



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS PÓS-GRADUAÇÃO EM
NANOCiência E NANOBIOtecnologia-PPG/NANO

TESE DE DOUTORADO

**“SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA
RECOBERTAS POR BICAMADA DE ÁCIDO OLEICO E ÓLEO ESSENCIAL
(Fe₃O₄@AO/OE) VISANDO A APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DE ÚLCERAS
GÁSTRICAS”**

JASON JERRY ATOCHE MEDRANO

Brasília – DF, fevereiro de 2018

“SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA RECOBERTAS POR BICAMADA DE ÁCIDO OLEICO E ÓLEO ESSENCIAL (Fe₃O₄@AO/OE) VISANDO A APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DE ÚLCERAS GÁSTRICAS”

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Huamaní Coaquira

Co-orientador: Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez

Teses de Doutorado apresentada no Instituto de Biologia ao Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Nanociência e Nanobiotecnologia.

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia

Tese de Doutorado

Jason Jerry Atoche Medrano

Título:

**“SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA
RECOBERTAS POR BICAMADA DE ÁCIDO OLEICO E ÓLEO ESSENCIAL
(Fe₃O₄@AO/OE) VISANDO A APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DE ÚLCERAS
GÁSTRICAS”**

Comissão Examinadora

Prof. José Antonio Coaquira Huamaní
Presidente/Orientador
IF/UNB

Prof. Dr. Sebastião William da Silva (IF-UnB)

Membro Titular Interno Vinculado ao
Programa

Prof. Dr. Paulo Eduardo Narcizo de Souza
(IF-UnB)

Membro Suplente Interno Vinculado ao
Programa

Prof. Dra. Glécia Virgolino da Silva Luz
(NANOTEC-FGA/UnB)

Membro Titular Interno Não Vinculado ao
Programa

Prof. Dr. Jones Willian Soares de Queiroz
(IFMT)

Membro Titular externo Não Vinculado
ao Programa

Brasília – DF, 28 de fevereiro de 2018

Dedicatória

A minha família, pelas inúmeras noites no mercado Caquetá e por tudo aquilo que vivenciei nesses anos. Ao Rayo, Chopper, Lala, gb, meus companheiros incondicionais; a todas as pessoas que deram umas palavras de ânimo para continuar nesse longo caminho, em especial para Julia Nazario e Maria Medrano, mestres que me ensinaram muitas coisas, minhas conquistas são oferecidas como retribuição a todo esforço que fizeram por mim.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. José Antonio Huamaní Coaquira, pela orientação de doutorado, a confiança depositada, profissionalismo e pelas discussões acertadas durante toda a pesquisa.

Ao professor Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez-UFAC, pela co-orientação e apoio brindado.

Ao professor Dr. Marcelo Henrique Sousa, pela ajuda incondicional e pelas acertadas sugestões durante a pesquisa.

Ao professor Dr. Garg Vijayendra, pelo apoio e paciência, oferecida com as medidas Mössbauer no laboratório de espectroscopia Mössbauer, IF-UnB.

Ao professor Dr. Aderbal Oliveira, pelo apoio e paciência, oferecida com as medidas Mössbauer no laboratório de espectroscopia Mössbauer, IF-UnB.

À professora Dra. Graziela Joanitti, pelo apoio incondicional nas discussões da parte dos ensaios *in vitro*, sempre um exemplo como profissional e como pessoa.

À professora Dra. Maria Jose do laboratório de pesquisa em polímeros do IQ-UnB, pela ajuda com as análises de Termogravimetria.

Ao Dr. Fermin Aragón, pelo apoio brindado sempre que foi requerido, pelas dicas e críticas construtivas que contribuíram nesse trabalho.

Ao Dr. Jhon Mantilla Ochoa, pelo apoio, sugestões e sempre de bom ânimo para realizar as atividades no laboratório.

Ao Dr. Fernando Sergio Drummond Viana de Faria da Universidade Federal do Acre (UFAC), pelo apoio incondicional sempre que foi solicitado, pela grande amizade e pela gentileza que caracteriza ele.

Ao pessoal da Universidade Federal do Acre (UFAC) do grupo da BIONORTE, pelo apoio que sempre me receberam de portas abertas para o uso dos laboratórios. À estudante de doutorado do programa Bionorte da UFAC, Ana Paula, pelo apoio com os ensaios *in vivo*.

Às minhas colegas e amigas da Unb, Ms. Natália Gomes, Ms. Ana Cláudia, Ms. Ludmila David, pelas correções do Português no trabalho.

Aos colegas de pesquisa da Física, Química e da Biologia da UnB, a meu amigo o Juan Romero, que sempre tinha alguma coisa engraçada a dizer que fazia os dias laboriosos da pesquisa mais amenos. Ao Ernesto Ramos pelo apoio e parceria durante esses anos. Ao Geraldo Barboza pela gentileza. Ao Ms. Henrique Loback do programa PPGNANO pelo apoio brindado nos testes biológicos *in vitro*.

Aos técnicos dos diferentes laboratórios, Geofísica, Química, Biologia, Cnano, Laboratório de Microscopia da UFG, entre outros. Pela ajuda brindada na hora de realizar as análises das amostras.

À empresa visu@Inet pelo apoio brindado nesses anos de pós-graduação.

Ao INCT em Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília (UnB).

Ao DPP pelo apoio financeiro concedido para participar de eventos no exterior.

À Capes pelo apoio financeiro da bolsa concedida durante o período de doutorado.

Às pessoas que esqueci de mencionar, pois a lista é enorme, desde a pessoa mais simples até a mais sofisticada (*open mind*), que direta ou indiretamente ajudaram-me nesse tempo tudo, saibam que agradeço vocês sinceramente.

Si no habéis sido ronin siete veces, no podréis reivindicar efectivamente el título de verdadero bushi. Tropezad y caed siete veces, pero levantaos a la octava.

Hagakure - Yamamoto Tsunetomo
(Siglo XVII)

RESUMO

Neste trabalho é reportada a síntese e caracterização de nanopartículas de Fe_3O_4 . Recoberta com uma camada de ácido oleico ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AO$), e uma camada de AO e uma camada de óleo essencial (OE), ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AO/OE$). O OE usado foi extraído das folhas da planta amazônica *Croton cajucara Benth*. Foram sintetizadas duas séries de $\text{Fe}_3\text{O}_4/AO$ (amostras M1 e alf1) e de $\text{Fe}_3\text{O}_4@AO/OE$ (amostras M2 e alf2) vislumbrando aplicações no tratamento de úlceras gástricas. A caracterização estrutural realizada via difração de raios-X confirmou a formação da fase de Fe_3O_4 no núcleo das nanopartículas das duas séries e cujos parâmetros de rede foram próximos ao valor da magnetita *bulk*. O tamanho de cristalito médio estimado foram de 10,1 nm e 8,1 nm para a amostra M1 e alf1, respectivamente. A caracterização morfológica realizada via Microscopia Eletrônica de Transmissão mostrou a formação de nanopartículas quase esféricas e monodispersas com tamanho de 10,5 nm e 13,7 nm para as amostras M1 e M2, e de 8,5 nm e 10,1 nm para as amostras alf1 e alf2, respectivamente. Os resultados obtidos das caracterizações feitas por Espectroscopia Infravermelha (FTIR) e Termogravimetria (TGA) confirmaram a presença do AO recobrando a superfície das nanopartículas e a presença de OE sobre a camada de AO. Os resultados da caracterização por Espalhamento de Luz dinâmico (DSL) indicaram um tamanho hidrodinâmico de 14,5 nm e Potencial Zeta de -28 mV para a amostra alf2. A análise das curvas *Zero Field Cooled* (ZFC) e *Field Cooled* (FC) das medidas magnéticas revelaram a ocorrência de estado bloqueado/congelado abaixo do máximo na curva ZFC localizado em $T_{\text{max}} \sim 210$ K e ~ 35 K para as amostras M1 e M2, e $T_{\text{max}} \sim 81$ K e ~ 40 K para as amostras alf1 e alf2, respectivamente. A análise da dependência térmica do campo coercivo obtido dos laços de histerese em varias temperaturas revelou a ocorrência de um comportamento tipo *spin-glass* (CG) em baixas temperaturas e superparamagnético (SP) na região de $T > 80$ K para a amostra recoberta com AO (alf1). Já para a amostra recoberta com as camadas de AO e OE (alf2), os resultados revelaram um comportamento de estado bloqueado (BS) consistente com partículas que não interagem para $T < 40$ K. Acima desta temperatura, o sistema apresenta um comportamento SP. Esse comportamento superparamagnético/bloqueado foi confirmado por medidas de espectroscopia Mössbauer a 77K. Os resultados de medidas de susceptibilidade AC confirmam a ocorrência do comportamento tipo *spin-glass* na amostra alf1, provocado pela ocorrência de fortes interações partícula-partícula. Esse comportamento tipo *spin-glass* desaparece na amostra alf2, na qual as interações são desprezíveis. Os ensaios biológicos realizados na amostra alf2 mostraram um baixo efeito citotóxico em células fibroblasto murino normal para dose abaixo de 25 $\mu\text{g/mL}$ no teste de viabilidade celular (MTT). Não foi determinada toxicidade aguda na dose de 25 $\mu\text{g/mL}$ da amostra alf2 administrada via gavagem em camundongos depois de 24 h, mas verificou-se resposta ao campo magnético externo do material coletado nos estômagos dos animais.

Palavras-chaves: Nanopartículas de magnetita; ácido oleico, óleo essencial, *Croton cajucara Benth*, propriedades magnéticas, interações partícula-partícula, superparamagnetismo, citotoxicidade.

ABSTRACT

In this work the synthesis and characterization of Fe₃O₄ nanoparticles is reported. Covered with a layer of oleic acid (Fe₃O₄@AO), and a layer of AO and a layer of essential oil (OE), (Fe₃O₄ →AO/OE). The used OE was extracted from the leaves of the Croton cajucara Benth Amazonian plant. Two series of Fe₃O₄/AO (samples M1 and alf1) and Fe₃O₄ @ AO/OE (samples M2 and alf2) were synthesized for the treatment of gastric ulcers. The structural characterization performed by X-ray diffraction confirmed the formation of the Fe₃O₄ phase in the core of the nanoparticles of the two series and whose network parameters were close to the value of the bulk magnetite. The estimated average crystallite size was 10,1 nm and 8,1 nm for sample M1 and alf1, respectively. The morphological characterization carried out by Transmission Electron Microscopy showed the formation of almost spherical and monodisperse nanoparticles with a size of 10,5 nm and 13,7 nm for samples M1 and M2 and of 8,5 nm and 10,1 nm for samples alf1 and alf2 respectively. The results of the characterizations made by Infrared Spectroscopy (FTIR) and Thermogravimetry (TGA) confirmed the presence of AO by covering the surface of the nanoparticles and the presence of OE on the AO layer. The results of the Dynamic Light Scattering (DSL) characterization indicated a hydrodynamic size of 14,5 nm and Zeta Potential of -28 mV for the alf2 sample. The analysis of the Zero Field Cooled (ZFC) and Field Cooled (FC) curves of the magnetic measurements revealed the occurrence of a frozen / frozen state below the ZFC curve located at T_{max} ~ 210 K and ~ 35 K for samples M1 and M2, and T_{max} ~ 81 K and ~ 40 K for samples alf1 and alf2, respectively. The analysis of the thermal dependence of the coercive field obtained from the hysteresis loops at several temperatures revealed the occurrence of a low-temperature and superparamagnetic (SP) spin-glass (SP) behavior in the region of T > 80K for the sample coated with AO alf1). For the sample coated with the AO and OE (alf2) layers, the results revealed a blocked state behavior (BS) consistent with particles that do not interact at T < 40 K. Above this temperature, the system presents a SP behavior. This superparamagnetic / blocked behavior was confirmed by Mössbauer spectroscopy at 77K. The results of AC susceptibility measurements confirm the occurrence of spin-glass behavior in the alf1 sample, caused by the occurrence of strong particle-particle interactions. This spin-glass behavior disappears in sample alf2, in which the interactions are negligible. Biological assays performed on the alf2 sample showed a low cytotoxic effect on normal murine fibroblast cells at a dose below 25 µg / mL in the cell viability (MTT) test. No acute toxicity was determined at a dose of 25 µg / mL of the alf2 sample administered via gavage in mice after 24 h, but response to the external magnetic field of the material collected in the animals' stomachs was verified.

Keywords: Nanoparticles of magnetite, oleic acid, essential oil, Croton cajucara Benth, magnetic properties, particle-particle interactions, superparamagnetism, cytotoxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aplicações mais comuns do uso de nanopartículas magnéticas em medicina.	2
Figura 2. Estrutura cristalina do espinélio. ¹	7
Figura 3. Representação de uma nanopartícula uniaxial. O ângulo formado entre o momento μ e o eixo de fácil magnetização é θ . O ângulo α corresponde ao ângulo formado entre o campo aplicado H e o eixo de fácil magnetização, adaptado. ¹⁹	8
Figura 4. Dependência angular da barreira energética para a rotação do momento magnético de uma nanopartícula com monodomínio, a) sem campo magnético externo, b) com campo magnético aplicado menor ao campo coercitivo Hc do material.	9
Figura 5. Representação da estrutura cristalina da magnetita, adaptado. ³¹	11
Figura 6. Alinhamento dos momentos magnéticos atômicos em diferentes tipos de materiais (sem campo magnético aplicado) da esquerda à direita: Diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo, ferrimagnético, antiferromagnético.	12
Figura 7. Domínios magnéticos de um material bulk.	13
Figura 8. Representação do efeito de superfície produzido pelo desordem na ordenação dos momentos magnéticos na superfície de uma nanopartícula magnética, adaptado. ⁵³	14
Figura 9. Magnetização (M) como função de um campo magnético externo (H) aplicado, adaptado. ⁵⁶	15
Figura 10. Variação da coercividade intrínseca (HCl) em função do diâmetro das nanopartículas, adaptado. ¹⁸	18
Figura 11. Representação dos spins alinhados e distribuídos no interior e na superfície de uma nanopartícula.	20
Figura 12. Esquema da síntese de nanopartículas de magnetita por Decomposição Térmica.	25
Figura 13. Aplicações das nanopartículas magnéticas em medicina.	27
Figura 14. Folhas da espécie Croton cajucara Benth.	29
Figura 15. Algumas das substâncias isoladas da folha de CCB, adaptado. ¹⁰⁴	29

Figura 16. Esquema do sistema experimental usado na síntese das nanopartículas de magnetita.....	34
Figura 17. Esquema do recobrimento das nanopartículas com camada de AO e bicamada de AO e OE.....	36
Figura 18. Montagem da amostra no magnetômetro SQUID.	40
Figura 19. Desenho esquemático do MTT reduzido por enzimas desidrogenases de células metabólicas viáveis gerando formazan, adaptado. ¹⁴⁰	41
Figura 20. a) Difratoograma da amostra M1, b) Difratoograma da amostra alf1. Realizadas a temperatura ambiente. A linha vermelha representa o refinamento e os pontos pretos representam os dados experimentais. A linha azul é a diferença entre os dados experimentais e o ajuste. Os valores R_{exp} e R_{wp} representam a qualidade do ajuste realizado.....	48
Figura 21. Micrografia MET da primeira série a) M1 e b) M2.	49
Figura 22. Micrografia MET da segunda série a) alf1 e b) alf2.	49
Figura 23. Micrografia da amostra alf1 utilizando MET HR, mostrando a distância interplanar.	50
Figura 24. Cálculo da distância interplanar utilizando-se IFFT para a amostra alf1.	50
Figura 25. Histogramas de distribuição de tamanhos das amostras e seu ajuste usando a função lognormal para as amostra a) M1 e b) M2.....	51
Figura 26. Histogramas de distribuição de tamanhos e o seu ajuste usando a função lognormal para a amostra a) alf1 e b) alf2.....	52
Figura 27. Estrutura e modo de coordenação em forma bidentada do ácido oleico sobre a superfície da nanopartícula de magnetita, adaptado. ¹⁵⁶	53
Figura 28. Espectro FTIR das amostras alf1, alf2, AO e OE puras usadas como padrão.	55
Figura 29. Curvas termogravimétricas das duas séries: a) M1 e M2, b) alf1 e alf2, recobertas com AO e adicionalmente OE de CCB respectivamente.....	56
Figura 30. Distribuição de diâmetro hidrodinâmico de nanopartículas da amostra alf2 dispersa em água deionizada (realizado por triplicata) com tamanho médio de 14,5 nm. O PDI foi de 0,2.....	59

Figura 31. Estabilidade do sistema alf2 disperso em água, o potencial zeta foi de -28,8 mV. O valor do pH da solução (utilizando-se água deionizada) foi de 10,1.	60
Figura 32. Curvas de histerese em (a) 300 K e (b) 5 K das nanopartículas de magnetita revestidas com surfactantes orgânicos: AO (amostra M1) e AO mais OE (amostra M2). As inserções mostram o detalhe das curvas de histerese em uma janela mais estreita do campo aplicado.	61
Figura 33. Curvas de magnetização ZFC e FC de nanopartículas de magnetita funcionalizadas com surfactantes orgânicos: AO (amostra M1) e AO mais OE (amostra M2). Ao registrar os dados, o campo magnético aplicado foi ajustado em 30 Oe.	64
Figura 34. (a) Curvas (ZFC) e (FC) medidas em $H = 30$ Oe para a amostra revestida com monocamada amostra (alf1) (símbolos negros) e revestida com bicamada amostra (alf2) (símbolos azuis). A derivada da diferença (ZFC-FC) com relação à temperatura é mostrada em (b) para a amostra alf1 e (c) para a amostra alf2.	66
Figura 35. M vs. H obtidas a 260 K para as amostras alf1 (símbolos pretos) e alf2 (símbolos azuis). Os símbolos representam os dados experimentais enquanto as linhas vermelhas sólidas representam o melhor ajuste para a função Langevin modificada. A inserção mostra as funções de distribuição dos momentos magnéticos obtidos a partir do ajuste.	69
Figura 36. (a) Curva de histerese das amostras alf1 e alf2 obtidas a 5 K e 300 K. Em (b) dependência da temperatura do campo coercitivo (H_c) para ambas as amostras. Nas inserções se mostra a dependência $T^{1/2}$ do campo coercivo na região BS para as amostras alf2 (inserção superior) e alf1 (inserção inferior). A inserção inferior em (b) mostra a dependência $T^{3/2}$ na faixa CG. BS significa estado bloqueado; SP significa estado superparamagnético; e CG significa o comportamento semelhante ao cluster-glass.	71
Figura 37. Dependência da temperatura da componente real (χ') da susceptibilidade AC variando a frequência para amostra alf2 (painel esquerdo). A seta indica o deslocamento do máximo (T_m) à medida que a frequência aumenta. A inserção (painel esquerdo) mostra a curva χ'' vs. T . O painel na direita mostra $\ln(\tau)$ vs $1/T$; a linha vermelha sólida representa um ajuste linear de acordo com a Eq. (28).	73

Figura 38. Dependência de temperatura da componente real (χ') da susceptibilidade AC variando a frequência para a amostra alf1 (painel esquerdo). A seta indica o deslocamento do máximo (T_m) à medida que a frequência aumenta. A inserção (lado esquerdo) mostra o gráfico χ'' vs. T. No lado direito mostra-se o gráfico $\log(\tau)$ vs. $\log(T_f/T_g - 1)$; a linha vermelha sólida representa o melhor ajuste linear de acordo com a Eq. (29).....	74
Figura 39. Espectro Mössbauer para a amostra de nanopartículas recobertas com AO (alf1) mostrando o ajuste realizado com dois sextetos e um dubleto (linhas contínuas).	77
Figura 40. Espectro Mössbauer para a amostra de nanopartículas recobertas com AO+OE (alf2) mostrando o ajuste realizado com um sexteto e um dubleto (linhas contínuas).....	77
Figura 41. Ensaio de viabilidade celular (MTT) em células fibroblasto murino normal (NIH-3T3) submetidas a diferentes concentrações de nanopartículas funcionalizadas (Nanopartículas funcionalizadas com OE), nanopartículas sem OE, OE+ Tween 80 (OE com tensoativo Tween 80), OE + Etanol (OE diluído em etanol e H ₂ O), Etanol (Etanol diluído em H ₂ O), Tween 80 (Tensoativo Tween 80 diluído em H ₂ O) comparando-os com o controle água (H ₂ O) por 24 h. Apresentação da média e desvio padrão.	80
Figura 42. Ensaio de viabilidade celular (MTT) em células fibroblasto murino normal (NIH-3T3) submetidas a diferentes concentrações de nanopartículas funcionalizadas (Nanopartícula funcionalizadas com OE), nanopartículas sem OE, OE + Tween 80 (OE com tensoativo Tween 80), OE + Etanol (OE diluído em etanol e H ₂ O), Etanol (Etanol diluído em H ₂ O), Tween 80 (Tensoativo Tween 80 diluído em H ₂ O) comparando-os com o controle água (H ₂ O) por 24 h. Apresentação da média e desvio padrão.	80
Figura 43. Ensaio de viabilidade celular (MTT) em células fibroblasto murino normal (NIH-3T3) submetidas a diferentes concentrações de nanopartículas funcionalizadas com OE (M2), água milli Q (CTRL) e água milli Q + Tween 80 (CTRL TWEEN 80) por 24 h. Apresentação da média e desvio padrão.	81
Figura 44. Avaliação da toxicidade aguda em diferentes doses da amostra alf2.	83

Figura 45. Estômagos de animais que receberam amostra alf2 a) solução PBS, b) 25 µg/mL, c) 50 µg/mL. Avaliação da resposta magnética do conteúdo dos estômagos dos animais após serem lavados com PBS e colocados sob campo magnético externo.	84
Figura 46. Esquema da Difração de raios-X pelos planos cristalinos dos átomos, adaptado. ¹⁹⁵	108
Figura 47. Diagrama representativo de um difratômetro de raios-X, adaptado. ¹⁹⁶	108
Figura 48. Representação das partes de um microscópio eletrônico de transmissão.	110
Figura 49. Efeitos produzidos sobre uma amostra quando é atingida por um feixe de elétrons.....	110
Figura 50. Resumo das absorções de enlaces em moléculas orgânicas.	111
Figura 51. Esquema do magnetômetro tipo SQUID.	114
Figura 52. Radiação gama obtida de uma fonte de ⁵⁷ Co metaestável.	115

LISTA DE TABELAS

Tabla 1. Eixo de magnetização da anisotropia dependendo dos valores K_4^c e K_6^c	21
Tabla 2. Descrição dos grupos utilizados nos tratamentos experimentais <i>in vivo</i>	43
Tabla 3. Grupos de animais usados no procedimento experimental de toxicidade aguda.	45
Tabla 4. Valores dos tamanhos das diferentes medidas de M2 e α_2	60
Tabla 5. Parâmetros hiperfinos obtidos do ajuste dos espectros a 77 K das amostras de nanopartículas de magnetita recobertas com AO (α_1) e AO +OE (α_2).	78
Tabla 6. Viabilidade celular utilizando nanopartículas de óxido de Fe.	81

LISTA DE ABREVIACIONES, SIGLAS E SÍMBOLOS

Θ - Parâmetro de Mydosh

τ_m - Tempo de medição

τ - Tempo de relaxação

ΔE_Q – Interação quadrupolar elétrica

AINEs - Fármacos anti-inflamatórios não esteroides

AO - Ácido oleico

ATL – Refletância total atenuada

B_{HF} - Campo magnético hiperfino

BS – Estado de bloqueio

CCB - *Croton cajucara Benth*

CG – *Cluster Glass*

CQ – Co-precipitação química

Dc - Diâmetro crítico

Dh - Diâmetro hidrodinâmico

DLS - Dispersão dinâmica de luz

DRX - Difração de raios X

Dsp - Diâmetro superparamagnético

DT - Decomposição térmica

Ea - Energia de anisotropia

FC - *Field Cooled*

FTIR - Espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier

GCE – Gradiente de campo elétrico

GSAS - *General Structure Analysis System*

H - Campo magnético externo

H. P - *Helicobacter pylori*

Hc - Campo coercitivo

IFFT - Transformada de Fourier inversa

IMR - Imagem por ressonância magnética

JCPD - The Joint Committee on Powder Diffraction Standards.

K_B - Constante de Boltzmann

$K_b T$ - Energia térmica

K_{eff} - Anisotropia efetiva

K_V - Anisotropia de volume

$L(x)$ - Função de Langevin

LL - Linalool

M - Magnetização

METHR - Microscopia eletrônica de alta resolução

M_R - Magnetização remanente

M_s - Magnetização de saturação

MTT - Ensaio de viabilidade celular

NIH-3T3 - células fibroblasto murino normal

NSAIDs - Anti-inflamatórios não esteroides

OE - Óleo essencial

PDI - Índice de polidispersão

Q - Momento quadrupolar

QD - *Quantum Dots*

QS - Desdobramento quadrupolar elétrico

RES - Sistema reticuloendotelial

R_{exp} - R expected

ReSe₂ - Seleniuro de renio

RT - Temperatura ambiente

R_{wp} - R weighted profile

SP - Estado superparamagnético

T_B - Temperatura de bloqueio

T_C - Temperatura de Curie

TEM - Microscópio eletrônico de transmissão

TGA - Análises termogravimétrico

T_{irr} - Temperatura de irreversibilidade

T_N - Temperatura de Néel

U - Barreira de energia

ZFC - *Zero Field Cooled*

δ - Deslocamento isomérico

μ – Momento magnético

σ - polidispersão

χ – Susceptibilidade magnética

SUMARIO

LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS	xv
LISTA DE ABREVIACIONES, SIGLAS E SÍMBOLOS	xvi
1. Introdução	1
1.3 Objetivo Geral	3
1.4 Objetivos Específicos	3
2. Aspectos teóricos	6
2.1 Nanomateriais	6
2.1.2 Estrutura cristalina das ferritas espinélio MFe_2O_4	7
2.1.3 Magnetismo em ferritas com tamanho nanométrico.....	7
2.1.4 Nanopartículas magnéticas.....	9
2.1.5 Nanopartículas de magnetita.....	10
2.2 Funcionalização de nanopartículas	11
2.3 Propriedades magnéticas das nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4).....	12
2.4 Relaxação magnética.....	16
2.5 Regime superparamagnético	17
2.6 Regime de bloqueio.....	19
2.7 Anisotropia magnética	19
2.7.1 Anisotropia magnetocristalina	20
2.7.2 Anisotropia magnética de forma.....	21
2.8 Efeito das interações entre nanopartículas	22
2.9 Sínteses de nanopartículas magnéticas.....	23
2.10 Decomposição térmica (DT).....	24

2.11 Funcionalização de nanopartículas	26
2.12 Aplicações biológicas de nanopartículas magnéticas.....	27
2.13 A espécie <i>Croton cajucara Benth</i> (CCB)	28
2.14 Úlceras	30
3. Materiais e métodos	33
3.1 Síntese de nanopartículas de magnetita (Fe ₃ O ₄) por Decomposição Térmica.....	33
3.2 Extração do óleo essencial de <i>Croton cajucara Benth</i>	34
3.3 Obtenção das nanopartículas funcionalizadas usando óleo essencial	35
3.4 Caracterização da estrutura cristalina usando Difração de raios-X.....	36
3.5 Caracterização morfológica por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	37
3.6 Caracterização dos grupos funcionais por Espectroscopia Infravermelha	37
3.7 Caracterização termogravimétrica.....	38
3.8 Caracterização usando Espalhamento de Luz Dinâmico (DSL)	38
3.9 Caracterização magnética.....	39
3.10 Medidas de Espectroscopia Mössbauer.....	40
3.11 Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i>	40
3.11.1 Linhagens celulares	41
3.11.2 Manutenção das linhagens celulares	41
3.11.3 Tripsinização das células	41
3.11.4 Plaqueamento das células	42
3.11.5 Tratamentos	42
3.11.7 Testes estatísticos.....	44
3.12 Teste <i>in vivo</i>	44
4. Resultados e discussões.....	47
4.1 Difração de raios-X (DRX).....	47

4.2 Análises morfológicas.....	48
4.3 Espectroscopia infravermelha FTIR	52
4.4 Análises termogravimétricas (TGA).....	56
4.5 Diâmetro hidrodinâmico (Dh) e estabilidade.....	58
4.6 Medidas magnéticas.....	61
4.6.1 Medidas magnéticas da primeira série (M1 e M2).....	61
4.7 Medidas magnéticas da segunda série (alf1 e alf2)	65
4.7.1 Curvas de magnetização em função da temperatura.....	65
4.7.2 Curvas de magnetização em função do campo magnético.....	67
4.7.3 Medidas da susceptibilidade AC	72
4.8 Espectroscopia Mössbauer	76
4.9 Testes <i>in vitro</i> (viabilidade celular)	79
4.10 Resultados do teste de toxicidade aguda.....	82
5. Conclusões e perspectivas.....	86
Anexos (Técnicas de caracterização).....	107
1- Difração de raios-X (DRX) e método de Rietveld.....	107
1.1 Método de Rietveld	109
1.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	109
2. Espectroscopia infravermelho (FTIR)	111
3. Análises térmica (TGA)	112
4. Espalhamento de luz dinâmico (DLS)	112
5. Magnetometria AC e DC	113
6. Espectroscopia Mössbauer (EM)	115
APÊNDICE A – Artigos publicados e submetidos	118
APÊNDICE B - Participação de eventos	119

CAPITULO 1

1. Introdução

A nanotecnologia é um ramo multidisciplinar da ciência, que tem apresentado um crescimento emergente na última década e que abrange campos interdisciplinares como Física, Química, Biologia, Farmácia, entre outros. Assim as aplicações da nanotecnologia em saúde atingem uma ampla área (Figura 1). Ela está baseada no desenvolvimento de materiais de dimensões a escala nanométrica (nanopartículas, nanofios, nanotubos, clusters, filmes finos, entre outros)¹. Um dos setores mais promissores encontram-se na aplicação de processos biológicos². Isto deve-se, em parte, ao fato de que envolve a confluência de dois campos de pesquisa (nanotecnologia e biotecnologia). Nesta junção, as combinações de ideias e abordagens são conhecidas por aumentar as oportunidades de inovação³.

