabricação de xampus, sabonetes e etc. Amêndoa de basicamente de 36 a 60% de óleo e composto principalmente de ácido oleico (aprox. 57%), ácido palmítico (aprox. 11%), ácido linoleico (aprox. 8%) e ácido mirístico (aprox. 18%) [25].

A *CGA* é uma árvore cujo óleo, extraído da semente, possui propriedades medicinais com potência comercial e se destaca entre os óleos tradicionais no norte do país. O óleo é muito utilizado para a produção de repelentes para insetos, como anti-inflamatório, antisséptico e cicatrizante. O trabalho de extrativismo começa embaixo das árvores com a queda do fruto (ouriço) de forma natural, em seguida começa o processo de extração com a

quebra manual do ouriço para a liberação completa das sementes. O óleo extraído é muito sensível, pode ser solidificado em temperaturas abaixo de 25°C, de coloração amarelo-claro, transparente, se altera facilmente após a extração. Suas características físico-químicas também são modificadas, principalmente com relação ao índice de acidez, quando exposto ao sol o índice de acidez pode ser intensificado podendo alcançar cerca de 90%. Desta forma o polímero extraído deste sistema pode ser usado na elaboração do colóide magnético.

Os polímeros a base de óleo vegetal são preparados usando métodos de ataque termoquímico (*MQT*), craqueamento *in natura* (*CIN*), químico – Hidrotérmico (*QH*).

No método *MQT* o óleo sofre um processo de dissolução com um solvente específico na presença de uma fonte térmica, neste caso é feito o controle da concentração de solventes, temperatura e tempo para obter o polímero.

No *CIN* somente o controle da temperatura de craqueamento é importante e o material pode levar horas ou dias para entrar em estado polimérico. No método *QH* o óleo recebe um ataque químico com um solvente específico e concentração compatível e depois é levado a um sistema hidrotérmico com o controle da temperatura e pressão por várias horas.

Assim, obtido o polímero pode ser destinado a diversas aplicações, tais como aplicações biomédicas, indústria e nanotecnologia. Neste presente trabalho o polímero a ser desenvolvido será aplicado na síntese da nanosonda magnética de magnetita (*NM*) que será a

composição do colóide magnético onde a intenção no desenvolvimento deste polímero é ampliar a probabilidade de ligação da nanosonda em contato com a superfície da hemácia devido a flexibilidade na densidade de carga eletrônica em *pH* entre 6,7 a 7,5.

Por outro lado, para o estudo da interação nanosonda magnética hemácia precisamos sintetizar e caracterizar os sistemas envolvidos. Para tanto é preciso fazer aplicações *in vitro* em condições ideais de viscosidade, *pH* e condutividade do sistema magnético coloidal, observando todas as possíveis interações da cobertura da nanosonda magnética, neste caso sangue humano, e a partir deste ponto relacionar informações que possam ser importantes para o estudo e aplicação *in vivo* em um sistema mais complexo.

CAPÍTULO 2 – PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

2.1 Extrações do Polímero

Na preparação do Polímero foram testados vários óleos como o de tucumã e copaíba, decidiu-se usar o óleo de andiroba por apresentar um maior volume de polímero e maior pureza. Foram usados 600 ml de óleo de andiroba (*OA*) e divididos em três volumes iguais de 200 ml. Foi preparada 200 ml da mistura de etilenoglicol (*ET*) a 30% *v/v*, dietilenoglicol (*DT*) a 30% *v/v* e polietilenoglicol-400 (*PT*) a 40% *v/v*. A cada volume de 200 ml foi adicionados reagentes para diferentes concentrações. A mistura foi adicionada nas concentrações de 12,5%, 25% e 50% do volume de cada recipiente para 200 ml de óleo.

Depois de adicionado o reagente em cada recipiente, os novos volumes de óleo com reagente nas suas devidas concentrações foram deixados descansar por 24 horas.

Depois desse tempo houve separação de fases do sistema. Logo em seguida foram separadas as fases no decantador.

Posteriormente após serem separadas foram submetidas ao calor e tempo controlado conforme Tabela 1.

AMOSTRA	TEMPO DE AQUECIMENTO (min)	TEMP. INICIAL (°C)	TEMP. FINAL (°C)
PL1	15	25°	167°
PL2	15	25°	169°
PL3	15	27°	175°

Tabela 1: Concentração da síntese de polímero poli(andiroba eti-di-polietilenoglicol).

Após o tempo exposto a fonte de calor, as amostras foram colocadas em repouso até atingir a temperatura ambiente. Durante toda a preparação o *pH* das amostras foi mantido entre (6,5) e (7,6).

2.2 Preparação de amostra de sangue humano

As amostras de sangue foram coletadas de voluntários de 19 a 54 anos no Hemocentro do município de Vilhena/RO e no LnBiomag - UNIR. Os tipos sanguíneos a serem analisados foram A^+ , B^+ , AB^+ , O^+ , O^- não foi possível realizar a coleta dos demais tipos sanguíneos, pois não havia voluntários com as tipagens.

Após a coleta do sangue e realizados todos os devidos testes, o sangue foi armazenado e transportado ao laboratório de nanomateriais e nanobiomagnetismo – *LNBIOMAG* em Porto Velho.

2.2.1 Preparação da Hemácia

Os volumes de sangue recolhidos foram submetidos 20% do volume de cada uma das amostras para a separação física do plasma e hemácia. As hemácias foram tratadas por *EDTA*.

Algumas amostras foram submetidas à centrifugação por 10 minutos e separadas as hemácias e plasma.

As hemácias foram acondicionadas em baixa temperatura para serem usadas no processo de interação nanosonda magnética – Hemácia.

2.3 Preparação da nanosonda magnética de magnetita (NM)

As nanopartículas de magnetita foram sintetizadas a partir do método de coprecipitação, usando hidróxido de amônia, Fe^{+2} , Fe^{+3} , método este que é descrito na literatura científica especializada. A NM foi preparada recobrando as nanopartículas de magnetita primeiramente com 10% de ácido oleico referente à massa de magnetita conforme observado na Figura 3.

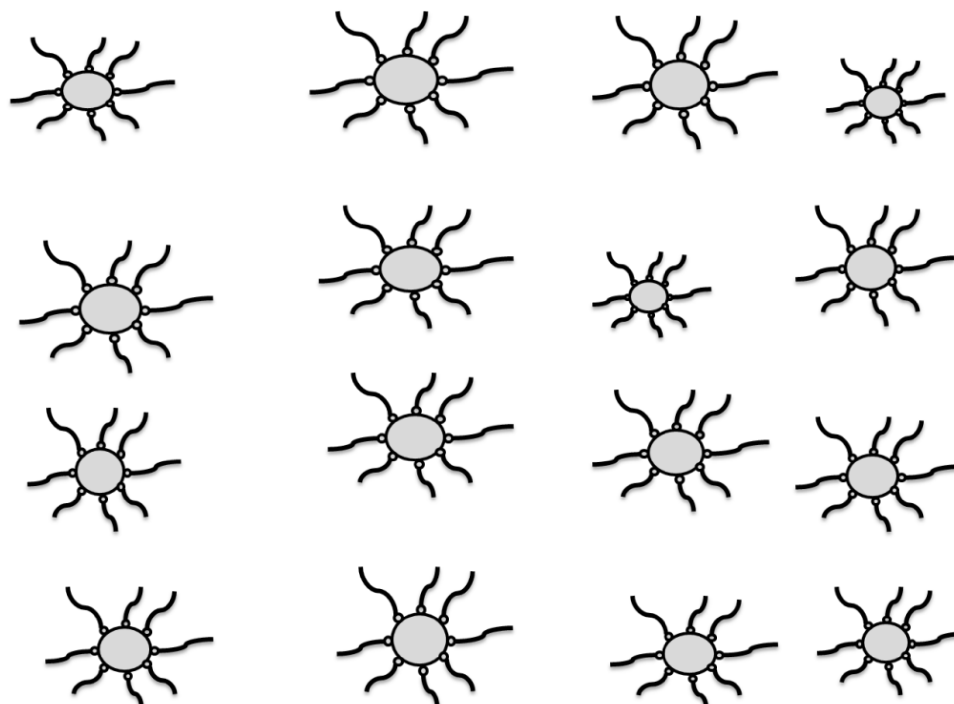


Figura 3: Interação das nanopartículas com o ácido oleico.

Os polímeros *PL1*, *PL2* e *PL3*, foram usados em volumes específicos de 200 ml para preparar a nanosonda magnética de magnetita *NM* (Figura 4). Este procedimento foi repetido em triplicata cada vez que era necessário sintetizar as amostras *NM1*, *NM2* e *NM3*.

Depois desta preparação de polímero, hemácia, sangue e nanosonda magnética foram elaboradas as amostras *NM1*, *NM2* e *NM3* com hemácia, sempre para todas as tripagens *A⁺*, *AB⁺*, *B⁺*, *O⁻*, *O⁺* formando as amostras conforme Tabela 2.

<i>PL1NMHA+ = N1A⁺</i>	<i>PL2NMHA+ = N2A⁺</i>	<i>PL3NMHA+ = N3A⁺</i>
<i>PL1NMHAB+ = N1AB⁺</i>	<i>PL2NMHAB+ = N2AB⁺</i>	<i>PL3NMHAB+ = N3AB⁺</i>
<i>PL1NMHB+ = N1B⁺</i>	<i>PL2NMHB+ = N2B⁺</i>	<i>PL3NMHB+ = N3B⁺</i>
<i>PL1NMHO = N1O⁻</i>	<i>PL2NMHO = N2O⁻</i>	<i>PL3NMHO = N3O⁻</i>
<i>PL1NMHO+ = N1O⁺</i>	<i>PL2NMHO+ = N2O⁺</i>	<i>PL3NMHO+ = N3O⁺</i>

Tabela 2: Amostras de polímero em diferentes concentrações com os tipos sanguíneos coletados.

As amostras foram caracterizadas pelas técnicas de: infravermelho convencional por reflectância na faixa de (1100 a 2500 nm), usado para identificar as moléculas absorvidas na superfície da nanopartícula, infravermelho por transformada de Fourier (4000 – 500 cm^{-1}), espectroscopia de raios-X (*EDX*) por energia dispersiva na faixa de (480 eV a 25400 eV), por difração de raios-X (*XRD*) de 0 a 80°, microscopia eletrônica de transmissão (*TEM*), Mossbauer (*EMB*), medidas de viscosidade e ressonância paramagnética eletrônica (RPE).

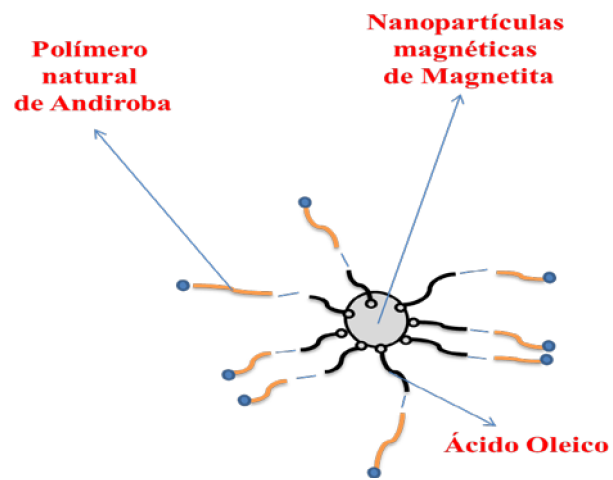


Figura 4: Nanosonda magnética de magnetita composta de nanopartículas F_3O_4 no centro, membrana de ácido oleico adsorvida na superfície da nanopartícula através de ponte de Hidrogênio e/ou ligação covalente e a parte externa composta por polímero extraído do óleo de andiroba.

CAPÍTULO 3 - TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

3.1 Espectroscopia Óptica

Neste trabalho aplicamos a espectroscopia de infravermelho (*Espectroscopia IV*) que é um tipo de espectroscopia de absorção a qual usa a região do infravermelho do espectro eletromagnético. Como as demais técnicas espectroscópicas, pode ser usada para identificar um composto químico ou investigar a composição molecular através de cromóforos de uma amostra. Baseia-se no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas ν , as quais correspondem a níveis de energia da molécula, chamados nesse caso de níveis vibracionais $E\nu$.

A radiação eletromagnética que uma amostra absorve pode revelar algumas de suas características [26], e os efeitos resultantes da interação dessas radiações eletromagnéticas com a matéria proporcionam evidências do comportamento nanoscópico. Estas observações levam-nos a sugerir modelos que permitam compreender ou prever as propriedades do material estudado [27].

A metodologia *NIR* (*NIR*, do inglês Near Infrared) é muito utilizada na qualificação de amostras, por exemplo, no agrupamento de características semelhantes e conseqüentemente na determinação de exemplares anômalos [28].

O Infravermelho Próximo (*NIR*, do inglês, Near Infrared) é a denominação dada à região do espectro eletromagnético logo após a região visível. De uma forma geral, as ocorrências espectrais na região *NIR* provêm de ligações das moléculas em que participam o hidrogênio e oxigênio, o que torna a técnica *NIR* útil para a determinação de compostos orgânicos contendo ligações *CH*, *C=O*, *FeO*, *NH*, *OH* e outros [29]. Quando a radiação no infravermelho próximo é refletida por uma molécula, faz seus átomos vibrarem com maior amplitude, de maneira similar a um oscilador diatômico. Os espectros *NIR* contêm informações relacionadas com a diferença entre as forças de ligações químicas, espécies químicas presentes, eletronegatividade e a ligação de hidrogênio. A radiação no infravermelho próximo absorvida ou refletida por uma molécula, faz seus átomos vibrarem com maior amplitude, de maneira similar a um oscilador diatômico. Os fótons de luz podem interagir com a amostra por meio de reflexão, refração, absorção, espalhamento e difração. A perda no sinal pode ocorrer por reflectância difusa especular, espalhamento interno e uma completa absorção [30].

3.1.1 Espectroscopias no infravermelho por transformada de Fourier – FTIR

Basicamente a Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica de análise para colher o espectro infravermelho mais rapidamente. Em vez de se coletar os dados variando-se a frequência da luz infravermelha monocromática, a luz infravermelha (na faixa de 4000 a 500 cm^{-1}) é guiada através de um interferômetro de Michelson. Depois de passar pela amostra o sinal medido é o interferograma. Realizando-se uma transformada de Fourier no sinal resulta um espectro idêntico ao da espectroscopia infravermelha convencional (dispersiva). Os espectrofotômetros FTIR são mais baratos do que os convencionais porque é mais simples construir um interferômetro do que um monocromador. Em adição, a medida de um único espectro é bem mais rápida nessa técnica porque as informações de todas as frequências são colhidas simultaneamente [31]. Isso permite que se façam múltiplas leituras de uma mesma amostra e se tire a média delas, aumentando assim a sensibilidade da análise. Devido às suas várias vantagens, virtualmente todos os espectrofotômetros de infravermelho modernos são de FTIR. Esquema da estrutura de um espectrofotômetro pode ser visto na Figura 5.

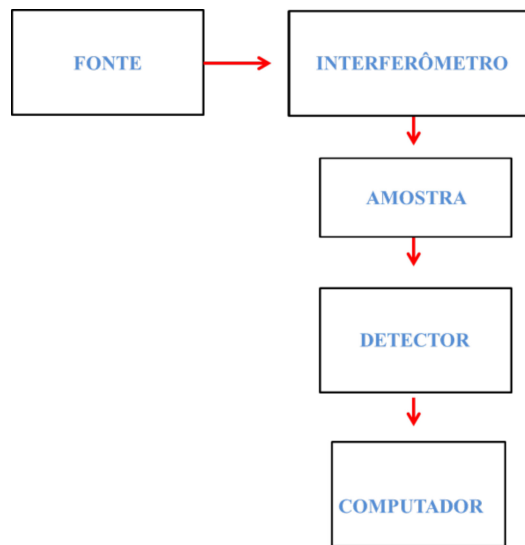


Figura 5: Esquema de um Espectrofotômetro FTIR.

3.2 Espectrometria de Fluorescência de raios-X por energia dispersiva

A técnica de espectrometria de raios X por dispersão em energia (*EDX*) é muito versátil, pois permite a aferição dos elementos químicos presentes nos mais variados tipos de amostras. É possível não somente identificar esses elementos, obter a densidade de átomos na energia específica, mas também determinar sua concentração com grande precisão em função da energia em eV. Além disso, oferece ainda a vantagem de ser (dependendo do processo de preparação das amostras) um método analítico não destrutivo, permitindo que uma mesma amostra seja analisada também por outras técnicas. Por isso esta técnica é largamente utilizada em pesquisas na área de materiais, geociências, química, física, biologia e medicina, mas também na indústria para o controle da qualidade de processos e produtos em geral (petroquímicos, farmacêuticos, metalúrgicos e de mineração etc.). A seguir são apresentados os princípios físicos básicos desta técnica.

A espectrometria de raios X por dispersão em energia ou simplesmente a análise por fluorescência de raios X é um método quantitativo baseado na medida da intensidade de cada linha de raios X característicos emitida pelos elementos que constituem a amostra. Os raios X produzidos por tubos de raios X, ao incidirem nas amostras, excitam os elétrons das camadas mais profundas dos átomos ali presentes ($K, L_1, L_2, L_3, M_1, M_2, M_3, M_4, M_5$), que por sua vez, emitem linhas espectrais características cujas intensidades estão relacionadas à concentração de cada elemento na amostra.

Quando um elemento presente numa amostra é excitado, este pode ejetar os elétrons dos níveis atômicos mais internos dos átomos e, como consequência, elétrons dos níveis mais energéticos realizam um salto para preencher a vacância, emitindo um fóton de raios X de energia característica para aquele elemento dado por:

$$E_x = E_i - E_f \quad 3.1$$

E_x é a energia do fóton de raios X característico emitido, e E_i e E_f representam as energias do elétron nos níveis inicial e final, respectivamente. Como ilustração de uma transição, na Figura 6 temos o exemplo do elemento Ferro ($Z = 26$), no qual ocorre um salto de um elétron da camada L_3 para a camada K com a respectiva emissão de um fóton de raios X (K_α) de 6,40 keV. Além dessa transição eletrônica, pode haver ainda um salto da camada M_4 para a camada K , emitindo um fóton (K_β) de 7,058 keV.

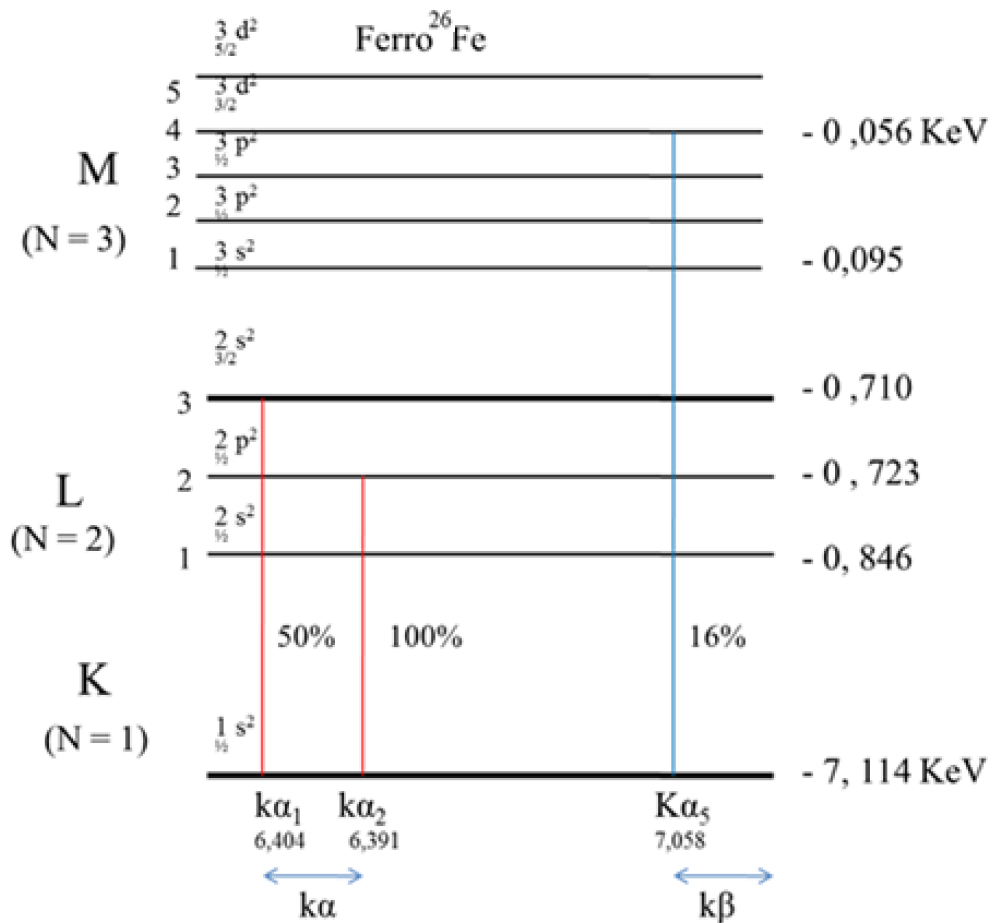


Figura 6: Diagrama dos níveis de energia e intensidades relativas de emissão dos raios X característicos emitidos pelo ferro.

Assim, de modo resumido, a análise por fluorescência de raios X consiste de quatro fases: excitação dos elementos que constituem a amostra, emissão dos raios X característicos pela amostra, detecção e medida da intensidade dos raios X característicos por detectores apropriados, e conversão das intensidades em concentração de elementos.

Para haver produção de raios X característicos há necessidade de se excitar elétrons das camadas mais internas dos átomos, por exemplo, da camada K. Para isto, a energia de excitação deve ser superior à energia de ligação do elétron nessa camada, denominada energia de ligação eletrônica. Esta energia de ligação eletrônica pode ser

calculada de modo aproximado, inicialmente, aplicando-se a teoria atômica de Bohr para o átomo de hidrogênio, e refinar-se posteriormente, fazendo-se algumas considerações sobre as experiências de Moseley. Desse modo, a Equação (3.2) permite o cálculo aproximado dessa energia para os elétrons das camadas *K* e *L* de um determinado elemento.

$$E = \frac{me^4(z-b)^2}{8\varepsilon_0h^2n^2} \quad 3.2$$

Nessa equação, *E* é a energia de ligação eletrônica, *m* a massa de repouso do elétron, *e* a carga elétrica do elétron, *Z* o número atômico do elemento emissor dos raios X, *b* a constante de Moseley, ε_0 a permissividade elétrica no vácuo, *h* a constante de Planck e *n* o número quântico principal do nível eletrônico (*n* = 1 para camada K, *n* = 2 para camada L).

A energia *E* de um fóton está relacionada com a frequência da onda eletromagnética *v* pela relação:

$$E = hv \quad 3.3$$

A equação de Moseley é dada por:

$$\frac{v}{2} = Z - b \quad 3.4$$

Onde *b* é uma constante adimensional de 1 a 2 e pode ser formulada em termos de energia na forma:

$$\frac{E/h}{2} = Z - b \quad 3.5$$

Portanto, a medida da energia de um fóton identifica o elemento químico que o gerou. Quando a amostra é bombardeada por um feixe de raios X, os vários comprimentos de onda da radiação emitida pela amostra são separados com base nas suas energias utilizando um detector de Si (Li) (cristal de silício dopado com lítio) e um analisador multicanal de amplitude (*MCA*). Este detector produz pulsos com amplitudes proporcionais à energia do feixe incidente, que são então classificados pelo *MCA* e utilizados para determinar os elementos presentes na amostra. Na Figura 3.3 tem-se a representação de um esquema de medida e dos elementos que compõem um equipamento de *EDX*.

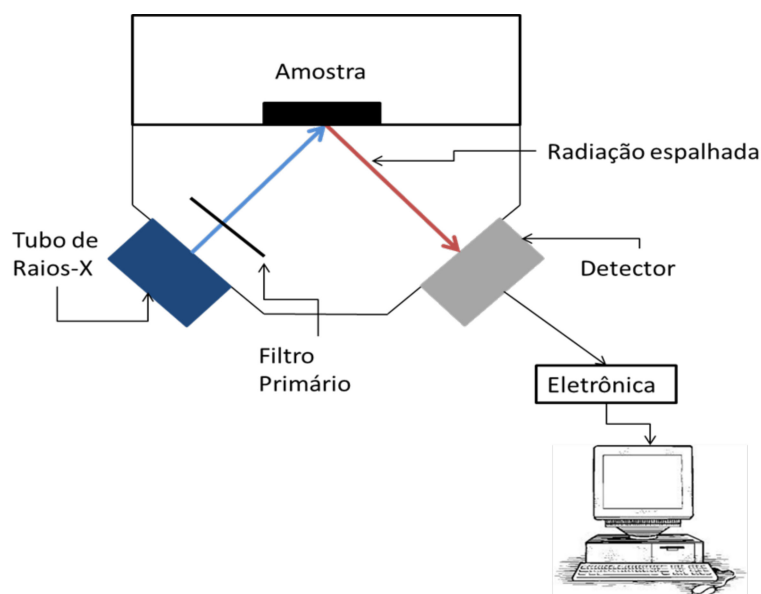


Figura 7: Esquema simplificado do princípio de funcionamento de um espectrômetro de EDX

3.3 Espectroscopias de Difração de Raios-X

A difração de raios X (*XRD*) [32] é uma das técnicas de caracterização de materiais mais simples, e a sua popularização deve-se à facilidade tanto na preparação das

amostras como na interpretação dos resultados e, também, à possibilidade de se detectar e/ou quantificar múltiplas fases cristalinas em um mesmo material. A técnica de *XRD* permite a obtenção de dados sobre as estruturas cristalinas, tais como grupos espaciais, coordenadas atômicas, números de ocupação, cálculo preciso dos parâmetros de cela unitária, identificação de fases cristalinas, além da quantificação das fases presentes.

A *XRD* baseia-se no espalhamento de um feixe de raios X pelos átomos que constituem a rede cristalina dos materiais estudados. As posições e intensidades dos picos de Bragg [33] no difratograma permitem identificar a estrutura, quantificar as fases cristalinas presentes e suas composições, enquanto a largura dos picos permite a determinação do tamanho dos cristalitos e das distorções na rede cristalina.

Se uma radiação monocromática (raios X) de comprimento de onda (λ) incide sobre o material cristalino que se quer estudar, podem ocorrer difrações de Bragg. Neste caso, a onda incidente tem vetor de onda \mathbf{k} , a difratada tem vetor de onda \mathbf{k}' e a diferença entre eles é definida por $\mathbf{K} = \mathbf{k}' - \mathbf{k}$. Porém, como é uma reflexão, $|\mathbf{k}| = |\mathbf{k}'|$, ou $k = k'$. A Figura 8 exemplifica a situação descrita acima. Considerando que os vetores \mathbf{k} e \mathbf{k}' fazem um ângulo θ com os planos atômicos do material estudado, a direção de \mathbf{k}' faz um ângulo 2θ com a direção de \mathbf{k} . Logo, podem-se relacionar as distâncias entre os planos atômicos com o comprimento de onda (λ) da radiação incidente. Com isso, conhecendo-se o comprimento de onda (λ) da

fonte utilizada, podem-se determinar as distâncias interplanares (d) dos planos cristalinos do material e, conseqüentemente, o arranjo atômico do material analisado. A lei que rege este fenômeno é chamada Lei de Bragg (Figura 8), e é representada pela equação e é representada pela equação:

$$\lambda n = 2d \operatorname{sen} \theta \quad 3.6$$

Onde n representa a ordem de difração ($n=1, 2, 3\dots$) e θ (ângulo de Bragg) é o ângulo de incidência do feixe de raios X no material.

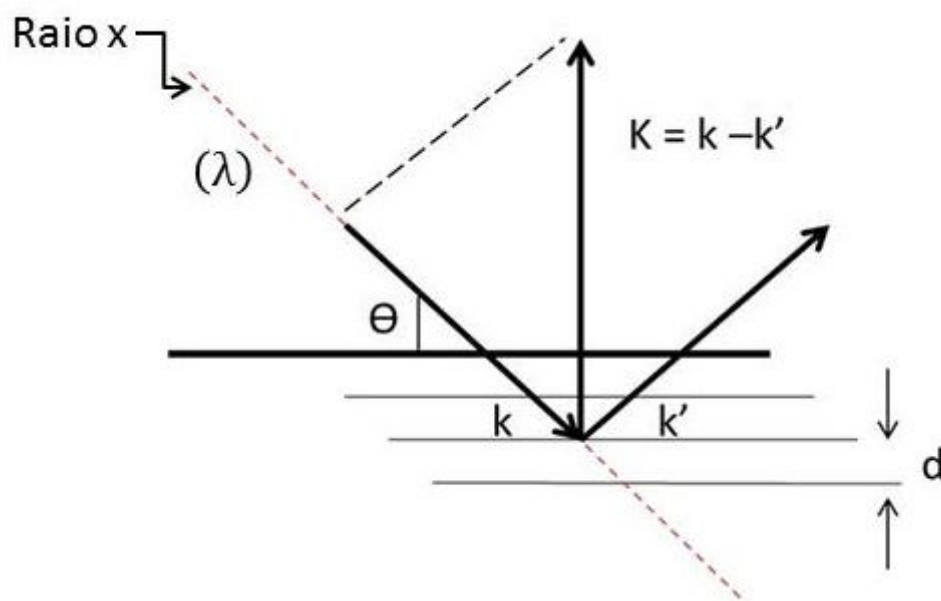


Figura 8: Representação gráfica da lei de Bragg.

Uma vez que os materiais cristalinos possuem distâncias interplanares muito bem definidas pode-se deduzir que, para estes materiais, os perfis de XRD apresentarão linhas estreitas ($\Delta\theta \sim 1^\circ$) e bastante intensas, dependendo exclusivamente da cristalinidade da

amostra. Os índices de Miller (h, k, l) descrevem a família de planos e permitem relacionar grandezas provenientes de espaços distintos: as distâncias interplanares (d) e os parâmetros de rede (a, b, c) do espaço real com os vetores da rede recíproca que representam os respectivos planos cristalinos. Por exemplo, as equações abaixo descrevem as relações entre distância Interplanar, índices de Miller e parâmetros de rede para estruturas cúbicas ($a=b=c$ e $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$), ortorrômbricas ($a\neq b\neq c$ e $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$) e hexagonais ($a=b\neq c$ e $\alpha=\beta=90^\circ, \gamma=120^\circ$), respectivamente:

$$\frac{1}{d^2} = \frac{h^2+k^2+l^2}{a^2} \quad 3.7$$

$$\frac{1}{d^2} = \frac{h^2+k^2+l^2}{a^2} \quad 3.8$$

$$\frac{1}{d^2} = 4 \left(\frac{h^2+hk+k^2}{3a^2} \right) + \left(\frac{1}{c} \right)^2 \quad 3.9$$

O padrão de difração de pó de um material cristalino é construído através de uma coleção de picos de difração individuais, cada qual com uma altura, posição e largura de pico, além de uma área integrada proporcional à intensidade de Bragg. Os planos de difração e suas respectivas distâncias interplanares, bem como as densidades de átomos (elétrons) ao longo de cada plano cristalino, são características específicas e únicas de cada substância cristalina, da mesma forma que o padrão difratométrico por ela gerado, que é equivalente a uma impressão digital do material analisado [34]. Entretanto, parte destas informações é afetada não apenas pelas sobreposições dos picos, mas também por efeitos físicos (fator de Lorentz e

polarização) [35], instrumentais (tubo de raios X, calibração do zero do equipamento e divergência axial, entre outros) e, ainda, os inerentes às características de cada amostra (orientação preferencial, rugosidade, tamanho das partículas e microdeformação). O conjunto destes efeitos, por sua vez, modifica principalmente a intensidade e o perfil dos picos, que são necessários para a caracterização estrutural [36]. A difração de raios X é muito usada para extrair dados de materiais cristalinos, mas também pode ser muito útil no estudo de materiais amorfos [37]. Entretanto, há problemas para resolver átomos muito leves (como H e C) ligados a átomos pesados (Fe, Mo), ou átomos com número atômico muito próximo (como Fe e Co) [38].

3.4 – Espectroscopia Ressonância Paramagnética Eletrônica

3.4.1 Teoria Fundamental de RPE

A Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (*RPE*), também conhecida por Ressonância de Spin Eletrônico (*RSE*), é uma poderosa técnica baseada na absorção ressonante de energia de microondas por elétrons desemparelhados na presença de um campo magnético externo [39]. Ela começou a ser estudada após a segunda guerra mundial e sua descoberta é atribuída ao primeiro relato de um espectro, o qual foi feito por Zavoisky, em 1945, na antiga União Soviética e confirmada independentemente por Cumerow e Halliday nos Estados Unidos poucos meses depois. Em 1951, Abragam e Pryce

introduziram pela primeira vez o conceito de Hamiltoniano de spin, o qual facilitou consideravelmente a interpretação dos dados experimentais [40].

Como o próprio nome sugere, a *RPE* é aplicada a amostras que contenham alguma espécie paramagnética, ou como método investigativo para verificar se um determinado material contém ou não alguma espécie paramagnética, produzindo informações precisas e detalhadas, normalmente inacessíveis por outras técnicas [41].

Em uma análise medem-se basicamente a absorção de microondas pelos centros paramagnéticos presentes na amostra, em função da intensidade do campo magnético aplicado [42]. Isto ocorre porque a energia de microondas absorvida ($h\nu$) causa transições entre níveis de energia do sistema de spins da amostra.

Os spins eletrônicos das espécies paramagnéticas, na presença do campo magnético, alinham-se com o campo (na mesma direção ou contrária ao campo magnético externo) de forma quantizada em dois estados energéticos diferentes, estado de spin “*down*” e spin “*up*” - efeito Zeeman [43]. Eles estarão em um estado de menor energia quando o momento do elétron μ estiver alinhado com o campo magnético, e um estado de maior energia, quando μ estiver alinhado contrário ao campo. As diferenças de energia estudadas por espectroscopia de *RPE* são devidas predominantemente à interação de elétrons

desemparelhados na amostra com um campo magnético produzido pelo magneto do espectrômetro-Efeito Zeeman [44].

Um elétron inicialmente num nível inferior pode ser excitado a um nível superior com a absorção de um quantum de energia do campo de microondas de frequência fixa, ou seja, a absorção de energia causa uma transição do estado de menor energia para o estado de maior energia (Figura 9). Principal condição da origem de ressonância paramagnética eletrônica: após a influência de um campo magnético externo os níveis de energia dos elétrons desemparelhados são divididos (ocorre à quebra da degenerescência de um estado ($S=1/2$), pelo efeito Zeeman, em dois estados E_+ e E_-).

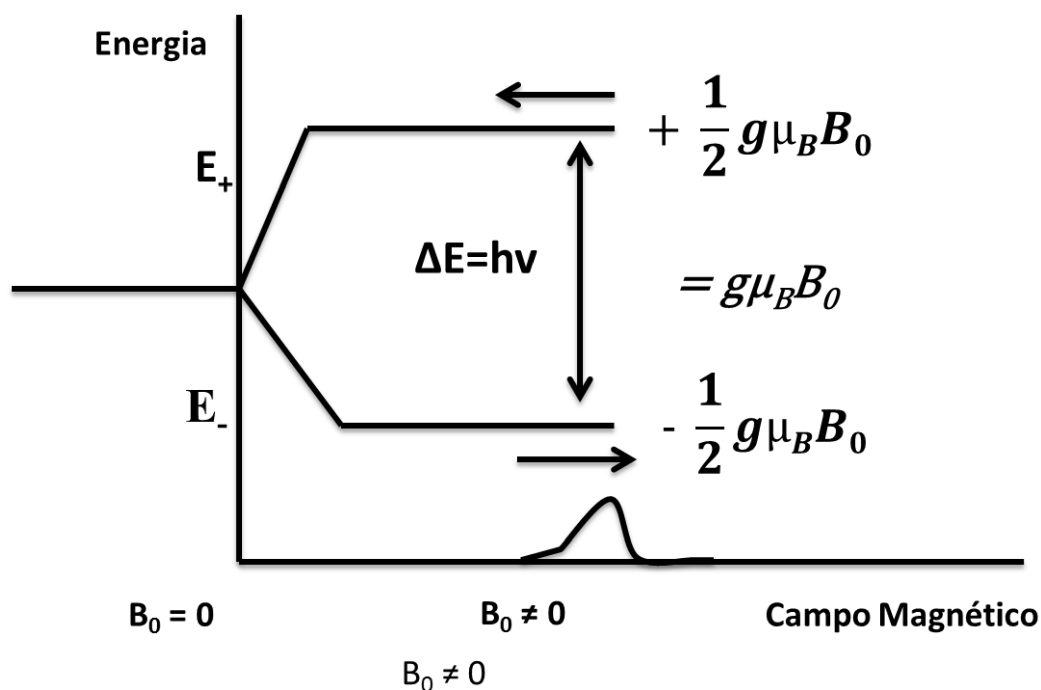


Figura 9: Variação dos estados de energia do spin em função do campo magnético aplicado.

Os dois estados são rotulados pela projeção do spin eletrônico, M_s , na direção do campo magnético. Visto que o elétron tem um spin de partícula $1/2$, o estado paralelo é designado como $M_s = -1/2$ e o estado antiparalelo por $M_s = +1/2$, sendo $M_s = \pm 1/2$, os dois estados degenerados em campo zero e cuja separação aumenta linearmente com o campo magnético (B_0 ou H_0) [45].

O fenômeno de absorção ressonante da radiação, de spins eletrônicos na presença de um campo magnético, envolve transições entre estados de spin, sendo, portanto, descrito com o formalismo da mecânica quântica, dada por:

$$E = g\mu_\beta B_0 = \pm \frac{1}{2} g\mu_\beta B_0 = \pm \frac{1}{2} g\beta H_0 \quad 3.10$$

onde:

$$g = \frac{h\nu}{\mu_\beta B_0} \quad 3.11$$

O fator espectroscópico g , é o fator de interação do elétron com o campo magnético [45], sendo uma constante de proporcionalidade aproximadamente igual a 2 para a maioria das amostras, podendo variar dependendo da configuração eletrônica do radical ou íon; μ_B (ou β) é o magnéton de Bohr ($0,9273 \times 10^{20}$ erg/G), o qual é uma unidade natural do momento magnético eletrônico, h é a constante de Planck ($6,625 \times 10^{-27}$ erg.s) ou aproximadamente $6,6 \times 10^{-34}$ J.s.

Dois fatos estão aparentes nas equações 3.10 e 3.11 e na Figura 3.5.

- ✓ Os dois estados de spin têm a mesma energia na ausência de um campo magnético;
- ✓ As energias dos estados de spin divergem linearmente com o aumento do campo magnético;

O número de estados varia com o número quântico de spin da partícula. Esta multiplicidade de estados obedece à distribuição $2S + 1$, onde S é o número quântico de spin da partícula. No caso do elétron, a transição entre os dois estados de spin somente será possível quando a frequência da microonda aplicada for igual à energia de transição entre as duas orientações, suprimindo a condição de ressonância:

$$\Delta E = h\nu = g\beta H \quad 3.12$$

3.4.1.1 Parâmetros principais do espectro de RPE

Quase todos os aspectos do espectro de RPE devem ser interpretados de uma forma rígida e quantitativa em termos do tipo de interação dos elétrons desemparelhados com o ambiente, característica do orbital ocupado pelo elétron, ou a natureza do movimento molecular. Destes, os mais significativos são: forma da linha (gaussiana ou lorentziana); intensidade da linha, posição da linha (campo de ressonância) revelando os campos magnéticos internos representados pelo spin; largura da linha à meia altura ($\Delta H_{1/2}$), largura de linha pico a pico (ΔH_{pp}), intensidade de linha pico a pico e multiplicidade da linha (extensão espectroscópica); a assimetria, número de linhas e a separação das linhas de estrutura

hiperfina. A área sob a curva de absorção de energia é proporcional à concentração de centros paramagnéticos na amostra [46].

3.4.1.1.1 Intensidades da Integral

A concentração de elétrons ou número de spins pode ser determinada pela intensidade da integral da linha de absorção (área abaixo da curva de absorção) em comparação com uma amostra padrão [47].

A intensidade do sinal em um espectro é proporcional à quantidade de radicais presentes. Espectros também podem revelar a estrutura dos radicais livres, micro ambiente e movimentos.

A intensidade da integral (Figura 10) é na verdade a diferença na população do nível de energia e, conseqüentemente, o valor da absorção na região de microondas é proporcional ao número total de elétrons na amostra [48].

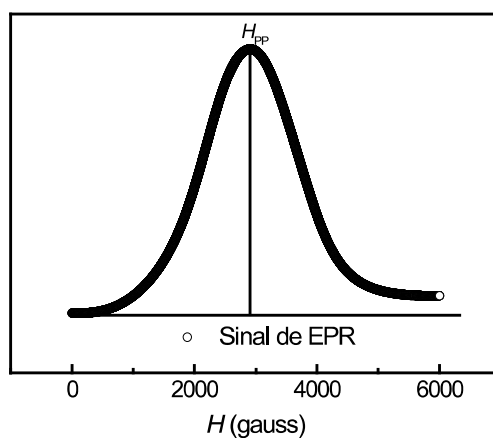


Figura 10: Sinal da integral de RPE.

3.4.1.1.2 Larguras de linha

A largura de linha pico a pico (Figura 11) é definida como a distância entre o pico máximo e o pico mínimo da derivada da curva de absorção [48]. Variações na largura de linha revelam o movimento do spin ou das vizinhanças [8]. Ela fornece um parâmetro suplementar caracterizando as condições de absorção e é determinada pela separação dos níveis de energia ocupados com os elétrons desemparelhados.