As vantagens do uso de nanoestruturas na biotecnologia estão ligadas a propostas inovadoras de tratamentos, além de menos invasivas quando comparados aos métodos tradicionais. Pode-se, por exemplo, melhorar a entrega dos fármacos num órgão alvo. Os nanocarregadores podem acumular maiores quantidades de fármacos aproveitando a maior área superficial no caso de nanopartículas com tamanho reduzido, estes sistemas podem efetivamente entregar/carregar fármacos em órgãos alvo, reduzindo dessa forma os níveis de toxicidade inerentes do fármaco e os efeitos secundários ocasionados pelos tratamentos.

Outra vantagem do uso está relacionado à precisão e eficácia na forma de atingir órgãos alvos, ocasionando, assim menos efeitos colaterais nos tratamentos por ser mais eficiente e precisa na forma de atingir órgãos alvos⁴, não entanto, existem sempre um umbral mínimo que atinge órgãos saudáveis, dessa forma, trabalha-se intensamente no desenvolvendo de novos tratamentos a fim de diminuir os efeitos deletérios que possa ocorrer.

De acordo com a Organização mundial da Saúde (O.M.S), as úlceras pépticas (úlceras gástricas e duodenais) têm sido um grande problema enfrentada pela ameaça para população humana mundial nos últimos dois séculos, pois estas possuem uma elevada morbidade⁵. Outro problema levantado é que fármacos usados comumente

pela população como anti-inflamatórios e analgésicos, também conhecidos como anti-inflamatórios não esteroides (NSAIDs), podem induzir úlceras. Tal problema afeta principalmente à população idosa⁶. Mesmo que a erradicação da bactéria responsável pelas úlceras gástricas chamada de *Helicobacter pylori* (H. P), trouxera melhoria no tratamento das úlceras pépticas, e que foi descoberta pelos cientistas Warren e Marshall (recebendo os dois o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 2005), este reconhecimento, no entanto, não encerrou o capítulo sobre úlceras pépticas. A gestão da doença ulcerosa e suas complicações continua sendo um desafio clínico.

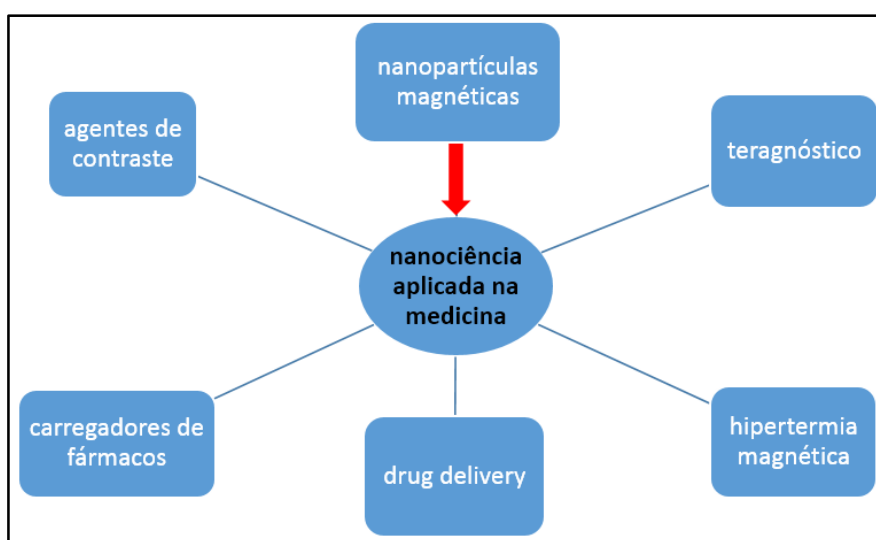


Figura 1. Aplicações mais comuns do uso de nanopartículas magnéticas em medicina.

O uso de produtos fitoterápicos tem sido incrementado, principalmente devido a sua eficiência, baixa toxicidade, biocompatibilidade e baixo custo⁷. No caso da espécie *Croton cajucara* Benth (CCB) é uma planta da região amazônica que possui propriedades antiulcerogênicas⁸. Dessa forma, realizou-se este trabalho com o intuito de aproveitar as propriedades diferenciadas dos materiais em escala nanométrica, além de recobri-las com bicadama de ácido oleico (AO) e o óleo essencial (OE) de CCB, sendo o AO usado para outorgar ao sistema estabilidade a partir da repulsão estática devido a cadeia longa de hidrocarboneto que possui, e dessa forma obter um novo sistema nanoestruturado com potencial aplicação no tratamento de úlceras gástricas.

Em virtude das úlceras serem doenças que afetam muitas pessoas em idade adulta, este fato contribui para o possível afastamento do trabalho deste indivíduo por indicação médica, se não for tratada adequadamente. Neste sentido, o uso de nanopartículas magnéticas como carregadoras do OE de CCB podem apresentar uma alternativa inovadora às terapias convencionais no tratamento de úlceras gástricas. As nanopartículas apresentadas neste trabalho estão focadas no desenvolvimento de uma nova plataforma nanoestruturada com possíveis aplicações em tratamento de úlceras, a partir do uso de nanopartículas magnéticas recobertas com OE de CCB com a possibilidade de uso de um campo magnético externo para retê-las na região de interesse.

1.3 Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar nanoestruturas nanopartículas de magnetita recobertas por bicamada de ácido oleico e OE de CCB que apresentem, propriedades superparamagnéticas para potenciais aplicações no tratamento de úlceras gástricas.

1.4 Objetivos Específicos

- Sintetizar nanopartículas de magnetita recobertas com camada de ácido oleico (AO) usando um método de Decomposição Térmica;
- Extrair OE de CCB pelo método de Hidrodestilação;
- Recobrir as nanopartículas de magnetita recobertas com camada de AO com uma segunda camada de OE de CCB obtendo um sistema recoberto por bicamada;
- Caracterizar os grupos funcionais presentes nas nanopartículas antes e depois do recobrimento com OE de CCB por espectroscopia infravermelha;
- Caracterizar a estrutura cristalina e tamanho das nanopartículas obtida durante a síntese por Difração de raios-X;
- Caracterizar a morfologia e tamanho das nanopartículas antes e depois da cobertura com OE de CCB por Microscopia Eletrônica de Transmissão;
- Estimar a massa da cobertura orgânica sobre as nanopartículas de magnetita por Termogravimetria;

- Avaliar a tamanho hidrodinâmico e estabilidade das nanopartículas com monocamada e bicamada, usando Dispersão Dinâmica de Luz e Potencial Zeta;
- Caracterizar as propriedades magnéticas das nanopartículas antes e depois do recobrimento com OE de CCB, usando um magnetômetro SQUID;
- Avaliar a viabilidade celular das nanopartículas antes e depois da cobertura com OE de CCB em células de fibroblastos NIH-3T3, usando teste MTT (brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium]);
- Avaliar o efeito de toxicidade aguda das nanopartículas de magnetita recobertas com OE de CCB em camundongos;
- Verificar a presença das nanopartículas de magnetita funcionalizadas, nos estômagos dos camundongos após o teste de toxicidade, usando um campo magnético externo.

Esse trabalho está organizado da seguinte forma:

- Capítulo 2, refere-se aos princípios básicos para situar ao leitor nos temas que serão abordados baseados na literatura científica;
- Capítulo 3, apresenta-se os detalhes dos procedimentos experimentais do trabalho;
- Capítulo 4, apresenta-se os resultados obtidos e suas discussões com a literatura;
- Capítulo 5, apresenta-se as conclusões e perspectivas do trabalho;
- Anexos, apresenta-se informação complementar sobre as técnicas usadas neste trabalho;
- Apêndice, apresenta-se a produção científica originais a partir desse trabalho.

CAPITULO 2

2. Aspectos teóricos

Neste capítulo foi realizada uma revisão geral dos temas relacionados ao trabalho para poder situar ao leitor no contexto que permita conhecer os fundamentos necessários que serão usados posteriormente nas discussões dos resultados.

2.1 Nanomateriais

Quando falamos de escala nano, onde o prefixo 1 nano = 10^{-9} , traz uma ideia do tamanho reduzido do sistema. Podemos entender como nanomateriais aqueles que possuem tamanho menor a 100 nm em um dos seus eixos. Existem diversas definições para descrever os nanomateriais, mas a definição mencionada pode ser aceita como válida¹. O fato desses materiais apresentar novas diferenciadas propriedades em comparação aos materiais *bulk*, faz que tenham um crescente interesse, porque elas possibilitam o uso desses materiais em diferentes aplicações⁹. As diferentes propriedades intrínsecas que os nanomateriais apresentam estão relacionadas principalmente à razão área/volume e ao efeito de superfície.

O efeito quântico é responsável pelo comportamento dos átomos e dos elétrons, que na escala nanométrica são manifestados de forma ainda mais evidente¹⁰. Já o efeito de superfície é importante quando diminuimos o tamanho do material, pois existe um aumento considerável da razão entre o número de átomos que estão na superfície em relação àqueles que estão contidos no volume. A consequência deste último tem um incremento considerável na reatividade do material¹¹. Entre as propriedades na escala nanométrica podemos mencionar, por exemplo, substâncias como o Au que à temperatura ambiente (RT) na escala macroscópica é estável, porém na escala nanométrica apresenta uma cor amarela e torna-se líquido ou colóide. Existem também outros materiais como; Selenio de renio (ReSe₂) com propriedades elétrica e magnética diferenciadas¹². Adicionalmente outros nanomateriais híbridos orgânicos-inorgânicos são usados na indústria para armazenamento de memória¹³.

2.1.2 Estrutura cristalina das ferritas espinélio MFe_2O_4

Um tipo muito usado de nanomateriais são as ferritas. Estas ferritas são uma mistura de óxidos $(MO)(Fe_2O_3)$ derivado do óxido férrico, onde M geralmente é um metal de transição interna, cátion divalente capaz de doar dois elétrons, e pode ser classificado segundo o tipo de estrutura cristalina em hexagonais, e cúbicas com estrutura espinélio¹⁴. Para o caso das ferritas que apresentam estrutura espinélio MFe_2O_4 , onde M é um cátion divalente com grupo espacial $Fd3m$ ¹⁵, esta pode ser descrita como um empacotamento cúbico compacto de íons de oxigênio onde os espaços intersticiais, tanto tetraédrico (A) quanto octaédrico (B), são ocupados pelos cátions M^{2+} e Fe^{3+} (Figura 2).

A célula unitária do espinélio está formada por 8 unidades MFe_2O_4 , sendo ocupados 1/8 dos 64 espaços A e 1/2 dos 32 espaços B. O parâmetro de rede “a” da célula unitária depende do tipo do tamanho de cátion divalente M^{2+} ¹⁶.

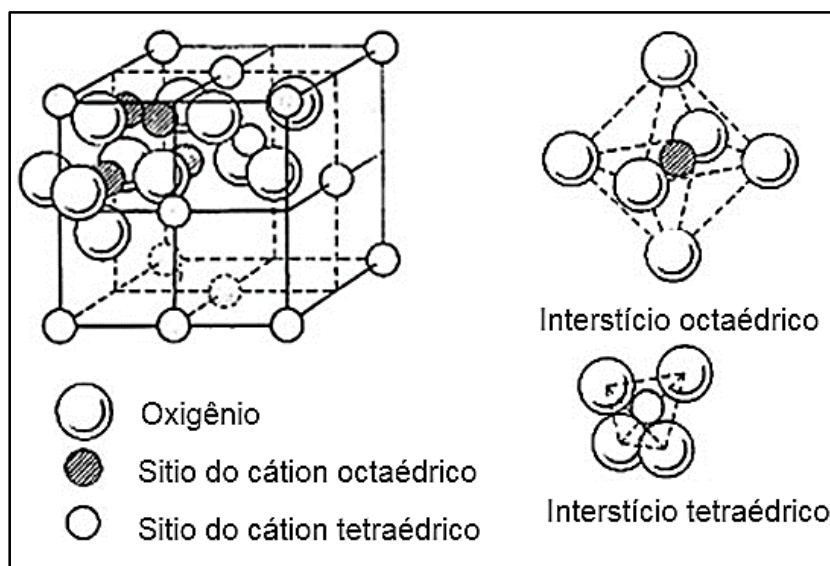


Figura 2. Estrutura cristalina do espinélio.¹

2.1.3 Magnetismo em ferritas com tamanho nanométrico

Considerando o efeito superparamagnético, onde os momentos magnéticos dentro de uma nanopartícula movem-se coerentemente devido ao acoplamento ferromagnético entre eles, o momento magnético total da nanopartícula pode ser

considerado como um vetor clássico de magnitude $\mu = \mu_{at} \cdot N$, onde μ_{at} é o momento magnético de um átomo e N é o número de átomos magnéticos que formam a nanopartícula. Stoner-Wohlfarth¹⁷, propuseram um modelo de rotação coerente do momento magnético de nanopartículas com monodomínio quando estas não interagem e apresentam anisotropia uniaxial. A energia de anisotropia (E_a) dessas nanopartículas pode ser representada por¹⁸:

$$E_a = K_{eff} V \text{sen}^2(\theta) \quad (1)$$

Onde θ é o ângulo formado pelo momento magnético (μ) e o eixo de fácil magnetização (Figura 3), K_{eff} é a constante de anisotropia efetiva, V é o volume da nanopartícula.

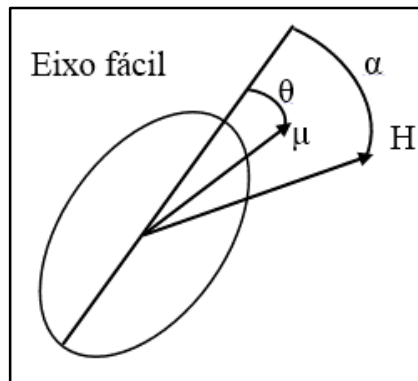


Figura 3. Representação de uma nanopartícula uniaxial. O ângulo formado entre o momento μ e o eixo de fácil magnetização é θ . O ângulo α corresponde ao ângulo formado entre o campo aplicado H e o eixo de fácil magnetização, adaptado.¹⁹

Dessa forma, o termo $K_{eff} V$ representa a barreira de energia (U) devida à anisotropia que deve ser superada para que o momento magnético da nanopartícula consiga realizar uma rotação (Figura 4a). Quando o sistema está sob ação de um campo magnético externo aplicado (H) menor ao campo coercitivo (H_c) próprio do material, a barreira de energia muda (Figura 4b) e pode ser representada como²⁰:

$$E = K_{eff} V \text{sen}^2(\theta) - \mu H \cos(\alpha - \theta) \quad (2)$$

Onde α é o ângulo formado pelo campo magnético externo aplicado (H) e o eixo de fácil magnetização.

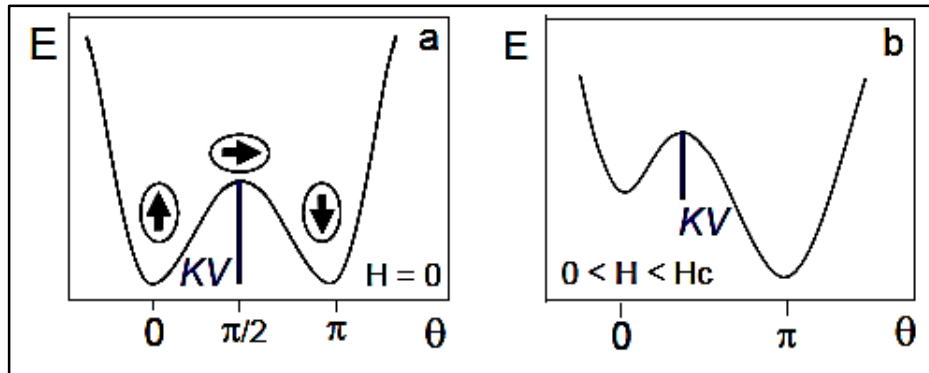


Figura 4. Dependência angular da barreira energética para a rotação do momento magnético de uma nanopartícula com monodomínio, a) sem campo magnético externo, b) com campo magnético aplicado menor ao campo coercitivo H_c do material.

Adicionalmente, considerando a teoria de Stoner-Wohlfarth, a coercividade H_c de uma partícula monodomínio pode ser expressa segundo a equação (3)²¹ :

$$H_c = 2K_{eff} / \mu_0 M_s \quad (3)$$

Onde K_{eff} é a constante de anisotropia, μ_0 é a constante universal de permeabilidade no vácuo, M_s é a magnetização de saturação da nanopartícula.

2.1.4 Nanopartículas magnéticas

Dentro da nanotecnologia; ciência que estuda as propriedades físicas e químicas diferenciadas dos materiais na escala nano²² as nanopartículas magnéticas possuem um comportamento magnético que pode mudar do ferromagnético ou ferrimagnético para um comportamento superparamagnético, de tal forma que as nanopartículas se orientam facilmente a favor do campo magnético externo aplicado, e se desmagnetizam quando retirado o campo magnético externo²³.

Visando aplicações em biomedicina devem ser considerados requisitos como: uniformidade na morfologia; baixa polidispersão; tamanho e; dependendo da via de administração a ser usado, por exemplo via endovenosa, possuir características hidrofílicas. Estas características hidrofílicas favorecem a distribuição na corrente sanguínea e evita a aglomeração nas veias²⁴.

Na literatura científica são reportadas grande variedade de nanopartículas com comportamento magnético, (magnetite, maguemite, hematite, entre outro), entre as mais comuns são as nanopartículas de óxido de Fe como a magnetita (Fe_3O_4) com comportamento superparamagnético, magnetização de saturação $\sim 85 \text{ emu/g}$ ²⁵ e baixa toxicidade²⁶ e posterior eliminação do corpo através do sistema reticuloendotelial (RES)²⁷.

2.1.5 Nanopartículas de magnetita

A magnetita (Fe_3O_4) destaca-se pelas seguintes características: baixo campo coercitivo (H_c), facilidade de modificação superficial (funcionalização), níveis de magnetização aceitáveis para aplicações em biomedicina²⁸. As aplicações em biomedicina concentram-se em, hipertermia magnética, imagem por ressonância magnética (IMR) e biocompatibilidade.

As pesquisas na síntese das nanopartículas abarcam uma grande variedade de rotas alternativas²⁹. A magnetita tem uma estrutura cristalina tipo espinélio inverso, AB_2O_4 , onde os íons de O^{2-} formam o arranjo cristalino cúbico centrada de face centrada (CFC), gerando um sítio de coordenação tetraédrica (A) conformado por quatro íons de oxigênio e outro octaédrico (B) formado por seis íons de oxigênio³⁰, como mostra a Figura 5.

Nos interstícios tetraédricos (A) estão posicionados os íons de Fe^{3+} , enquanto que nos interstícios octaédricos (B) estão posicionados na mesma razão os íons de Fe^{3+} e Fe^{2+} , tendo como resultado 24 cátions, onde 16 íons correspondem a Fe^{3+} e 8 íons corresponde a Fe^{2+} .

A composição da célula unitária, pode ser representada por: $(8\text{Fe}^{3+})_A(8\text{Fe}^{2+})(8\text{Fe}^{3+})_B\text{O}_{32}$, num arranjo perfeito estequiométrico da magnetita o número de átomos de Fe^{3+} é o dobro do Fe^{2+} ; porém, esta composição não é muito comum encontrar na prática, resultando numa estrutura não estequiométrica, devido ao difícil controle nos diversos parâmetros físicos durante a sínteses, tais como: temperatura, velocidade de agitação, taxa de variação da temperatura, velocidade de reação entre os componentes, fluxo da atmosfera controlada, entre outros.

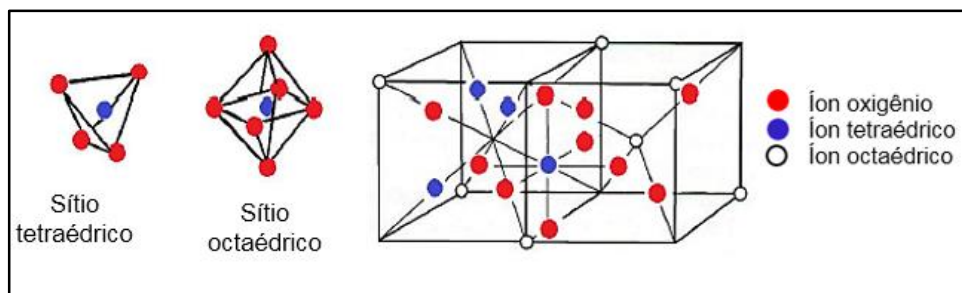


Figura 5. Representação da estrutura cristalina da magnetita, adaptado. ³¹

2.2 Funcionalização de nanopartículas

Após a obtenção das nanopartículas de óxido de Fe por umas das metodologia de síntese escolhidas, necessitam-se de um tratamento adicional que permita dar ao sistema estabilidade e proteção da superfície. Esta funcionalização evita a oxidação e possível redução na magnetização do material. A estabilização das nanopartículas é uma etapa importante pois define as possíveis aplicações destes³². Para algumas aplicações *in vivo*, onde a via de administração seja endovenosa, é necessária uma funcionalização das nanopartículas que desenvolva características hidrofílicas para facilitar a mobilidade e interação das nanopartículas funcionalizadas com o médio onde elas estão e prolongar o tempo necessário para que elas consigam chegar na área de interesse (órgão alvo)³³. Esse procedimento de estabilização das nanopartículas em meio fisiológico assim como a capacidade da modificação e funcionalização da superfície com algumas substâncias, por exemplo orgânicas, como proteínas, polímeros, óleos essenciais, é um passo importante para garantir o uso em possíveis aplicações biomédicas³⁴.

As nanopartículas funcionalizadas podem ser dispersas na forma de coloides, onde as forças repulsivas do tipo eletrostáticas podem ser usadas para estabilizar o sistema³⁵. A força repulsiva tem sua origem nas interações eletrostáticas devido às cargas superficiais das nanopartículas ou à sobreposição das duplas camadas elétricas³⁶.

Também devem ser consideradas as forças de Van der Waals e interações dipolares, que são de natureza atrativas. Estas forças possuem um efeito significativo a distâncias muito curtas da ordem de alguns nanômetros³⁷. Dessa forma, a

aglomeração das nanopartículas acontece quando as forças atrativas são maiores que as forças repulsivas³⁸. Existem dois métodos pelos quais pode-se atingir a estabilidade do sistema: estabilização estérica e estabilização eletrostática³⁹.

A estabilidade estérica é aquela que usa macromoléculas iônicas e não iônicas adsorvidas na superfície das nanopartículas⁴⁰. As macromoléculas são usadas na estabilização das nanopartículas coloidais e pode-se aproveitar convenientemente a sua afinidade pela superfície da nanopartícula. Um dos mais usados são polímeros de cadeias longas^{41, 42}. Dessa forma, se tem um extremo da cadeia da macromolécula que está orientada para a superfície da nanopartícula e o outro extremo orientado no sentido contrário que é afim ao meio usado como solvente. Essa cadeia solúvel se projeta longe da superfície da nanopartícula dispersa, orientada para a solução de tal forma que durante uma aproximação das nanopartículas elas se repelem entre elas⁴³.

Outra forma de estabelecer a estabilidade do sistema coloidal é usando as interações eletrostáticas entre partículas e tensoativos. Este método é de particular interesse devido à estabilidade de suspensões de partículas carregadas em um meio líquido⁴⁴. Também a estabilidade eletrostática está relacionada à força iônica e pH da solução das nanopartículas⁴⁵.

2.3 Propriedades magnéticas das nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4)

Os materiais magneticamente ordenados, podem apresentar diferentes estados magnéticos quando colocados sob um campo magnético externo, orientando dessa forma seus momentos magnéticos. Estes podem ser classificados em: ferromagnético, ferrimagnéticos, antiferromagnéticos⁴⁶ (Figura 6).

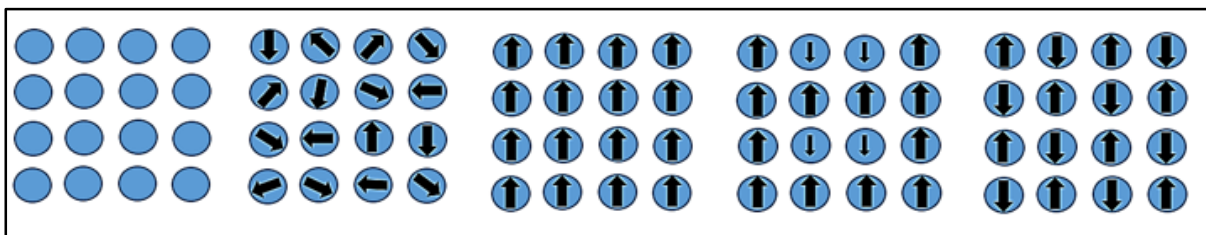


Figura 6. Alinhamento dos momentos magnéticos atômicos em diferentes tipos de materiais (sem campo magnético aplicado) da esquerda à direita: Diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo, ferrimagnético, antiferromagnético.

No estado paramagnético, os momentos magnéticos atômicos individuais estão alinhados aleatoriamente entre si, dessa forma obtém-se um momento magnético resultante igual a zero⁴⁷. Se o cristal é submetido a um campo magnético externo, os momentos magnéticos começam a se alinharem na direção do campo e o sistema apresentará um campo magnético resultante. Um sistema ferrimagnético, apresenta um momento magnético resultante que resulta da diferença entre os momentos magnéticos orientados antiparalelamente na rede cristalina (Figura 7)⁴⁷. Quando esses momentos magnéticos antiparalelos possuem a mesma magnitude, o cristal apresenta as propriedades de um sistema antiferromagnético e não tem momento magnético resultante na ausência de campo magnético⁴⁸.

Num material ferromagnético *bulk*, a magnetização (M) é o vetor resultante de todos os momentos magnéticos dos átomos no material por unidade de volume¹⁸. A magnitude de M é nula num material, devido a que um material *bulk* é formado por muitos domínios magnéticos (Figura 7), onde cada domínio magnético possui seu próprio vetor de magnetização resultante de um alinhamento de momentos magnéticos atômicos dentro do domínio⁴⁹.

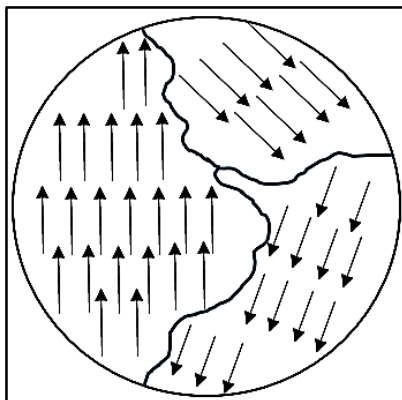


Figura 7. Domínios magnéticos de um material bulk.

Se os vetores que representam os momentos magnéticos dos domínios magnéticos não estão alinhados, isso leva a uma diminuição da magnetização resultante¹⁸. Quando o tamanho da partícula diminui, o número de domínios também diminui⁵⁰. Além disso, conforme o tamanho da partícula diminui o campo coercitivo (H_c) aumenta até atingir uma região do diâmetro crítico (D_c), onde a partícula passa a ser formada por um monodomínio. O valor de H_c tende a diminuir, devido a que os momentos magnéticos dentro de cada partícula diminuem até que os elevados valores

das energias associadas com a parede dos domínios são termodinamicamente desfavoráveis e o material se converte em monodomínio⁵¹. Isso se deve ao fato que ao diminuir a dimensão das nanopartículas, as paredes do domínio se aproximam, aumentando as interações entre elas. O comportamento de uma nanopartícula monodomínio pode ser descrito como se todos os momentos magnéticos atômicos estivessem rigidamente alinhados como um *spin* único gigante⁵².

Além da influência do tamanho das nanopartículas e o gradiente da temperatura sobre as propriedades magnéticas, deve ter-se em consideração a cristalinidade das nanopartículas, devido a essas propriedades interferirem significativamente na anisotropia e, por consequência, na resposta magnética das nanopartículas⁵³. Também numa partícula monodomínio o ordenamento dos *spins* na região da superfície não é igual ao ordenamento no centro da nanopartícula (Figura 8), devido à quebra de simetria translacional e de ligações químicas na superfície, sendo um efeito importante no caso das nanopartículas devido ao aumento da razão superfície/volume⁵⁴.

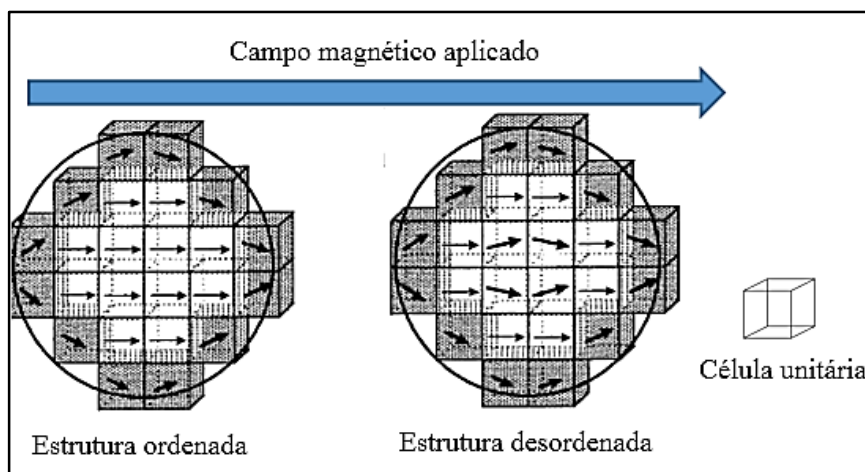


Figura 8. Representação do efeito de superfície produzido pelo desordem na ordenação dos momentos magnéticos na superfície de uma nanopartícula magnética, adaptado.⁵³

O efeito superficial, causado pela desordem dos momentos magnéticos ou pelo tamanho das nanopartículas, se reflete no valor da magnetização e da anisotropia magnetocristalina⁵⁵. Melhorando a cristalinidade das nanopartículas diminui-se a anisotropia, o que melhora a magnetização resultante do material.

Se um campo magnético externo (H) é aplicado a um ferromagneto, a curva de magnetização (M) é obtida mostrando a variação de M quando se incrementa o valor de H , até que a saturação (M_s) seja atingida. A curva de magnetização mostra um laço de histerese (Figura 9), devido a que parte dos domínios retornam pela orientação original quando H diminui depois de atingir a magnetização de saturação.

Dessa forma, quando H diminui até zero, há uma magnetização remanente (M_R) que pode ser removida aplicando um campo cuja magnitude é igual ao campo coercitivo (H_c) e na direção contrária do campo magnético inicial¹⁸.

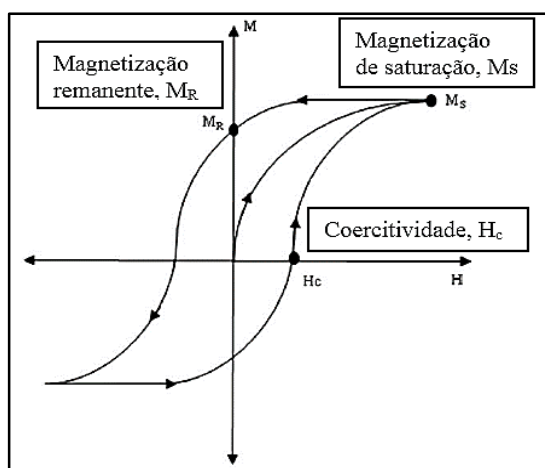


Figura 9. Magnetização (M) como função de um campo magnético externo (H) aplicado, adaptado.⁵⁶

Materiais com monodomínio magnético podem mostrar ausência de área dentro da curva de histerese e neste caso, esses materiais se encontram no estado superparamagnético⁵⁷. Nanopartículas menores a 20 nm comumente apresentam comportamento superparamagnético a temperatura ambiente (RT)⁵⁸. Dessa forma para nanopartículas monodomínio, a energia de anisotropia (KV) pode tornar-se tão pequena que as flutuações de energia térmica (K_bT) podem superar a energia de anisotropia e inverter espontaneamente a magnetização de uma nanopartícula de uma direção de fácil magnetização para a outra, mesmo na ausência de um campo aplicado⁵⁹. Acima da temperatura de Néel (T_N) ou Curie (T_C), um material *bulk* torna-se desordenado e perde sua magnetização⁶⁰. A temperatura de transição é denominada temperatura de Curie (T_C) para substâncias ferromagnéticas e ferrimagnéticas e temperatura Néel (T_N) para substâncias antiferromagnéticas. Já no caso de nanopartículas, esta temperatura crítica deixa de ser bem definida e é

substituída pela temperatura de bloqueio (T_B), onde as nanopartículas apresentam ordenamento magnético ou um laço de histerese na curva M vs. H similar a um sistema ferromagneto *bulk*.

2.4 Relaxação magnética

Nos anos 50, Louis Néel realizou um estudo interessante e concluiu que devido às flutuações térmicas, os momentos magnéticos das nanopartículas podem apresentar mudanças na sua orientação quando a energia de anisotropia do sistema é comparável com a energia térmica ($k_B T$). Assim começou o estudo de outro efeito importante que está relacionado com a temperatura que tende a desalinhar os momentos magnéticos; enquanto que o campo magnético tende a alinhá-los. Néel mostrou que uma nanopartícula com monodomínio e com anisotropia uniaxial, apresenta dois mínimos de energia separados por uma barreira de energia que pode ser vencida devido à agitação térmica⁶¹. Dessa forma, foi proposta a ideia de tempo de relaxação (τ) e, foi expressa como a lei de Arrhenius⁶²:

$$\tau = \tau_0 \exp\left(\frac{E_a}{k_B T}\right) \quad (3)$$

Onde τ_0 depende da dinâmica de inversão do momento magnético e está relacionado com a frequência da mudança de direção e k_B é a constante de Boltzmann. Supondo que existe rotação coerente, Néel determinou que ($\tau_0 \sim 10^{-9} - 10^{-10}$ s). Como pode ser deduzida da equação anterior, a flutuação fica mais lenta quando aumenta o valor de τ a medida que diminui a temperatura. É necessário mencionar que o tempo de relaxação próprio do sistema não é equivalente ao tempo de medida (τ_m) que cada equipamento experimental possui para realizar uma medida. O sistema chega a parecer quase estático quando o tempo de flutuação é maior que o tempo de medida ($\tau > \tau_m$), e se diz que o sistema está bloqueado. Isso acontece abaixo da temperatura de bloqueio T_B que pode ser estimado usando a equação anterior, considerado que as nanopartículas são monodomínio, não interagentes e com um tempo de medida $\tau_m = 100$ s para medidas magnéticas em corrente contínua (DC).

$$T_B = \left(\frac{KV}{25k_\beta} \right) \quad (4)$$

Acima da temperatura de bloqueio o material apresenta comportamento superparamagnético, já que $\tau < \tau_m$. Se um sistema de nanopartículas superparamagnéticas é submetido a um campo magnético, sua magnetização resultante é nula porque as direções das magnetizações das nanopartículas se encontram distribuídas aleatoriamente. Uma vez que é aplicado o campo magnético as nanopartículas recebem energia e os momentos magnéticos alinham-se na direção do campo. O processo de orientação não é simultâneo, necessitando de um tempo intrínseco que é precisamente o tempo de relaxação (τ).

2.5 Regime superparamagnético

Em nanopartículas magnéticas próximas a 10 nm (para alguns materiais) a direção de magnetização pode mudar pela ação da agitação térmica, apresentando um comportamento conhecido como superparamagnetismo. Podemos entender que esses sistemas são análogos aos paramagnéticos; porém, no caso dos sistemas superparamagnéticos cada partícula apresenta um momento magnético resultante da soma vetorial de todos os momentos magnéticos atômicos alinhados em paralelo⁶³.

Quando as dimensões do material são menores que o diâmetro crítico (D_c), nesse caso a nanopartícula é monodomínio, ocorrendo a magnetização espontânea dentro da nanopartícula, o que leva à formação de um momento magnético gigante. Quando o tamanho da nanopartícula atinge o D_c , o campo coercitivo alcança um valor máximo. Para nanopartículas com tamanho menor ao D_c , (Figura 10), o comportamento magnético é influenciado pela flutuação térmica. Assim, para nanopartículas magnéticas com tamanho superparamagnético (D_{sp}), o efeito da flutuação térmica é tão intenso que desmagnetiza espontaneamente a nanopartícula, levando a uma coercitividade zero. Essas nanopartículas são chamadas de superparamagnéticas⁶⁴.

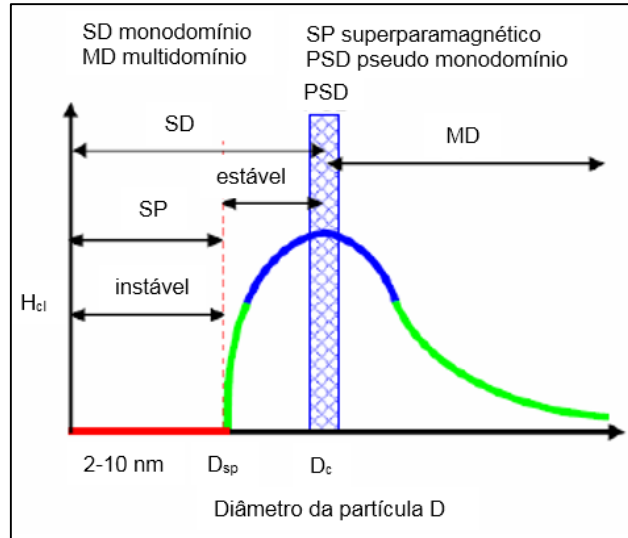


Figura 10. Variação da coercividade intrínseca (H_{ci}) em função do diâmetro das nanopartículas, adaptado.¹⁸

O tamanho crítico (D_c) onde abaixo do qual não é favorável energeticamente criar paredes de domínio, pode ser estimado a partir da relação⁶⁵ :

$$D_c \approx \frac{9\sqrt{AK}}{\mu_0 M_s^2} \quad (5)$$

Onde A representa a constante de troca⁶⁶, K é a constante de anisotropia (considerando a nanopartícula como uniaxial), μ_0 é a permeabilidade magnética no vácuo e M_s é a magnetização de saturação. O tamanho crítico que depende do material, marca a fronteira entre nanopartículas com monodomínio e nanopartículas com multidomínio⁵⁶.

No extremo quando $\tau_m \gg \tau$ podemos afirmar que o sistema se encontra em equilíbrio termodinâmico no regime superparamagnético. Que o sistema seja superparamagnético quer dizer que em um sistema de nanopartículas com monodomínios sob um campo aplicado H , os momentos magnéticos μ seguem uma distribuição de Boltzmann, algo típico em processo termicamente ativados. A magnetização pode ser determinada pela Equação (6):

$$M(H, T) = n\mu \left[\coth(x) - \frac{1}{x} \right], \text{ onde } x = \frac{\mu H}{K_\beta T} \quad (6)$$

Onde n representa o número total de momentos magnéticos por unidade de volume na amostra e μ é o valor da magnetização de saturação M_s . O sistema descrito

não considera interações do sistema, no entanto, para considerar um sistema onde interações entre partículas estejam presentes, deve-se considerar uma distribuição de momentos magnéticos usando uma função de Langevin modificada. Isso pode reescrever-se mediante a Equação (7):

$$M = N \int_0^{\infty} \mu L(x) f(\mu) d\mu \quad (7)$$

Onde $f(\mu) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma\mu} \exp\left(-\frac{\ln^2(\mu/\mu_0)}{2\sigma^2}\right)$, é a distribuição lognormal da função⁶⁷.

2.6 Regime de bloqueio

Considerando novamente lei de Arrhenius, temos que um sistema magnético se encontra no regime de bloqueio, é dizer $\tau_m \ll \tau$ quando os resultados de uma medida dependem da história magnética da amostra, do campo aplicado e da temperatura. Sendo o estado inicial do sistema essencial para poder obter conclusões válidas e verificar a informação experimental. Para efetuar medições magnéticas nesse regime é comum utilizar dois protocolos de medição que permitam obter informação magnética de uma amostra nesse regime: O resfriamento com campo magnético nulo e o de esfriamento com campo magnético aplicado, conhecido como *Zero Field Cooled* (ZFC) e *Field Cooled* (FC), pelas siglas em inglês.

2.7 Anisotropia magnética

A anisotropia magnética faz referência à dependência da energia magnética com a orientação relativa da magnetização. Pode ser representada em três formas diferentes, dependendo do fenômeno que as gera. Dado o tamanho reduzido das nanopartículas quando se trabalha em escala nanométrica, a anisotropia superficial possui uma grande importância devido à elevada razão superfície/volume⁶⁸. Os momentos magnéticos dos átomos situados na superfície não conseguem alinhar-se entre si e nem com os momentos atômicos do centro da nanopartícula (Figura 11) porque implicaria em uma alta energia de tensões. Neste sentido, estes momentos não contribuem completamente ao momento total das nanopartículas.

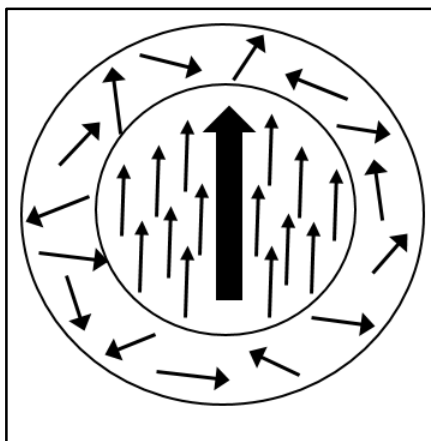


Figura 11. Representação dos spins alinhados e distribuídos no interior e na superfície de uma nanopartícula.

A camada superficial se faz mais importante a medida que diminui o tamanho e também depende da forma, já que os momentos magnéticos dos átomos superficiais estão apontando em direções arbitrárias com respeito aos momentos magnéticos do núcleo da nanopartícula. Para nanopartículas esféricas, a dependência da constante de anisotropia efetiva (K_{eff}) com a anisotropia de volume (K_v), a densidade de energia de anisotropia da superfície (K_s) e o diâmetro (D), pode ser expressada como⁶⁹ :

$$K_{eff} = K_v + \left(\frac{6}{D}\right)K_s \quad (8)$$

Para determinar a energia associada se empregam constantes de anisotropia, as quais algumas delas serão tratadas a seguir.

2.7.1 Anisotropia magnetocristalina

Em um sólido cristalino, os orbitais dos elétrons desaparelhados são fortemente influenciados pelo campo cristalino, e em muitos casos pode anular o momento magnético. Esse efeito é conhecido como *quenching* do momento magnético, e é especialmente significativo nos elementos com orbital $3d^{47}$. Devido a esse efeito o acoplamento spin-órbita tem grande importância e reflete a simetria da rede cristalina. A anisotropia magnetocristalina, tem sua origem nesse acoplamento e descreve a preferência da magnetização em direções cristalográficas do sistema. Dessa forma a energia associada à anisotropia magnetocristalina (E) pode ser escrita⁷⁰:

$$E = \sum_{i,k=1}^3 (\beta_{ik} \alpha_i \alpha_k + \delta_{ik} \alpha_i^2 \alpha_k^2) \quad (9)$$

Onde β_{ik} e δ_{ik} são as constantes de anisotropia.

Para o caso da simetria cúbica cristalina a contribuição à energia magnética nesse caso U_c é dada por¹⁸:

$$U_c = K_0^c + K_4^c (\alpha_1^2 \alpha_2^2 + \alpha_2^2 \alpha_3^2 + \alpha_3^2 \alpha_1^2) + K_6^c \alpha_1^2 \alpha_2^2 \alpha_3^2 + \dots \quad (10)$$

Onde K_0^c faz referência à constante de anisotropia cúbica de ordem 0 nos α_i . K_0^c é um termo sem dependência angular pela qual será depressível. Segundo os valores de K_4^c e K_6^c os eixos de fácil, media e difícil magnetização estarão nas direções [100], [110] ou [111], como detalhado na tabela 1¹⁸:

Tabla 1. Eixo de magnetização da anisotropia dependendo dos valores K_4^c e K_6^c .

K_4^c	>0	>0	>0	<0	<0	<0
	$> -\infty$	$> -9K_4^c$	$> -\frac{9}{4}K_4^c$	$> -\infty$	$> \frac{ K_4^c }{4}$	$> \frac{ K_4^c }{4}$
K_6^c	$< -9K_4^c$	$< -\frac{9}{4}K_4^c$	$< +\infty$	$< \frac{9}{4} K_4^c $	$< K_4^c $	$< +\infty$
Fácil	[111]	[100]	[100]	[111]	[110]	[110]
Médio	[100]	[111]	[110]	[110]	[111]	[100]
Difícil	[110]	[110]	[111]	[100]	[100]	[111]

2.7.2 Anisotropia magnética de forma

Esse tipo de anisotropia é consequência da forma física do mineral macroscópico e mede a dificuldade de mudar a direção do momento magnético com um campo magnético. Em outras palavras, reflete a existência de uma direção preferencial de magnetização dependendo da forma da nanopartícula. Para nanopartículas com forma elipsoidal, os momentos magnéticos tendem a se orientar conforme o seu eixo longo, dessa forma eles estarão orientados para dois sentidos possíveis dentro de uma mesma direção, fazendo que a força do sinal magnético seja potencializada.

2.8 Efeito das interações entre nanopartículas

As interações entre partículas podem desempenhar um papel significativo na modulação do comportamento magnético num sistema de nanopartículas. Fortes interações do dipolo magnético entre partículas ferromagnéticas ou ferrimagnéticas, quando isoladas correspondem ao estado superparamagnético. Tal fato pode resultar de um estado coletivo de momentos magnéticos de nanopartículas. Esse estado coletivo tem muita semelhança com o estado *spin-glass*, onde existem fortes interações devido a algum transtorno estrutural congelado⁷¹. Para o caso de nanopartículas agregadas, as interações de troca são muito importantes e isso pode levar a uma forte diminuição do relaxamento superparamagnético⁷². Comumente nanopartículas tem uma ampla distribuição de tamanho o que dá origem a uma ampla distribuição de tempos de relaxação superparamagnético das partículas isoladas (ver equação 3). Interações entre partículas podem ser variadas através da concentração das nanopartículas. Diversos estudos para uma ampla variedade de nanopartículas, incluindo a magnetita, têm sido realizados⁷³. Se as partículas são distribuídas aleatoriamente e têm orientação aleatória dos eixos de fácil magnetização, as propriedades magnéticas podem ter similaridade ao *spin-glass* (SG)⁷⁴. Para validar a presença do sistema SG, onde campo magnético coercitivo (H_c) apresenta uma dependência linear com a temperatura, pode ser usada a equação Almeida-Thouless⁷⁵ :

$$H(T) = H_0 \left(1 - \frac{T}{T_f}\right)^{3/2} \quad (11)$$

Onde T_f é a temperatura de congelamento, H_0 é a amplitude do campo magnético. De outro lado para sistemas sem interação entre partículas, sistemas superparamagnéticos, o sistema pode ser escrito pela equação¹⁸ :

$$H_c = H_0 \left[\left(1 - \frac{T}{T_B}\right)^{1/2} \right] \quad (12)$$

Onde H_0 é o valor de H_c quando T se aproxima a zero. Dessa forma a medida H_c como função de $T^{1/2}$ seria linear para sistema sem interação.

Interações dipolares têm uma significativa influência sobre as medidas magnéticas DC. Nas medidas *Zero Field Cooled* (ZFC), a temperatura máxima está relacionada com a temperatura de bloqueio (T_B), que desloca-se a maior temperatura na presença de interações entre partículas. Nas medidas *Field Cooled* (FC), para um sistema sem interações entre partículas, a curva incrementa-se quando a temperatura diminui, e em presença de interações pode resultar em quase uma magnetização independente da temperatura abaixo da T_B ⁷². Como informação complementar as medidas magnéticas em corrente alterna (AC) são usadas para obter informação quantitativa do tempo de relaxação. Medidas magnéticas de nanopartículas com interação entre elas apresentam um tempo de relaxação que diverge da mesma forma que um sistema SG, quando a amostra é esfriada para a temperatura (T_0) da transição de fase. Dessa forma, o tempo de relaxação pode ser expressado como⁷⁶ :

$$\tau = \tau_0 \left(\frac{T_f}{T_g} - 1 \right)^{-z\nu} \quad (13)$$

Onde τ_0 é o tempo de relaxação microscópico, T_f é o valor máxima na curva χ' vs. T , $z\nu$ é o expoente crítico dinâmico e T_g é a temperatura de transição de fase.

2.9 Sínteses de nanopartículas magnéticas

Dentro das diversas metodologias de síntese de nanopartículas magnéticas existentes atualmente, há vantagens e limitações das características do produto a ser obtido, como; tamanho, morfologia, cristalinidade, polidispersão, estabilidade e magnetização de saturação^{77,78}.

Daí a importância de realizar a escolha adequada da metodologia de síntese que permita obter as nanopartículas com as propriedades específicas desejadas. Por exemplo, para o caso das ferritas, dependendo da metodologia da síntese escolhida, a distribuição de tamanho pode ser monodispersa com $5\% < \sigma < 10\%$ onde σ representa a polidispersão do diâmetro. O valor σ reflete as propriedades magnéticas do material, no caso de ter uma amostra com uma parte da população com maior polidispersão, ela estaria dominando o comportamento magnético total da amostra⁵⁹.

Outra consideração que depende da metodologia da síntese escolhida é a homogeneidade da estequiometria e a distribuição dos íons M^{2+} nos interstícios octaédricos (B) ou tetraédricos (A), que estão relacionadas com às propriedades estruturais (podendo ser responsável pelos defeitos na rede) no material obtido, o que pode influenciar no comportamento magnético (valor da magnetização de saturação)⁷⁹.

A produção de nanopartículas magnética, por exemplo ferrofluidos, pode ser realizada através de duas formas; por método físico (*top-down*) e por método químico (*bottom-up*)⁸⁰. O método físico manipula o material a partir da escala macro, e usando processos físicos, como a quebra das partículas, gás-condensação e aerosol-redução; não entanto esse método não permite um controle adequado das propriedades morfológicas do material (defeitos superficiais)⁸¹, esse método não é o mais recomendável para aplicações biomédicas, onde são requeridas formas, tamanhos, polidispersão do material, de forma controlada. Os métodos químicos possibilitam um maior controle durante o processo de síntese, devido a que tais métodos são baseados em reações químicas e geralmente utilizam precursores moleculares ou atômicos para a obtenção do material, com melhor controle de tamanho, forma, polidispersão, entre outros⁸². Entre os métodos químicos mais comuns podemos mencionar, co-precipitação química⁸³, hidrotermal⁸⁴, micelas⁸⁵ e decomposição térmica⁸⁶.

2.10 Decomposição térmica (DT)

Esse método possui vantagem na obtenção de nanopartículas com elevada cristalinidade, baixa polidispersão, forma esférica, tamanho reduzido⁸⁷. Por outro lado as limitações para esse método estão principalmente relacionadas ao baixo rendimento e maior custo quando comparado ao método anterior. Aqui a decomposição do precursor de Fe ocorre numa solução cuja fase é orgânica e submetida a elevada temperatura em presença de agentes estabilizantes, onde os solventes orgânicos usados possuem ponto de ebulição acima de 200 °C⁸⁸. Dessa forma o sistema permanece em condições de refluxo (elevada temperatura e homogeneidade térmica) entre 30 minutos a 2 h, onde além dos grãos passarem pelo

processo de nucleação e posterior crescimento, eles passam pelo processo de cristalização⁸⁹.

A partir desse método podem ser realizadas algumas variações na rota da síntese, como por exemplo a concentração e tipo dos tensoativos e solventes orgânicos usados, assim como o precursor organometálico que estarão relacionados como a prevenção da oxidação e aglomeração do produto obtido⁹⁰. Dessa forma partindo de um precursor organometálico como o $\text{Fe}(\text{acac})_3$ dissolvido na presença de um álcool de cadeia longa (1,2 octanodiol, 1,2-dodecanodiol, 1,2-hexadecanodiol), além dos tensoativos e estabilizantes como oleilamina e ácido oleico (AO). Todas estas substâncias serão dissolvidos num solvente orgânico por exemplo, difenil éter com ponto de ebulição de 265 °C ou benzil éter com ponto de ebulição de 295 °C, que outorgará a temperatura de síntese. Posteriormente ocorrerá o processo de redução parcial de Fe^{3+} para o Fe^{2+} ⁹¹, tudo o processo da síntese é representada na Figura 12. Para o aumento do tamanho das nanopartículas podem ser empregados solventes orgânicos com maior ponto de ebulição que permita atingir tamanhos próximos a 20 nm⁹².

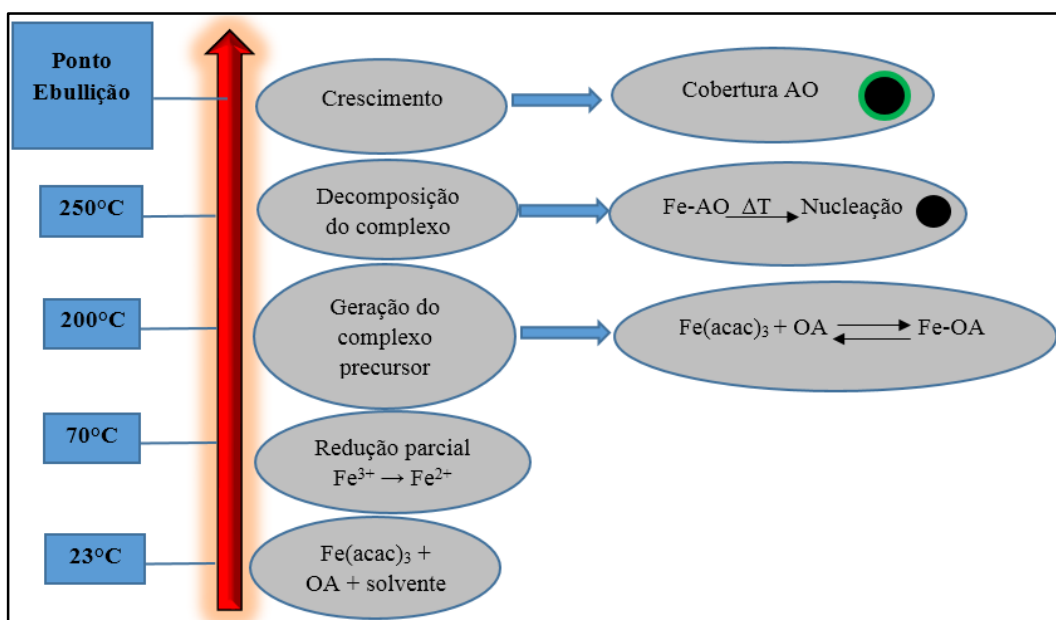


Figura 12. Esquema da síntese de nanopartículas de magnetita por Decomposição Térmica.

2.11 Funcionalização de nanopartículas

Após a obtenção das nanopartículas de óxido de Fe por qualquer metodologia de síntese escolhida, precisa de um tratamento adicional que permita outorgar ao sistema estabilidade e proteção da superfície para evitar a oxidação e possível redução na magnetização do material. A estabilização é uma etapa importante pois define as possíveis aplicações onde poderão ser usadas³². Por exemplo para algumas aplicações *in vivo*, onde a via de administração seja endovenosa, é necessária uma funcionalização das nanopartículas que outorgue características hidrofílicas para facilitar a mobilidade e interação das nanopartículas funcionalizadas e prolongar o tempo necessário para que elas consigam chegar na área de interesse (órgão alvo)³³. Esse procedimento de estabilização em médio fisiológico das nanopartículas assim como a capacidade da modificação e funcionalização da superfície com algumas substâncias, por exemplo orgânicas, como proteínas, polímeros, óleos essenciais, é um passo importante para garantir o uso em possíveis aplicações biomédicas³⁴.

As nanopartículas funcionalizadas podem ser dispersos na forma de coloides, onde as forças repulsivas de tipo eletrostáticas podem ser usadas para esse fim³⁵. A força repulsiva tem sua origem nas interações eletrostáticas devido às cargas superficiais das nanopartículas ou à sobreposição das duplas camadas elétricas³⁶. Também devem ser consideradas as forças de Van der Waals e interações dipolares, que são de natureza atrativas, elas possuem um efeito significativo a distâncias muito curtas da ordem de alguns nanômetros³⁷. Dessa forma a aglomeração das nanopartículas acontece quando as forças atrativas são maiores que as forças repulsivas³⁸. Existem dois métodos pelos quais pode-se atingir a estabilidade do sistema: estabilização eletrostática e estabilização estérica³⁹.

A estabilidade estérica é aquela que usa macromoléculas iônicas e não iônicas adsorvidas na superfície das nanopartículas⁴⁰. As macromoléculas são usadas na estabilização das nanopartículas coloidais e pode-se aproveitar convenientemente a sua afinidade pela superfície da nanopartícula. Um dos mais usados são polímeros de cadeias longas^{41, 42}. Dessa forma, se tem um extremo da cadeia da macromolécula que está orientada para a superfície da nanopartícula e o outro extremo orientado no sentido contrário que é afim ao meio usado como solvente. Essa cadeia solúvel se

projeta longe da superfície da nanopartícula dispersa, orientada para a solução de tal forma que durante uma aproximação das nanopartículas elas se repelem entre elas⁴³.

Outra forma de outorgar a estabilidade do sistema coloidal é usando as interações eletrostáticas entre partículas e tensoativos. Este método é de particular interesse devido à estabilidade de suspensões de partículas carregadas em um meio líquido⁴⁴. Também a estabilidade eletrostática está relacionada à força iônica e pH da solução das nanopartículas⁴⁵.

2.12 Aplicações biológicas de nanopartículas magnéticas

As nanopartículas magnéticas, devido às propriedades diferenciadas que possuem, são excelentes candidatas para aplicações em sistemas biológicos, podendo ser usadas em aplicações como: *drug delivery*, hipertermia magnética, diagnóstico⁹³, ou em sistemas de terapia e diagnóstico (teranóstico)⁹⁴ ver figura 13. Para isso, as nanopartículas devem ter um recobrimento adequado, por exemplo com substâncias orgânicas, dextran⁹⁵, polietileno glicol (PEG) ou ácido oleico⁹⁶.