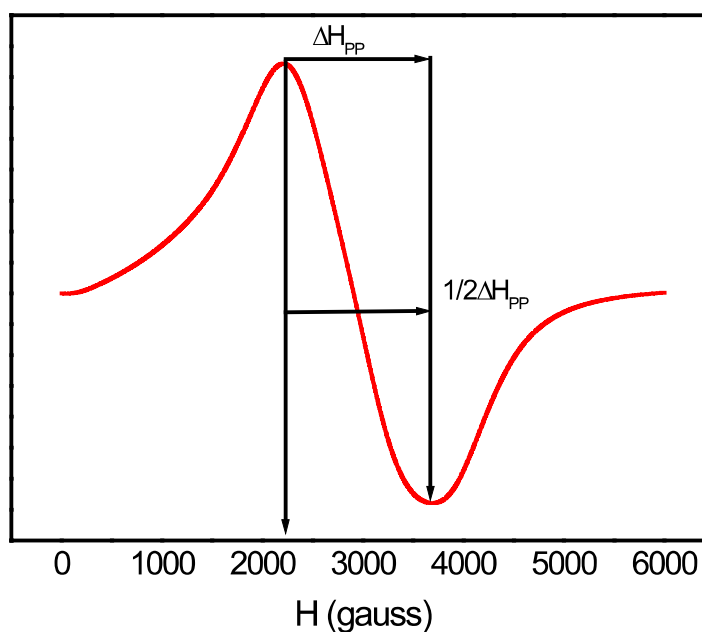


Figura 11: Largura de linha dada pela distância entre o pico máximo e o pico mínimo do espectro.

3.5 Espectroscopias Mossbauer

A espectroscopia Mossbauer é baseada na emissão de raios- γ por um núcleo excitado e a posterior absorção por outro núcleo do mesmo tipo, sem recuo de nenhum dos

átomos, é à base do efeito Mossbauer. O núcleo precisa estar incorporado a uma matriz sólida que absorva o momento de recuo para que o efeito possa acontecer (emissão ou absorção), sem momento de recuo não ocorre efeito em líquidos ou gases.

A quantidade de energia de um fóton emitido ou absorvido depende da posição dos níveis de energia nuclear. Esses níveis são alterados pelas interações do núcleo com elétrons e íons que o cercam. A espectroscopia Mossbauer (*EMB*) é usada para medir essas alterações de posições de níveis de energia e daí deduzirem informações sobre as vizinhanças dos núcleos dos átomos na rede [49].

As alterações dos níveis de energia do núcleo atômico provocados pela vizinhança decorrem das interações do núcleo com campos elétricos e magnéticos que provocam modificações no espectro Mossbauer. Estas interações são: a interação monopolar elétrica, interação quadrupolar elétrica e a interação dipolar magnética (Figura 12).

A interação monopolar elétrica é causada pela interação coulombiana da carga elétrica nuclear com os elétrons que têm uma probabilidade finita de se localizar na região do núcleo. Esta interação dá origem a um deslocamento de espectro Mossbauer chamado de desvio isomérico (isomer shift = *IS*).

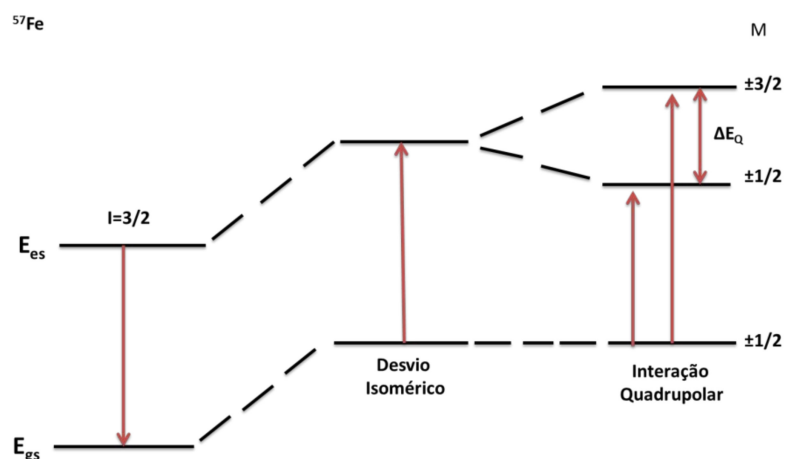


Figura 12: Representa a interação quadrupolar e o desvio isomérico.

O movimento térmico do núcleo emissor e/ou absorvedor é outro efeito que dá origem a um desvio isomérico. Este efeito é conhecido como deslocamento Doppler de segunda ordem (Figura 13).

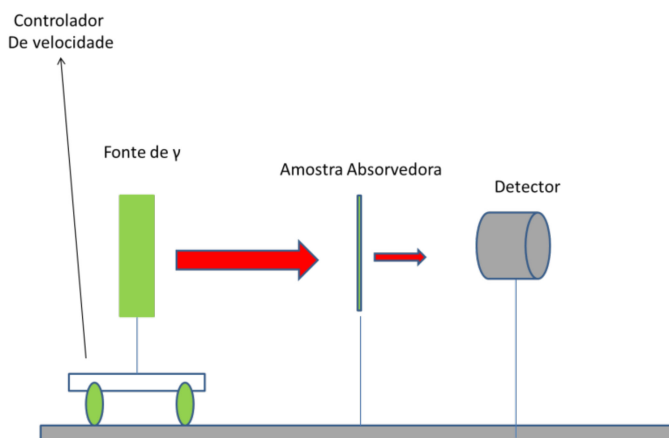


Figura 13: Esquema do deslocamento Doppler de segunda ordem

A interação quadrupolar elétrica é relacionada à quebra de degenerescência dos níveis nucleares com spin maior que $\frac{1}{2}$. Quando o núcleo tem simetria esférica (spin 0 ou $\frac{1}{2}$) o momento quadrupolar é igual a zero. Quando é maior que $\frac{1}{2}$ existe uma distribuição não uniforme de carga no núcleo, gerando um momento de quadrupolo diferente de zero. A

interação quadrupolar elétrica provoca um desdobramento dos níveis de energia nuclear (Figura 14).

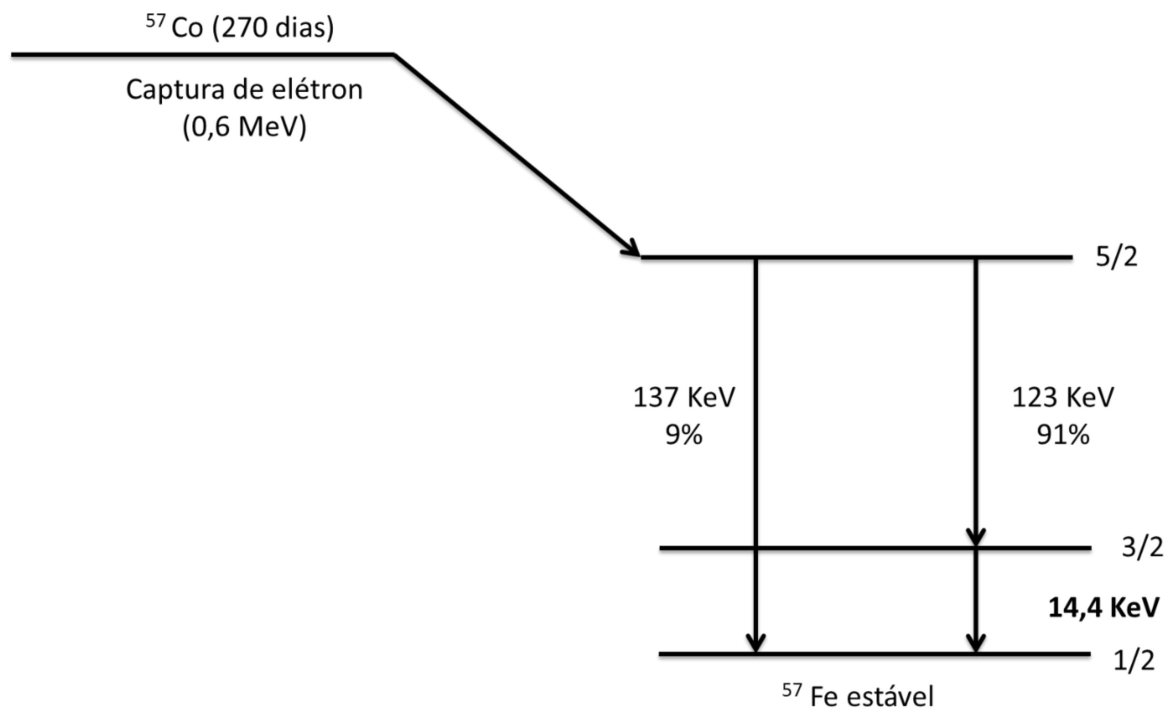


Figura 14: Diagrama do decaimento Radioativo.

A interação dipolar magnética ou efeito Zeeman são consequências da interação entre o momento magnético do núcleo e o campo magnético presente nele, decorrente de diversas fontes (campo aplicado, campo desmagnetizante, campo de Lorentz, campo dipolar devido às partículas vizinhas e campo hiperfino). Provoca um desdobramento hiperfino do espectro em certo número de linhas, dependendo do spin nuclear [50].

Esta técnica será usada para avaliar as nanopartículas magnéticas de magnetita e sangue com objetivo de quantificar grupos de íons óxidos de ferro nos sítios da estrutura e os processos de transições energéticas.

3.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão

A técnica de microscopia eletrônica de transmissão (*MET*) utiliza um microscópio com estrutura parecida com o Microscópio Óptico, porém utiliza como fonte de iluminação um feixe proporcionado e por um canhão de elétrons, de alta tensão, perfeitamente focalizado na superfície da amostra por um conjunto de lentes eletrostáticas e eletromagnéticas. Ao atingir a amostra o feixe incidente pode ou não interagir com a mostra, sendo que as interações mais importantes são os espalhamentos elásticos, onde não há transferência de energia do feixe incidente para amostra, o espalhamento inelástico onde há transferência de energia e o feixe transmitido não interage com amostra (Figura 15). Essas interações formam as tonalidades da imagem final formada [51].

Para o estudo de nanoestruturas magnéticas a microscopia eletrônica de transmissão (*MET*) fornece informações sobre morfologia, diâmetro médio, avalia a polidispersão do tamanho de nanopartículas [52].

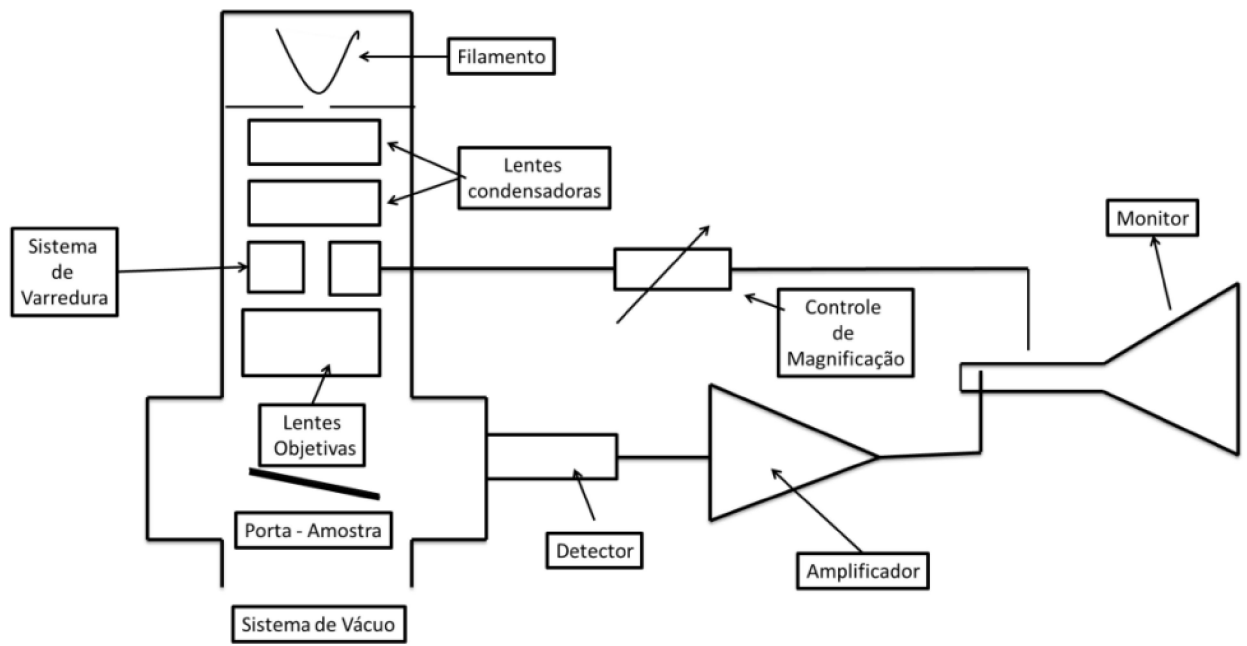


Figura 15: Esquema de Funcionamento do Microscópio Eletrônico de Transmissão.

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo vamos apresentar os resultados e fazer a discussão dos mesmos mediante as medidas realizadas em amostras dos tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O^- e O^+ incubados em nanosonda magnética de magnetita (Fe_3O_4) em um tempo máximo de até duas horas conforme nomenclatura da Tabela 2.

Usando as técnicas de Microscopia Eletrônica de Transmissão (*MET*), Espectroscopia Mossbauer (*EMB*), Difratomia de Raios-X (*XRD*), Raios-X de Fluorescência de Energia Dispersiva (*EDX*), Espectroscopia de Infravermelho Convencional (*NIR*), Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (*FTIR*), medidas de viscosidade (η) e Espectroscopia de Ressonância Eletrônica (*EPR*). Nas discussões dos resultados serão abordadas as informações obtidas pela técnica e a teoria aplicada às grandezas físico-químicas obtidas.

4.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão

As fotomicrografias de *MET* foram realizadas no laboratório de Microscopia Eletrônica de Transmissão da *UFG* localizado no Instituto de Física Campus Samambaia Goiânia-GO. As condições de medidas foram realizadas por um aparelho *Jeol*, *JEM-2100*, equipado com *EDS*, Thermo Scientific. Foram realizadas medidas com amostras de

nanopartículas magnéticas de magnetita obtidas pelo método da coprecipitação de cloreto de ferro (Fe^{+2}), cloreto férrico (Fe^{+3}) usando hidróxido de amônia (NH_4OH) a 25% de pureza. As partículas obtidas por esse método e usando os referidos reagentes obtêm-se a nanopartícula magnetita (Fe_3O_4) com estrutura do tipo espinélio como apresentado na Figura 16.

Depois de obtida a imagem das nanopartículas, foi usado o software *Image Pro Plus* da Media Cybernetics para fazer a contagem das partículas. Através do *Image* faz-se a contagem de nanopartículas na fotomicrografia por nm^2 e o resultado é um conjunto de números correlacionados e repetidos que são usados para fazer o histograma da distribuição estatística. Tendo o histograma construído usa-se a função log-normal para determinar a polidispersão (σ) e o diâmetro médio (D_m) das nanopartículas de magnetita (figura 17).

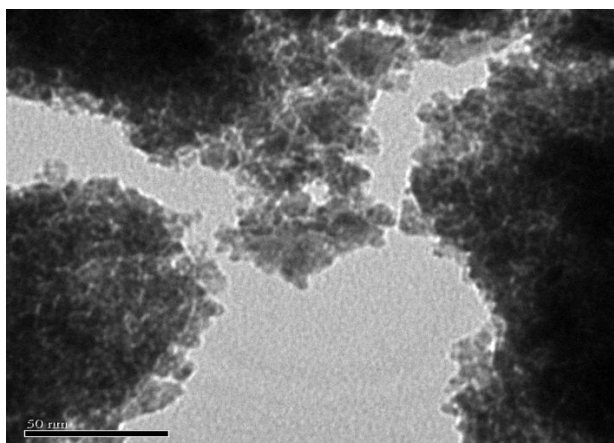


Figura 16: Fotomicrografia das nanopartículas de magnetita obtidas através da microscopia eletrônica de transmissão (MET).

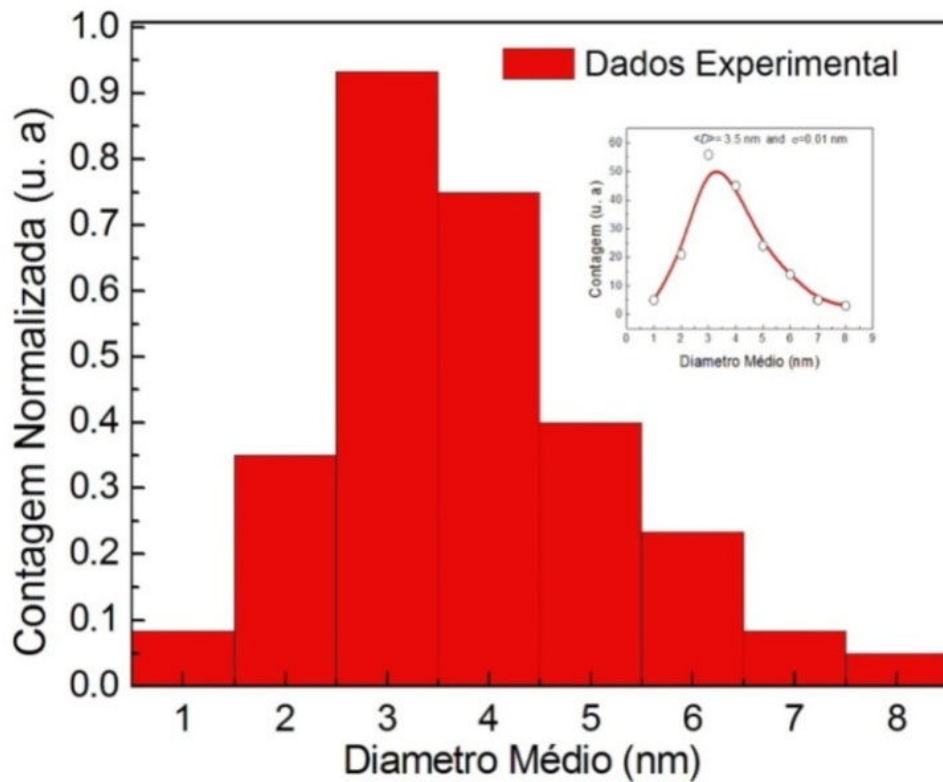


Figura 17: Histograma da nanopartículas magnéticas de magnetita indicando o diâmetro médio (D_m) das mesmas e a polidispersão σ .

A Figura 17 mostra o resultado da contagem de nanopartículas magnéticas de magnetita realizadas pelo software *Image* e o ajuste do histograma dos dados onde foi medido o diâmetro médio $D_m = 3,5 \text{ nm}$ e polidispersão (σ) = 0,1 nm.

4.2 Espectroscopia Mossbauer

Na realização deste trabalho foi utilizado para obtenção dos espectros Mossbauer um transdutor *WEISS* de fabricação alemã que se move com aceleração constante. Como fonte de radiação foi usada uma fonte de *Co* de 50 mCi em matriz de Ródio (*Rh*). As medidas

foram realizadas no Instituto de Física da Universidade de Brasília (*IF-UnB*). Os espectros Mossbauer foram ajustados usando o programa Mosswin. Depois foi usado o programa Origin para obtenção do espectro final.

Na Figura 18, a curva *IS* para o tipo sanguíneo O^- é decrescente mostrando uma perda de densidade eletrônica com o aumento do campo. A curva *IS* para o tipo sanguíneo O^+ mostra o aumento abrupto da densidade eletrônica com aumento do campo magnético entre 450 e 511 KOe. A curva *IS* para o tipo sanguíneo A^+ , a densidade aumenta em pequena variação do campo de 20 KOe. Na curva *IS* para o tipo sanguíneo B^+ a densidade eletrônica é constante de 0 a 400 KOe e sofre aumento de 450 KOe a 500 KOe. A curva *IS* para o tipo sanguíneo AB^+ é constante de 0 a 400 KOe e sofre uma decrescimento na densidade eletrônica de 400 a 500 KOe. Já no caso da nanopartícula a curva *IS* mantém constante a densidade eletrônica intermediária entre as curvas AB^+ e B^+ , nesse caso é observado um crescimento nítido a partir de 250 a 500 KOe. Todavia as mudanças observadas nas densidades eletrônicas sugerem que há uma migração na blindagem eletrônica entre centros superparamagneticos favorecendo a migração de spins entre a estrutura espinélio no caso da magnetita e variação de spins nos átomos de ferro da hemoglobina das hemácias.

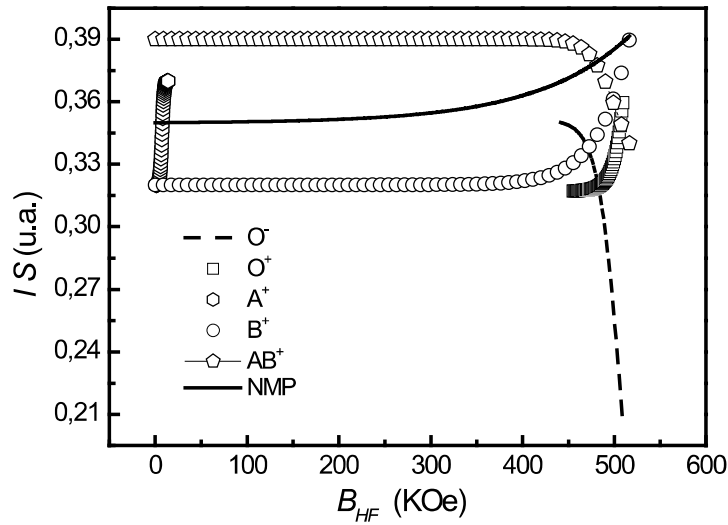


Figura 18: Dados do Isomer Shift em função do campo magnético Hiperfino (KOe). As curvas IS são para os tipos sanguíneos O^- , O^+ , A^+ , B^+ , AB^+ e nanopartículas de magnetita.