Dentre as diversas aplicações, a entrega de fármaco (*drug delivery*) tem desenvolvido grande interesse⁹⁷, sendo que este fármaco pode ser encapsulado num material biodegradável e biocompatível, e o carregador pode ser um núcleo magnético (óxido de Fe). De tal forma que, com o uso de um campo magnético externo estas partículas magnéticas possam ser direcionadas a um sítio alvo de interesse para que os grupos funcionais do fármaco possam assim interagir diretamente através de receptores ou ligando com o órgão escolhido, realizando a entrega do fármaco de forma mais direta e reduzindo os efeitos secundários⁹⁸.

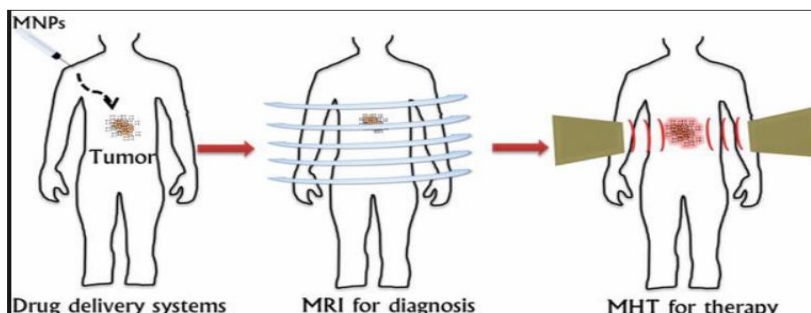


Figura 13. Aplicações das nanopartículas magnéticas em medicina.

O uso de nanopartículas magnéticas como carregadores de fármacos possuem a vantagem de: atingir a área de interesse de forma mais seletiva e com menos efeitos nocivos. Assim supera-se dificuldades de especificidade deficiente e toxicidade limitantes das doses dos fármacos⁹⁹. Pode-se também incorporar substâncias com características hidrofílicas ou lipofílicas, dependendo da forma de administração no corpo¹⁰⁰.

Segundo a literatura científica, o ferro que encontra-se nas ferritas usadas como carregadores de fármacos, pode ser fagocitado pelas células do sistema retículo endotelial¹⁰¹ e armazenado em proteínas de ligação ao metal como por exemplo, a ferritina. Sabe-se que na maioria dos órgãos do corpo humano, o Fe é armazenado em princípio, no núcleo da proteína ferritina. Essa proteína possui uma forma esferoidal oca de quase 12 nm. O vazio central entre o núcleo e o caroço de 8 nm de diâmetro é normalmente ocupado pelo Fe hidratado ($5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) que geralmente contém só Fe^{3+} , sendo a maior parte do Fe armazenada no corpo através dessa proteína¹⁰². Alguns pesquisadores mencionam que a partir de análises bioquímico e histológicos, num período de 3 meses, o material pode ser eliminado do organismo¹⁰³, mas esse tema ainda está em estudos e testes, pois existem pesquisas que mencionam possíveis alterações bioquímicas e histológicas relacionadas com concentração e o recobrimento utilizado sobre as nanopartículas quando administradas em sistemas biológicos. Dessa forma faz-se de extrema importância avaliar a biocompatibilidade das nanopartículas.

2.13 A espécie *Croton cajucara Benth* (CCB)

Na parte norte da Amazônia do Brasil é possível encontrar a espécie CCB da família Euphorbiaceae, onde é conhecida popularmente como “sacaca”. Esta espécie é utilizada pela população por suas propriedades medicinais¹⁰⁴. Tanto a parte da casca como as folhas são usadas na preparação de chás para diversas doenças e distúrbios gástricos^{105,106,107}.

O cultivo da espécie CCB no Brasil é feito em solo amarelo, argiloso, ácido, com boa porosidade e drenagem, porém quimicamente pobre em nutrientes¹⁰⁸. O CCB é um arbusto de folhas lanceoladas, com folhas que podem atingir os 14 cm de

comprimento e 5 cm de largura, com coloração verde ou parda e flores nos racimos que vão dos 6 até 9 cm de comprimento^{109,110} (Figura 14).



Figura 14. Folhas da espécie *Croton cajucara* Benth.

O óleo essencial (OE) obtido a partir das folhas de CCB contém diversos componentes terpenos, entre eles, o maioritário é o linalool (41.2%), (E)-nerolidol (12.6%), β -carofileno (6.9%) entre outros¹¹¹. A partir de estudos realizados das folhas do CCB foi possível isolar e caracterizar mais alguns componentes: β -sitosterol, estigmasterol e 3,0-glicopiranosil- β -sitosterol, flavonoides (3,7,4-tri-*o*-metilcanferol e 3,7,-di-*o*-metilcanferol) e um diterpeno do tipo 19-nor-cloerdano^{112, 104} (Figura 15).

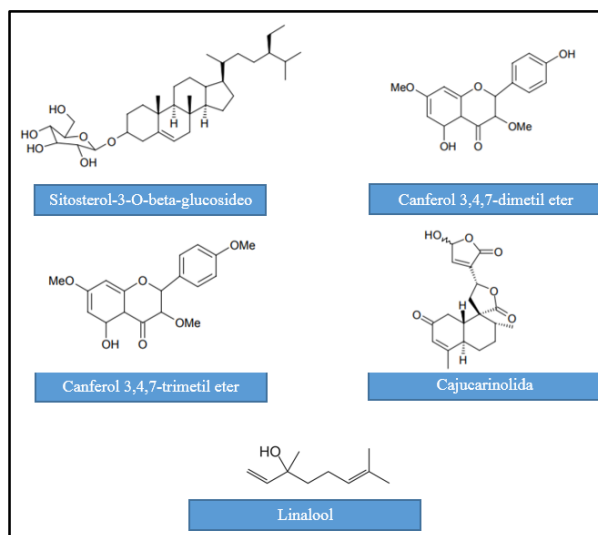


Figura 15. Algumas das substâncias isoladas da folha de CCB, adaptado. ¹⁰⁴

Segundo a literatura científica, é reportado os efeitos do OE de CCB obtidos a partir das folhas contra a Leishmaniose amazonense¹¹³. Em outros estudos, foram reportadas as propriedades antimicrobianas do OE de CCB¹¹⁴. Neste último estudo utilizou-se micróbios da saliva de humanos em filmes e testou a ação antimicrobiana do OE de CCB. O resultado mostrou que a inibição das células bacterianas. Dessa

forma, confirmou-se o efeito antifúngico do linalool presente no OE. Propriedades analgésicas e anti-inflamatórias do CCB têm sido investigadas em diferentes modelos de testes de dor e inflamação em animais. Evidenciou-se que o OE de CCB possui componentes com efeitos antinociceptivo significantes quando administrada em elevadas doses¹¹⁵. Já no caso de o OE, ele tem um efeito significativo em processo inflamatórios agudos e crônicos, quando administrados em doses baixas¹¹⁵.

Estudos reportaram que o efeito gastroprotetor do OE de CCB evidenciam uma redução significativa nas lesões ulcerativas nos modelos usados^{116,115}, onde os possíveis mecanismos antiulcerogênicos do OE de CCB foram estudados. O OE de CCB foi capaz de alterar a acidez e o volume do suco gástrico, quando administrado por via intraduodenal, o que demonstrou uma ação sistêmica¹¹⁷. Também teve um aumento na produção da mucosa gástrica pelas células glandulares do estômago em ratos e aumentou a produção/síntese de prostaglandinas (PG2) pelas células da mucosa gástrica em ratos¹¹⁸. Adicionalmente foi mostrado que a partir da administração oral do OE de CCB foi verificado uma diminuição nas contrações abdominais geradas pelas úlceras induzidas com ácido acético¹¹⁹.

Dessa forma, o do uso OE de CCB está justificado pelo efeito antiulcerogênico que possui, podendo ser considerado como candidato a novos e mais eficientes usos para o tratamento de úlceras.

2.14 Úlceras

Uma das doenças gastrointestinais mais comuns é a úlcera gástrica. Esta é gerada pelo desequilíbrio entre a ação de fatores agressivos e defensivos na mucosa gástrica¹²⁰. A *Helicobacter Pylori* (HP) é uma bactéria microaerófila, gram-negativa, de crescimento lento e de forma helicoidal, com abundantes flagelos¹²¹. Foi descoberta pelos médicos australianos Robin Warren e Barry Marshall; trabalhando conjuntamente. Eles detectaram que esse microrganismo se encontrava em quase todos os pacientes com inflamação gástrica, úlcera duodenal ou gástrica¹²². Baseados nesses resultados, propuseram que a HP estava implicada na etiologia dessas doenças gástricas. Antes dessa descoberta, pensava-se que a maior causa da úlcera péptica era o estresses e o estilo de vida, mas agora sabe-se que a presença de HP

é um fator importante na causa de doença dispéptica e ulceração péptica e está implicada em até 80% das úlceras gástricas¹²³. A partir desse conhecimento a úlcera péptica não é considerada uma enfermidade crônica e pode ser curada com tratamento de antibióticos e inibidores da secreção gástrica¹²⁴.

Existem diversos mecanismos de defesa da mucosa gástrica que são importantes para manter uma barreira efetiva e estão dispostos em diferentes níveis que trabalham de tal forma que conseguem proteger o estômago. A primeira barreira de defesa (nível pré-epitelial) no estômago, consiste numa camada de muco e bicarbonato secretado no muco, gerando dessa forma um gradiente de pH dentro do estômago¹²⁵. Já, o nível epitelial consiste de junções intercelulares apertadas e sistemas de transporte de prótons e bicarbonatos¹²⁶. Finalmente, o nível pós-epitelial consiste, principalmente, de um fluxo sanguíneo efetivo e do sistema nervoso autônomo gastrointestinal¹²⁷. O dano da mucosa gástrica também pode ser induzida por outros fatores agressivos como ácido clorídrico, pepsina, leucotrienos, radicais livres, fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), etanol e nicotina¹²⁸. Existem vários fatores, não somente a acidez gástrica e duodenal que estão relacionados às úlceras, mas também da presença de fatores pré-dispostos, os quais são responsáveis coletivamente por gerar as condições como reduzir a defesa das mucosas e terminar atingindo o estado da úlcera¹²⁹.

CAPITULO 3

3. Materiais e métodos

Nessa parte do trabalho, são mencionados os materiais utilizados na preparação das amostras, assim como os diferentes métodos utilizados para a realização.

3.1 Síntese de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) por Decomposição Térmica

Na síntese das nanopartículas de magnetita recobertas com ácido oleico (AO), utilizou-se o método de Decomposição Térmica reportado na literatura científica^{130, 91} com certas adaptações. Durante a síntese, foi utilizado os seguintes reagentes: O componente precursor organometálico $\text{Fe}(\text{acac})_3$ (2 mmol), agente redutor 1,2-hexadecanodiol (10 mmol), benzyl-éter (20 mL), surfactante ácido oleico (6 mmol) e solvente oleilamina (6 mmol). Todos os componentes foram colocados num balão de fundo redondo de três entradas. Uma das entradas foi usada para promover um fluxo de nitrogênio para prevenir a oxidação durante o processo de síntese. A segunda entrada foi usada para colocar um sistema de esfriamento via um tubo condensador, devido a que sistema foi levado até uma temperatura de 300 °C e a terceira entrada foi usada para colocar um termômetro para monitorar durante todo o procedimento a temperatura, adicionalmente o sistema foi mantido durante todo o processo sob agitação magnética usando uma barra magnética para evitar a aglomeração na solução (Figura 16).

Inicialmente o sistema estava à temperatura ambiente, depois o sistema foi levado até uma temperatura de 200 °C, começando o processo de reação do $\text{Fe}(\text{acac})_3$, onde parte do Fe^{+3} é reduzido a Fe^{+2} originando a nucleação e crescimento das nanopartículas de magnetita. Mantendo o sistema nessa temperatura por 2 h. Posteriormente, a temperatura foi elevada até 300 °C, que é uma temperatura acima do ponto de ebulição (280 °C) do solvente usado (benzyleter). O sistema foi mantido nessa temperatura por 1 h. Após esse tempo o sistema foi desligado e deixado esfriar até atingir a temperatura ambiente.

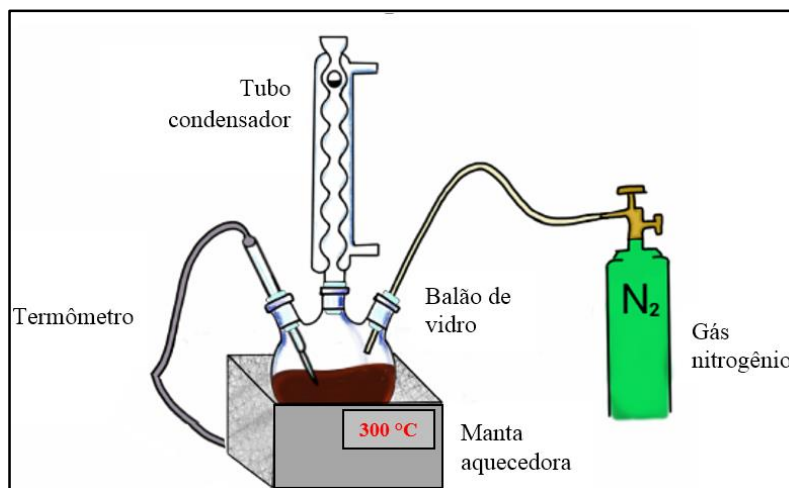


Figura 16. Esquema do sistema experimental usado na síntese das nanopartículas de magnetita.

Para a obtenção da primeira série, o produto obtido durante a síntese foi lavado só com etanol três vezes para retirar o excesso de solvente, e com ajuda de um ímã foi promovida a decantação das nanopartículas. Estas foram armazenadas em um frasco de vidro âmbar, com tampa, para evitar a degradação do material e colocada à temperatura de 15 °C, para posterior análise. Essa amostra foi identificada como M1.

Para a obtenção da segunda série, o produto obtido durante a síntese foi lavado repetidas vezes com etanol para retirar o excesso de solvente. Posteriormente, o produto foi disperso em hexano e adicionou-se acetona lentamente. Visto que à natureza polar que ela possui induz a separação do hexano que leva o AO em excesso na reação. Por fim, e com ajuda de um ímã foi promovida a decantação das nanopartículas, e assim o produto final obtido foram nanopartículas de magnetita recobertas com AO. As mesmas, foram armazenadas em um frasco de vidro âmbar, com tampa, para evitar a degradação do material e colocada à temperatura de 15 °C, para posterior análise. Essa amostra foi identificada como amostra alf1.

3.2 Extração do óleo essencial de *Croton cajucara Benth*

As folhas da espécie CCB foram coletadas na rodovia BR 364 km 13, Rua Projetada 1113. Coordenadas: -10.012552 latitude e -67.707780 longitude, nas proximidades da Embrapa, Rio Branco, Acre. A coleta das folhas foram feitas no período do mês de dezembro 2015. Foi realizado um registro da espécie CCB

(exsicata) no laboratório de Botânica da Universidade Federal do Acre (UFAC), com número do tombo CCB: 4459.

As folhas frescas de CCB, foram lavadas com água destilada e colocadas num secador convectivo de bandeja modelo Q0316M4 à temperatura de 40 °C durante 48 h. A extração foi realizada no Laboratório de Nanobiotecnologia no Complexo Bionorte da UFAC, através do método da hidrodestilação¹³¹, com o uso de aparelho tipo Clevenger modificado. Foram usadas 200 g de folhas secas trituradas e colocadas em balão de fundo chato de 5 L. Adicionou-se 2,5 L de água destilada, até a imersão das folhas trituradas. Em seguida, foi iniciado o processo de extração do OE. O processo de extração foi realizado com um tempo de duração de 4 h. A amostra coletada foi armazenada em um vidro âmbar, com tampa, para evitar a degradação do material. Após isto, foi colocado à temperatura de 15 °C, para posterior análise.

3.3 Obtenção das nanopartículas funcionalizadas usando óleo essencial

A síntese foi realizada mediante Decomposição Térmica^{86, 132} de acetato de Fe (III) na presença de benzyl-éter e ácido oleico (AO) como tensoativo. Na Figura 17, mostra-se um esquema das etapas da síntese para nanopartículas e os recobrimentos. Sabe-se que a função do AO além de atuar como tensoativo durante o processo de síntese, também está relacionado ao controle do tamanho durante o crescimento das nanopartículas¹³³. Adicionalmente, o grupo carboxilato do AO, se liga à superfície da nanopartículas de magnetita enquanto que a cauda de hidrocarbonetos do AO está voltada para fora e proporciona uma repulsão estérica em meio não polar, dando uma característica estável ao sistema e evitando, dessa forma, que as nanopartículas se aglomerem¹³⁴. A partir de uma alíquota das nanopartículas recobertas com AO realizou-se um segundo recobrimento com óleo essencial (OE) de CCB, para se obter, dessa forma, uma estrutura com núcleo de magnetita com cobertura orgânica bicamada composta por AO e OE, como está representada na Figura 17, onde a proporção usada foi de 1:3 mL. A solução foi, então colocada no aparelho sonicador por 20 minutos para homogeneizar a solução, obtendo-se uma solução preta e homogênea, e com boa resposta magnética quando colocada sob ação de um campo magnético. A amostra obtida (nanopartículas recobertas com bicamada) deste processo foi armazenada em um vidro âmbar com tampa, para evitar

a degradação do material orgânico, e colocada à temperatura de 15 °C, para posterior análise.

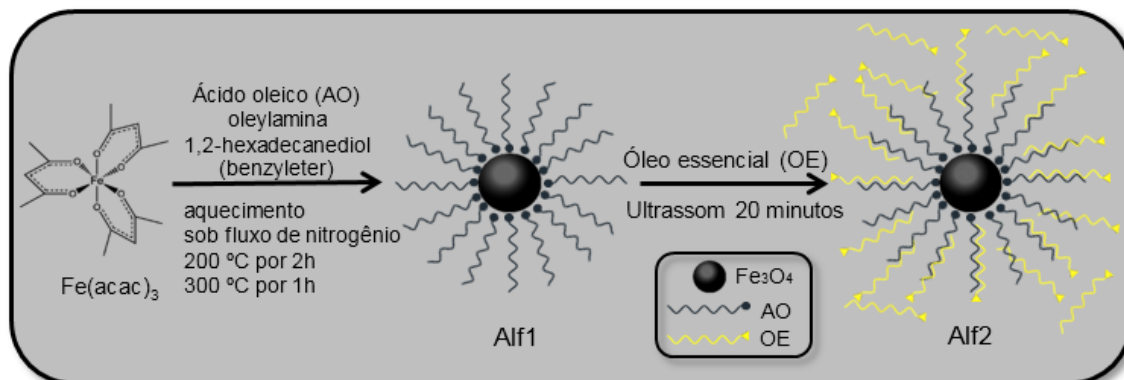


Figura 17. Esquema do recobrimento das nanopartículas com camada de AO e bicamada de AO e OE.

Seguindo a metodologia descrita, foram obtidos duas séries de amostras, a primeira série (amostra M1 e M2) e a segunda série (amostra alf1 e alf2). Na primeira série, a amostra de nanopartículas com uma cobertura de AO obtida após a síntese foi chamada de M1 ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AO$) e a segunda amostra com bicamada de AO e OE, obtida a partir de M1, foi chamada de M2 ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AO/OE$). Foi sintetizada uma segunda série de nanopartículas, com o intuito de melhorar o recobrimento adicional com OE. Nesta nova série, as amostras foram chamadas de alf1 ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AO$) e alf2 ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AO/OE$), com mono e bicamada, respectivamente. Estes nomes serão usados em todo o texto deste trabalho.

3.4 Caracterização da estrutura cristalina usando Difração de raios-X

A técnica de Difração de raios-X (DRX) foi usada para a caracterização da estrutura cristalina das amostras M1 e alf1. Primeiramente, secou-se as amostras em uma estufa a $70\text{ }^\circ\text{C}$ durante 48 h. Em seguida, colocou-se as amostras em um almofariz de ágata, para serem moídas. Com o intuito de se ter informações sobre as fases cristalinas, o parâmetro de rede e estimar o tamanho médio do cristalito das nanopartículas que foram obtidas após a síntese, utilizou-se um difratômetro de raios-X do Laboratório de raios-X do Instituto de Geociências da UnB, marca Rigaku e modelo Ultima IV. Utilizou-se a radiação $\text{Cu-K}\alpha$, operando a 40 kV e 30 mA. Os

difratogramas foram obtidos na faixa de 20 - 80° do ângulo 2 θ , com o difratômetro operando a uma velocidade de 0,5°/ min e passo de 0,05°.

3.5 Caracterização morfológica por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A técnica de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) foi usada para obter informação morfológica e tamanho médio das partículas das amostras das duas séries. Para isso, uma alíquota de cada amostra foi dissolvida em 5 mL de água deionizada, e sonicadas durante 15 minutos em banho ultrassom. Posteriormente, uma gota da solução foi gotejada sobre uma grade suporte de cobre (*grid*) de 400 mesh, revestida com Formvar 0,4%. As amostras foram deixadas para secar durante 24 h sobre papel filtro. As micrografias foram obtidas usando um microscópio eletrônico de transmissão JEOL 1011, operando a 80 kV, do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Transmissão do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (IB-UnB). Seguidamente, foi realizado a contagem das nanopartículas utilizando o software ImageJ, versão 1,43¹³⁵. A partir desses resultados foram construídos os histogramas de distribuição de tamanho. Para isso, foram contadas ~1200 nanopartículas. O número de intervalo de classe dos histogramas foi determinado usando-se o método de Sturges¹³⁶. Adicionalmente foram realizadas medidas de microscopias eletrônica de alta resolução (HRTEM) das amostras M1 e alf1 utilizando microscópio de alta resolução modelo JEM-2100, operando em 200 kV, do Instituto de Física da Universidade de Goiás (IF-UFG).

3.6 Caracterização dos grupos funcionais por Espectroscopia Infravermelha

Com o intuito de verificar a presença dos grupos funcionais presentes sobre as nanopartículas de magnetita, utilizou-se a Espectroscopia Infravermelha por Transformada de Fourier (FTIR). Usou-se um acessório de Refletância Total Atenuada (ATL), que é apropriado para amostras líquidas ou viscosas. Os espectros foram obtido na região de infravermelho médio de 4000 – 400 cm⁻¹ com resolução ajustada em 1 cm⁻¹ e tempo acumulado de 5 minutos para cada medição. Utilizou-se um espectrofotômetro Bruker, modelo Tensor 27, do Laboratório de Espectroscopia

Raman do Núcleo de Física Aplicada, do Instituto de Física da UnB. As amostras alf1, alf2, AO, OE foram gotejadas sobre o cristal porta-amostra para realizar as medições.

3.7 Caracterização termogravimétrica

A técnica da Análise Termogravimétrica (TGA) foi usada para estimar a variação da massa do material orgânico recobrimo as nanopartículas de magnetita, nas duas séries. Durante o aquecimento, o sistema foi mantido sob atmosfera controlada. A perda ou aumento de massa possibilita fornecer a informação sobre a estabilidade térmica e decomposição dos componentes das amostras¹³⁷. A perda de água ou de voláteis, como o oxigênio, apresentam-se como perda de massa, assim como a decomposição de matéria orgânica. Por outro lado, a oxidação ou adsorção de gases apresentam-se como aumento de massa. Assim, foram feitas medidas termogravimétricas das amostras com a bicamada (M2 e alf2). A amostra M2 foi emulsionada em água destilada contendo um tensoativo comercial (Tween 80) com o intuito de homogeneizar o material a ser colocado no porta-amostra do equipamento. A amostra alf2 foi dispersa em hexano com o intuito de homogeneizar o material a ser colocado no porta-amostra do equipamento. As medidas experimentais foram realizadas utilizando-se um equipamento termogravimétrico Shimadzu, modelo DTG-60. A massa inicial das amostras foi de 10 mg. Utilizou-se um fluxo de nitrogênio. A taxa de aquecimento, durante as medidas, foi de 10 ° C/minuto, a partir da temperatura ambiente, até 900 ° C.

3.8 Caracterização usando Espalhamento de Luz Dinâmico (DSL)

A técnica de Espalhamento de Luz Dinâmico (DSL) foi usada seguindo a metodologia reportada por¹³⁸. Para avaliar tamanho hidrodinâmico e a estabilidade das amostras alf2 e M2 em solução aquosa, foram realizadas medidas utilizando o potencial zeta, obtendo, dessa forma, informação a respeito da carga superficial das nanopartículas.

Esta técnica consiste em submeter a suspensão coloidal (que cria uma camada elétrica na região da interfase nanopartícula-líquido) a um potencial elétrico entre os

dois eletrodos da célula na qual está contido o fluido). Para isso, utilizou-se uma alíquota das amostras alf2 e M2, dispersada em 5 mL de água deionizada. O sistema foi colocado em banho ultrassônico durante 30 minutos, para ser homogeneizado. As medidas foram obtidas em um aparelho Zetaziser Nanoseries da marca *Malvern Instruments*, modelo ZS90, no Laboratório de Genética e Morfologia (GEM) do Instituto de Ciências Biológicas da UnB (IB-UnB). O ângulo de detecção de luz espalhada foi fixo em 90°, à temperatura de 25°. Para a avaliação da estabilidade das amostras M2 e alf2, foram realizadas medidas, em um intervalo de 7 dias a contar da preparação da amostra. Todas as medidas foram realizadas em triplicatas. Adicionalmente, mediu-se o valor do pH das amostras alf2 e M2 dispersas em água deionizada, utilizando um medidor digital Digimed, modelo DM-22.

3.9 Caracterização magnética

As medidas magnéticas foram realizadas usando um magnetômetro com dispositivo supercondutor de interferência quântica (SQUID) da marca Quantum Design, modelo (MPMS3) do Núcleo de Física aplicada da Universidade de Brasília (IF-UnB). Para as duas séries de amostras foram realizadas curvas de magnetização em função do campo magnético aplicado, com o intuito de avaliar os seguintes parâmetros magnéticos: Campo coercitivo, magnetização de saturação, K_{eff} , entre outros. Nas curvas de histerese foram usados campos magnéticos de ± 70 kOe. Foram obtidas, curvas *zero-field-cooled* (ZFC) e *field cooled* (FC) na faixa de temperatura de 5K e 300 K. Medidas de susceptibilidade AC também foram obtidas variando a frequência de campo alternada na faixa de 0,1-1K Hz para as amostras alf1 e alf2. As amostras foram pesadas e colocadas num porta amostra, que é inserida em uma vareta. Posteriormente, foi realizada a calibração da posição e amplitude de oscilação do equipamento, antes de se efetuar as medidas magnéticas (Figura 18).

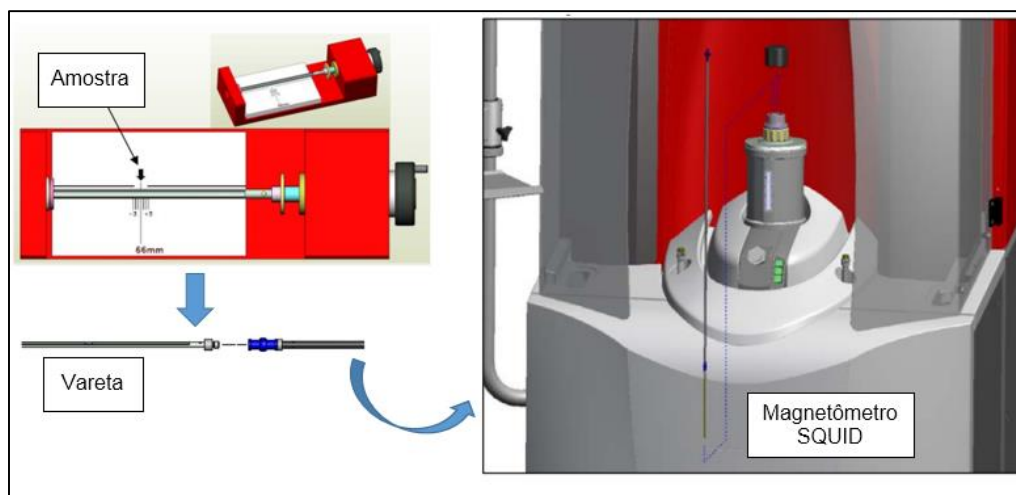


Figura 18. Montagem da amostra no magnetômetro SQUID.

3.10 Medidas de Espectroscopia Mössbauer

As medidas Mössbauer foram realizadas a 77 K para as amostras alf1 e alf2, utilizando-se um transdutor de velocidade com aceleração constante, e uma fonte de $^{57}\text{Co} / \text{Rh}$ com uma atividade de 12 mCi na geometria de transmissão padrão. A calibração da velocidade e referência para o desvio isomérico foram obtidas utilizando-se uma folha de Fe metálica. As medidas foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Mössbauer do Núcleo de Física aplicada do Instituto de Física da UnB (IF-UnB). Para o ajuste das curvas foi utilizado o programa Normos ¹³⁹.

3.11 Avaliação da citotoxicidade *in vitro*

Esta avaliação foi realizada no Departamento de Genética e Morfologia (GEM) do Instituto de Ciências Biológicas (IB-UnB). A atividade citotóxica das amostras alf2, alf1, AO, OE, etanol e tween 80 usadas na diluição dos sistemas foram avaliadas através do ensaio com o MTT [3-(4,5-dimetyl-2-thiazolyl-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide)] que é uma sal de cor amarelada capaz de captar elétrons da cadeia transportadora de elétrons, em uma reação de oxi-redução. A partir da redução do sal pelas enzimas desidrogenases de células metabolicamente viáveis, formam-se cristais de coloração roxa conhecido como Formazan (Figura 19). Esses cristais são insolúveis em água e apresentam um pico de absorção em 570 nm.

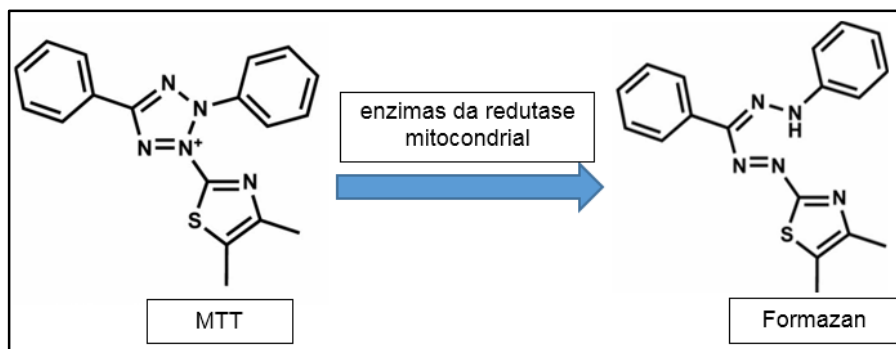


Figura 19. Desenho esquemático do MTT reduzido por enzimas desidrogenases de células metabólicas viáveis gerando formazan, adaptado.¹⁴⁰

3.11.1 Linhagens celulares

A linhagem de fibroblasto murino normal utilizada (NIH-3T3) foi comprada do Cell Bank of Rio de Janeiro, Brasil. O fibroblasto murino normal é uma linhagem isolada de murinos e imortalizadas. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília (IB-UnB).

3.11.2 Manutenção das linhagens celulares

As células foram cultivadas em garrafa de cultura de 75 cm² contendo 10 mL de meio de cultura completo: Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Life, EUA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (v/v) (Life, EUA) e 1% de antibiótico (Penicilina – Streptomina, Life, EUA) (v/v), e mantidas em estufa umidificada (Thermo Scientific, EUA) a 37 °C e 5% de CO₂. O cultivo das células foram realizadas no Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília (IB-UnB).

3.11.3 Tripsinização das células

A linhagem celular utilizada (NIH-3T3) é uma célula aderente. Dessa forma, a tripsina, uma enzima que hidrolisa as ligações peptídicas, foi utilizada para soltar as células da superfície de garrafa de cultura. Para a realização dos experimentos, o meio de cultura foi descartado e 4 mL de tripsina (Tripsina 0,25%, Life, EUA) foram adicionados. As células foram incubadas por 3 a 6 minutos na estufa a 37 °C e a 5%

de CO₂. Após observar por microscopia de luz que todas as células estavam soltas, 4 mL de meio de cultura completo foram adicionados para neutralizar o efeito da tripsina. O conteúdo da garrafa de cultura foi transferido para um tubo tipo *Falcon* de 15 mL e centrifugado. Após 3 minutos de centrifugação, com 1341 de aceleração “g” e a temperatura ambiente, o sobrenadante foi descartado. O *pellet* formado foi ressuspensionado em 1 mL de meio de cultura e utilizado nos passos descritos a seguir.

3.11.4 Plaqueamento das células

Dez microlitros (μL) das células ressuspensionadas em 1 mL de meio de cultura foram separados em um eppendorf de 1 mL e 90 μL de azul de tripan foram adicionados. Após a homogeneização, 10 μL foram colocados em uma câmara de Neubauer e as células foram contadas em microscópio de luz invertido. O número de células foi calculado utilizando-se a fórmula abaixo:

$$\text{Número de células /mL} = \frac{\text{Número de Células Contadas}}{\text{Número de Quadrantes Contados}} \times \text{Fator de Diluição} \times 10^4 \quad (14)$$

Foram adicionadas 3x10³ células/poço em placa de 96 poços de fundo achatado. Este número de células foram ideais para que as células não atingissem a confluência no período experimental utilizado. Após o plaqueamento, as placas contendo as células foram incubadas por 24 h em uma estufa a 37 °C e 5% de CO₂.

3.11.5 Tratamentos

Para as amostras alf1, alf2 e M2 (nanopartículas magnéticas funcionalizadas com o OE, sendo usados 24 mg das nanopartículas M2, adicionando 40 mg de Tween 80 para 1 mL de H₂O mili-Q com o intuito de solubilizar a amostra M2) e os seus respectivos controles (nanopartículas sem OE, OE com Tween 80, OE com etanol, etanol, Tween 80), foram diluídos em um meio de cultura completo em diluição seriada, visando obter as concentrações desejadas para os tratamentos. Devido à presença do OE recobrindo as nanopartículas o qual proporciona uma característica hidrofóbica a estas, foi necessário que tais substâncias tivessem que passar pelo processo de recobrimento de sua superfície com o tensoativo Tween 80, para que pudesse ser avaliado o seu potencial citotóxico em meio aquoso.

O controle negativo foi preparado com água ultrapura em meio de cultura completo adicionando-se volumes equivalentes aos volumes acrescentados para os grupos experimentais. Foi utilizado também um controle apenas das nanopartículas funcionalizadas com OE em poços sem células no intuito de observar as interações das nanopartículas através da absorvância do equipamento e com o teste de MTT. Para a aplicação do tratamento nas células, o meio de cultura utilizado no plaqueamento de cada poço foi descartado na medida em que eram adicionados 200 µL das diferentes amostras dispersas em meio de cultura fresco. As placas foram incubadas na estufa a 37 °C e 5% de CO₂ por 24 h e 72 h. Os grupos dos tratamentos experimentais estão descritos na Tabela 2:

Tabla 2. Descrição dos grupos utilizados nos tratamentos experimentais *in vivo*.

NOME	AMOSTRAS REFERENTES
NANOPARTÍCULA FUNCIONALIZADA	Nanopartículas magnéticas funcionalizadas com OE.
NANOPARTÍCULA SEM OE	Nanopartículas magnéticas sem OE (mesma concentração de nanopartícula das nanopartículas funcionalizadas).
OE + TWEEN 80	OE com tensoativo Tween 80 (mesma concentração de OE e Tween 80 das nanopartículas funcionalizadas).
OE + ETANOL	OE diluído em etanol e H ₂ O (mesma concentração de OE das nanopartículas funcionalizadas).
ETANOL	Etanol diluído em H ₂ O (mesma concentração de etanol do grupo OE + Etanol).
TWEEN 80	Tensoativo Tween 80 diluído em H ₂ O (mesma concentração das nanopartículas funcionalizadas).
NANOPARTÍCULAS SEM CÉLULA	Nanopartículas magnéticas funcionalizadas com OE em poços sem células.

3.11.6 Teste de viabilidade celular, ensaio de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazol

Após 24 h e 72 h de exposição das células às diferentes concentrações dos tratamentos, foi realizado o ensaio colorimétrico de viabilidade celular MTT. Este método avalia a atividade metabólica das células quantificando a redução do MTT

(amarelo ouro) pela ação de desidrogenases associadas ao NADPH e ao NADH em cristais de formazan (azul). O meio de cultura da placa com as diferentes amostras foi retirado e foram adicionados 150 µL de solução de MTT (0,5 mg/mL em meio de cultura completo – 15 µL de MTT (Life, EUA) com 135 µL de meio de cultura) a cada poço. Após 2 h na estufa a 37 °C e 5% de CO₂, a solução de MTT foi descartada e foram acrescentados 150 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma, EUA) em cada poço da placa, com o intuito de dissolver os cristais de formazan formados. A absorbância dos poços foi avaliada por espectrofotômetro (Molecular devices, EUA) a 595 nm. Os resultados foram apresentados em porcentagem de viabilidade celular considerando a absorbância do controle negativo (água ultrapura com meio DMEM completo) como 100% de viabilidade.

3.11.7 Testes estatísticos

Todos os resultados do ensaio celular foram obtidos em triplicatas e apresentados como a média e o desvio padrão da média. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Prism 5,01 (EUA).

3.12 Teste *in vivo*

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFAC (protocolo 38/2016). Baseou-se no protocolo 423 da Organização de cooperação e desenvolvimento econômico (OCDE) ¹⁴¹ como referência para o teste de toxicidade *in vivo*. Este protocolo utiliza um método de classificação de toxicidade aguda a partir de doses fixas administradas uma única vez, cuja a finalidade é determinar a dose de exposição para avaliar seu comportamento no organismo animal.

Neste estudo foram utilizados camundongos Swiss albinos fêmeas, pesando entre 30 g e 40 g. Os animais são provenientes da superintendência do Ministério da Agricultura e Reforma Agrária no Acre. Eles foram mantidos na sala de quarentena do Laboratório de Pesquisas em Fisiofarmacologia da UFAC, com ciclo “claro-escuro” 12/12h em gabinete biotério com água *ad libitum*, e mantidos em jejum durante 12 h, antes do experimento, em sala especial climatizada a temperatura de 22 a 25 °C. Os

experimentos desenvolvidos foram conduzidos de acordo com orientações e considerações éticas para investigações da dor experimental em animais conscientes.

A avaliação da toxicidade aguda foi realizada somente na amostra alf2. Foram utilizados 3 grupos, sendo cada grupo de dois animais. A Tabela 3, mostra os grupos utilizados no teste.

Tabla 3. Grupos de animais usados no procedimento experimental de toxicidade aguda.

Grupos	Sustância administrada	Doses	Via de administração
G1	Alf2	25 µg/kg	Gavagem
G2	Alf2	50 µg/kg	Gavagem
G3	Solução salina (PBS)	1 mL	Gavagem

Os animais foram observados individualmente após a administração oral das doses nos primeiros trinta minutos, e depois continuaram sob observação periodicamente, cada 2 h, até completar 24 h. As observações foram realizadas para avaliar os aspectos da atividade motora e padrão de comportamento, piloereção, os aspectos dos olhos e a reação aos estímulos externos. Posteriormente, os animais foram eutanasiados utilizando-se anestésico inalatório (isoflurano). Finalmente foram retirados os estômagos e os resíduos do interior lavados com tampão fosfato-salino (PBS), para avaliar se o conteúdo contém as nanopartículas retidas no estômago quando os animais estiveram sob ação do campo magnético (ímã) externo durante todo o tratamento, os mesmos que foram usados com o intuito de reter as nanopartículas nos estômagos dos animais.

CAPITULO 4

4. Resultados e discussões

Neste capítulo são apresentados os resultados experimentais obtidos, assim como, análises e suas respectivas discussões baseada em aportes da literatura científica.

4.1 Difração de raios-X (DRX)

A estrutura cristalina e o tamanho do cristalito das nanopartículas de Fe_3O_4 das amostras com cobertura de AO (amostras M1 e alf1) foram obtidos da análises dos difratogramas (Figura 20). Nos difratogramas observam-se a presença dos picos característicos da magnetita, em concordância com o cartão JCPD (*The Joint Committee on Powder Diffraction Standards*) N° 19-0629. Os picos principais localizados em 2θ : $35,71^\circ$; $62,75^\circ$; $57,36^\circ$ e $43,17^\circ$ correspondem aos planos (311), (440), (511) e (400), respectivamente.

Utilizando a relação de Scherrer¹⁸, conforme é mostrada na equação (14) foi possível calcular o tamanho médio dos cristalitos da amostra M1 e alf1, utilizando as larguras dos picos identificados no refinamento dos difratogramas. A correção do alargamento dos picos relacionados ao instrumento foi realizado usando silício como padrão (equação 15). As relações usadas para os cálculos foram:

$$\langle D_{DRX} \rangle = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (14)$$

$$\beta = \sqrt{\beta_{amostra} + \beta_{padrão}} \quad (15)$$

Onde K é uma constante denominada fator de forma que tem um valor de 0.9 para partículas de forma esférica¹⁴², λ é o comprimento de onda dos elétrons usados para gerar raios-X, β é a largura à meia altura do pico de difração¹⁴³, θ é o valor do ângulo de difração (ângulo de Bragg). Após os cálculos foram obtidos os seguintes diâmetros médios dos cristalitos: $\langle D_{DRX} \rangle = 9,7 \pm 0,5$ nm para a amostra M1 e $\langle D_{DRX} \rangle = 8,2 \pm 2$ nm para a amostra alf1. A partir do refinamento dos difratogramas utilizando-se o método de Rietveld foram obtidos para as amostras M1 e alf1 respectivamente parâmetros de rede $a = 8,36 \pm 0,1$ e $a = 8,37 \pm 0,1$ Å. Adicionalmente foram obtidas a posição do parâmetro do oxigênio (u), $u = 0,25$; com uma densidade

de $5,23 \text{ g/cm}^3$ e $u = 0,25$; com uma densidade de $5,2 \text{ g/cm}^3$ para M1 e alf1 respectivamente. Esses valores estão em boa concordância com os parâmetros correspondentes à magnetita *bulk*, $a = 8,39 \pm 1 \text{ \AA}$, $u = 0,25 \pm 1$, e densidade $5,19 \text{ g/cm}^3$ ³⁰. Adicionalmente para a amostra alf1 é mostrado (na Figura 20b), a partir do ajuste realizado, os valores obtidos para R expected (R_{exp})=0,28; e R weighted profile (R_{wp}) = 0,16; esses valores estão relacionados à qualidade do ajuste, dessa forma quanto mais próximo o valor de R_{wp} do valor R_{exp}, pode ser interpretado como melhor a qualidade do ajuste¹⁴⁴.

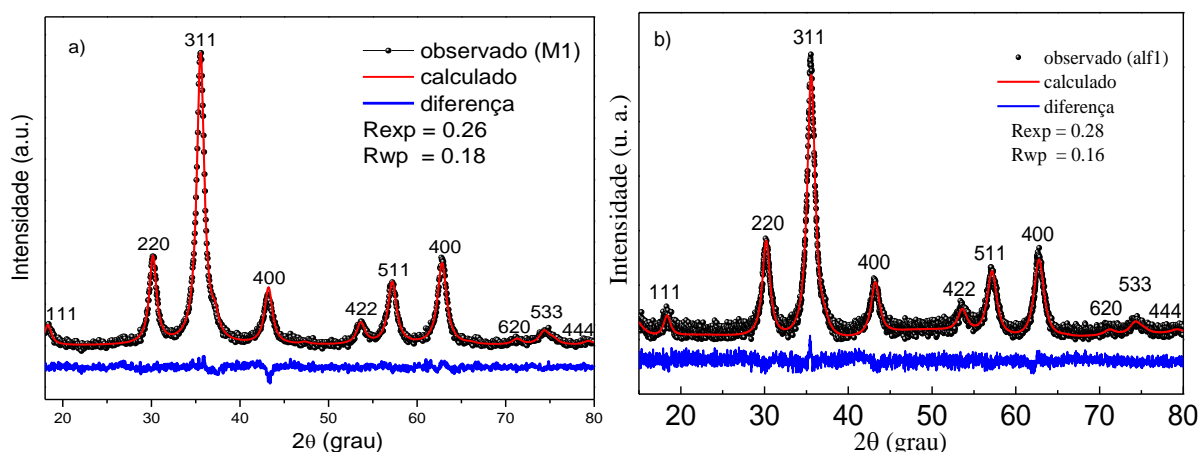


Figura 20. a) Difratoograma da amostra M1, b) Difratoograma da amostra alf1. Realizadas a temperatura ambiente. A linha vermelha representa o refinamento e os pontos pretos representam os dados experimentais. A linha azul é a diferença entre os dados experimentais e o ajuste. Os valores R_{exp} e R_{wp} representam a qualidade do ajuste realizado.

4.2 Análises morfológicas

As Figuras 21 e 22 mostram as micrografias MET M1, M22, e alf1, alf2 respectivamente. Para as amostras M1 e alf1, figura 21a e 22a, observa-se partículas de forma aproximadamente esférica, bem definidas, com distribuição de tamanho homogênea e a ausência de aglomerados. As imagens obtidas nas amostras M2 e alf2, como mostrado nas figuras 21b e 22b, onde observa-se que as partículas mantêm a forma quase esférica mesmo após o recobrimento utilizando-se OE. A Figura 23 mostra a micrografia MET de alta resolução (METHR) da amostra alf1. Na qual pode-se observar com maior nitidez as características das nanopartículas (linhas dos planos cristalinos).

A partir de uma micrografia, foi estimada a distância interplanar utilizando-se Transformada de Fourier inversa (IFFT), com valor de 2,96 Å (Figura 24), que corresponderia ao plano cristalográfico (220)¹⁴⁵.

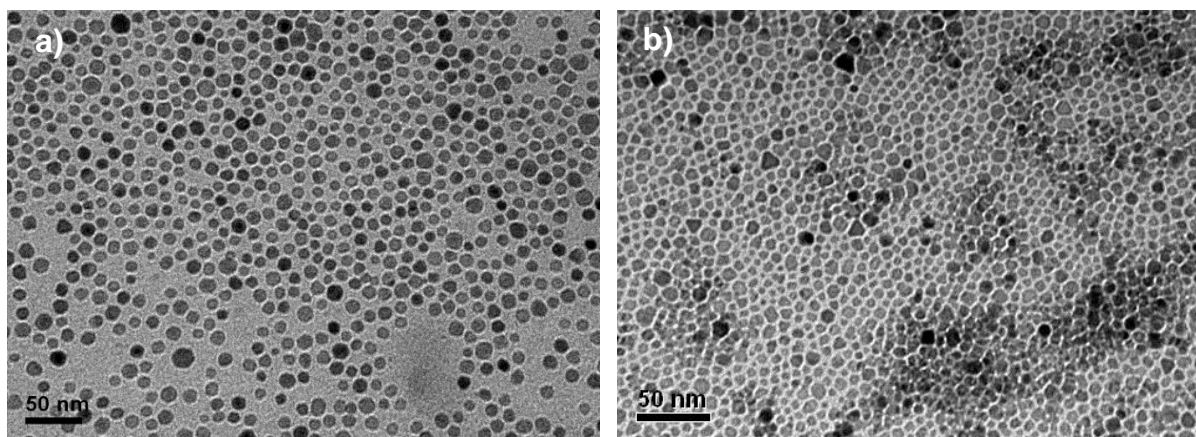


Figura 21. Micrografia MET da primeira série a) M1 e b) M2.

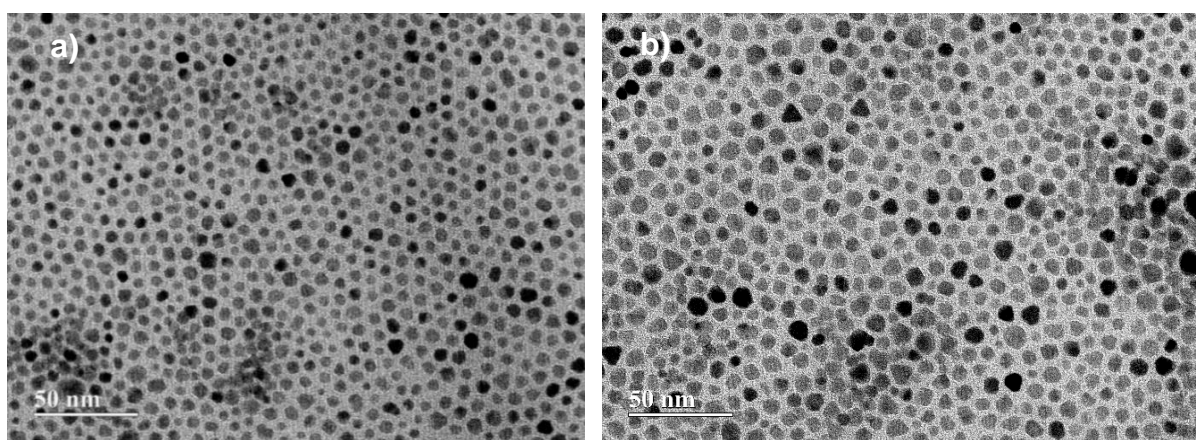


Figura 22. Micrografia MET da segunda série a) alf1 e b) alf2.

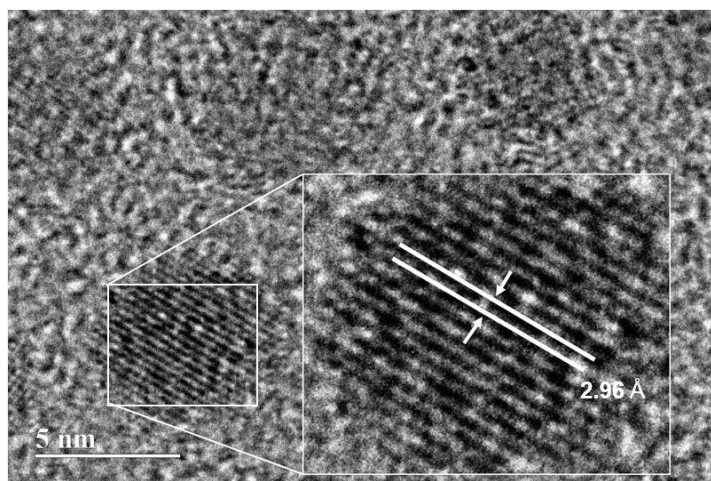


Figura 23. Micrografia da amostra alf1 utilizando MET HR, mostrando a distância interplanar.

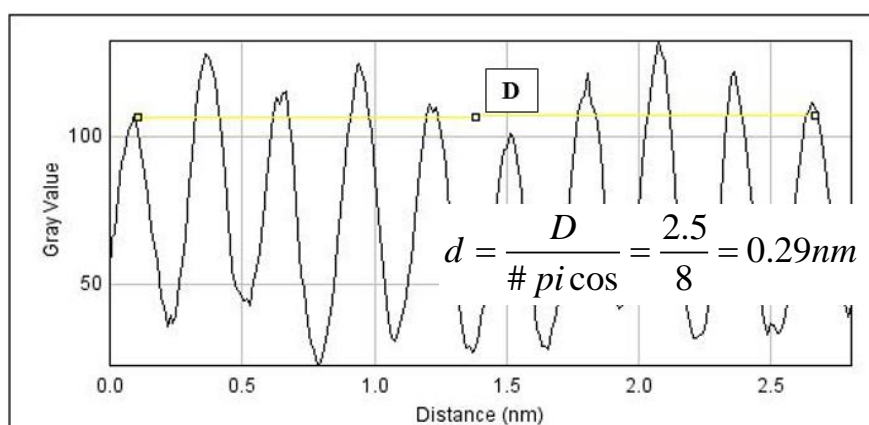


Figura 24. Cálculo da distância interplanar utilizando-se IFFT para a amostra alf1.

As imagens obtidas por MET foram usadas para contabilizar o tamanho das nanopartículas e montar histogramas. Para isso, foram contadas ~1200 nanopartículas para a série 1 (amostras M1 e M2) e para a série 2 (alf1 e alf2). O número de intervalo de classe dos histogramas foi determinado usando-se o método de Sturges, conforme mencionado na seção 3.5. A partir dos histogramas montados para a primeira e segunda série (Figuras 25 e 26), foi determinado o tamanho médio das nanopartículas. Os histogramas foram modelados com uma distribuição lognormal:

$$f(D) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma D} \exp\left(-\ln^2(D/D_0)/2\sigma^2\right) \quad (16)$$

Onde D_0 representa o diâmetro mediano da distribuição, σ é o grau de polidispersão da distribuição de tamanhos. O valor do diâmetro que corresponde ao valor máximo do diâmetro das nanopartículas é dado por:

$$D_{\max} = D_0 \exp(-\sigma^2) \quad (17)$$

E o valor médio do diâmetro:

$$\langle D \rangle = D_0 \exp\left(\frac{\sigma^2}{2}\right) \quad (18)$$

O valor do desvio padrão pode ser obtido a partir da seguinte equação:

$$\sigma_D = \langle D \rangle \sqrt{e^{\sigma^2} - 1} \quad (19)$$

Na Figura 25 são mostrados os histogramas e seus ajustes usando a função lognormal para amostras (M1 e M2). Os ajustes proporcionam o tamanho médio de $\langle D \rangle_{\text{MET}} = 10,5 \pm 3 \text{ nm}$ e um valor de polidispersão de $\sigma = 0,16$ para a amostra M1; e um tamanho médio $\langle D \rangle_{\text{MET}} = 13,7 \pm 2 \text{ nm}$ e um valor de $\sigma = 0,15$ para a amostra M2. Isso sugere que a distribuição de tamanho não mudou significativamente e não há evidência de aglomerados de partículas. Esse maior tamanho obtido para a amostra M1 está em concordância com o resultado obtido por DRX.

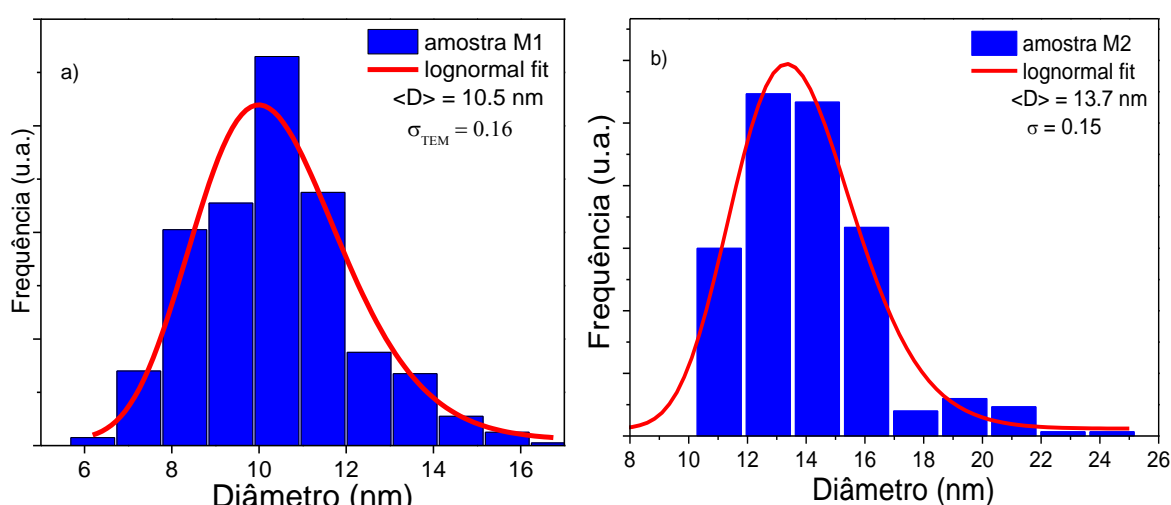


Figura 25. Histogramas de distribuição de tamanhos das amostras e seu ajuste usando a função lognormal para as amostra a) M1 e b) M2.

Similares análises foram realizadas para a segunda série de amostras. A Figura 26 mostra a distribuição dos tamanhos das amostras alf1 e alf2, com o ajuste lognormal. Os resultados proporcionaram um tamanho médio de $\langle D \rangle_{\text{MET}} = 8,7 \pm 0,5$ nm, e um valor de $\sigma = 0,21$ para a amostra alf1 e $\langle D \rangle_{\text{MET}} = 10,1 \pm 0,5$ nm e um valor de $\sigma = 0,21$ para a amostra alf2.

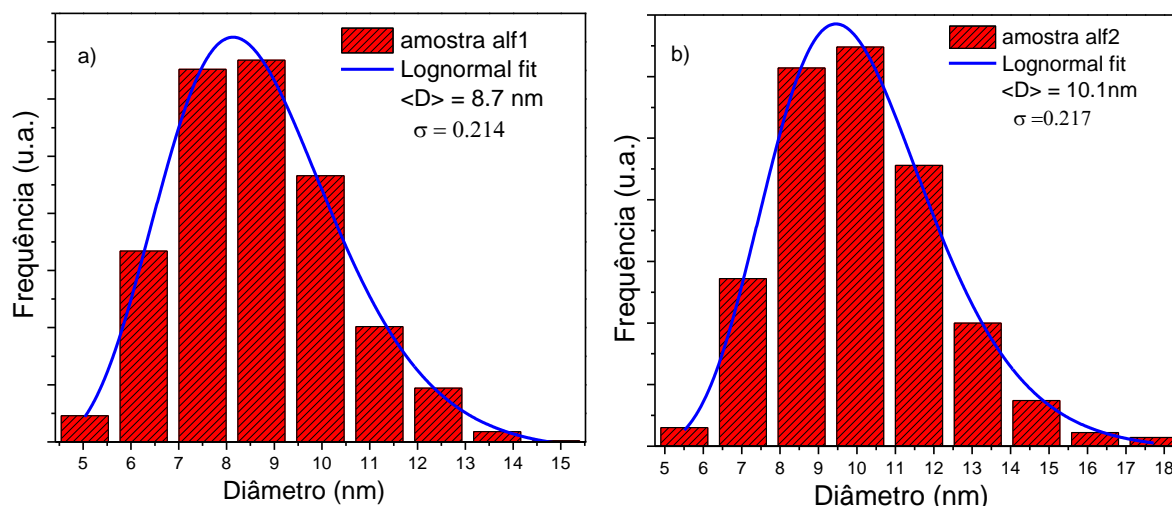


Figura 26. Histogramas de distribuição de tamanhos e o seu ajuste usando a função lognormal para a amostra a) alf1 e b) alf2.

Como foi relatado anteriormente obteve-se uma polidispersão $\sigma < 0,3$ para todas as amostras, sendo ligeiramente maior para a amostra recoberta com AO (alf1) e a amostra bicamada (alf2). Esses valores baixos indicam uma distribuição de tamanho monodispersa que é característico do processo de síntese por Decomposição Térmica ¹⁴⁶.

Os resultados obtidos para ambas séries mostram uma distribuição de tamanho com baixa polidispersão, os quais possuem vantagem para possíveis aplicações em sistemas biológicos, devido a que tamanho menores favorecem a biodistribuição ¹⁴⁷.