A Figura 19 mostra curvas do espalhamento hiperfino quadrupolar QS para os tipos sanguíneos O^- , O^+ , A^+ , B^+ , AB^+ e nanopartículas de magnetita, onde QS para os tipos sanguíneos O^- e O^+ tem comportamento parabólico e os tipos sanguíneos A^+ , B^+ , AB^+ e nanopartículas de magnetita apresenta comportamento linear decrescente com coeficiente angular diferente. O QS para esses sistemas sugere que para estes tipos sanguíneos ocorrem flutuação de spins nos centros de FeO conforme a tipagem sanguínea. Observa-se um comportamento de flutuação atípica para os tipos sanguíneos O^- e O^+ . Já na estrutura espinélio da magnetita os sítios tetraédrico onde contem spin Fe^{3+} e sítios octaédrico onde contem spins Fe^{2+} e Fe^{3+} ocorre flutuação local entre os sítios das estruturas superparamagnéticas.

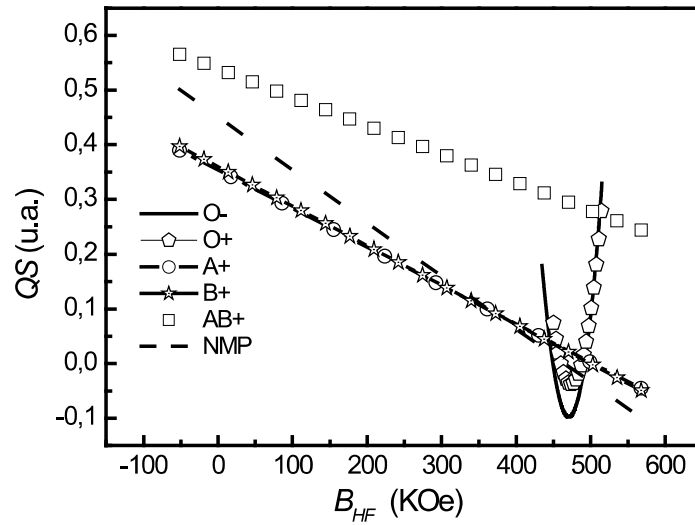


Figura 19: Dados do espalhamento Hiperfino quadrupolar em função do campo magnético Hiperfino (KOe). As curvas QS são para os tipos sanguíneos O , O^+ , A^+ , B^+ , AB^+ e nanopartículas de magnetita.

A Figura 20 apresenta as curvas das áreas para tipos sanguíneos O , O^+ , A^+ , B^+ , AB^+ e nanopartículas de magnetita. Mostra que existe comportamento parabólico com cavidade positiva para os tipos sanguíneos A^+ , B^+ , e nanopartículas de magnetita. Já para os tipos sanguíneos O , O^+ e AB^+ a concavidade é negativa. Isto sugere a ratificação das argumentações aplicadas no caso das curvas IS e QS porque apresenta o quantitativo da densidade eletrônica e flutuação de spins nos centros FeO e F_3O_4 .

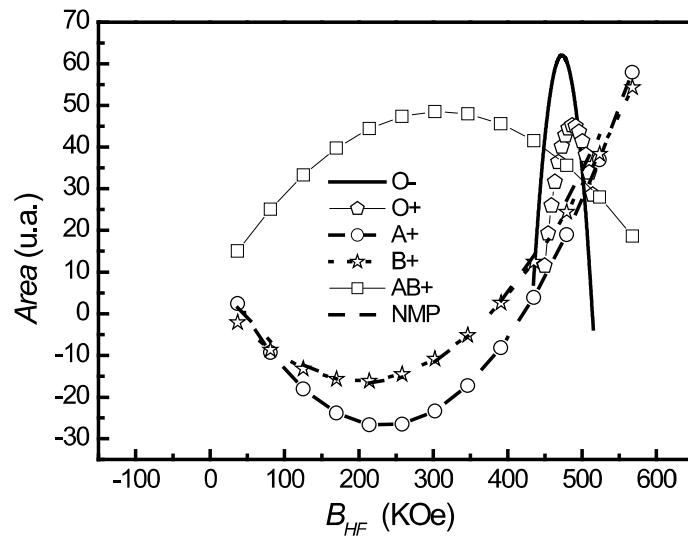


Figura 20: Dados da área dos espectros Mossbauer com transições dubletos, tripletos e sextetos de espalhamento hiperfino em função do campo magnético hiperfino (Koe). Curvas das áreas para tipos sanguíneos O⁻, O⁺, A⁺, B⁺, AB⁺ e nanopartículas de magnetita.

4.3 Espectroscopia de Difração de Raios-X

A medida de difratometria de raios-X da amostra de nanopartículas magnéticas de magnetita (Fe_3O_4) foi realizada no Laboratório de *DRX* do Instituto de Química da Universidade de Brasília - UnB usando o difratômetro *XRD-6000* equipado com goniômetro para medidas em amostras de pó, com sistema de varredura de 10 a 80 graus, fonte de cobre *Cu, K α* 1,54 Å em 40 KV e 20 mA. As medidas foram realizadas nas condições normais de temperatura e pressão atmosférica ambiente local.

A Figura 21 mostra o difratograma de nanopartícula em pó da magnetita cuja medida foi feita de 20 a 80 graus. Pelas características apresentadas pela técnica as nanopartículas têm estrutura cristalina nos planos atômicos mostrados 220, 311, 400, 511, 440 e 522, confirmando uma estrutura do tipo espinélio.

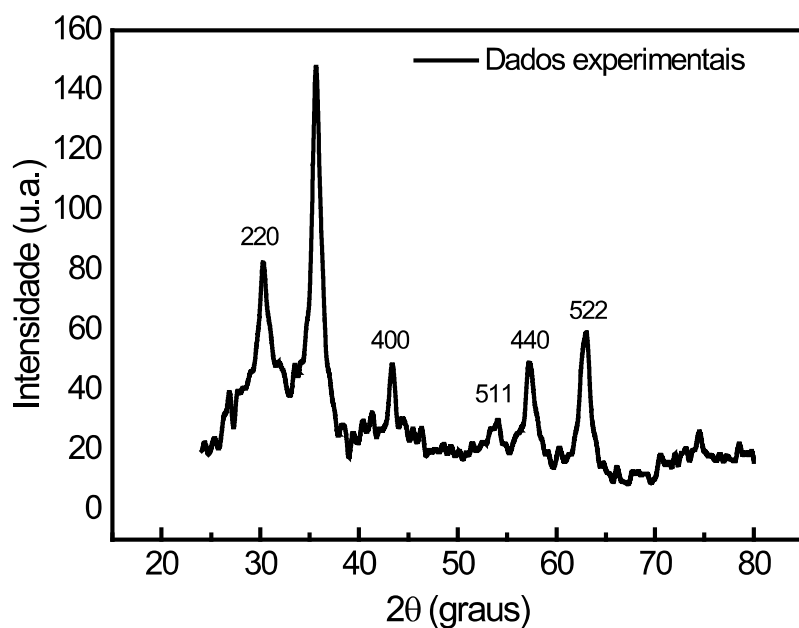


Figura 21: Difratoograma de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) mostrando seis planos cristalinos característicos da estrutura espinélio conforme carta ASTM. O plano 311 aparece com maior intensidade no ângulo de $36,5^\circ$.

4.4 Espectroscopia de Fluorescência de raios-X por energia dispersiva (EDX)

A medida de Espectroscopia de Fluorescência de raios-X por energia dispersiva das amostras de tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O^+ e O^- foi realizada no Laboratório de Nanomateriais e Nanobiomagnetismo – LNBIOMAG Vinculado a Universidade Federal de Rondônia – UNIR, além das amostras de sangue, foram também analisados amostras do polímero com diferentes concentrações de reagentes, do polímero com 10% do volume de nanopartículas em diferentes concentrações de reagentes, da magnetita e dos reagentes separados, usando um espectrômetro EDX modelo X-Calibur Xenometrix.

A Figura 22 apresenta o espectro *EDX* para o *PL 1* e o *PL 2*, observa-se que existem picos de maior intensidade por volta de 1000 eV, 480 eV e 100 eV, onde podemos notar a presença de Argônio (*Ar*), Rutênio (*Ru*), Cobre (*Cu*) e Ródio (*Rh*). Observa-se que mesmo variando a concentração de *PEPOM* não há mudança nos picos de energia, apenas na intensidade.

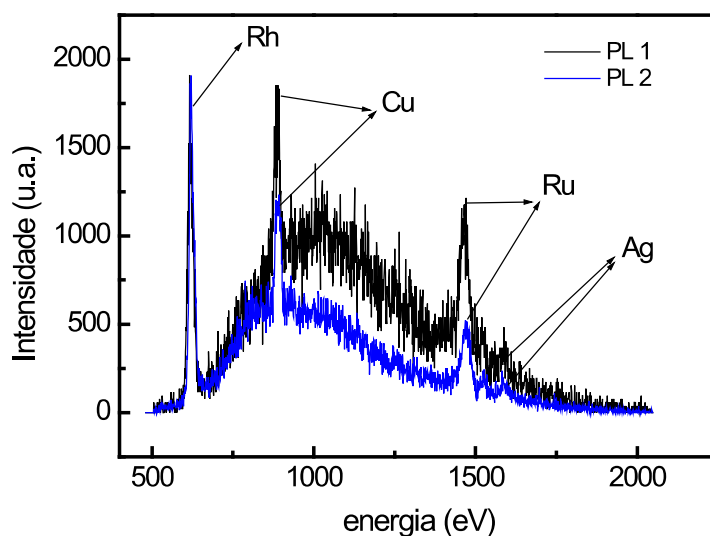


Figura 22: Apresenta o espectro de *EDX* para o *PL 1*, composto de 12,5% v/v de *PEPOM* e o *PL 2* composto de 25% de *PEPOM*.

A Figura 23 apresenta o espectro de *EDX* para Óleo de Andiroba (*OA*), o *NM1* e o *NM2*. Observa-se picos de energia de 1000 eV para o Paládio (*Pd*), picos de energia de 450 eV para o Níquel (*Ni*), cerca de 350 eV de energia para o Ferro (*Fe*) e cerca de 100 eV de energia para o Ródio (*Rh*). Observa-se também que a intensidade dos picos de energia para o *NM1* e o *NM2* não varia mesmo quando adicionado nanopartículas de magnetita a 10% v/v.

No entanto, o Óleo de andiroba *in natura* tem o pico de energia na mesma região dos demais, porém com intensidade superior ao *NM1* e *NM2*.

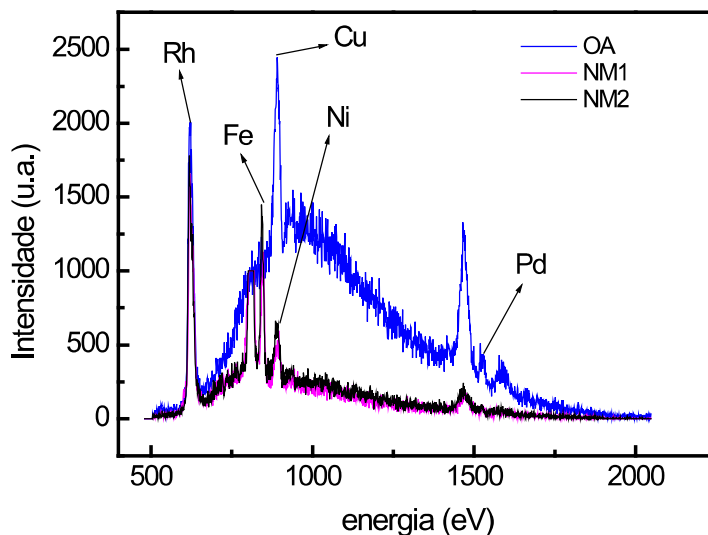


Figura 23: Espectro de *EDX* para o Óleo de Andiroba (OA), o *NM1*, composto de 12,5% *v/v* de *PEPOM* a 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita, e o *NM2* composto de 25% *v/v* de *PEPOM* a 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita.

A Figura 24 apresenta o espectro de $N1 O^+$, $N2 O^+$, $N3 O^+$ nas concentrações 12,5%, 25% e 50% de *PEPOM* a 10% de volume de nanopartículas de magnetita. É possível observar a presença do elemento Ródio (*Rh*) com 1000 eV de energia de baixa intensidade. Porém a maior quantidade de elementos aparece entre 300 e 500 eV, é possível verificar a presença de Ferro (*Fe*), Níquel (*Ni*), Cobre (*Cu*) e Zinco (*Zn*).

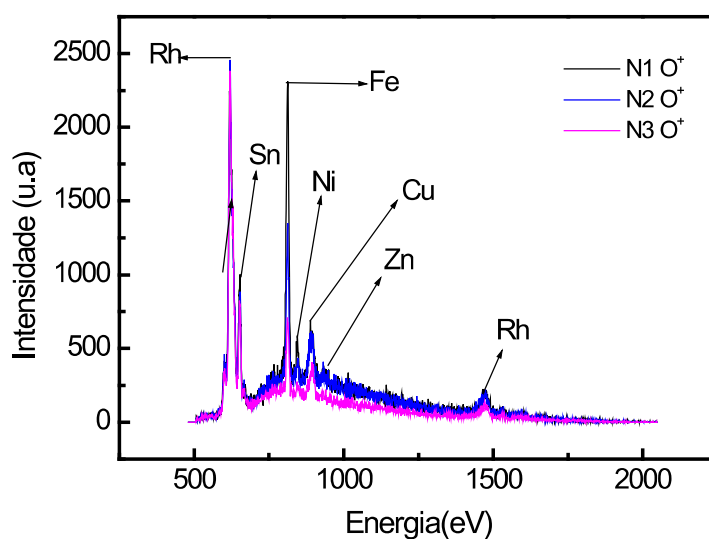


Figura 24: Espectro do complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% *v/v* diluídas no tipo sanguíneo O^+ .

A Figura 25 apresenta o espectro $NI AB^+$ nas concentrações 12,5%, 25% e 50% de *PEPOM* a 10% de volume de nanopartículas de magnetita. É possível observar a presença do elemento Ródio (*Rh*) com 1000 eV de energia de baixa intensidade. Porém a maior quantidade de elementos aparece entre 300 e 500 eV, é possível verificar a presença de Ferro (*Fe*), Níquel (*Ni*), Cobre (*Cu*) e Zinco (*Zn*).

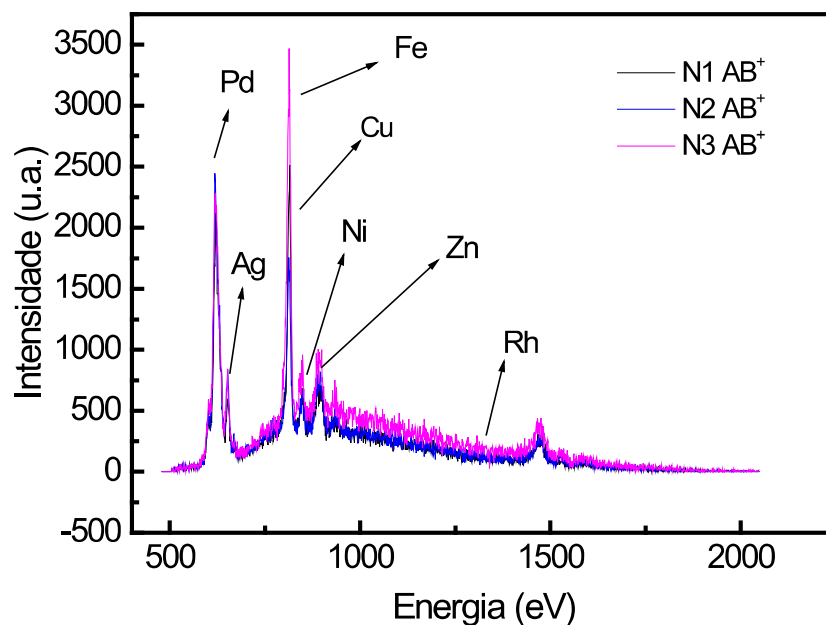


Figura 25: Espectro do complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% v/v diluídas no tipo sanguíneo AB^+ .

4.5 Espectroscopia do infravermelho Próximo - NIR

Para a realização das medidas NIR foi utilizado o aparelho FENTO *NIR-900* do Laboratório de nanomateriais e nanobiomagnetismo - LNBIOMAG vinculado a Universidade Federal de Rondônia – UNIR. Para as medidas foram utilizadas o volume de 1 ml de amostra.

A Figura 26 mostra espectros de medidas de reflectância no infravermelho na região de 1100 a 2500 nm. Foram realizadas medidas dos tipos sanguíneos A^+ , B^+ , AB^{++} , O^- e O^+ usando 1 ml de amostra de sangue. Observa-se a presença de grupos OH na região próxima dos 2400 nm e FeO ente 1100 e 1300 nanômetros. Picos de maior reflexão aparecem entre 2000 e 2200 nanômetros com a presença de $C=O$ e CH .

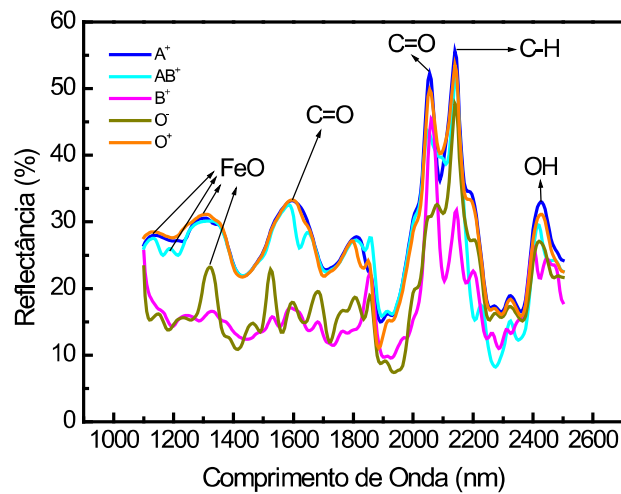


Figura 26: Espectro de reflectância NIR para amostra de sangue fator A^+ , AB^+ , B^+ , O^- e O^+ .

A Figura 27 apresenta espectro de infravermelho com reflectância de 1100 a 2500 nm para o polímero $PL1$, $PL2$ e $PL3$. Os grupos ressonantes NH aparecem em 1100 nm e 1345 nm. Em 1612 nm apareceu o comportamento da estrutura $C=O$ e em 1820 e 1910 nm o grupo CH , que também vibra em 2020 e 2170 nm. As moléculas de OH vibraram axialmente em 2410 nm. As análises de reflectancia tem probabilidade de ser tipo axial devido à incidência dos fótons nas estruturas.

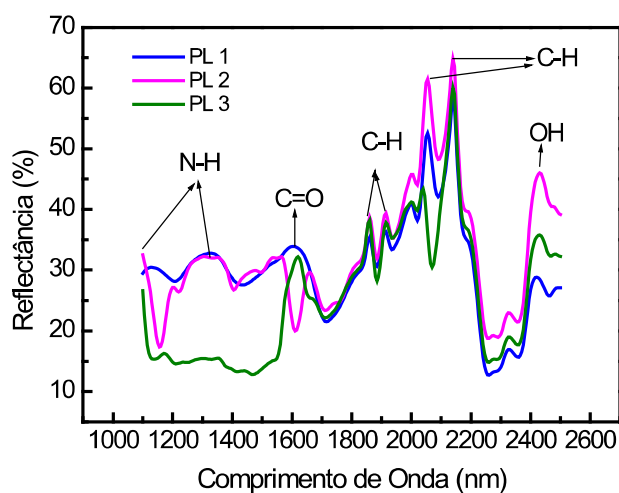


Figura 27: Espectro de reflectância *NIR* para o polímero *PL 1*, *PL 2* e *PL 3*.

A Figura 28 mostra o espectro *NIR* de reflectância de *NM 1*, *NM 2* e *NM 3*.

Observa-se que a presença de nanopartículas magnéticas de magnetita influencia na redução da intensidade do sinal do espectro para a *NM 1* e *NM 2*, no entanto, causa um aumento no sinal para o *NM3*. Mas as moléculas de *OH* diminuem sua vibração axial possivelmente por ter se ligado na superfície da nanopartícula.

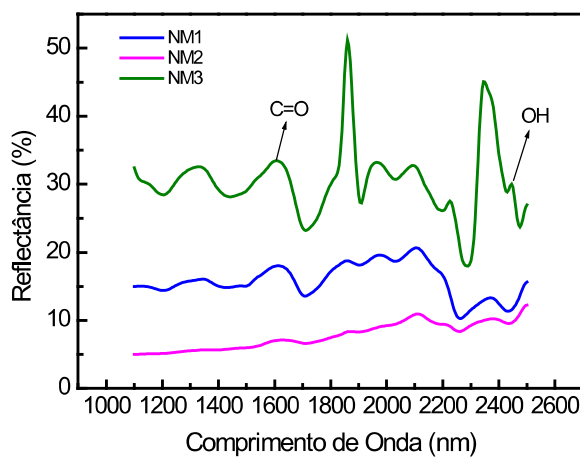


Figura 28: Espectro de reflectância *NIR* para polímero a 10% de nanopartículas de magnetita.