4.3 Espectroscopia infravermelha FTIR

Os resultados obtidos por MET, sugerem que o recobrimento realizado utilizando-se uma segunda camada incrementou o tamanho das nanopartículas. Quando é utilizado tensoativo, por exemplo: ácidos carboxílicos sobre a superfície de

óxidos de Fe, o resultado se reflete numa variedade de interações entre as espécies de carboxílicos/carboxilatos e a superfície da nanopartícula de óxido Fe¹⁴⁸.

Segundo a literatura científica, a variação do número de onda (Δ) entre os modos assimétrico (ν_{as}) e simétrico (ν_s) do COO⁻ pode ser usada para avaliar informações sobre o tipo de interação entre o grupo carboxilato e a superfície das nanopartículas de magnetita¹⁴⁸.

O fato que a diferença de energia entre as duas bandas do grupo carboxila seja menor a 110 cm⁻¹ sugere que o AO encontra-se coordenado aos átomos de Fe através de uma ligação de natureza quelante bidentada, onde o grupo carboxilato e íons de ferro interagem através de ligação covalente (Figura 27).

Essa ligação é de tipo covalente coordenado já que a energia em que aparecem as bandas de absorção sugere que a coordenação com os átomos de Fe deu lugar a uma doação eletrônica para os orbitais vazios dos átomos metálicos. Dessa forma, as moléculas de AO encontram-se unidas, fundamentalmente, às nanopartículas devido a que possuem maior afinidade pelos íons de Fe que os do grupo amino.

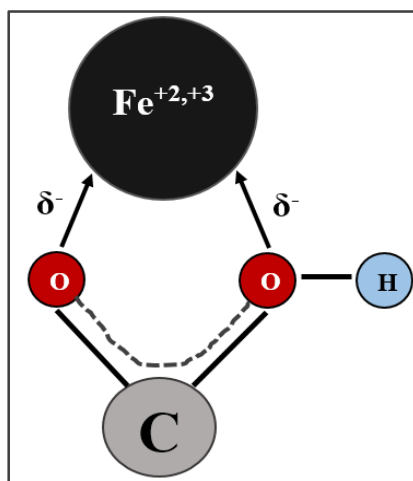


Figura 27. Estrutura e modo de coordenação em forma bidentada do ácido oleico sobre a superfície da nanopartícula de magnetita, adaptado.¹⁵⁶

Como pode ser observado na Figura 28, essas duas bandas se encontram em frequências menores que as correspondentes à ligação C=O do grupo carboxila do ácido oleico (em 1635 e 1541 cm⁻¹, respectivamente), porém numa frequência maior que corresponde a uma ligação C-O do ácido carboxílico (1280 cm⁻¹)¹⁴⁹, esse

resultado, estaria sugerindo uma bem sucedida ligação do AO sobre a superfície das nanopartículas de magnetita . Alguns autores atribuem essas bandas ao movimento de tensão da ligação C=C¹⁵⁰, mas essa afirmação pode ser descartada já que esses modos não aparecem no espectro da amostra AO¹⁵¹.

Com o objetivo de verificar os grupos funcionais presentes sobre a superfície das nanopartículas antes e depois da cobertura com OE, foram comparados os espectros de AO, OE, alf1 (nanopartículas recobertas com AO) e alf2 (nanopartículas recobertas com AO e OE). Como se mostra na Figura 28 para a amostra alf1, na região entre 1700 e 1400 cm⁻¹ encontram-se as bandas em ~1625 e 1530 cm⁻¹, que correspondem ao movimento de tensão $\nu(\text{C-O})$ do grupo carboxílico que encontra-se presente no AO.

Adicionalmente na Figura 28 podem ser observados modos de estiramento simétrico (ν_s) assimétrico (ν_{as}) dos grupos de metileno (CH₂), que são as principais característica das cadeias de hidrocarbonetos não saturados dos tensoativos AO e OE utilizados nos recobrimentos das nanopartículas e estão centrados em ~2852 e ~2922 cm⁻¹ ^{152,148}, respectivamente. Da mesma forma, esses modos de vibração podem ser observados nos espectros das amostras alf1 e alf2, o que estaria evidenciando a presença desses elementos após o recobrimento sobre as nanopartículas de magnetita.

O pico mais intenso centrado em ~1710 cm⁻¹, observado no espectro do AO livre que é atribuído ao modo vibracional carbonilo (C=O), não foi observado para as amostras alf1 e alf2. Isto estaria sugerindo que o AO está interagindo com as nanopartículas, ligando-se sobre a superfície das nanopartículas de magnetita^{152,153}. Adicionalmente, foram observados dois modos de vibração centrados em ~1467 cm⁻¹ e ~1367 cm⁻¹ nas nanopartículas com revestimento de AO nas amostras alf1 e alf2. Esses modos estariam relacionados aos modos assimétricos (ν_{as}) e simétricos (ν_s) do grupo carboxilato (COO⁻) respectivamente¹⁵⁴. Resultados similares foram encontrados na literatura para nanopartículas de magnetita recobertas com AO¹⁵³.

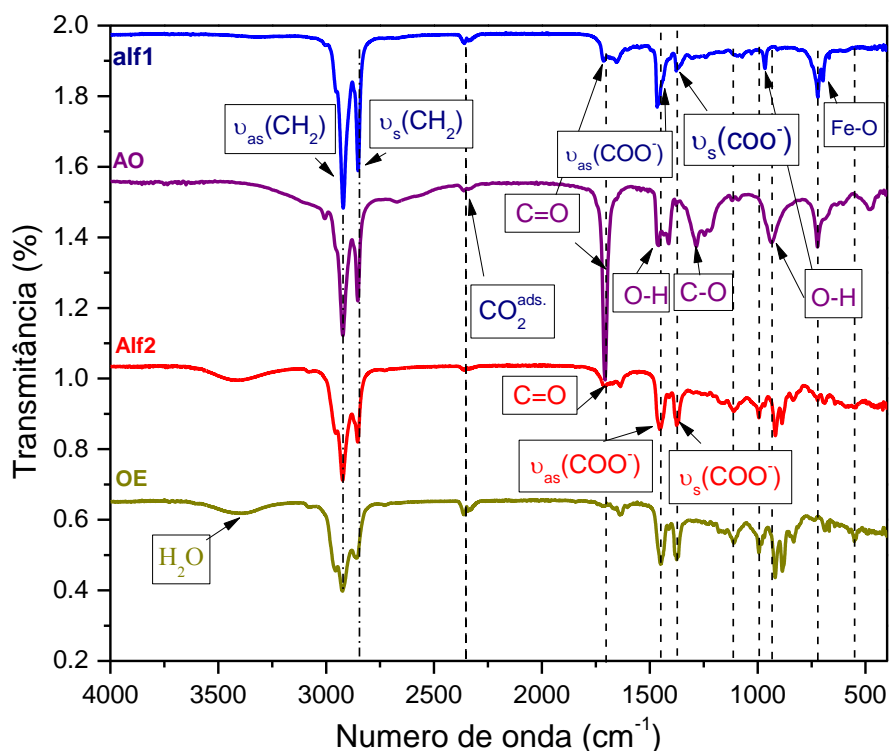


Figura 28. Espectro FTIR das amostras alf1, alf2, AO e OE puras usadas como padrão.

No espectro FTIR da amostra alf2 observa-se que, a intensidade do modo simétrico (ν_s) COO⁻ melhora com relação à intensidade do modo assimétrico (ν_{as}). Esse resultado sugere o incremento da fração dos grupos COO⁻ da superfície atuando efetivamente como quelante bidentadas. A banda em 1280 cm⁻¹ para o espectro do AO é atribuída ao estiramento C-O. Este modo não é observado nos espectros das amostras alf1 e alf2. Adicionalmente, a banda em 936 cm⁻¹ para o espectro do AO foi atribuída ao modo vibracional correspondente à ligação O-H fora do plano¹⁴⁸. O espectro da amostra alf1 é identificada uma banda fraca na região entre 580-560 cm⁻¹, onde é esperado um modo de vibração correspondente à magnetita aproximadamente em 572 cm⁻¹^{154, 155}; e outra centrada em ~680 cm⁻¹ que foi atribuída à ligação Fe-O. É bem notória a redução da intensidade deste modo, o que sugere que o revestimento de AO sobre a superfície das nanopartículas da amostra alf1 foi bem-sucedido. Esta redução em intensidade desta banda que correspondente à ligação Fe-O é ainda mais forte no espectro FTIR para a amostra alf2, dada à presença da camada adicional de OE. O espectro da amostra alf2 apresenta similares características em comparação com o espectro obtido para a amostra de OE. Esse resultado estaria indicando a boa estabilidade a partir da primeira cobertura com AO

sobre a superfície das nanopartículas. Além disso, com exceção da intensidade relativa dos modos assimétricos (ν_{as}) e simétricos (ν_s) de COO^- , não foi determinada nenhuma variação discernível no espectro FTIR das amostras alf1 e alf2 em relação ao espectro de AO, o que estaria sugerindo ausência de interação direta entre as camadas orgânicas de AO e OE sobre a superfície das nanopartículas de magnetita.

4.4 Análises termogravimétricas (TGA)

As análises apresentadas anteriormente forneceram informação sobre o tamanho, forma, distribuição de tamanho e presença de grupos relacionados com os recobrimentos orgânicos utilizados sobre a superfície das nanopartículas de magnetita. Porém, essas técnicas não fornecem informações quantitativas do material orgânico sobre a superfície das nanopartículas. Nesse sentido, foi realizada a análise TGA para as duas séries. Na Figura 29 são mostradas as curvas TGA, antes e depois do recobrimento com a segunda camada de OE para efeitos de comparação. Considerando que as nanopartículas de magnetita possuem maior estabilidade térmica, foi atribuída as primeiras perdas de massa no termograma aos recobrimentos orgânicos utilizados.

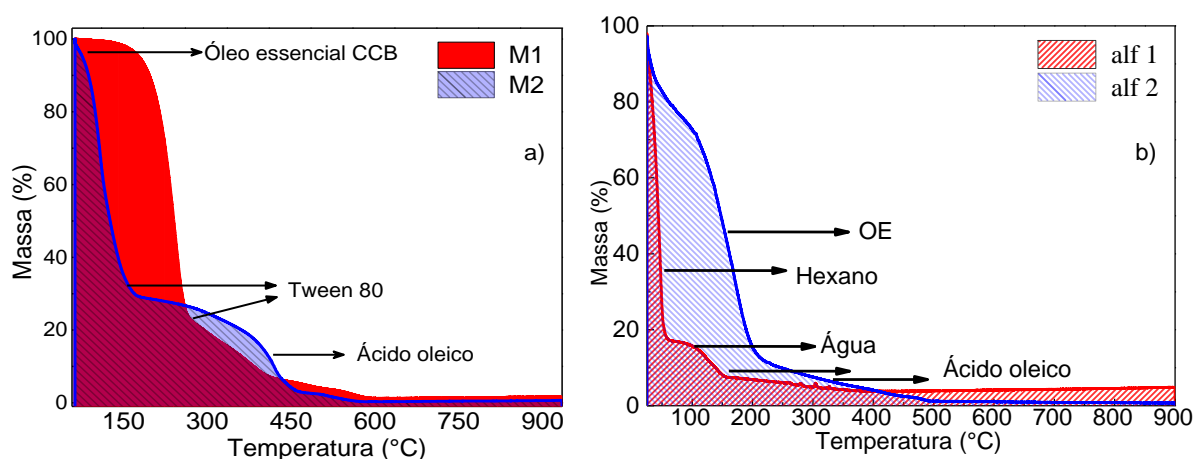


Figura 29. Curvas termogravimétricas das duas séries: a) M1 e M2, b) alf1 e alf2, recobertas com AO e adicionalmente OE de CCB respectivamente.

Na figura 29a mostra-se o termograma para as amostras M1 e M2, onde foi utilizado Tween 80 para a emulsificação destas amostras.

A curva TGA da amostra M1 apresenta duas perdas de massa, correspondendo ao Tween 80, ~ 80% próximo a 170 °C e AO ~ 18,6% próximo a 380 °C para. Enquanto os dados TGA indicaram a decomposição de AO em ambas as amostras (M1 e M2) entorno da mesma temperatura (~ 380 °C), a decomposição de Tween 80 é aumentada de ~ 130 °C (amostra M2) a ~ 170 °C (amostra M1). Nós afirmamos que devido à interação mais forte do Tween 80 com AO do que com OE, pode explicar o aumento na temperatura de decomposição. Esta ideia é suportada pelo maior conteúdo de Tween 80 (80% massa) na amostra M1, quando comparado com o conteúdo de Tween 80 na amostra M2 (60% massa). No entanto, na amostra M2, a primeira perda de peso de (~10%) próximo a 50 °C, correspondente à decomposição de OE, confirmando, dessa forma, a presença da segunda camada na amostra M2.

Posteriormente, observou-se uma perda de massa (~60%) próximo a 130 °C, que foi atribuída à decomposição de Tween 80. Finalmente, uma terceira perda de massa (~27%) foi observada próximo 380 °C, correspondendo à decomposição de AO, pois seu ponto de ebulição é ~ 380 °C¹⁴⁸. Esses resultados estão em concordância com os resultados da segunda série para a amostra alf2 e com reportes na literatura que afirmam que a decomposição térmica dos tensoativos orgânicos usados no recobrimento de nanopartículas magnéticas acontece em temperaturas menores a 400 °C¹⁵⁶.

É importante mencionar que a presença da fase de óxido de Fe é evidente a partir dos dados TGA, que permanecem em ambas as amostras após o aumento da temperatura até 900 °C. Removendo o conteúdo de Tween 80 dos dados TGA avaliados, descobrimos que o conteúdo renormalizado de AO nas nanopartículas magnéticas suspensas na amostra M1 é igual a 93% da massa total da amostra utilizada. Da mesma forma, encontramos os conteúdos renormalizados de AO e OE nas nanopartículas magnéticas suspensas na amostra M2 é igual a 67,5% e 25%, respectivamente. Uma vez que os dados TGA não mostram perda de massa total para ambas as amostras, é assumido que o conteúdo de (~ 7%) para a amostra M1 e ~ 7,5% para a amostra M2 correspondem à fase de óxido de Fe compreendendo o núcleo das nanopartículas magnéticas, que permanece inalterado à temperaturas acima de 600 °C. Assim, os dados TGA avaliados confirmam a estabilidade térmica superior da camada de AO (decomposição térmica a ~ 380 °C) em ambas as

amostras, enquanto indicar a liberação assistida termicamente da camada OE a temperatura mais baixa (~ 50 °C). Esta é uma descoberta fundamental para um possível uso de magneto hipertermia combinada com doses controladas de nanopartículas magnéticas revestidos por bicamada para liberar remotamente a entrega de OE para um determinado alvo biológico direcionado, dada a toxicidade reduzida associada à ácidos graxos¹⁵⁷ e ácidos graxos recobrimo nanopartículas magnéticas^{147, 158}.

Na figura 29b, para a amostra alf1 foram observados três passos de perda de massa, a primeira perda acontece em 40 °C e está relacionada com uma diminuição de massa correspondente a ~83%, que é atribuído à decomposição de hexano utilizado como solvente das nanopartículas de magnetita recobertas com AO. A presença de um ombro entre 90 e 120 °C com uma diminuição de massa correspondente a ~ 6% estaria relacionada à dessorção das moléculas de água do meio ambiente na amostra alf1. Finalmente, a perda de massa na temperatura entre 120 a 400 °C com uma diminuição de peso correspondente ~11% deve-se à decomposição e dessorção do AO na superfície das nanopartículas de magnetita^{159, 160}. O termograma da amostra alf2 apresenta duas diminuições consecutivas de peso (expressada em porcentagem). A primeira delas com uma diminuição de ~87% entre 40 e 190 °C, que é atribuída à decomposição de componentes do OE, por exemplo, o Linalool, que possui um ponto de ebulição próximo a 190 °C¹⁶¹. A seguinte diminuição em peso foi de ~11.5% acontece entre 200 e 400 °C sugerindo a dessorção do AO⁸⁷.

4.5 Diâmetro hidrodinâmico (Dh) e estabilidade

Para aplicações em biomedicina é necessário avaliar o diâmetro hidrodinâmico (Dh) das amostras para obter informação do sistema quando colocados num meio aquoso. Assim, foi avaliada a estabilidade das amostras alf2 e M2 dispersas em água deionizada. Na Figura 30 mostra-se curvas de Dispersão Dinâmica de Luz (DLS) onde foram determinados o diâmetro hidrodinâmico e o índice de polidispersão (PDI) da amostra alf2 cujos valores foram de 14,5 nm e 0,2, respectivamente. Baseado no princípio de funcionamento de DLS, o valor de polidispersão encontrado, estaria

sugerindo uma distribuição monomodal para a amostra alf2 quando dispersa em meio aquoso¹⁶².

Para a amostra M2 os valores obtidos do diâmetro hidrodinâmico e PDI, foram de 494,3 nm e 0,6; respectivamente. O tamanho muito maior quando comparado ao valor do tamanho encontrado por MET, fato que pode ser atribuído ao excesso de AO na amostra M2, e com camada adicional de OE, favoreceu a coordenação com as moléculas de água do sistema. Dessa forma, observou-se a formação de agregados que incrementaram o tamanho hidrodinâmico.

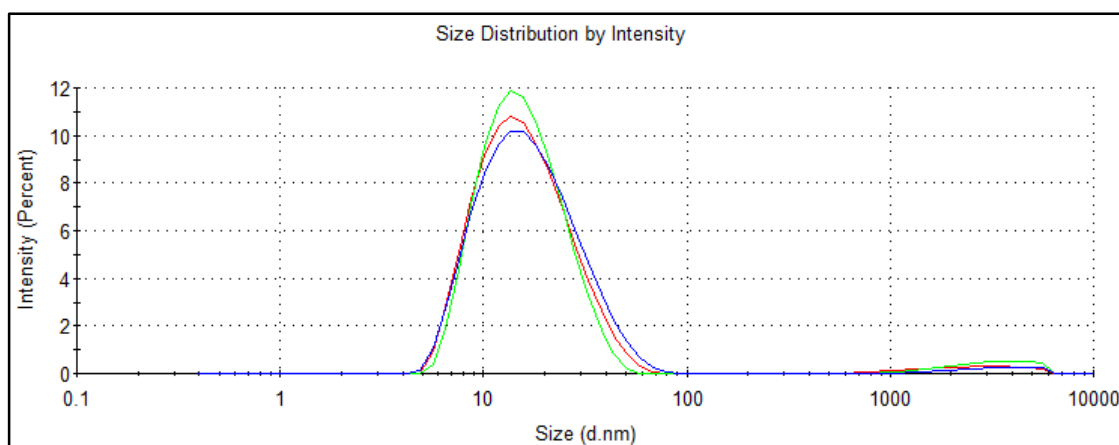


Figura 30. Distribuição de diâmetro hidrodinâmico de nanopartículas da amostra alf2 dispersa em água deionizada (realizado por triplicata) com tamanho médio de 14,5 nm. O PDI foi de 0,2.

O resultado do diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas da amostra alf2 dispersas em meio aquoso, como esperado, teve um tamanho maior que os valores encontrados por DRX e MET para a amostra alf2. Isso é devido a que o tamanho hidrodinâmico representa o tamanho médio das nanopartículas num médio dispersor, e isso traz, como consequência, a existência de algumas ligações coordenadas devido à camada de solvatação com o meio e incremento do tamanho final. Um resultado similar no incremento de tamanho hidrodinâmico foi reportado na literatura¹⁶³, para nanopartículas de magnetita recobertas com AO. Os tamanhos para as duas amostras são mostradas na tabela 4.

Tabla 4. Valores dos tamanhos das fiferentes medidas de M2 e alf2.

Amostras	M2	Alf2
DH (nm)	494,3	14,5
PDI	0,6	0,2
Potencial zeta	41,1	-28,8
MET (nm)	13,7	10,1

Na Figura 31, é mostrado o resultado das medidas do potencial zeta para a amostra alf2, em meio aquoso. O valor do potencial zeta foi de (-28,8 mV). Esse valor é próximo ao valor de ± 30 mV que sugere um valor estável do sistema¹⁶⁴ devido ao equilíbrio a partir da repulsão entre cargas vizinhas na superfície das nanopartículas e o meio dispersor. Para a amostra M2, o valor do potencial zeta foi de 41,1 mV. Esse valor positivo estaria sugerindo recobrimento não eficiente de OE sobre as partículas com AO. Foi reportado que nanopartículas de magnetita recobertas com AO, mostraram um potencial zeta de 33 mV ¹⁶⁵.

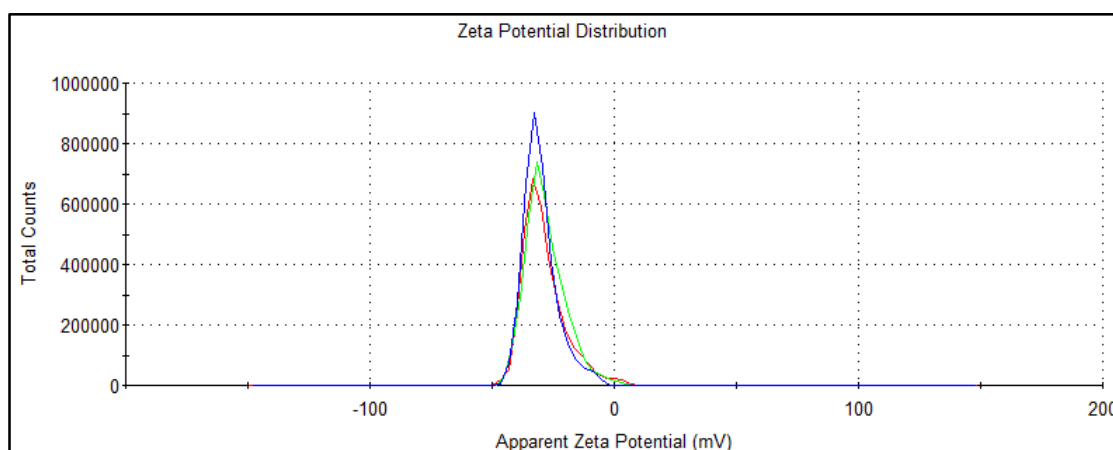


Figura 31. Estabilidade do sistema alf2 disperso em água, o potencial zeta foi de -28,8 mV. O valor do pH da solução (utilizando-se água deionizada) foi de 10,1.

Os resultados sugerem a formação de um sistema de bicamada sobre as nanopartícula de magnetita. As forças de repulsão entre as nanopartículas modificadas podem ser obtidas através da repulsão eletrostática ou repulsão estérica (conforme foi descrito no capítulo 2) originada a partir do recobrimento adicional com OE sobre a amostra alf1 e M1. Para o caso da repulsão eletrostática, a carga superficial é originada da ionização dependente do valor do pH dos grupos funcionais presentes no OE adsorvidos sobre a superfície das nanopartículas¹⁶⁶. Finalmente, foram obtidos valores de pH de 10,8 e 11,2 para a amostra alf2 e M2 respectivamente,

evidenciando uma característica alcalina como consequência do recobrimento com OE. O aumento do pH estaria relacionada a maior quantidade de OE usado na preparação da solução.

4.6 Medidas magnéticas

Uma parte fundamental é a caracterização das propriedades magnéticas das amostras obtidas, pois a partir desses resultados poderão ser discutidas as possíveis aplicações do sistema em diferentes áreas do conhecimento.

4.6.1 Medidas magnéticas da primeira série (M1 e M2)

Neste tópico são mostrados os resultados das medidas de magnetização em função do campo magnético aplicado, e também em função da temperatura da primeira série. As medidas foram realizadas com as amostras em suspensão.

4.6.1.1 Magnetização em função do campo magnético

Nas Figuras 32 mostram curvas de histerese (magnetização versus campo magnético aplicado) das amostras M1 e M2 obtidas, a 300 K e 5 K.

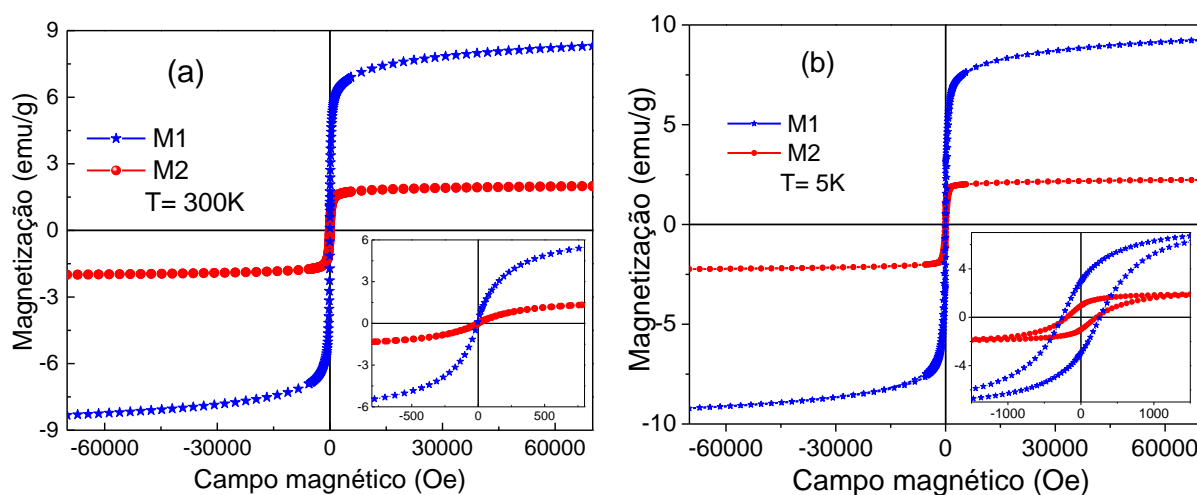


Figura 32. Curvas de histerese em (a) 300 K e (b) 5 K das nanopartículas de magnetita revestidas com surfactantes orgânicos: AO (amostra M1) e AO mais OE (amostra M2). As inserções mostram o detalhe das curvas de histerese em uma janela mais estreita do campo aplicado.

Como se pode observar em 300 K não foi verificado a presença de campo coercivo nem remanência nas curvas de histerese (ver inserção na Figura 32a), sugerindo que ambas as amostras mostram um comportamento superparamagnético em 300 K. Isto é esperado uma vez que o diâmetro médio das partículas (~ 10 nm) é menor do que o tamanho crítico para magnetita (~ 30 nm) ^{167, 168}. No entanto, a 5 K as curvas de histerese mostram campo coercitivo e remanência (M_R) diferente de zero (H_c) (ver inserção na Figura 32b) evidenciando o estado de bloqueio térmico do momento magnético das nanopartículas¹⁶⁹.

O valor do campo coercivo de $H_c = 255$ Oe foi determinado para as nanopartículas recobertas com OA (amostra M1). Este valor é reduzido para $H_c = 215$ Oe após revestimento adicional com OE (amostra M2). Os valores de magnetização de saturação a 5 K de ambas as amostras são menores do que o valor reportado para magnetita *bulk* (~ 90 emu/g)¹⁷⁰.

A magnetização de saturação da amostra M1 (~ 9,23 emu/g) é menor ainda após o revestimento adicional com OE da amostra M2 (~ 2,23 emu/g). No entanto, estes valores de magnetização de saturação precisam ser corrigidos uma vez que se têm componentes não magnéticos nas amostras. Usando os dados TGA apresentados na seção 4.4 (Figura 32a) para subtrair o conteúdo molecular da superfície, encontramos a magnetização de saturação do material magnético de 46,2 emu/g e 5,6 emu/g para as nanopartículas magnéticas das amostras M1 e M2, respectivamente. Essa redução na magnetização de saturação (por um fator de ~ 8,3) da (M2) com relação à amostra M1 é importante e deve estar relacionado com as propriedades intrínsecas do sistema, pois o núcleo de magnetita foi basicamente inalterado, seja em tamanho ou em fase após o recobrimento com OE.

Uma explicação para a enorme redução da magnetização de saturação foi associado principalmente com o comportamento magnético dos íons de Fe localizados perto da superfície das nanopartículas magnéticas, numa camada superficial de ~ 2,6 nm. Devido à uma combinação das ligações quelante bidentada dos grupos carboxílicos na superfície, somado à distorção de simetria dos sítios octaédricos e tetraédricos da camada superficial, todos os íons férricos passam a ser ferrosos em estado de baixo *spin*, o que provoca a redução expressiva da

magnetização, comumente associada com uma camada magneticamente morta na superfície das partículas. Esta redução da população de íons férricos devido à transferência de elétrons devido à presença de ligações quelante bidentada na superfície é suportada pelos resultados obtidos da espectroscopia FTIR, discutidos anteriormente.

Além disso, a presença de ligações quelante bidentada dos grupos carboxílicos do AO na superfície das nanopartículas magnéticas (amostra M2) é também suportada pelos resultados obtidos de TGA. A redução do teor de AO nas nanopartículas magnéticas na amostra M2 (67,5% AO) em comparação com a amostra M1 (93% de AO) aumenta a razão de quelação bidentada/monodentada de grupos carboxílicos, uma vez que é oferecido mais espaço às moléculas de AO na superfície das nanopartículas magnéticas para ligações duplas. Este espaço extra para ligação dupla dos grupos carboxílicos do AO na superfície das nanopartículas magnéticas é necessário devido à forte interação entre as caudas hidrofóbicas da primeira (AO) e segunda (EO) camadas de revestimento.

Por outro lado, a forte distorção de simetria devido à quebra de simetria translacional pode favorecer o estado de baixa *spin* dos íons ferrosos nos sítios octaédrico e tetraédrico, como foi relatado na literatura^{171, 172}.

4.6.1.2 Magnetização em função da temperatura

Na Figura 33 mostra-se as curvas nas condições da amostra esfriada sem campo (ZFC) e esfriada com campo (FC) para as nanopartículas magnéticas das amostras M1 e M2. As curvas mostram uma transição do estado bloqueado para o superparamagnético em torno da temperatura média de bloqueio (T_B) que é extraído do valor máximo da curva ZFC.

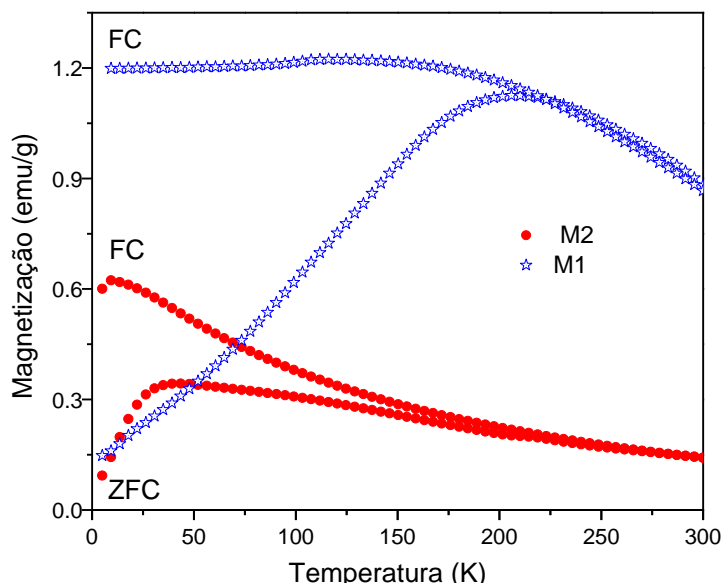


Figura 33. Curvas de magnetização ZFC e FC de nanopartículas de magnetita funcionalizadas com surfactantes orgânicos: AO (amostra M1) e AO mais OE (amostra M2). Ao registrar os dados, o campo magnético aplicado foi ajustado em 30 Oe.

No entanto, as duas amostras mostram um comportamento de relaxamento térmico do momento magnético bastantes diferentes. O máximo da curva ZFC deslocando-se de ~ 210 K para ~ 35 K, após o recobrimento da segunda camada das nanopartículas magnéticas com OE.

A diminuição dos valores de T_B após a funcionalização nanopartículas magnéticas com surfactantes orgânicos tem sido relatados na literatura [59]. Usando o diâmetro médio da partícula determinado a partir da análise por MET (~ 10 nm) e da seguinte relação, $T_B = K_{EFF}V/25k_B$, onde K_{EFF} é a constante de anisotropia efetiva, V é o volume das nanopartículas magnéticas e k_B é a constante de Boltzmann, um valor de ($T_B \sim 30$ K) é estimado para nanopartículas magnéticas sem interação, aleatoriamente orientadas e esféricas. Este valor está em concordância com os valores extraídos da curva ZFC da amostra M2. No entanto, o ($T_B \sim 210$ K) da amostra M1 é entorno de 180 K com relação ao valor acima estimado ($T_B \sim 30$ K). Além disso, a temperatura irreversível (T_{IRR}) nas curvas FC-ZFC, definida como a temperatura na qual as curvas FC e ZFC se sobrepõem, enquanto o sistema é aquecido, é bastante diferente para as duas amostras (M1 e M2), passando de quase zero para as nanopartículas magnéticas na amostra M1 à ~ 215 K na amostra M2. As duas características observadas nas curvas FC-ZFC e enfatizadas acima, ou seja, a mudança no valor T_B e a diferença $T_B - T_{IRR}$ estão relacionadas com as camadas de

recobrimento: camada de AO para a amostra M1 e bicamada de AO e OE para a amostra M2, o que faz que a distância média entre os núcleos magnéticos seja mais curta no primeiro caso (amostra M1).

Em relação ao deslocamento de T_B (de ~ 35 K para ~ 210 K), acredita-se que esta, deva estar relacionado à maior interação partícula-partícula entre as nanopartículas da amostra M1 e, à diferença $T_B - T_{IRR}$ deva estar relacionado com a geração de uma distribuição ampla dos valores de K_{EFF} como resultado do recobrimento adicional, não homogêneo com OE. Essa ideia de distribuição de valores de K_{EFF} está baseada na, redução do conteúdo de AO (de $\sim 93\%$ a $\sim 67,5\%$) ao realizar o segundo recobrimento com OE das nanopartículas, conforme determinado a partir das medidas de TGA.

Os resultados indicam que ocorreu um deslocamento parcial e não homogênea das moléculas de AO, causadas pelas moléculas de OE, ao realizar o segundo recobrimento. Isto é suportado pelos resultados obtidos por medidas FTIR (mudança de fração de quelação bidentado/monodentado), o que leva a uma distribuição de valores de K_{EFF} .

4.7 Medidas magnéticas da segunda série (alf1 e alf2)

4.7.1 Curvas de magnetização em função da temperatura

Na Figura 34a se mostram as curvas ZFC e FC para as amostras recobertas com AO (alf1) e com AO e OE (alf2). Similar ao observado na primeira série, as amostras apresentaram comportamento de relaxamento térmico do momento magnético diferentes entre elas.

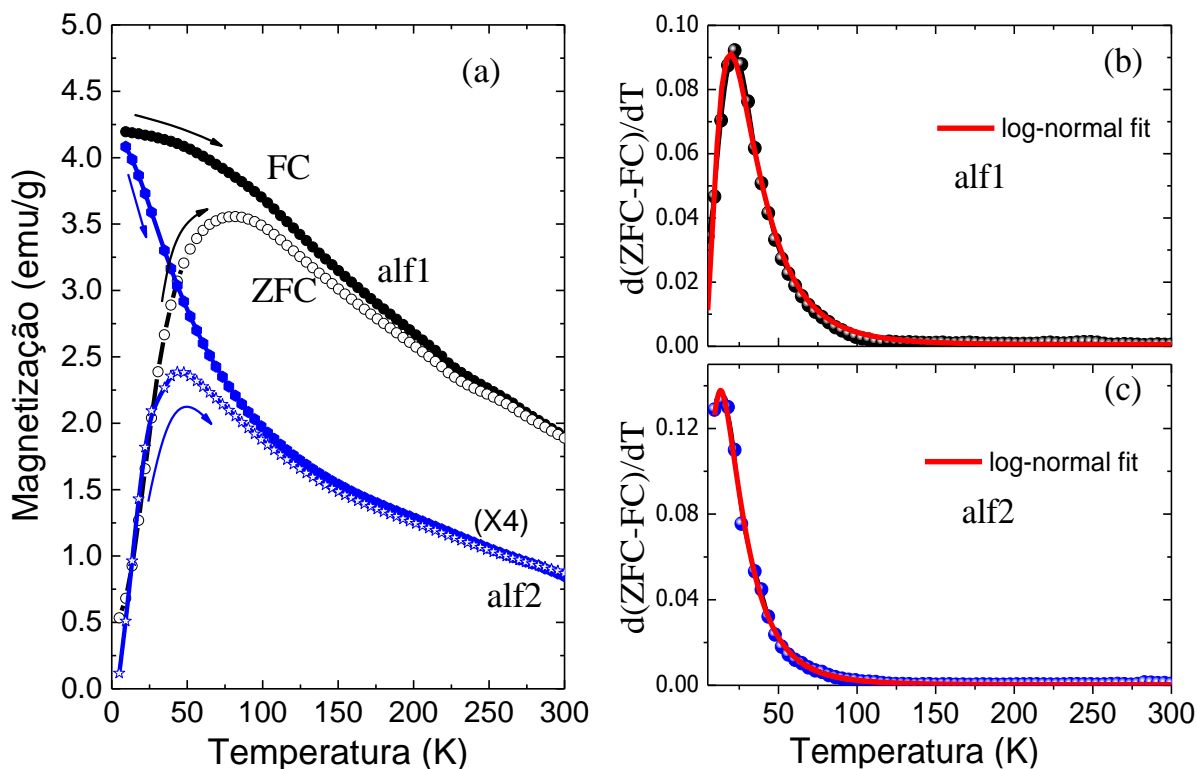


Figura 34. (a) Curvas (ZFC) e (FC) medidas em $H = 30$ Oe para a amostra revestida com monocamada amostra (alf1) (símbolos negros) e revestida com bicamada amostra (alf2) (símbolos azuis). A derivada da diferença (ZFC-FC) com relação à temperatura é mostrada em (b) para a amostra alf1 e (c) para a amostra alf2.

As curvas ZFC mostraram uma temperatura máxima (T_{max}) à ~ 81 K e ~ 40 K para as nanopartículas magnéticas alf1 e alf2, respectivamente. Aqui se observa uma diferença importante com relação à primeira série, uma vez que menores temperaturas de bloqueio são esperadas para a segunda série, o que indicaria um recobrimento mais eficiente das nanopartículas.

De acordo com a literatura, o valor médio da temperatura de bloqueio (T_B) pode ser estimado a partir da derivada da diferença entre as curvas ZFC e FC (Figura 34b e 34c)¹⁷³. Utilizamos essa abordagem e as temperaturas de bloqueio correspondentes às amostras alf1 e alf2 foram determinadas em $T_B \sim 30$ K e $T_B \sim 21$ K, respectivamente.

Estes resultados indicam a forte extinção da interação partícula-partícula atribuída ao revestimento duplo com AO/OE (bicamada). Esse deslocamento do T_B para menores valores na amostra alf2 sugere sucesso no recobrimento das partículas magnéticas com OE acima da primeira camada de AO. O enfraquecimento da

interação partícula-partícula pode ser quantificado estimando-se a temperatura média de bloqueio usando a relação¹⁷⁴:

$$T_B = K_{eff}V / 25k_B \quad (21)$$

Válido para nanopartículas não interagentes, aleatoriamente orientadas e esféricas, onde K_{eff} é a constante de anisotropia magnética efetiva, V é o volume do nanopartícula do núcleo e k_B é a constante de Boltzmann. Usando o tamanho médio das nanopartícula obtidas a partir da análise por TEM (~ 8 nm) e $K_{eff} = 18,7 \times 10^4$ erg/cm³ da magnetita *bulk*¹⁷⁵, um valor de $T_B \sim 17$ K é estimado, que é próximo ao valor obtido experimentalmente ($T_B \sim 21$ K) para a amostra revestida com bicamada (alf2). Embora um valor de temperatura de bloqueio mais elevado seja determinado a partir da curva $d(ZFC-FC)/dT$ vs. T para as nanopartículas magnéticas revestidos com monocamada de AO ($T_B \sim 30$ K), esta é 3 vezes menor que o valor do máximo da curva ZFC correspondente ($T_{max} \sim 81$ K). De acordo com a literatura, a relação T_B / T_{max} é esperada na faixa de $0,5 - 0,7$ ^{176, 177}, e o grande desvio observado nas nanopartículas magnéticas revestidas com monocamada de AO é creditado à influência das interações partícula-partícula, que parece impor um limite de validade ao modelo proposto na Ref. 87.

4.7.2 Curvas de magnetização em função do campo magnético

Por outro lado, para estimar o tamanho magnético médio das partículas de ambas as amostras, utilizaram-se curvas M-H na região superparamagnética. Na Figura 35 mostram-se as curvas M vs. H para ambas as amostras obtidas em 260 K. Decidimos usar essa temperatura e não em 300 K para garantir amostras em condições de congelamento da suspensão.

Observou-se uma diminuição evidente no valor da M_s para as nanopartículas revestidas com bicamada (amostra alf2) em comparação com o valor obtido para as nanopartículas revestidas com monocamada (amostra alf1), que foi atribuída à presença de mais material não magnético (OE) na amostra alf2. Para modelar a

resposta superparamagnética, as curvas M vs. H podem ser ajustadas com a função de Langevin:

$$L(x) = \coth(x) - \left(\frac{1}{x}\right) \quad (22)$$

Onde $x = \mu H/k_B T$ e μ é o momento magnético das nanopartículas, k_B a constante de Boltzmann e T a temperatura. No entanto, para considerar um modelo mais realístico, é necessário considerar a distribuição de momentos magnéticos. Portanto, foi usado uma função de Langevin modificada (ponderada) dada por:

$$M = N \int_0^{\infty} \mu L(x) f(\mu) d\mu \quad (23)$$

onde:

$$f(\mu) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma\mu} \exp\left(-\frac{\ln^2(\mu/\mu_0)}{2\sigma^2}\right) \quad (24)$$

é a função de distribuição lognormal⁶⁷. O ajuste dos dados M vs. H usando a função Langevin ponderada proporcionou o momento magnético médio $\mu_0 = 7580 \mu_B$ e $7520 \mu_B$ e um índice de polidispersão de $\sigma_\mu \sim 0,90$ e $\sim 1,08$ para as amostras alf1 e alf2, respectivamente.

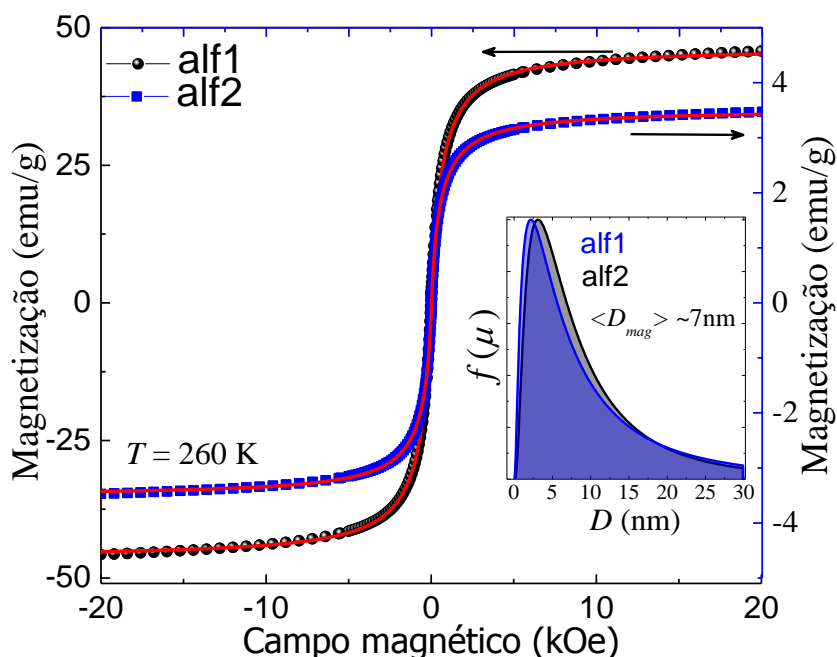


Figura 35. M vs. H obtidas a 260 K para as amostras alf1 (símbolos pretos) e alf2 (símbolos azuis). Os símbolos representam os dados experimentais enquanto as linhas vermelhas sólidas representam o melhor ajuste para a função Langevin modificada. A inserção mostra as funções de distribuição dos momentos magnéticos obtidos a partir do ajuste.

A presença do revestimento da bicamada nas nanopartículas magnéticas não afeta de forma notória a resposta magnética, pois o momento magnético médio determinado para a amostra alf2 é 1% menor do que o valor encontrado para a amostra alf1. Considerando a densidade da magnetita *bulk* ($5,2 \text{ g/cm}^3$) e sua magnetização de saturação ($M_s \sim 85 - 90 \text{ emu/g}$)¹⁷⁰, um tamanho magnético médio de $D_{mag} \sim 7 \text{ nm}$ é estimado para ambas as amostras. Este resultado sugere que as interações partícula-partícula são insignificantes a $T = 260 \text{ K}$ e não afeta a resposta magnética no estado superparamagnético; caso contrário, seria esperado um tamanho magnético médio maior para a amostra revestida com monocamada (alf1) devido às correlações magnéticas. No entanto, a presença da segunda cobertura de OE conduz a um alargamento da distribuição de momentos magnéticos ($\sigma_\mu \sim 1,08$) na amostra alf2. Este resultado sugere um deslocamento parcial não homogênea das moléculas de AO por moléculas de OE ao realizar o segundo revestimento homogêneo, o que pode conduzir a uma maior distribuição de barreiras de energia nas nanopartículas magnéticas recobertas com bicamada de AO e OE em comparação com o esperado para as nanopartículas magnéticas recobertas com monocamada de AO.

Com o intuito de investigar a dependência térmica do campo coercivo, obtivemos curvas M vs. H em várias temperaturas na faixa de 5 K a 300 K para as nanopartículas magnéticas recobertas com monocamada e bicamada. Na Figura 36a são mostradas as curvas de histerese das amostras alf1 e alf2 obtidas a 5 K e 300 K. O campo coercivo (H_C) mostrou uma dependência clara com a temperatura para ambas as amostras, como se observa no painel principal da Figura 36b. Primeiro, o campo coercivo determinado para a amostra recoberta com bicamada (alf2) mostrou uma diminuição linear com $T^{1/2}$ até ~ 25 K (ver a inserção superior na Figura 36b). Uma vez que essa amostra apresenta partículas essencialmente não interagentes, na análise de dados assumiu-se que a dependência de temperatura de H_C segue a relação:

$$H_C(T) = H_C(0) \left[1 - \left(\frac{25k_B T}{K_{eff} V} \right)^{\frac{1}{2}} \right] \quad (25)$$

Onde $H_C(0) = 0,48HK \approx 0,96K_{eff}/M_S$ é válido para partículas de domínio único orientadas aleatoriamente^{175, 178}. Utilizando a inclinação linear e o tamanho médio de partícula da amostra de alf2, obtidos a partir da análise de dados por MET ($D_{TEM} = 10,1$ nm), foi determinado uma anisotropia magnética efetiva de $K_{eff} \sim 29 \times 10^4$ erg/cm³. Esse valor é maior do que a anisotropia magnética efetiva reportada para magnetita *bulk* ($18,7 \times 10^4$ erg/cm³)¹⁷⁵, e é consistente com os valores relatados na literatura para nanopartículas de magnetita^{175, 92, 179}. Elevados valores de anisotropia magnética efetiva são comumente atribuídos a contribuições extra além da anisotropia magnetocristalina. De acordo com a literatura¹⁸⁰, a anisotropia magnética efetiva está principalmente relacionada a duas contribuições: $K_{eff} = K_b + (6K_s) / D$, onde K_b é a anisotropia magnética *bulk* que representa a região central de uma nanopartícula magnética e K_s é a anisotropia magnética proveniente da superfície das nanopartículas magnéticas.

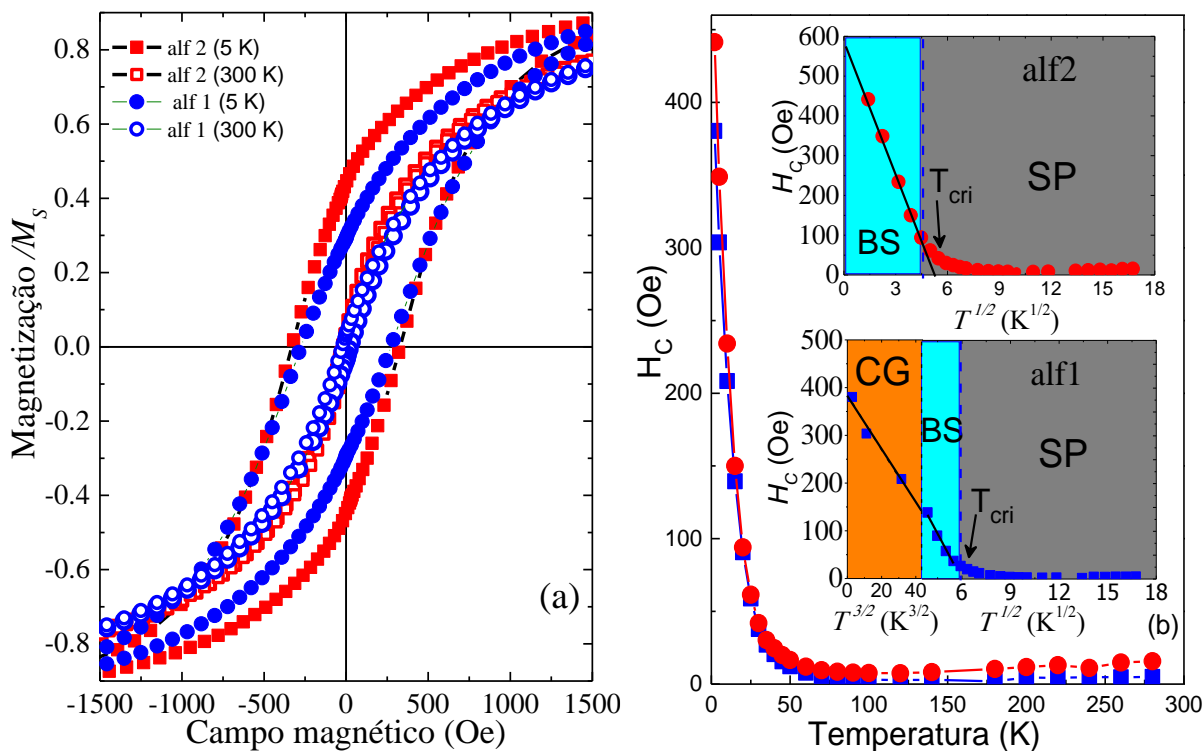


Figura 36. (a) Curva de histerese das amostras alf1 e alf2 obtidas a 5 K e 300 K. Em (b) dependência da temperatura do campo coercitivo (H_c) para ambas as amostras. Nas inserções se mostra a dependência $T^{1/2}$ do campo coercivo na região BS para as amostras alf2 (inserção superior) e alf1 (inserção inferior). A inserção inferior em (b) mostra a dependência $T^{3/2}$ na faixa CG. BS significa estado bloqueado; SP significa estado superparamagnético; e CG significa o comportamento semelhante ao cluster-glass.

Mais recentemente, um termo extra foi incluído na descrição da anisotropia magnética efetiva de uma nanopartícula magnética tipo núcleo-caroço:

$$K_{eff} = K_b + 6K_s / D + K_{sh} \left[1 - (2l / D)^{-3} - 1 \right] \quad (26)$$

Onde o termo K_{sh} foi associado à contribuição de rotações localizadas na casca da partícula com uma espessura (l)¹⁸¹. Além disso, nessa abordagem, a contribuição maioritária (K_b) é considerada como termo independente da temperatura. No entanto, de acordo com a literatura, o primeiro termo da anisotropia magnética (K_1) da magnetita *bulk* mostra uma forte dependência com a temperatura^{182, 70} e o valor extrapolado de K_1 para temperaturas inferiores à transição Verwey proporcionou um $K_1 \sim 27 \times 10^4$ erg/cm³, em boa concordância com o valor de K_{eff} (29×10^4 erg/cm³) estimado da análise dos dados experimentais para a amostra alf2. Embora em um sistema de nanopartículas, as contribuições relacionadas a desordem de spins na superfície devem ser consideradas na descrição do valor de K_{eff} , esse valor parece

desprezível nas nanopartículas magnéticas revestidos com bicamada investigados neste estudo.

Quanto à análise dos dados H_C vs. T para a amostra alf1, conforme mostrado na inserção (painel inferior) da Figura 36b, usando a lei de escala $T^{1/2}$ abaixo da temperatura crítica (na qual o campo coercivo é nulo), a forte interação partícula-partícula parece invalidar o comportamento magnético descrito pela Eq. (25). Nesse caso, uma lei de escala de $T^{3/2}$ parece ser mais adequada para descrever a dependência do campo coercivo com a temperatura na região de temperatura muito mais baixa (região CG), como mostrado no painel inferior da inserção na Figura 36b.

Neste caso particular, a temperatura crítica (T_{cri}) separa duas regiões extremas, chamadas uma região *cluster-glass* (CG), que é descrita pela lei de escala $T^{3/2}$. Na região entre CG e SP, o estado bloqueado (região BS) deve ser descrita pela lei de escala $T^{1/2}$ na amostra alf1, de forma semelhante ao determinado para a amostra alf2, como mostrado no painel superior da inserção na Figura 36b.

4.7.3 Medidas da susceptibilidade AC

As características avaliadas a partir das curvas ZFC/FC nas medidas magnéticas em DC (Figura 34) podem ser atribuídas de forma ambígua a um spin-glass, ou então a um comportamento superparamagnético, uma vez que em ambos os casos é esperado um máximo na curva ZFC e a bifurcação entre as curvas FC e ZFC. Com o intuito de decifrar a natureza real do comportamento magnético nas amostras, medidas da susceptibilidade magnética AC (componentes real (χ') e imaginária (χ'')) variando a temperatura (T), e a frequência AC (f) foram realizadas. Conforme observado nas Figuras 37 e 38, os componentes χ' e χ'' mostraram um $T_{máximo}$ bem definido (T_m) cuja posição se desloca para temperaturas mais elevadas quando a f é aumentado na faixa de 0,2 - 1000 Hz.

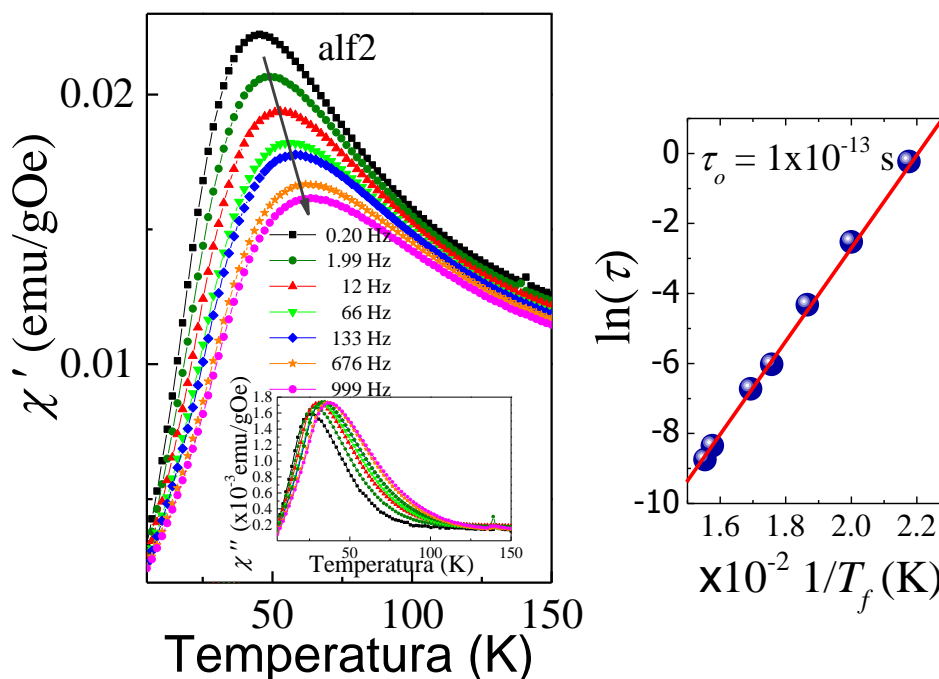


Figura 37. Dependência da temperatura da componente real (χ') da susceptibilidade AC variando a frequência para amostra alf2 (painel esquerdo). A seta indica o deslocamento do máximo (T_m) à medida que a frequência aumenta. A inserção (painel esquerdo) mostra a curva χ'' vs. T. O painel na direita mostra $\ln(\tau)$ vs $1/T$; a linha vermelha sólida representa um ajuste linear de acordo com a Eq. (28).

Uma diferença importante no comportamento entre as duas amostras estudadas pode ser avaliada a partir do parâmetro Mydosh extraído das medidas de susceptibilidade AC. O parâmetro Mydosh é dado por:

$$\Phi = (\Delta T_m / T_m) / (\Delta \log_{10}(f)) \quad (27)$$

Que é a variação relativa da posição do pico (T_m) por variação da frequência¹⁸³. Usando os dados χ' vs. T apresentados nas Figuras 34 e 35, foram obtidos $\Phi = 0,11$ e $\Phi = 0,02$ para a amostra alf2 e alf1, respectivamente. O valor do parâmetro Mydosh obtido para as nanopartículas magnéticas recobertas com bicamada atinge o intervalo esperado para sistemas superparamagnéticos ou sistemas de interação fraca ($\Phi > 0,1$). No entanto, o valor Φ obtido para as nanopartículas magnéticas revestidas com monocamada está na faixa esperada para sistemas com comportamento spin-glass ($0,005 < \Phi < 0,05$)^{184, 185}. A partir dos parâmetros de Mydosh obtidos, esses resultados sugerem que as nanopartículas magnéticas revestidos com bicamada (amostra alf2) possuem um comportamento semelhante ao superparamagnetismo, e que, as

nanopartículas magnéticas revestidas com monocamada (amostra alf1) apresentam um comportamento *spin-glass*.

Esses resultados estão em concordância com os dados obtidos de medidas magnéticas DC, apontando uma forte interação partícula-partícula nas nanopartículas revestidas com monocamada e uma interação partícula-partícula insignificante nas nanopartículas revestidos com bicamada. Este resultado foi associado à maior distância entre núcleos magnéticos proporcionada pela espessura do recobrimento da camada adicional de OE.