A Figura 29 apresenta a reflectância do complexo polimérico e nanopartículas no sangue do tipo A^+ , observa-se que as intensidades dos espectros são diferentes, porém no mesmo comprimento de onda.

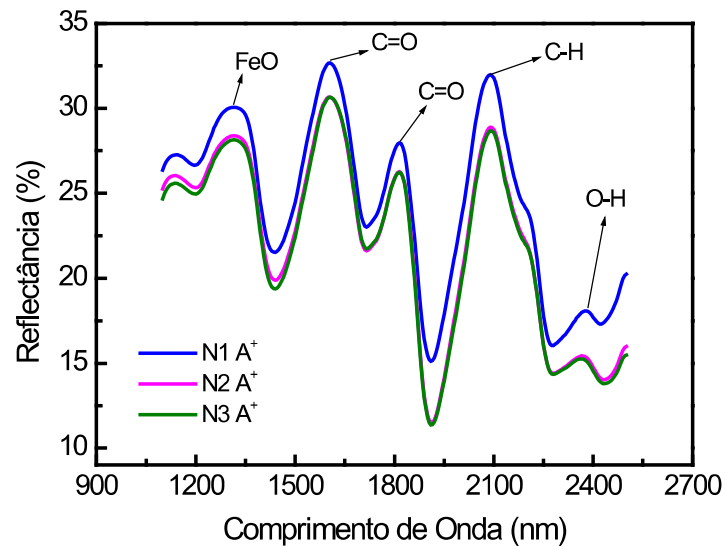


Figura 29: Espectro de reflectância *NIR* composto de sangue A^+ , polímero e 10% de nanopartículas de magnetita.

A Figura 30 apresenta a reflectância do complexo polimérico e nanopartículas no sangue do tipo AB^+ , observa-se que as intensidades dos espectros são diferentes, porém no mesmo comprimento de onda.

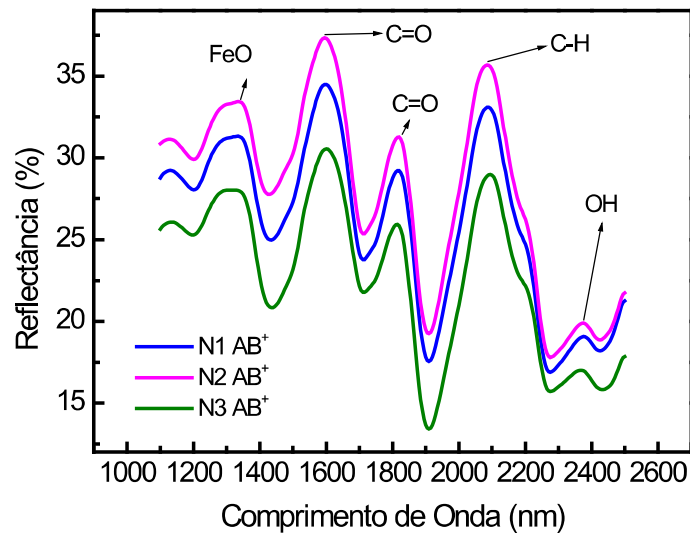


Figura 30: Espectro de refletância NIR composto de sangue AB^+ , polímero e 10% de nanopartículas de magnetita.

A Figura 31 apresenta a refletância do complexo polimérico e nanopartículas no sangue do tipo A^+ , observa-se que as intensidades dos espectros são diferentes, porém no mesmo comprimento de onda.

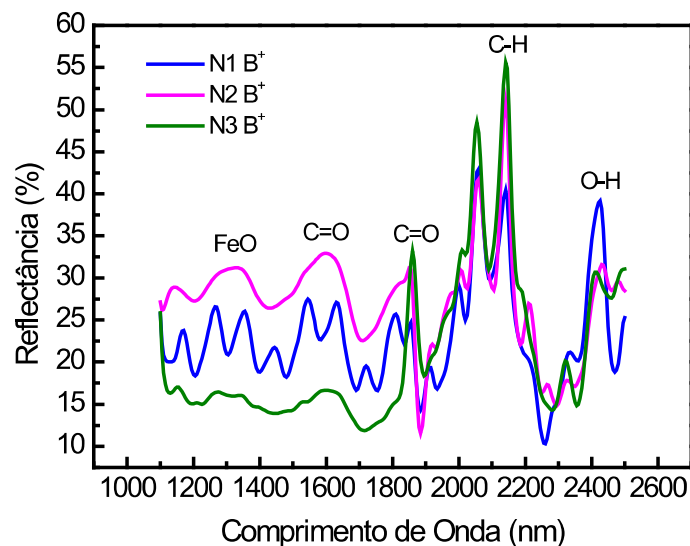


Figura 31: Espectro de refletância NIR composto de sangue B^+ , polímero e 10% de nanopartículas de magnetita.

Na Figura 32 os espectros de refletância do complexo polimérico e nanopartículas magnéticas de magnetita no sangue tipo O^+ contribuem para a resolução do espectro em quatro regiões específicas.

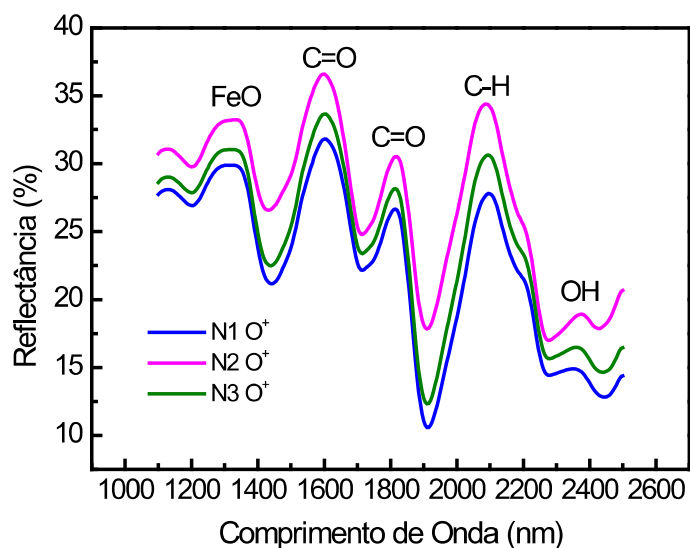


Figura 32: Espectro de refletância NIR composto de sangue O^+ , polímero e 10% de nanopartículas de magnetita.

Na Figura 33 os espectros de refletância do complexo polimérico e nanopartículas magnéticas de magnetita no sangue tipo O^- contribuem para a resolução do espectro em quatro regiões específicas.

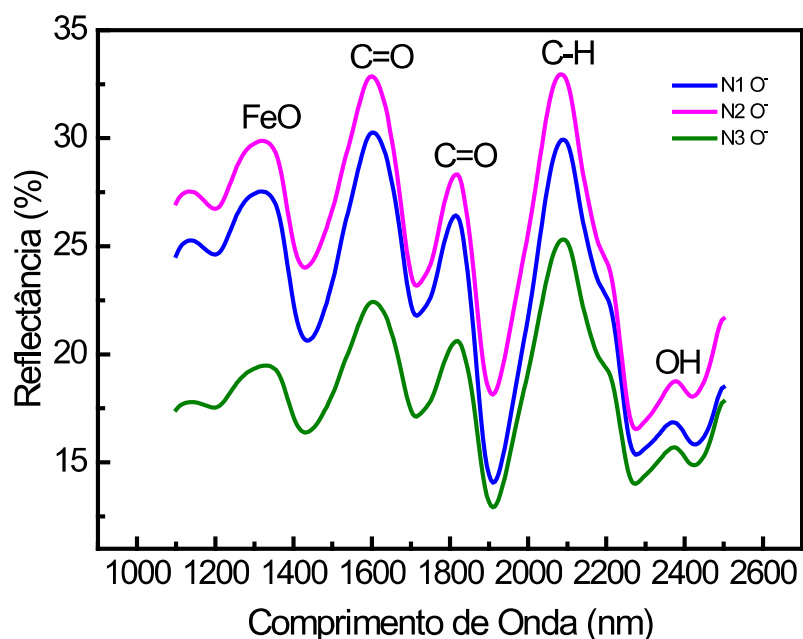


Figura 33: Espectro de refletância NIR composto de sangue *O*, polímero e 10% de nanopartículas de magnetita.

4.6 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier - FTIR

As análises de infravermelho – *FTIR* foram obtidas em um espectrofotômetro *IVFTIR* (Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier), e acessório acoplamento *ATR* (reflexão total atenuada) na região espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , 64 scans, resolução de 4 cm^{-1} e volume de amostra de $10\text{ }\mu\text{l}$. As medidas de infravermelho foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Óptica (Instituto de Física / UnB).

A Figura 34 de absorbância por *FTIR* dos tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O^- e O^+ mostra que as vibrações moleculares presentes no sangue sobressaem para o complexo Hemo FeO em 500 cm^{-1} , CH em 1845 cm^{-1} e OH em 3475 cm^{-1} . Observa-se que a maior intensidade do nível aparece para AB^+ .

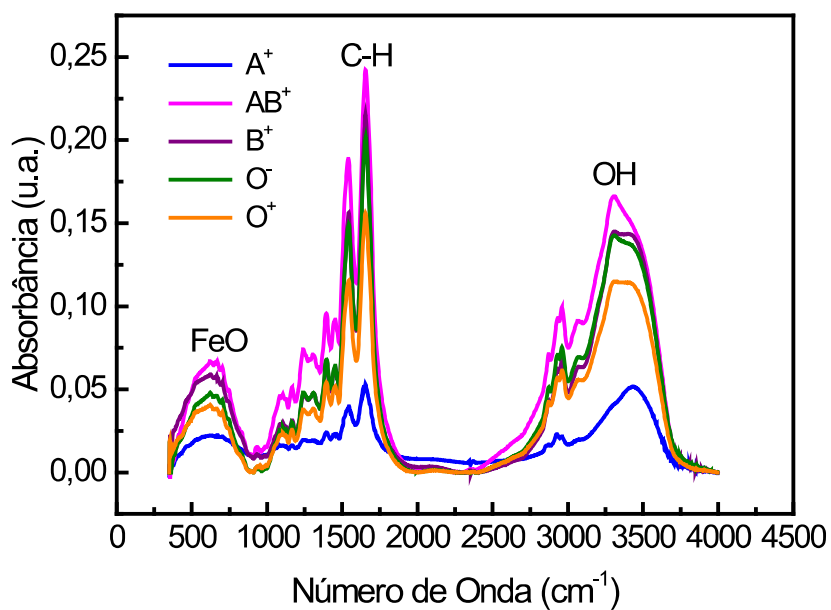


Figura 34: Espectro de absorvância *FTIR* para os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O^- e O^+ .

A Figura 35 de transmitância para os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O^- e O^+ mostra as mesmas vibrações que aparecem no espectro de Absorbância para FeO , CH e OH . Observa-se que a intensidade do maior espectro aparece para o tipo sanguíneo AB^+ .

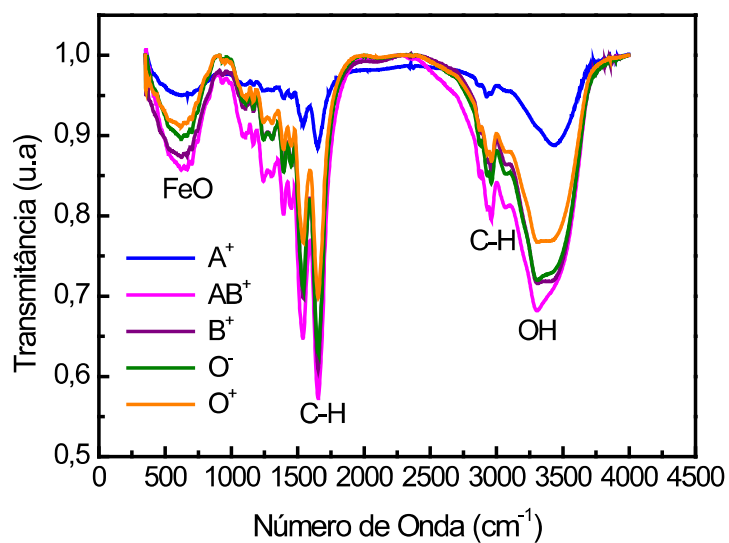


Figura 35: Espectro de transmitância *FTIR* para os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O^- e O^+ .

A Figura 36 apresenta a absorvância para o *PL1*, *PL2* e *PL3* com reagentes *PEPOM*, observam-se vibrações de *CH* e *OH* para os números de ondas de 3000 e 3500 cm^{-1} respectivamente. O pico de maior intensidade aparece para as três amostras simultâneas em 1000 cm^{-1} com moléculas de *CO*.

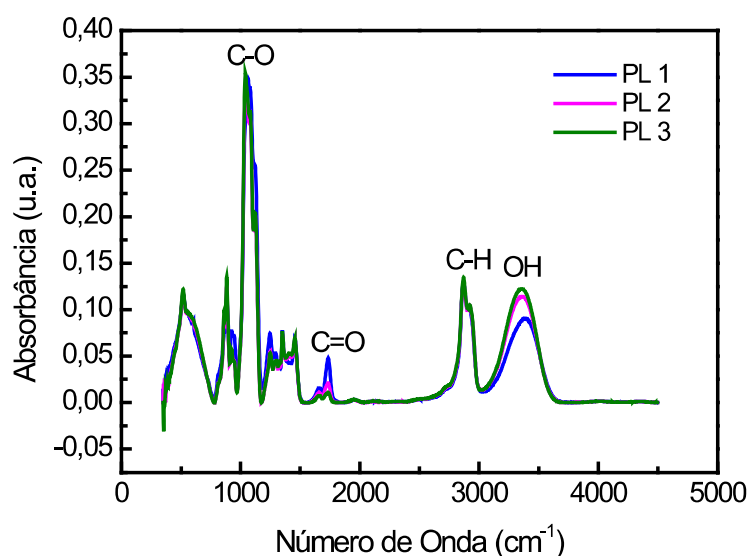


Figura 36: Espectro de Absorvância para os polímeros de andiroba *PL1*, *PL2* e *PL3* com 12,5%, 25% e 50% de (*PEPOM*).

A Figura 37 apresenta a transmitância para o *PL1*, *PL2* e *PL3* com reagentes *PEPOM*, observam-se as mesmas vibrações de *CH* e *OH* presentes no espectro de transmitância para os números de ondas de 3000 e 3500 cm^{-1} respectivamente. O pico de maior intensidade aparece para as três amostras simultâneas em 1000 cm^{-1} com moléculas de *CO*.

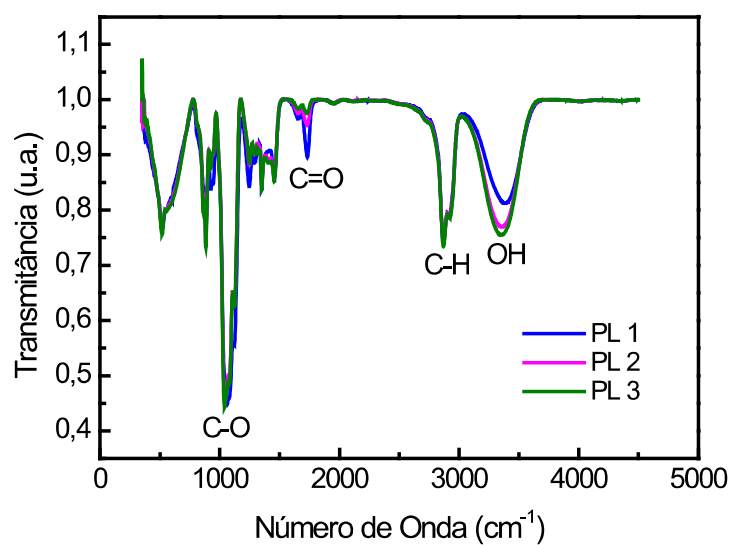


Figura 37: Espectro de Transmitância para os polímeros *PL1*, *PL2* e *PL3* com andiroba *PEPOM* de 12,5%, 25% e 50%.

A Figura 38 apresenta a absorvância para o *NM1*, *NM2* e *NM3* acrescentados de reagentes *PEPOM*. Observa-se vibrações das moléculas de *CH* por volta de 3000 cm^{-1} , vibrações das moléculas de *C=O* em torno de 1800 cm^{-1} , vibrações das moléculas de *CO* e vibrações de *FeO* em torno de 500 cm^{-1} .

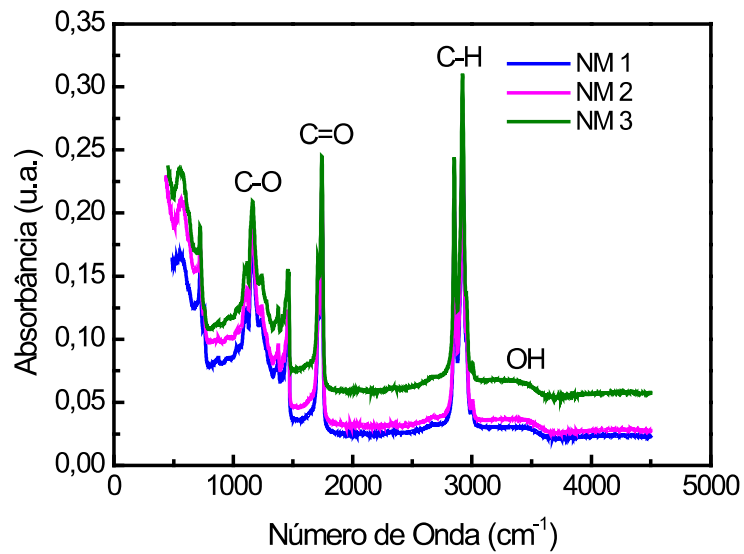


Figura 38: Espectro de Absorbância para o *NM1*, *NM2* e *NM3*.

A Figura 39 mostra o espectro de transmitância para o *NM1*, *NM2* e *NM3*, verifica-se vibrações de moléculas de *OH* para 3000 cm^{-1} , 1800 cm^{-1} para moléculas de *C=O*, 1200 cm^{-1} para moléculas *CO* e 585 cm^{-1} para moléculas de *FeO*.

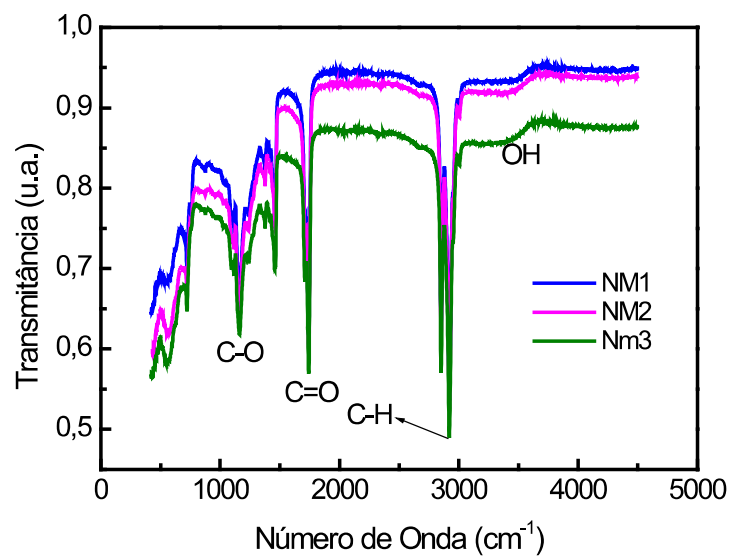


Figura 39: Espectro de transmitância para o *NM1*, *NM2* e *NM3*.

A Figura 40 apresenta o espectro de Absorbância para o ácido oleico e os reagentes PEPOM, é observado que os espectros de reagentes têm absorção aproximada em 3400 cm^{-1} com vibrações moleculares *OH*, verifica-se uma queda de absorbância gradual para os reagentes etil-di-poli(etilenoglicol). Vibrações moleculares *CH* para o ácido oleico são perceptíveis por volta de 3000 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} para *C=O*. Picos de maior intensidade para os reagentes e o ácido oleico são observados em 1000 cm^{-1} .

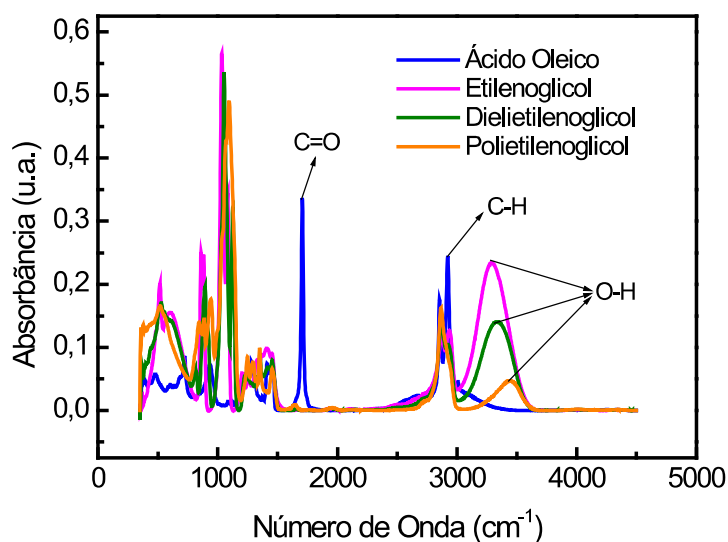


Figura 40: Espectro de absorvância para os reagentes *PEPOM* e ácido oleico.

A Figura 41 apresenta o espectro de transmitância para os reagentes *PEPOM*, observa-se vibrações moleculares *OH* em 3400 cm^{-1} , para os reagentes *PEPOM* com queda gradual de transmitância, vibrações moleculares *CH* acontecem em 3000 cm^{-1} e vibrações moleculares *C=O* acontecem em 1600 cm^{-1} . Na região dos 1000 cm^{-1} , ocorre a transmitância mais baixa para os reagentes e o ácido oleico.

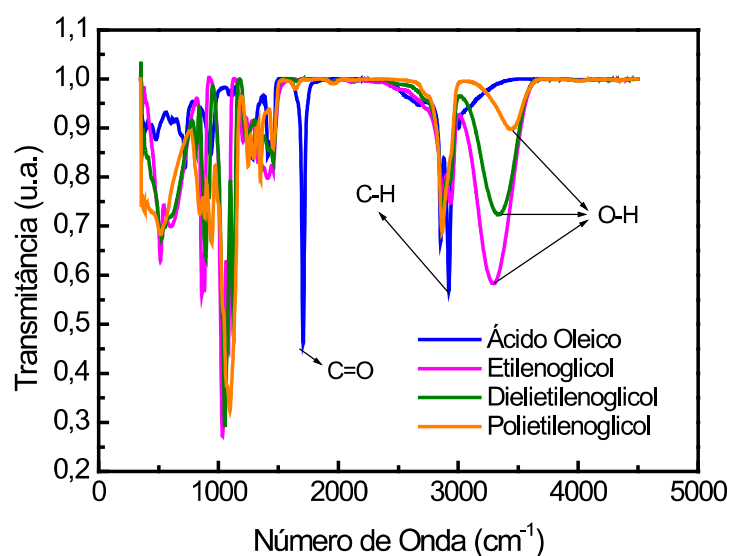


Figura 41: Espectro de transmitância para os reagentes *PEPOM* e ácido oleico.

A Figura 42 apresenta o espectro de absorvância do complexo $N1 A^+$, $N2 A^+$ e $N3 A^+$, vibrações moleculares de NH_2 , ocorrem em 3500 cm^{-1} , de maneira que existe um aumento da absorvância para o $N1 A^+$ e $N2 A^+$ sugerindo um máximo de absorvância para esta variação de concentração, visto que o $N3 A^+$ tem maior concentração de reagentes, porém diminui a absorvância. Vibrações moleculares para o CH são observadas em aproximadamente 3000 cm^{-1} . Na região que compreende aproximadamente 1500 cm^{-1} , observa-se vibrações moleculares $C=O$, CH_2 , vibrações moleculares em torno de 500 cm^{-1} para moléculas de FeO .

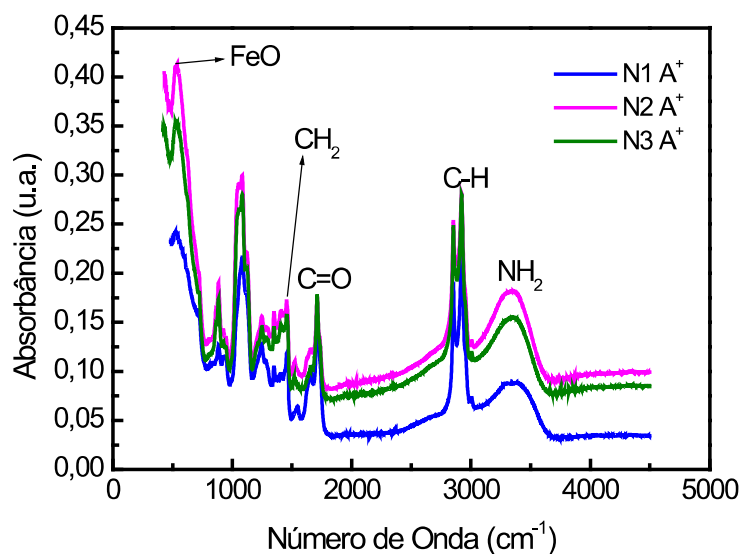


Figura 42: Espectro do complexo formado pelo polímero PEPOM em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue A+.

A Figura 43 apresenta o espectro de transmitância do complexo $N1 A^+$, $N2 A^+$ e $N3 A^+$, vibrações moleculares de NH_2 , ocorrem em 3500 cm^{-1} , de maneira que existe uma queda da transmitância para o $N1 A^+$ e $N2 A^+$ sugerindo um mínimo de transmitância para esta variação de concentração, visto que o $N3 A^+$ tem maior concentração de reagentes, porém aumenta a transmitância. Vibrações moleculares para o CH são observadas em aproximadamente 3000 cm^{-1} . Na região que compreende aproximadamente 1500 cm^{-1} , observa-se vibrações moleculares $C=O$, CH_2 , Vibrações moleculares em torno de 500 cm^{-1} para moléculas de FeO .

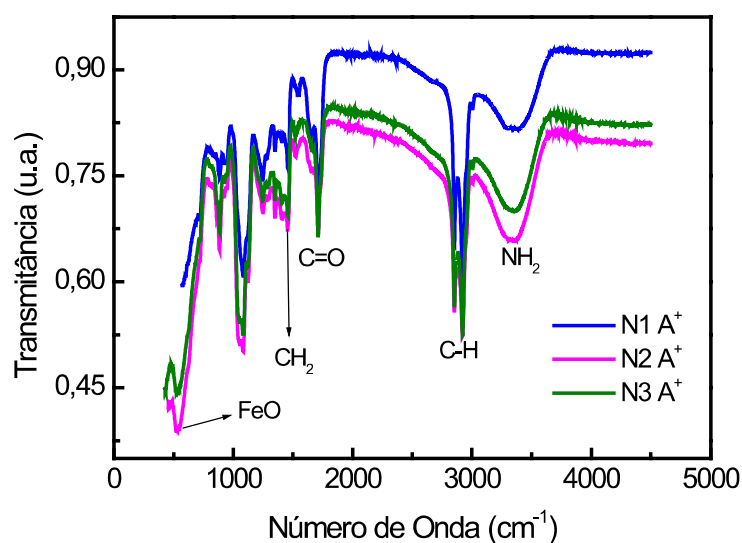


Figura 43: Mostra o espectro de transmissão para o complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue *A+*.

A Figura 44 apresenta o espectro de absorvância do complexo *N1 AB+*, *N2 AB+* e *N3 AB+*, vibrações moleculares de *OH*, ocorrem em 3350 cm^{-1} , de maneira que existe um aumento gradativo da absorvância para *N1 AB+* e *N2 AB+* sugerindo uma máxima absorção para *N1 AB+* e *N2 AB+*, no entanto para a *N3 AB+*, que possui a maior concentração de *PEPOM*, a absorvância tende a um decrescimento contrariando as amostras *N1 AB+* e *N2 AB+* que aumentam ao invés de diminuir a absorvância, mesmo estando em concentrações menores. Vibrações moleculares do tipo *OH* acontecem por volta de 3400 cm^{-1} , vibrações *CH* ocorrem por volta de 2900 cm^{-1} com uma absorvância de 3,5. Por volta de 1800 cm^{-1} acontecem vibrações moleculares de *C-O*, por volta de 500 cm^{-1} , aparecem as vibrações moleculares de *FeO*.

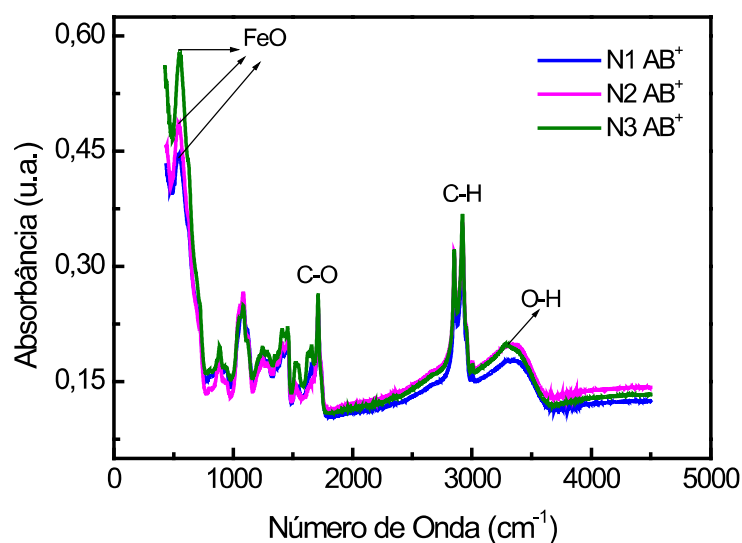


Figura 44:Mostra o espectro de absorvância para o complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de *v/v* diluídas em 1 ml de sangue *AB+*.

A Figura 45 apresenta o espectro de transmitância do complexo *N1 AB+*, *N2 AB+* e *N3 AB+*, vibrações moleculares de *OH*, ocorrem em 3350 cm^{-1} , de maneira que existe uma queda gradativa da transmitância para *N1 AB+* e *N2 AB+* sugerindo uma mínima transmitância para *N1 AB+* e *N2 AB+*, no entanto para a *N3 AB+*, que possui a maior concentração de *PEPOM*, a transmitância tende a um aumento contrariando as amostras *N1 AB+* e *N2 AB+* que aumentam ao invés de diminuir a absorvância, mesmo estando em concentrações menores. Vibrações moleculares do tipo *OH* acontecem por volta de 3400 cm^{-1} , vibrações *CH* ocorrem por volta de 2900 cm^{-1} . Por volta de 1800 cm^{-1} acontecem vibrações moleculares de *C-O*, por volta de 500 cm^{-1} , aparecem às vibrações moleculares de *FeO*.

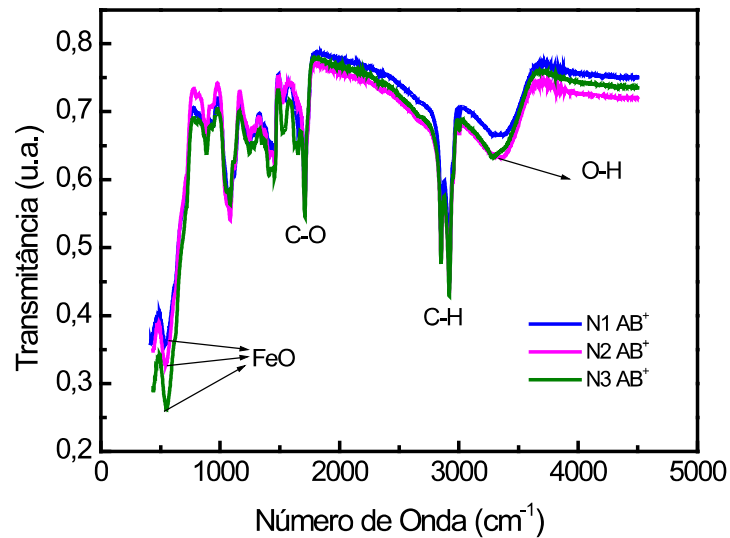


Figura 45: Espectro de transmitância para o complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue *AB*⁺.

A Figura 46 apresenta o espectro de absorbância do complexo *N1 B*⁺, *N2 B*⁺ e *N3 B*⁺, vibrações moleculares de *OH*, ocorrem em 3350 cm^{-1} , de maneira que existe uma queda gradativa da absorbância para *N1 B*⁺ e *N2 B*⁺ sugerindo uma mínima absorção para *N1 B*⁺ e *N2 B*⁺, no entanto para a *N3 B*⁺, que possui a maior concentração de *PEPOM*, a absorbância tende a um aumento, contrariando as amostras *N1 B*⁺ e *N2 B*⁺ que aumentam ao invés de diminuir a absorbância, mesmo estando em concentrações menores. Vibrações *CH* ocorrem por volta de 2900 cm^{-1} . Por volta de 1800 cm^{-1} acontecem vibrações moleculares de *C=O*, por volta de 500 cm^{-1} , aparecem as vibrações moleculares de *FeO*.

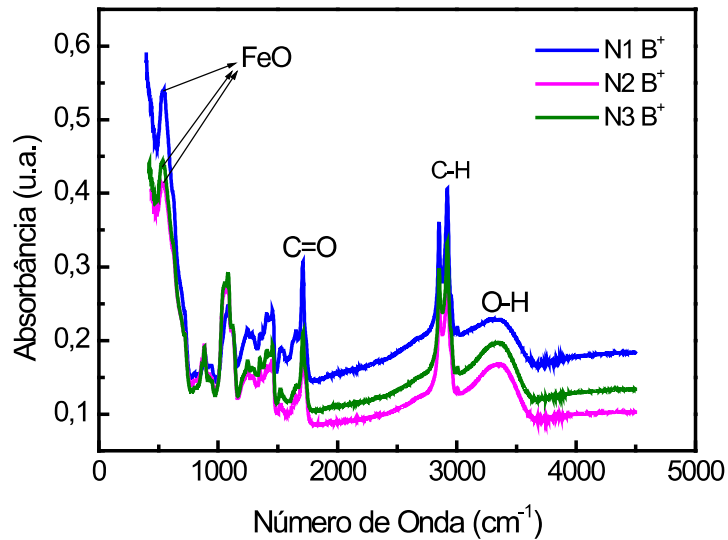


Figura 46:Espectro de Absorbância para o complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de v/v diluídas em 1 ml de sangue B^+ .

A Figura 47 apresenta o espectro de transmitância do complexo $N1 B^+$, $N2 B^+$ e $N3 B^+$, vibrações moleculares de *OH*, ocorrem em 3350 cm^{-1} , de maneira que existe um aumento gradativo da transmitância para $N1 B^+$ e $N2 B^+$ sugerindo uma mínima absorção para $N1 B^+$ e $N2 B^+$, no entanto para a $N3 B^+$, que possui a maior concentração de *PEPOM*, a transmitância tende a um aumento contrariando as amostras $PL1 NMHB^+$ e $PL2 NMHB^+$ que aumentam ao invés de diminuir a absorbância, mesmo estando em concentrações menores. Vibrações *CH* ocorrem por volta de 2900 cm^{-1} . Por volta de 1800 cm^{-1} acontecem vibrações moleculares de *C=O*, por volta de 500 cm^{-1} , aparecem às vibrações moleculares de Fe_3O_4 .

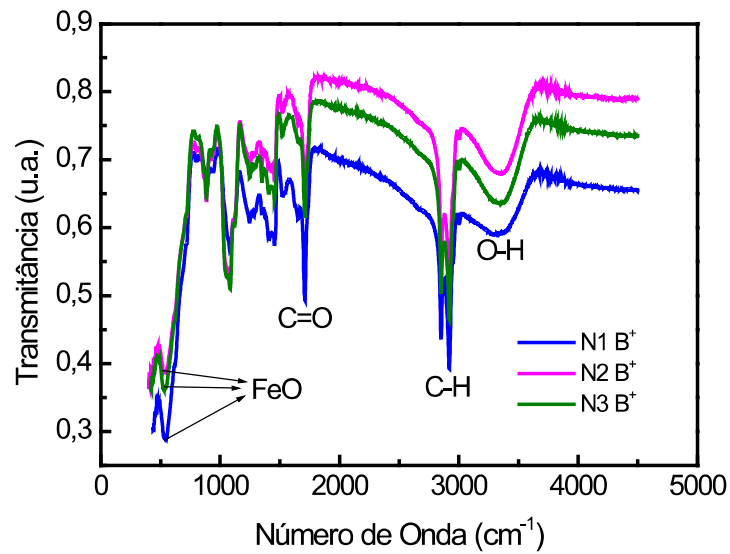


Figura 47: Espectro de transmitância para o complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de *v/v* diluídas em 1 ml de sangue *B+*.

A Figura 48 apresenta o espectro de absorbância do complexo *N1 O+*, *N2 O+* e *N3 O+*, vibrações moleculares de *OH*, ocorrem em 3350 cm^{-1} , de maneira que existe um decréscimo gradativo da absorbância para *N1 O+* e *N2 O+* sugerindo uma mínima absorção para *N1 O+* e *N2 O+*, no entanto para a *N3 O+*, que possui a maior concentração de etil-diepolietilenoglicol, a absorbância tende a um aumento contrariando as amostras *N1 O+* e *N2 O+* que aumentam ao invés de diminuir a absorbância, mesmo estando em concentrações menores. Vibrações *CH* ocorrem por volta de 3000 cm^{-1} . Por volta de 1800 cm^{-1} acontecem vibrações moleculares de *C=O*, por volta de 500 cm^{-1} , aparecem as vibrações moleculares de *FeO*.

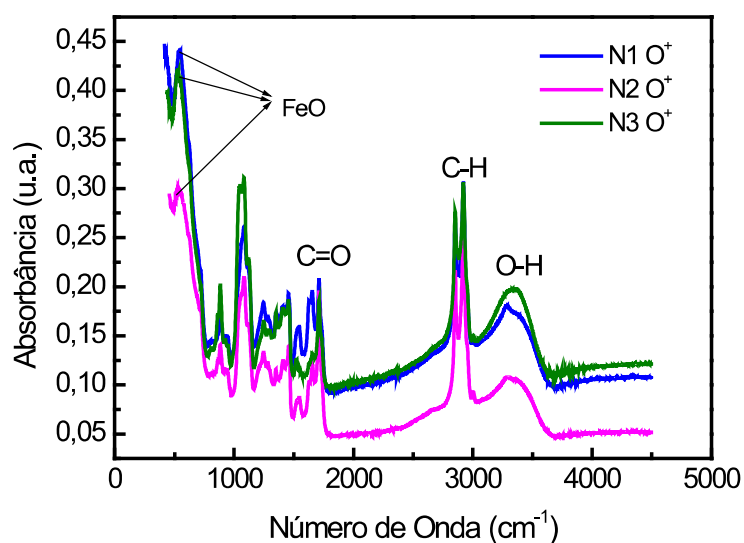


Figura 48: Espectro de Absorbância para o complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de *v/v* diluídas em 1 ml de sangue O^+ .

A Figura 49 apresenta o espectro de transmitância do complexo $N1 O^+$, $N2 O^+$ e $N3 O^+$, vibrações moleculares de *OH*, ocorrem em 3450 cm^{-1} , de maneira que existe um aumento gradativo da transmitância para $N1 O^+$ e $N2 O^+$ sugerindo uma mínima absorção para $N1 O^+$ e $N2 O^+$, no entanto para a $N3 O^+$, que possui a maior concentração de *PEPOM*, a transmitância tende a um aumento contrariando as amostras $N1 O^+$ e $N2 O^+$ que aumentam ao invés de diminuir a absorbância, mesmo estando em concentrações menores. Vibrações *CH* ocorrem por volta de 3000 cm^{-1} . Por volta de 1800 cm^{-1} acontecem vibrações moleculares de *C=O*, por volta de 500 cm^{-1} , aparecem às vibrações moleculares de Fe_3O_4 .

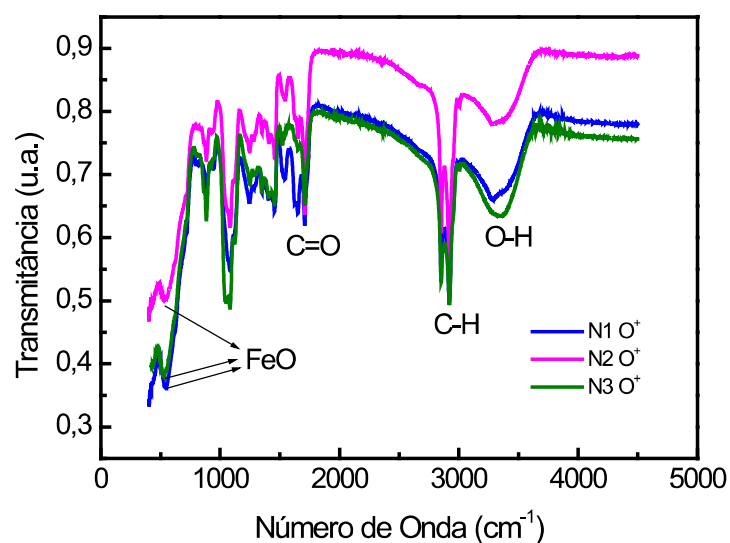


Figura 49: Espectro de transmitância para o complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de *v/v* diluídas em 1 ml de sangue O^+ .

A Figura 50 apresenta o espectro de absorvância do complexo $N1 O^+$, $N2 O^+$ e $N3 O^+$, vibrações moleculares de OH , ocorrem em 3350 cm^{-1} , de maneira que existe um queda gradativa da absorvância para $N1 O^+$ e $N2 O^+$ sugerindo uma mínima absorção para $N1 O^+$ e $N2 O^+$, no entanto para a $N3 O^+$, que possui a maior concentração de etil-die-polietilenoglicol, a absorvância tende a um aumento contrariando as amostras $N1 O^+$ e $N2 O^+$ que aumentam ao invés de diminuir a absorvância, mesmo estando em concentrações menores. Vibrações CH ocorrem por volta de 3000 cm^{-1} . Por volta de 1800 cm^{-1} acontecem vibrações moleculares de $C=O$, por volta de 500 cm^{-1} , aparecem as vibrações moleculares de FeO .

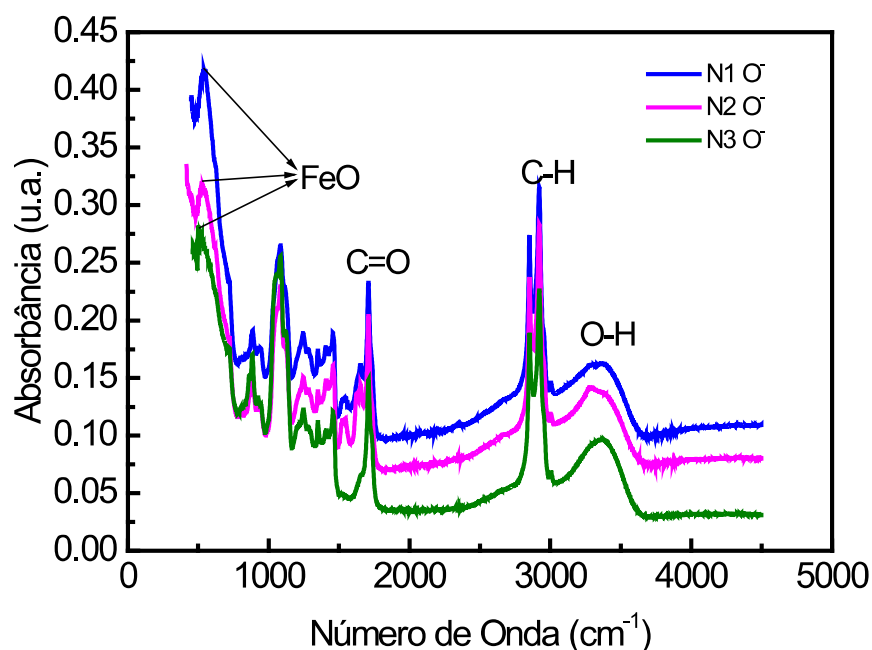


Figura 50: Espectro de Absorbância para o complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de *v/v* diluídas em 1 ml de sangue O^- .

A Figura 51 apresenta o espectro de transmitância do complexo $N1 O^-$, $N2 O^-$ e $N3 O^-$, vibrações moleculares de *OH*, ocorrem em 3450 cm^{-1} , de maneira que existe um aumento gradativo da transmitância para $N1 O^-$ e $N2 O^-$ sugerindo uma mínima absorção para $N1 O^-$ e $N2 O^-$, no entanto para a $N3 O^-$, que possui a maior concentração de *PEPOM*, a transmitância tende a um aumento contrariando as amostras $N1 O^-$ e $N2 O^-$ que aumentam ao invés de diminuir a absorbância, mesmo estando em concentrações menores. Vibrações *CH* ocorrem por volta de 3000 cm^{-1} . Por volta de 1800 cm^{-1} acontecem vibrações moleculares de *C=O*, por volta de 500 cm^{-1} , aparecem as vibrações moleculares de *FeO*.

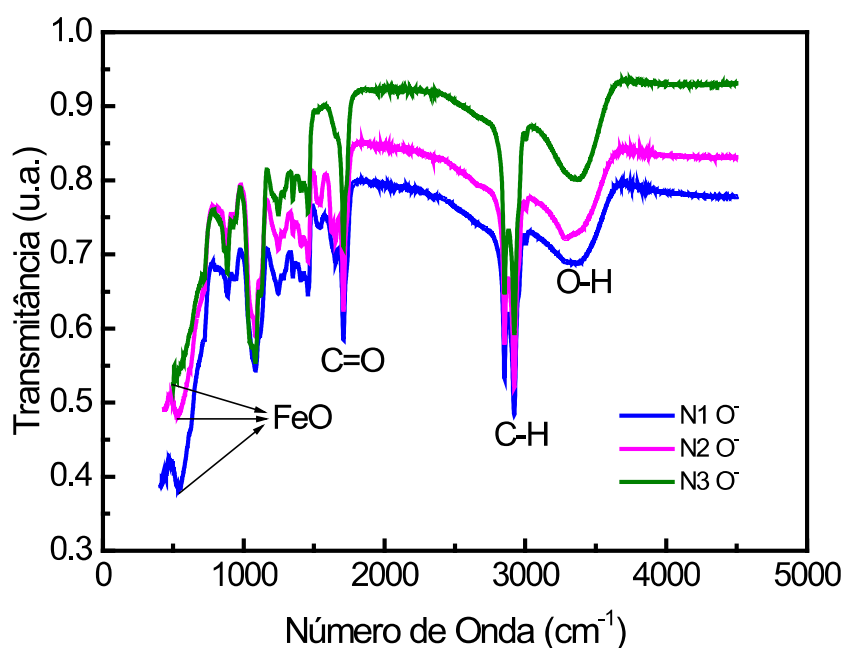


Figura 51: Espectro de transmitância para o complexo formado pelo polímero *PEPOM* em concentrações de 12,5%, 25% e 50% respectivamente, nanopartículas de magnetita a 10% de *v/v* diluídas em 1 ml de sangue O^+ .

4.7 Medida de Viscosidade do Sangue

As medidas de viscosidade foram realizadas no laboratório *LNBIOMAG* usando um viscosímetro *Quimis Q400*, onde apresenta sensibilidade em *mPa.s* e calibração realizada através de 4 rotores variando de baixa viscosidade a alta viscosidade. No caso da nanosonda magnética e sangue a variação de viscosidade foi registrada entre 4 a 7 *mPa.s*.

A Figura 52 apresenta curvas de viscosidade η_s dos tipos sanguíneos O^- , O^+ , A^+ , B^+ , AB^+ em função da concentração de polímero *PEPOM*. São observados que todas as curvas de viscosidades dos tipos sanguíneos têm comportamento do tipo Boltzman e não do tipo Cureau - Yasuda, que é para fluidos não newtonianos (*NN*), e cujo modelo mostra uma dependência da força de cisalhamento, enquanto nos resultados obtidos neste trabalho

apresenta uma dependência da concentração de polímeros e o modelo proposto pode ser escrito na forma:

$$\eta_s(c_{pepom}) = \eta_0 e^{\frac{c_{pepom}}{kT}} \quad \text{Eq. 4.1}$$

onde η_0 é a viscosidade inicial conforme modelo de Curreau – Yasuda e C_{PEPOM} a concentração de polímero, k é a constante de Boltzman e $T = 36,6^\circ \text{C}$.

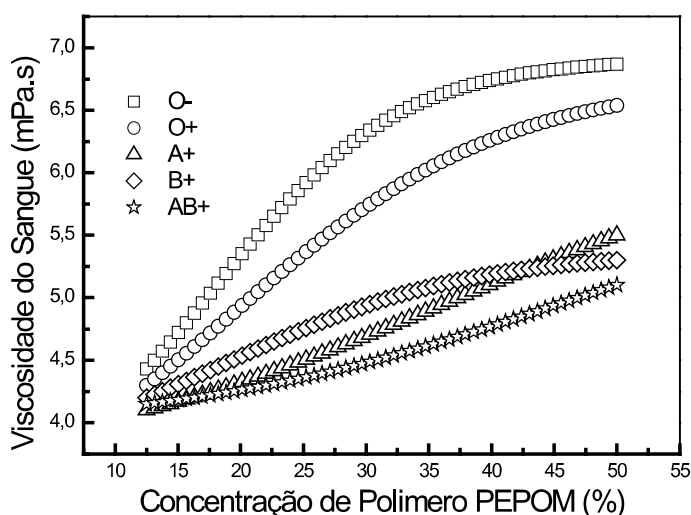


Figura 52: Curva da viscosidade η_s dos tipos sanguíneos O^- , O^+ , A^+ , B^+ , AB^+ em função da concentração de polímero $PEPOM$ realizadas a temperatura de $36,6^\circ \text{C}$.

4.8 Ressonância Paramagnética eletrônica

As análises de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (*RPE*) foram realizadas no laboratório do instituto de Física da universidade de Brasília - UNB, no espectrômetro de ressonância paramagnética eletrônica *BRUKER* modelo *ELEXSYS II E580* com intensidade modulada, operando na banda-X e temperatura ambiente. A amostra foi inserida no espectrômetro para análise com os seguintes parâmetros: Campo de modulação

(H) = 5 Gauss, tempo de varredura (t): 120 segundos e potência (P) de 1,002 mW e frequência modulada de 100 Khz. Nesta técnica mede-se a primeira derivada do sinal conforme demonstrado na Figura 53.

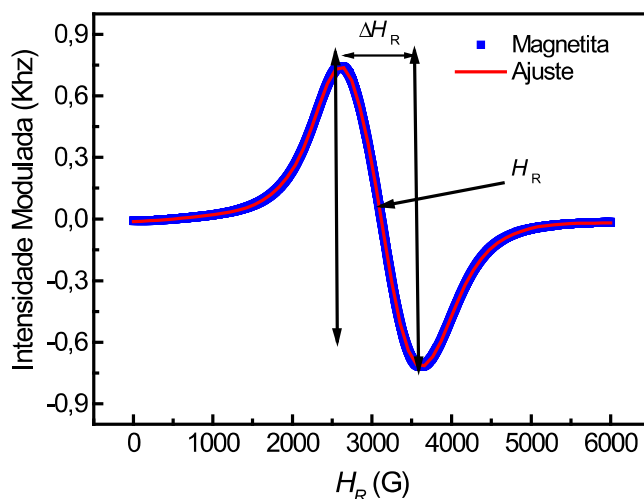


Figura 53: Espectro *EPR* da intensidade modulada e normalizada em função do campo magnético para amostra de nanopartículas magnéticas de magnetita.

A Figura 53 apresenta o espectro de *EPR* para as nanopartículas magnéticas de magnetita. Também é mostrado como é determinado a largura de linha (ΔH_R) e o campo central ressonante (H_R).

Na Figura 54 são mostrados os espectros para as amostras *NM1*, *NM2* e *NM3* correspondentes a uma constante concentração de 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita no complexo magnético polimérico. Observa-se que há uma variação na largura da linha ΔH_R nos três espectros e variação no campo ressonante H_R .

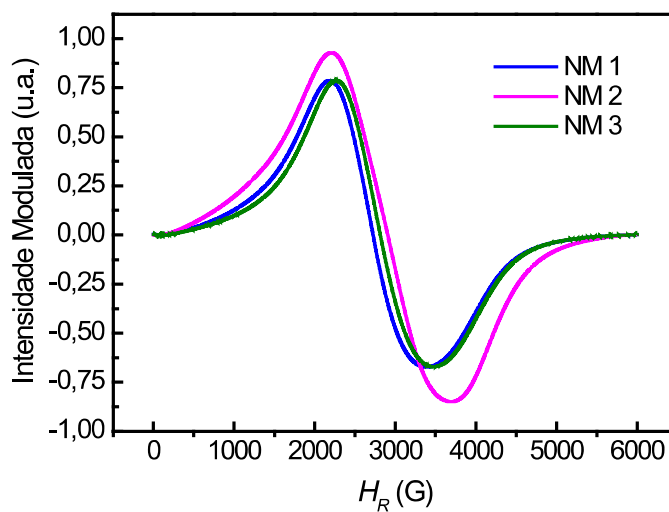


Figura 54: Espectros de EPR típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas com polímero PL1 (12,5%), PL2 (25%) e PL3 (50%) que foram renomeadas por *NM 1*, *NM 2* e *NM 3*.

A Figura 55 mostra espectros de *RPE* para as amostras *N1 A⁺*, *N2 A⁺* e *N3 A⁺*, correspondentes a uma constante concentração de 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita no complexo magnético polimérico. Observa-se variação na largura da linha ΔH_R nos três espectros e variação no campo ressonante H_R .

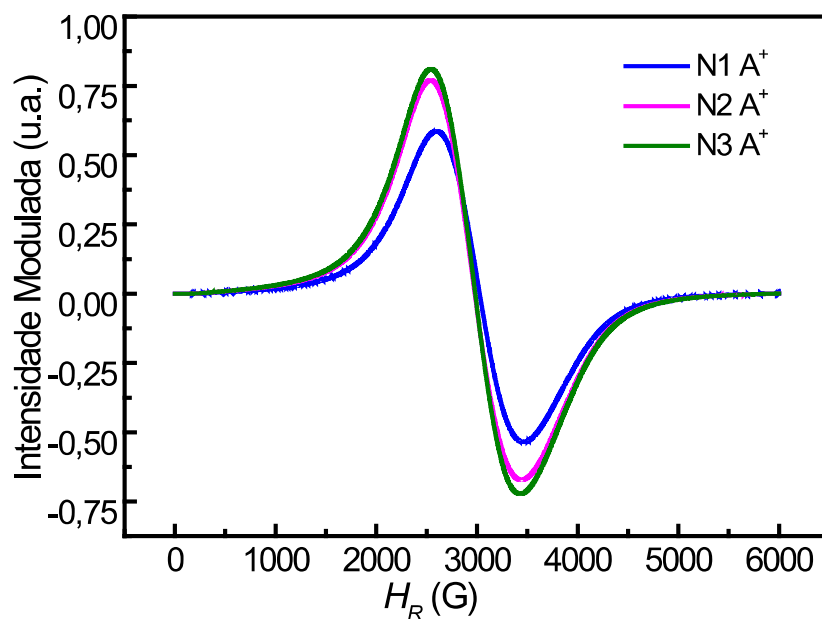


Figura 55: Espectros de EPR típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero *PL1* (12,5%), *PL 2* (25%) e *PL 3* (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue A^+ que foram renomeadas por $N1 A^+$, $N2 A^+$ e $N3 A^+$.

A Figura 56 mostra espectros de RPE para as amostras $N1 AB^+$, $N2 AB^+$ e $N3 AB^+$, correspondentes a uma constante concentração de 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita no complexo magnético polimérico. Observa-se variação na largura da linha ΔH_R nos três espectros e variação no campo ressonante H_R .

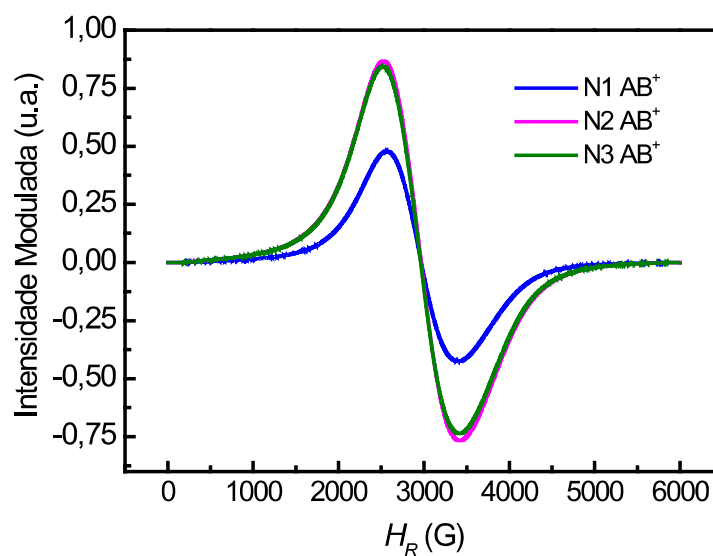


Figura 56: Espectros de EPR típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero *PL1* (12,5%), *PL 2* (25%) e *PL 3* (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue AB^+ que foram renomeadas por $N1 AB^+$, $N2 AB^+$ e $N3 AB^+$.

A Figura 57 mostra espectros de RPE para as amostras $N1 B^+$, $N2 B^+$ e $N3 B^+$, correspondentes a uma constante concentração de 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita no complexo magnético polimérico. Observa-se variação na largura da linha ΔH_R nos três espectros e variação no campo ressonante H_R . No entanto, a intensidade do espectro da amostra $N3 B^+$, sofre um decréscimo na intensidade, diferenciando das demais amostras que aumentam sua intensidade ao aumentar a concentração de reagentes *PEPOM*.

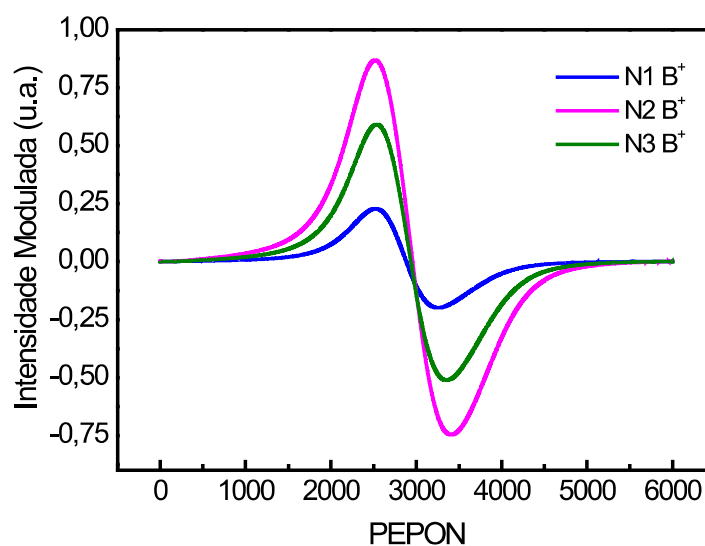


Figura 57: Espectros de EPR típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero *PL1* (12,5%), *PL 2* (25%) e *PL 3* (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue *B+* que foram renomeadas por *N1 B+*, *N2 B+* e *N3 B+*.

A Figura 58 apresenta espectro de RPE para as amostras *N1 O*, *N2 O* e *N3 O*, correspondentes a uma constante concentração de 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita no complexo magnético polimérico. Observa-se variação na largura da linha ΔH_R nos três espectros e variação no campo ressonante H_R . Para o complexo polimérico formado do fator Rh O, existe um aumento gradativo da intensidade modulada dos espectros de acordo com a variação da quantidade dos reagentes *PEPOM* sugerindo que quanto maior a concentração de reagentes maior a intensidade modulada.

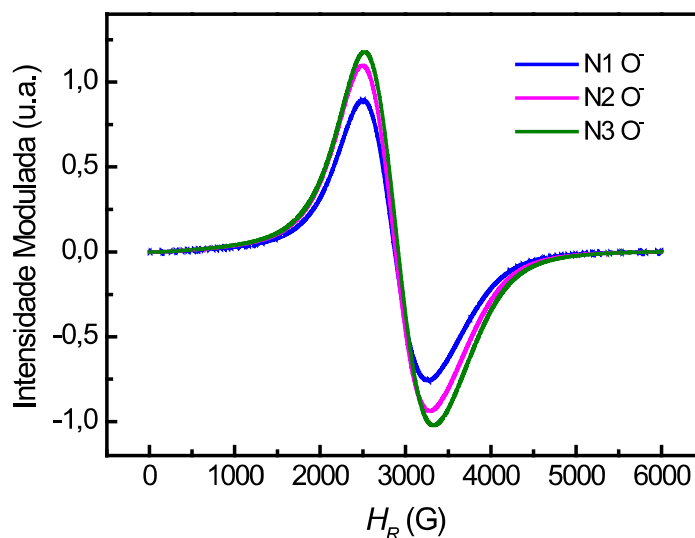


Figura 58: Espectros de EPR típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero *PL1* (12,5%), *PL 2* (25%) e *PL 3* (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue O^+ que foram renomeadas por *N1 O+*, *N2 O+* e *N3 O+*.

A Figura 59 apresenta espectro de *RPE* para as amostras *N1 O+*, *N2 O+* e *N3 O+*, correspondentes a uma constante concentração de 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita no complexo magnético polimérico. Observa-se variação na largura da linha ΔH_R nos três espectros e variação no campo ressonante H_R . Para o complexo polimérico formado do fator $Rh O^+$, ao aumentar a concentração de reagentes PEPOM no complexo polimérico, existe a tendência do decréscimo de intensidade do *N1 O+* e para o *N2 O+*, no entanto, o *N3 O+* que possui a maior concentração de reagentes, não segue a tendência dos anteriores e tende aumentar consideravelmente sua intensidade de modulação.

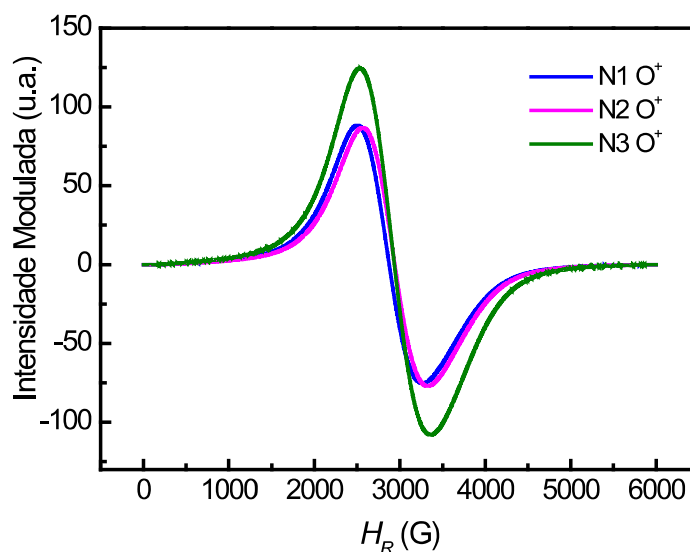


Figura 59: Espectros de EPR típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero *PL1* (12,5%), *PL2* (25%) e *PL3* (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue O^+ que foram renomeadas por $N1 O^+$, $N2 O^+$ e $N3 O^+$.

A Figura 60 apresenta os espectros de *EPR* do complexo polimérico, funcionalizadas com nanopartículas magnéticas de magnetita diluídas em 1 ml de sangue dos tipos A^+ , AB^+ , B^+ , O e O^+ , respectivamente. Observa-se que para o espectro *NPM* existe um aumento da largura de linha para o aumento da concentração de reagentes, no entanto, ela volta a cair, indicando máxima largura de linha para o *NPM* com 25% de *PEPOM*. O Espectro do campo de ressonância em função do *PEPOM* mostra um decréscimo do campo ressonante para o tipo sanguíneo A^+ até cerca de 30% e após isso existe uma estabilidade do campo, mesmo aumentando a concentração de *PEPOM*. Os tipos sanguíneos AB^+ , B^+ , O e O^+ tem seu campo praticamente estável em todas as variações de concentração. A nanosonda

magnética possui o menor campo ressonante em todas as amostras, porém tende a estabilizar o campo a partir de 25% da concentração de *PEPOM*.

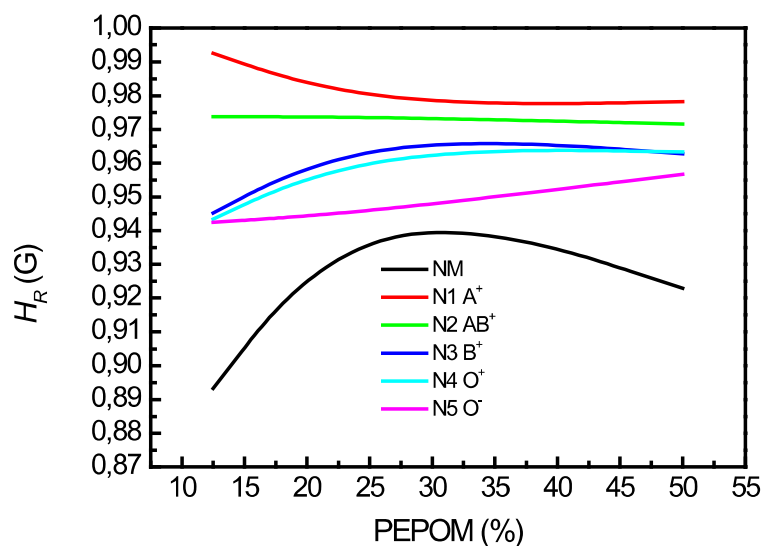


Figura 60: Espectro de *EPR* típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero PL1 (12,5%), PL2 (25%) e PL3 (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue A^+ , AB^+ , B^+ , O^+ e O^- que foram renomeadas por NA^+ , NB^+ , NAB^+ , NO^+ e NO^- .

A Figura 61 mostra espectros de *RPE* para as amostras NA^+ , NB^+ , NAB^+ , NO^+ e NO^- em função da concentração de PEPOM, correspondentes a uma constante concentração de 10% de nanopartículas magnéticas de magnetita no complexo magnético polimérico. Observa-se variação na largura da linha ΔH_R nos três espectros. Neste caso a largura de linha em função da concentração de polímeros para a nanosonda interação-hemácia, mostra uma variação constante para os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , O^+ e O^- . Já para o tipo sanguíneo B^+ há uma flutuação na variação da largura de linha. Isto sugere que a interação dipolar nanosonda-

hemácia sofre flutuação no fator g (fator giro magnético) mostrando que há agregação na superfície da hemácia com proteínas receptoras.

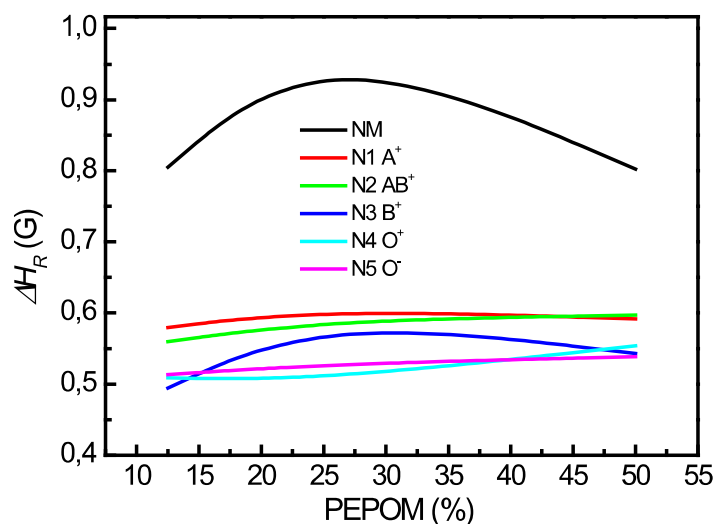


Figura 61: Espectro de EPR típicos para nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas por polímero PL1 (12,5%), PL 2 (25%) e PL 3 (50%) e o complexo dopado com 1 ml de sangue A^+ , AB^+ , B^+ , O^+ e O^- que foram renomeadas por NA^+ , NB^+ , NAB^+ , NO^+ e NO^- .

A Figura 62 apresenta o experimento de incubação da nanosonda na superfície da hemácia sanguínea para as tipagens A^+ , AB^+ , B^+ , O^+ e O^- em função do tempo de incubação de 0 a 120 min. Neste experimento foi quantificada a agregação de nanosonda em cada tipo de hemácia e é observado que ocorre crescimento até 30 minutos e depois ocorre uma saturação de agregação na superfície da hemácia. Foi observado uma maior agregação em mg/mol para os tipos O^- e O^+ com o tempo de incubação. Para quantificar a agregação da de nanosonda na superfície da hemácia foi usado uma solução de 0,1 mol de solução cloreto férrito mais 0,2 mol de $EDTA$ a volume de 0,02 ml para cada 1 ml do complexo NA^+ , NAB^+ , NB^+ , NO^- , NO^+ .

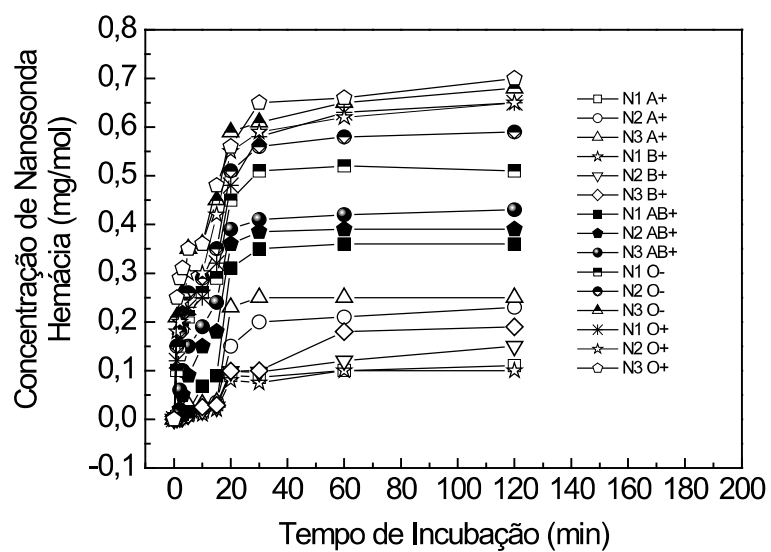


Figura 62: Curvas da concentração de hemácia em mg/mol em função do tempo de incubação para as nanosonda com os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O^- e O^+ .

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES

Neste trabalho foi realizado estudo da interação nanosonda magnética com a membrana da hemácia do sangue Humano dos tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , B^+ , O^+ e O^- .

A nanosonda magnética composta por concentrações diferentes de polímero carregado com densidade eletrônica polar foi utilizada para estudar a interação com a membrana da hemácia. Através da síntese, caracterização e discussão dos resultados, as conclusões deste trabalho são expostas abaixo.

1- Da síntese

- Foi possível elaborar um protocolo de síntese do polímero a base do óleo de andiroba, protocolo este baseado no processo químico – hidrotérmico.
- Foi possível elaborar a nanosonda magnética de magnetita.
- Foi possível elaborar um estudo de concentração e descobrir as concentrações ótimas para o estudo da interação nanosonda – hemácia.

2. Da caracterização

2.1 *Microscopia eletrônica*

➤ Os dados de microscopia eletrônica proporcionou determinar o diâmetro médio da nanopartícula de magnetita, cujo valor foi de 3,5 nm e polidispersão de 0,1 nm.

2.2 *Da espectroscopia Mossbauer*

➤ As mudanças observadas nas densidades eletrônicas sugerem que há uma migração na blindagem eletrônica entre centros superparamagnéticos favorecendo a migração de spins entre a estrutura espinélio no caso da magnetita e variação de spins nos átomos de ferro da hemoglobina das hemácias.

2.3 *Difratometria de raio - X*

➤ Foi possível obter o diâmetro médio da estrutura cristalina cujo valor foi de 3,5 nm e confirmar a estrutura do tipo espinélio com sítios tetraédrico e octaédrico.

2.4 *Espectroscopia de Fluorescência de raio X por energia dispersiva.*

➤ Permitiu identificar os elementos presentes nas amostras. No *PEPOM*, se verificou a presença de Argônio (*Ar*), Rutênio (*Ru*), Cobre (*Cu*), no

óleo de andiroba foi verificado a presença de Paládio (*Pa*) e Níquel (*Ni*). Na hemácia sanguínea aparece o Ferro (*Fe*) e Paládio (*Pa*).

2.5 *Espectroscopia Infra Vermelho Próximo – NIR*

➤ Observamos a reflectância de grupos *OH*, *C-H*, *C=O* e *FeO* em todas as amostras estudadas tais como polímeros, tipos sanguíneos e nanosonda magnética-hemácia.

2.6 *Espectroscopia Infravermelha com transformada de Fourier FTIR*

➤ Verificaram-se vibrações moleculares de estiramento axial nos grupos *OH* e *CH*, em todas as amostras de polímeros, tipos sanguíneos e nanosonda-hemácia. Os tipos sanguíneos *A⁺*, *AB⁺*, *B⁺*, *O⁻* e *O⁺* apresentaram vibrações molecular do tipo estiramento axial presentes tanto nos espectros de absorbância e transmitância.

2.7 *Viscosidade Sanguínea*

➤ Foram observados que todas as curvas de viscosidades em função da concentração dos tipos sanguíneos *A⁺*, *AB⁺*, *B⁺*, *O⁻* e *O⁺* apresentaram comportamento conforme modelo Boltzman.

2.8 *Ressonância Paramagnética eletrônica*

➤ A largura de linha em função da concentração de polímeros para a nanosonda interação-hemácia, mostra uma variação constante para os tipos sanguíneos A^+ , AB^+ , O^+ e O^- . Já para o tipo sanguíneo B^+ há uma flutuação na variação da largura de linha. Isto sugere que a interação dipolar nanosonda-hemácia sofre flutuação no fator g (fator giro magnético) mostrando que há agregação na superfície da hemácia com proteínas receptoras.

2.9 *Concentração de Hemácia (mg/mol) em função do tempo(min)*

➤ A curva para a concentração de hemácia em função do tempo de incubação mostra que houve um aumento da concentração de nanosonda na hemácia durante os primeiros 30 minutos de incubação, após este período, existe uma saturação da agregação de nanosondas na hemácia. Foi observado uma maior agregação em mg/mol para os tipos O^- e O^+ com o tempo de incubação.

CAPITULO 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGGARWAL, PARAG, et all. **Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy.** *Advanced Drug Delivery Reviews* 61 (2009) 428–437.
- [2] DOBROVOLSKAIA, MARINA, et all. **Interaction of colloidal gold nanoparticles with human blood: effects on particle size and analysis of plasma protein binding profiles,** *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 5 (2009) 106–117.
- [3] DEVIKA CHITHRANI, B. et all. **Intracellular uptake, transport, and processing of nanostructures in cancer cells.** *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 5 (2009) 118–127.
- [4] REINHARD, P., **Anatomia humana,** Koogan, 2006.
- [5] PAPELL, S.S. **Low viscosity magnetic fluids obtained by the colloidal suspension of magnetic particles.** V. 5, Patent 3.215.572, 1965.
- [6] ROSENSWEIG R.E., **Ferro hydrodynamics.** Mineola, 1997.
- [7] CULLITY, B. D., **Introduction to Magnetic Material,** Addison – Wesley Publishing Company, Estados Unidos (1972).
- [8] KITTEL, C., **Introdução a física do estado sólido,** Guanabara Dois Rio de Janeiro.
- [9] ARANTES, F. R., **Estudo do comportamento magnético de nanopartículas de magnetita e nanofios de níquel diluídos em cristais líquidos liotrópicos.** Dissertação, Instituto de Física – Universidade de São Paulo – USP, 2010.

- [10] SALVADOR, M. **Distribuição de Barreiras de Energia de nanopartículas magnéticas em Campo Externo.** Dissertação, Departamento de Física – Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.
- [11] SANTOS J. G., SILVEIRA, L. B., A. C., OLIVEIRA, AND MORAIS, P. C., J. Phys. IV France 125, 27-30, 2005.
- [12] ARTEMKINA, B. A., **Preparation and characterization of colloidal dispersions of layered niobium chalcogenides,** Colloids and Surfaces A: Physico chem. Eng. Aspects 461 (2014) 30–39.
- [13] MAHMOUDI, M., et all. **Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Development, surfasse modification and applications in chemotherapy.** Advanced Drug Delivery Reviews 63 (2011) 24–46.
- [14] SHEILA, R.S., et all. **Caracterização e estabilidade físico química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos.** Quim. Nova, Vol. 26, No. 5, 726-737, 2003.
- [15] FABIAN, F., A., **síntese e caracterização de nanopartículas de maguemita suspensas em NaOH À 10% E HCl.** Departamento de Física, Universidade Federal de Rondônia – UNIR – 2009.
- [16] OLIVEIRA, F.M.L., et al. **The influence of the nanoparticles dilution upon the struture of molecular-coated magnetic fluid.** J. of Non-Cristalline Sol. V.352, p.3689-3691, 2006.
- [17] LACAVA, Z.G.M., MORAIS, P.C. **Aplicações Biomédicas de Nanopartículas Magnéticas.** Revista eletrônica parcerias estratégicas, nº18, 2004.

- [18] DURAN, N.; MATOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. (ORG.). **Nanotecnologia: Introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação**. 1ed. São Paulo: Artliber, v.1, p.175-181, 2006.
- [19] YANASE, M.; SHINKAI, M.; HONDA, H.; WAKABAYASHI, T.; YOSHIDA, J.; KOBAYASHI, T. **Intracellular Hyperthermia for Cancer Using Magnetite Cationic Liposomes: An in vivo Study**. Jpn. J. Cancer Res. 89, p.463-470, apr.1998.
- [20] HUILGOL, R. R.; YOU, Z.; **Application of the augmented Lagrangian method to steady pipe flows of Bingham, Casson and Herschel-Bulkley fluids**. Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics, 128, p.126-143, 2005.
- [21] HINCH E.J., 1977, “**Mechanical Models of Dilute Polymer Solutions in Strong Flows**”, Phys. Fluids, 20, S22.
- [22] TABOR, M., DURNING, C.J. AND O’SHAUGHNESSY, 1989, “**The Microscope Origin of Drag Reduction**”, Internal report of university of Columbia, Depts. Of Appl. Phys. Appl Chem. And Chem. Eng., New York, NY 10027.
- [23] BRETAS, R.E.S.; D’Ávila, M.A. **Reologia de Polímeros Fundidos**, São Carlos: Editora da UFSCar, 2000.
- [24] ANDRADE, L.C.F., et al. **The Carreau-Yasuda Fluids: a Skin Friction Equation for Turbulent Flow in Pipes and Kolmogorov Dissipative Scales**. ABCM, Vol. XXIX, No. 2, April-June 2007.
- [25] COSTA-SILVA J. H., **Estudo Toxicológico Reprodutivo da Carapa guianensis Aublet (Andiroba) em Ratas Wistar**, Acta Farm. Bonaerense 25 (3): 425-8 (2006).
- [26] CUSTODIO R.; KUBOTA, L. T.; ANDRADE, J. C. **Lei dos processos de absorção da radiação**, 2000, disponível em: <http://chemkeys.com/br/category/todos-os-artigos/espectroscopia> (acesso 16/09/2010).

[27] BASSI, A. B. M. S. **Conceitos Fundamentais em Espectroscopia**, disponível em: <http://chemkeys.com/br/category/todos-os-artigos/espectroscopia> (acesso em 16/07/2014).

[28] ALMEIDA, F. M. N. **Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (FT-NIR) na Caracterização de Farinhas para Alimentação Pueril**. Dissertação. Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal. Novembro, 2009.

[29] SCAFI, S. H. F. **Sistema de Monitoramento em Tempo Real de Destilações de Petróleo e Derivados Empregando a Espectroscopia no Infravermelho próximo** 196 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

[30] CORDEIRO, G. A. **Desenvolvimento de metodologias espectroscópicas multivariadas para quantificação de fármacos em formas farmacêuticas**. 97 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Centro de Ciências Agrárias- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

[31] BARCELLOS, D. C. **Caracterização do carvão vegetal através do uso de espectroscopia no infravermelho próximo**. (Dissertação) Universidade Federal de Viçosa, 2007.

[32] Cullity, B.D.; **Elements of X-ray Diffraction**. Addison-Wesley Publishing Company, USA (1978).

[33] Ribas, R.V. & Rizzutto, M.A.; **Difração de Raios X e Elétrons. Laboratório de Estrutura da Matéria II**; Instituto de Física – FNC 314 (IF-USP), São Paulo (1996). Disponível em http://socrates.if.usp.br/~lkono/grad/fnc314/raios_X_2.pdf.

- [34] Albers, A.P.F., Boschi, A.O., Baldo, J.B., Melchiades, F.G. & Machado, R.; **Um método simples de caracterização de argilo-minerais por difração de raios X**. *Cerâmica* 48, n 305, p.34-37 (2002).
- [35] Zachariasen, W.H.; **Theory of X-Ray Diffraction in Crystals**. Dover publications, New York (1967)
- [36] Klug, H.P. & Alexander, L.E.; **X-ray diffraction procedures for polycrystalline and amorphous materials**. John Wiley, New York, p.540-552 (1974).
- [37] Espírito Santo, P.M., Mariano, L., Lascio, E.R., Pinto, J.M., Caraça, R.S. & Cabral, R.; **Caracterização da Ametista por Difração de Raios-X**. Instituto de Física da USP. Paineis (2005). Disponível em www.if.usp.br/anaisgrad/posters_2005/painel09.pdf.
- [38] Silva, R. da. ; **Estudo e implementação de um sistema de detecção de raios X com aplicações em cristalografia**. Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas; Tese de Doutorado. (2006).
- [39] POOLE JUNIOR, C. P. **Elétron spin resonance**: a comprehensive treatise on experimental techniques. New York: John Wiley & Sons, 1983.
- [40] ATHERTON, N. M. Bruker lecture: **The nuclear zeeman interaction in electron resonance**. CHEMICAL SOCIETY REVIEWS, London, v. 22, n. 5, p. 293-298, 1993.
- [41] ALGER, R. S. **Electron paramagnetic resonance: technique and applications**. New York: Wiley Inter science, 1968.
- [42] SILVEIRA, L. B. **Estudo das propriedades magnéticas de fluidos e nanocompósitos magnéticos biocompatíveis**. 2006. Tese (Doutorado em Física) Universidade de Brasília, Brasília.

- [43] SCHREIER, S. Ciências moleculares. **Apostila do laboratório de espectroscopia**. jun. 2000. Disponível em: <<http://www.iq.usp.br/wwwdocentes/>>. Acesso em: 1 mar. 2008.
- [44] BRUKER. **Apostila**. Disponível em: <<http://www.bruker.com./>>. Acesso em: 11 mar. 2008 a.
- [45] SAIFUTDINOV, R. G. et al. **Electron paramagnetic resonance in biochemistry and medicine**. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002.
- [46] HAIRE, D. L. Et al. **Identification of irradiated foodstuffs: a review of the recent literature**.
- [47] PLONKA, P. W. M.; ELAS, M. **Application of the electron paramagnetic resonancespectroscopy to modern biotechnology**. Current Topics in Biophysics, Kraków, v. 26, n. 1, p. 175-189, 2002.
- [48] ARAÚJO, P. P. Dissertação de Mestrado. IF-UnB (2009).
- [49] SHIGEYOSI, W.T., **Espectroscopia Mossbauer – Condições experimentais de aquisição e estocagem multicanal para a análise numérica de dados com adequação de resolução espectral**. Universidade Federal de São Carlos. 2012.
- [50] FABRIS, J. D. Espectroscopia Mössbauer. v. 5, n 2, (2007).
- [51] J. M. Zuo, Microscopy Research and Technique, 49, 245 (2000).
- [52] CORREIA, C.A., Caracterização de Polímeros Multifásicos. Parte 1: Processamento e Morfologia. Polímeros: Ciência e Tecnologia - Jan/Mar- 95.