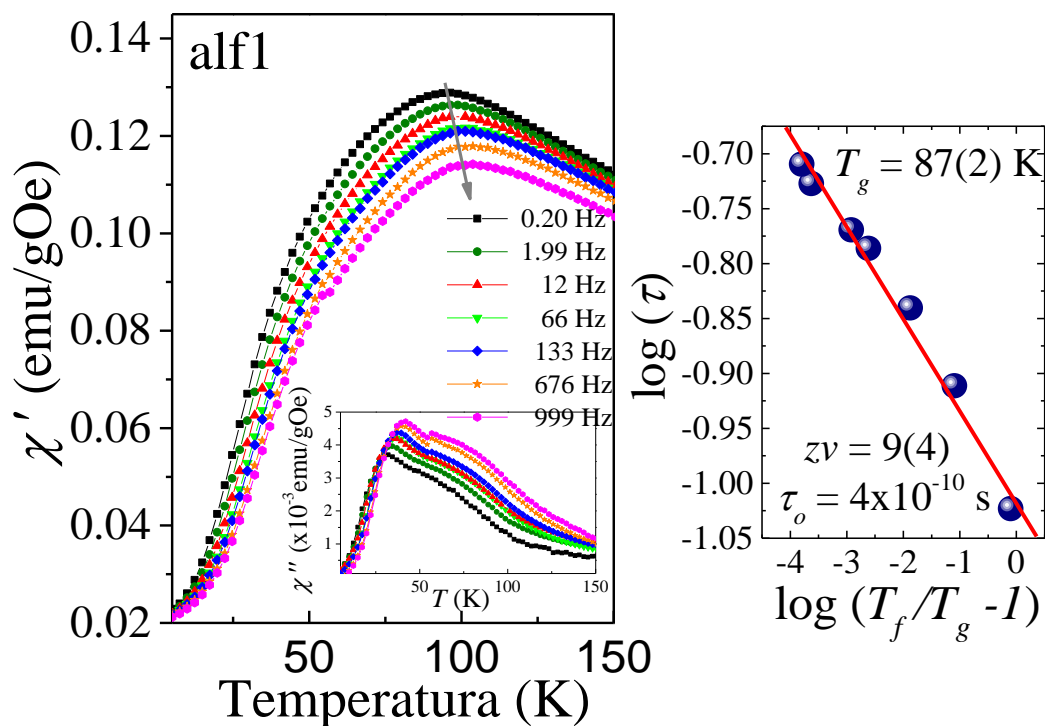


Figura 38. Dependência de temperatura da componente real (χ') da susceptibilidade AC variando a frequência para a amostra alf1 (painel esquerdo). A seta indica o deslocamento do máximo (T_m) à medida que a frequência aumenta. A inserção (lado esquerdo) mostra o gráfico χ'' vs. T. No lado direito mostra-se o gráfico $\log(\tau)$ vs. $\log(T_f/T_g - 1)$; a linha vermelha sólida representa o melhor ajuste linear de acordo com a Eq. (29).

A dependência com a frequência do máximo das curvas χ' vs. T foi adicionalmente analisada usando a lei Arrhenius dada por:

$$\tau = \tau_0 \exp(Ea/k_B T) \quad (28)$$

Onde $\tau = 1/\omega$ é o tempo de relaxamento, τ_0 é um tempo característico (os valores comuns na faixa de 10^{-9} a 10^{-13} s) e E_a é a barreira de energia. Considerando o pico da susceptibilidade como a temperatura de congelamento (T_f), pode-se estimar os valores de E_a / k_B e τ_0 . Os dados experimentais no gráfico $\ln(\tau)$ vs. $1/T_f$ mostrado na figura 34 (painel direito) mostra uma tendência linear e o ajuste com a relação de Arrhenius fornece valores de $E_a / k_B \sim 9925$ K e $\tau_0 \sim 1 \times 10^{-45}$ s para a amostra alf1 e $E_a / k_B \sim 1369$ K e $\tau_0 \sim 1 \times 10^{-13}$ s para a amostra alf2. O valor τ_0 obtido para a nanopartículas revestidas com bicamada atinge valores esperados para sistemas superparamagnéticos¹⁸⁶, enquanto que o valor τ_0 obtido para a amostra de alf1 é fisicamente inaceitável, resultado que é consistente com a análise de parâmetros de Mydosh apresentada acima e reforça o comportamento spin-glass para a amostra alf1. Uma análise adicional dos dados experimentais da susceptibilidade AC para as nanopartículas recobertas com monocamada (amostra alf1) pode ser obtida usando a chamada Lei da escala dinâmica dada por¹⁸⁷:

$$\tau = \tau_0 \left(\frac{T_f}{T_g} - 1 \right)^{-z\nu} \quad (29)$$

T_f representa o máximo na curva χ' vs. T , $z\nu$ é o expoente crítico dinâmico, τ_0 é o tempo de relaxação microscópico e T_g é a temperatura de transição. Um comportamento linear foi obtido no gráfico log-log como se mostra no painel direito da Fig. 35. O ajuste linear forneceu um $T_g = 87 \pm 2$ K e $z\nu = 9 \pm 4$. O valor de $z\nu$ é consistente com os valores reportados para sistemas spin-glass ($z\nu$ 8 - 10) e confirma o comportamento spin-glass nas nanopartículas recobertas com monocamada^{188, 189}.

As mudanças observadas nas propriedades magnéticas nas nanopartículas recobertas com bicamada em relação as nanopartículas recobertas com monocamada são atribuídas ao recobrimento bem sucedido das nanopartículas com OE (segunda camada) logo acima da camada de AO (primeira camada). No entanto, a interação partícula-partícula é fortemente enfraquecida nas nanopartículas recobertas com bicamada, levando à relaxação superparamagnética das partículas individuais de domínio único, em consistência com o observado na tendência das curvas FC. Na

região de temperaturas baixas, a curva FC das nanopartículas recobertas com bicamada mostra um aumento sistemático quando a temperatura é diminuída (ver Figura 34a), refletindo o modelo de bloqueio individual; no entanto, na curva FC das nanopartículas recobertas com monocamada se observa uma tendência de saturação, já que as partículas interagem fortemente.

4.8 Espectroscopia Mössbauer

Com o intuito de determinar as propriedades hiperfinas nas amostras com uma e duas coberturas foram realizadas medidas de espectroscopia Mössbauer somente nas amostras da segunda série (alf1 e alf2). As Figuras 39 e 40 apresentam os espectros obtidos a 77K. Como pode ser observado na Figura 39 para amostra com recobrimento de AO (alf1), o espectro fica bem ajustado utilizando-se dois sextetos magnéticos e um dubleto quadrupolar. Os parâmetros hiperfinos obtidos do ajuste são listados na Tabela 5. Os campos hiperfinos e desvios isoméricos sugerem componentes relacionadas com a presença de Fe^{3+} e Fe^{2+} , uma vez que espera-se um campo hiperfino menor e desvio isomérico maior para o íon ferroso.

Esses valores dos parâmetros hiperfinos estão em concordância com reportes para o tipo de material presente no núcleo (magnetita)¹⁹⁰. Adicionalmente, a presença do dubleto está relacionada à fração de íons de Fe que em 77 K já se encontram em estado superparamagnético (~3%). A presença majoritária de íons no estado bloqueado (~97%) em 77 K está em concordância com os resultados obtidos nas medidas magnéticas nas quais se determinou que acima da temperatura de 80 K, visto que o sistema está num estado superparamagnético (Figura 34).

Na Figura 40 mostra-se o espectro para a amostra de nanopartículas de magnetita recobertas com dupla camada (alf2), também obtido a 77 K. O espectro foi bem ajustado com um sexteto magnético e um dubleto quadrupolar. A inclusão de um segundo sexteto no ajuste não foi possível devido a que sua contribuição é muito pequena comparada com a razão sinal/ruído. Os parâmetros hiperfinos obtidos do ajuste são listados na Tabela 5. Neste caso, a fração de íons de Fe no estado superparamagnético aumentou consideravelmente para ~49% e, por conseguinte, a fração de íons no estado bloqueado caiu para ~51%, em perfeita concordância com o

observado nas medidas magnéticas. Adicionalmente, não se determinou evidências da presença de outras fases de óxido de Fe, o que está em concordância com os resultados obtidos por DRX.

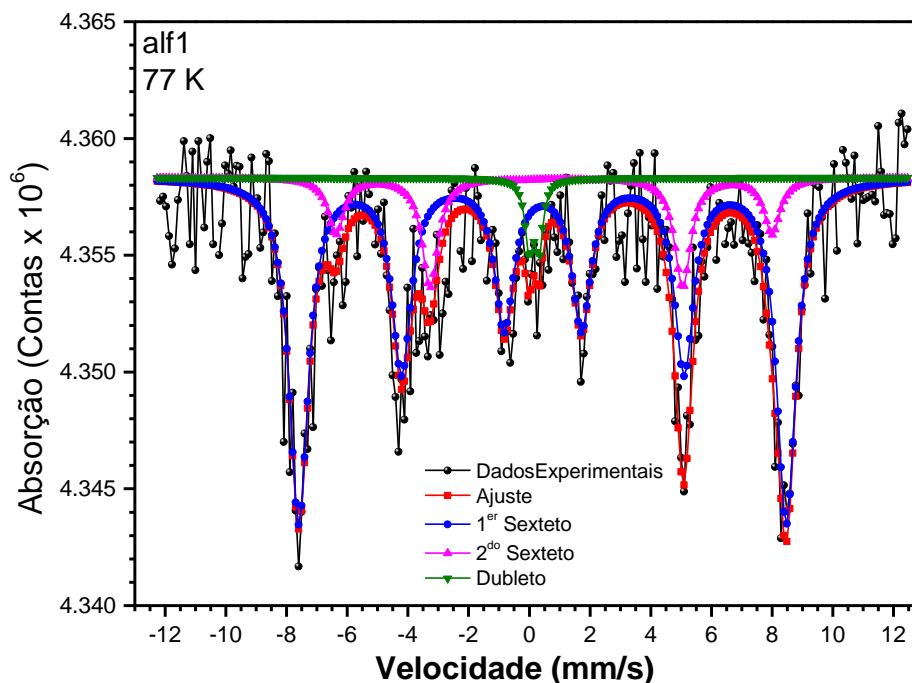


Figura 39. Espectro Mössbauer para a amostra de nanopartículas recobertas com AO (alf1) mostrando o ajuste realizado com dois sextetos e um dublete (linhas contínuas).

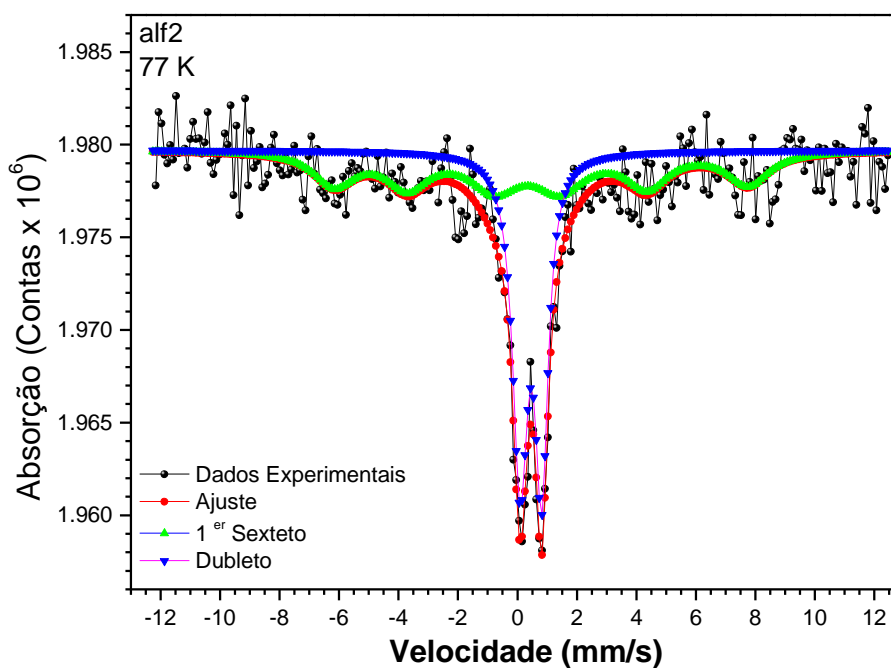


Figura 40. Espectro Mössbauer para a amostra de nanopartículas recobertas com AO+OE (alf2) mostrando o ajuste realizado com um sexteto e um dublete (linhas contínuas).

Tabla 5. Parâmetros hiperfinos obtidos do ajuste dos espectros a 77 K das amostras de nanopartículas de magnetita recobertas com AO (alf1) e AO +OE (alf2).

			alf2	alf1
1ro sexteto			51	80
Área espectral (%)				
Deslocamento	isomérico	δ	0,57 (0,13)	0,44 (0,02)
(mm/s)				
Campo magnético hiperfino (β_{Hf})			43 (1)	50,0 (1)
Tesla				
Desdobramento	quadrupolar	QS	0,47 (0,22)	-0,01 (0,05)
(mm/s)				
2do sexteto			-----	17 %
Area espectral (%)				
Deslocamento	isomérico	(δ)	-----	0,85 (0,07)
mm/s				
Campo magnético hiperfino (β_{Hf})			-----	44,7 (0,6)
Tesla				
Desdobramento	quadrupolar	QS	-----	-0,08 (0,14)
(mm/s)				
Dubleto			49 %	3 %
Área espectral (%)				
Deslocamento	isomérico	δ	0,45 (0,01)	0,16 (0,09)
(mm/s)				
Desdobramento	quadrupolar	QS	0,73 (0,02)	0,33 (0,13)
(mm/s)				

A diferença em contribuição magnética (sextetos) e elétrica quadrupolar (dubleto) determinada nos espectros das alf1 e alf2 não pode ser atribuída ao efeito do tamanho já que o núcleo de ambas amostras possui o mesmo tamanho $\langle D \rangle_{Mag} \sim 7$ nm. A explicação a este efeito é que devido à presença da cobertura adicional, as interações entre partículas presentes na amostra com uma cobertura (alf1) foram fortemente enfraquecidas após o segundo recobrimento com OE na segunda amostra (alf2). Isto provocou que a fração de íons no estado superparamagnético aumentasse, já que a temperatura de bloqueio média do sistema diminuiu notoriamente após a presença da segunda cobertura. Este resultado está em concordância com os resultados obtidos por medidas magnéticas e evidencia o sucesso alcançado no recobrimento das nanopartículas com dupla camada.

4.9 Testes *in vitro* (viabilidade celular)

O ensaio de citotoxicidade *in vitro* foi executado com o intuito de observar se as nanopartículas magnéticas funcionalizadas com OE apresentam efeitos citotóxicos nas células em diferentes concentrações e verificar se apresentam dose-dependência no tempo (Figuras 41 e 42). Para este estudo foram escolhidas as amostras com bicamada.

As células da linhagem usadas foram as NIH-3T3, as que foram tratadas com nanopartícula de magnetita recobertas com AO e OE (amostra alf2), chamadas de funcionalizada, e nanopartícula de magnetita recobertas somente com AO e seus respectivos controles nas concentrações de 0,390625 µg/mL; 0,78125 µg/mL; 1,5625 µg/mL; 3,125 µg/mL; 6,25 µg/mL; 12,5 µg/mL; 25 µg/mL; 50 µg/mL; 100 µg/mL; 200 µg/mL nos tempos de 24 h e 72 h. Foi utilizado como controle água ultrapura (H₂O), representando 100% da viabilidade. Foi possível observar que as nanopartículas funcionalizadas em ambos os tempos (24 e 72 h) apenas apresentaram resultados citotóxicos significativos na viabilidade celular nas concentrações de 100 e 200 µg/mL (Figs. 41 e 42).

Os controles (nanopartículas sem OE, OE + Tween 80 e Tween 80) também apresentaram toxicidade nas concentrações acima de 100 µg/mL, nos dois tempos testados. O OE diluído em etanol na concentração de 200 µg/mL no tempo de 72 h (Figura 42) não foi tão tóxico quando comparado com os outros controles, no mesmo tempo. No tempo de 24 h (Figura 41), na região de concentrações de 0,39 a 3,12 µg/mL as nanopartículas funcionalizadas com OE e sem OE apresentaram aumento significativo de cerca de 20% na viabilidade celular das células NIH-3T3. Enquanto no tempo de 72 h, apenas na concentração de 0,39 µg/mL, as nanopartículas funcionalizadas e nanopartículas sem OE apresentaram aumento significativo de aproximadamente 17% na viabilidade celular.

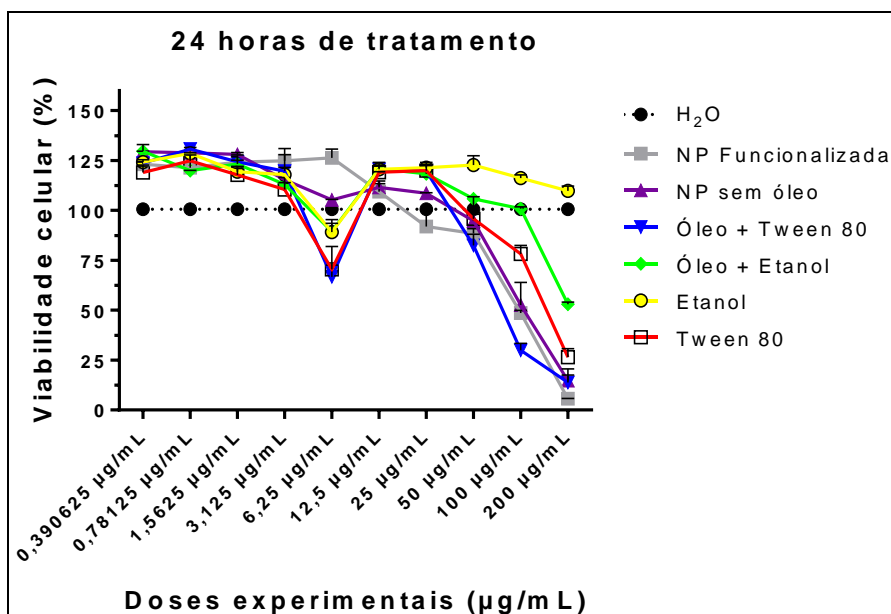


Figura 41. Ensaio de viabilidade celular (MTT) em células fibroblasto murino normal (NIH-3T3) submetidas a diferentes concentrações de nanopartículas funcionalizadas (Nanopartículas funcionalizadas com OE), nanopartículas sem OE, OE+ Tween 80 (OE com tensoativo Tween 80), OE + Etanol (OE diluído em etanol e H₂O), Etanol (Etanol diluído em H₂O), Tween 80 (Tensoativo Tween 80 diluído em H₂O) comparando-os com o controle água (H₂O) por 24 h. Apresentação da média e desvio padrão.

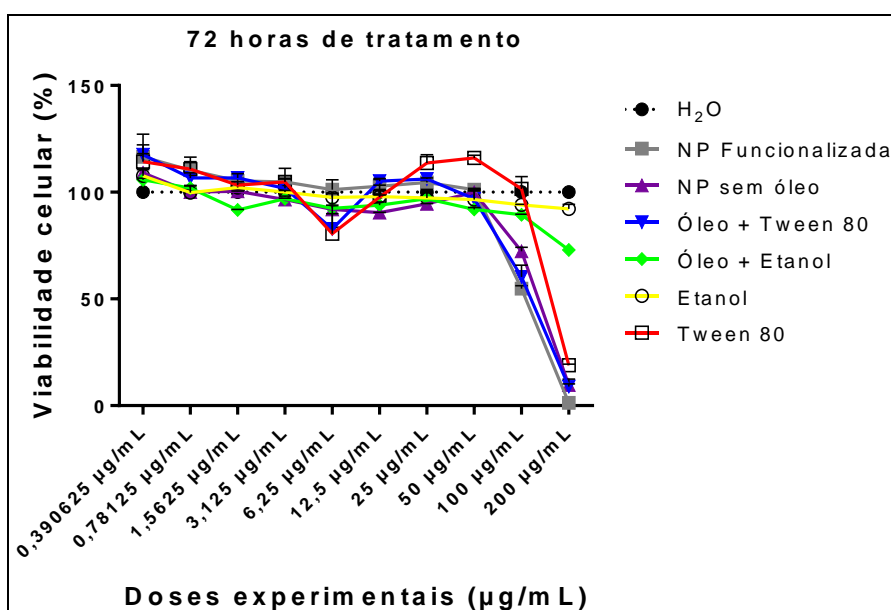


Figura 42. Ensaio de viabilidade celular (MTT) em células fibroblasto murino normal (NIH-3T3) submetidas a diferentes concentrações de nanopartículas funcionalizadas (Nanopartícula funcionalizadas com OE), nanopartículas sem OE, OE + Tween 80 (OE com tensoativo Tween 80), OE + Etanol (OE diluído em etanol e H₂O), Etanol (Etanol diluído em H₂O), Tween 80 (Tensoativo Tween 80 diluído em H₂O) comparando-os com o controle água (H₂O) por 24 h. Apresentação da média e desvio padrão.

Os resultados obtidos, estão em concordância com resultados reportados na literatura (ver Tabela 6) para doses menores a 100 $\mu\text{g/mL}$, onde foram utilizadas nanopartículas de magnetita em concentrações similares às usadas neste trabalho (Figuras 41 e 42), obtendo-se uma viabilidade celular próxima a 90%. Outro fator que pode ter influenciado na baixa toxicidade para as nanopartículas recobertas com OE é a carga superficial negativa (resultado obtido via medidas mediante Potencial Zeta), devido a que as nanopartículas carregadas negativamente têm menos interação celular devido à carga negativa da membrana celular e tem um efeito menos tóxico quando comparadas as nanopartículas carregadas positivamente¹⁹¹.

Tabla 6. Viabilidade celular utilizando nanopartículas de óxido de Fe.

Tipo de nanopartículas	Tipos de célula testada	Doses usadas $\mu\text{g/mL}$	Tempo utilizado (Horas)	% viabilidade celular	Referência
Óxido de Fe	CP3 humana	42 - 126	24	~ 90	192
Fe_3O_4 - ZnO	NIH3T3	50	24	> 50	193
Fe_3O_4	NIH3T3	50 - 100	24-48-72	~ 90	194
Alf2	NIH3T3	< 50	24-72	> 90	

Adicionalmente foi realizado o ensaio de citotoxicidade *in vitro* para a amostra M2, também com bicamada. Isto com o intuito de avaliar efeitos citotóxicos nas células em diferentes concentrações (Figura 43).

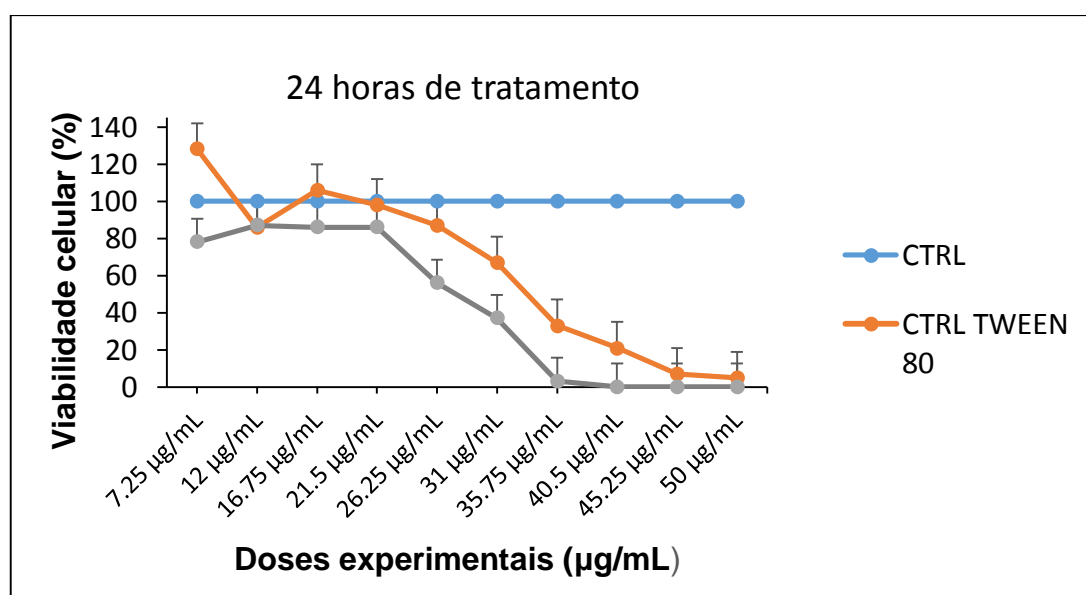


Figura 43. Ensaio de viabilidade celular (MTT) em células fibroblasto murino normal (NIH-3T3) submetidas a diferentes concentrações de nanopartículas funcionalizadas com OE (M2), água milli Q (CTRL) e água milli Q + Tween 80 (CTRL TWEEN 80) por 24 h. Apresentação da média e desvio padrão.

Neste caso, foi possível observar que os efeitos citotóxicos são evidenciados para doses acima de 21,5 µg/mL, onde a porcentagem da viabilidade celular foi menor a 50%. A menor porcentagem de sobrevivência das células foi para doses de 42,25 µg/mL e 50 µg/mL. Como se observa, a amostra M2 apresentou maior efeito de morte celular (menor viabilidade celular) quando comparada à amostra alf2. Isso pode ser atribuído as condições de preparação das amostras para o teste MTT, já que devido às condições mais densas de amostra M2, dificultou a diluição no cultivo de células e teve que ser usado maior quantidade de Tween 80, para conseguir homogeneizar a solução. Já no caso da amostra alf2, devido ao processo de lavagem realizado (Ver seção 3.3), foi retirado o excesso de AO sobre a superfície das nanopartículas, com isso diminui-se a quantidade de Tween 80 para conseguir diluir as nanopartículas recobertas com OE na solução para realizar o teste MTT.

4.10 Resultados do teste de toxicidade aguda

Para a avaliação de toxicidade aguda foi usada somente a amostra com bicamada, na qual observou-se maior qualidade no recobrimento com OE (amostra alf2). O grupo de animais que recebeu (via gavagem, sob ação de campo magnético externo), a dose de 50 µg/ml de amostra alf2, nos primeiros 30 minutos (mencionado na seção 3.12), tiveram uma alteração na atividade motora, mostrando um comportamento quase estático, sem piscar os olhos. Depois de 2 h, o grupo mostrou um comportamento com maior atividade motora, respondendo a estímulos externos de forma limitada, mantendo esse comportamento até por 8 h depois da administração da dose recebida. Após 24 h se observou um comportamento normal nos animais.

Para o grupo que recebeu a dose de 25 µg/ml, nos primeiros 30 minutos, observou-se atividade menos estática quando comparado ao grupo que recebeu 50 µg/ml. Após 2 h o grupo respondeu aos estímulos externos e após 8 h se observou um comportamento normal até completar as 24 h (Figura 44). Ambos os grupos foram comparados ao grupos que recebeu solução tampão fosfato salina (PBS). Dessa forma, pode-se afirmar que na dose de 25 µg/kg os animais apresentaram menos alteração no comportamento. Essa informação torna-se relevante para se ter um referencial das doses a serem utilizadas em futuros testes *in vivo*.



Figura 44. Avaliação da toxicidade aguda em diferentes doses da amostra alf2.

Posteriormente, foram coletados os estômagos dos animais para uma avaliação do aspecto após o tratamento. Observou-se uma aparência normal na cor e textura do estômago para os animais que receberam a solução PBS. Para os animais que receberam 25 µg/mL da amostra alf2, o aspecto foi de uma cor mais escura que o grupo anterior, porém com uma textura similar. O grupo que recebeu 50 µg/mL da amostra alf2, apresentou uma coloração mais escura que os grupos anteriores. Com o intuito de verificar se as nanopartículas foram ser retidas no estômago dos animais, estes órgãos foram lavados com solução PBS e colocado em um becker, sob ação de campo magnético (ver Figura 45).

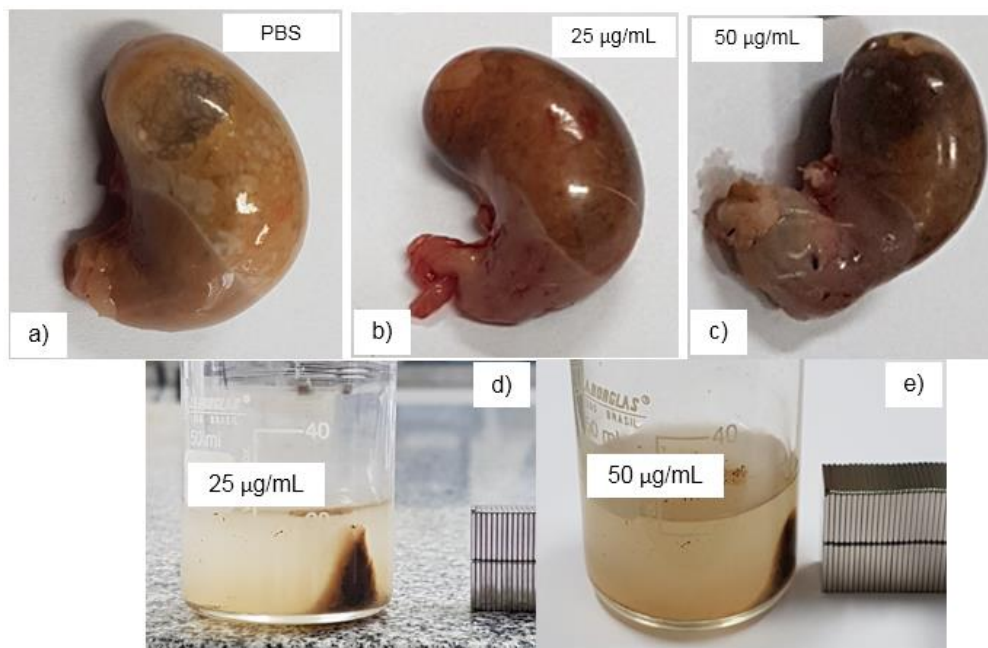


Figura 45. Estômagos de animais que receberam amostra alf2 a) solução PBS, b) 25 µg/mL, c) 50 µg/mL. Avaliação da resposta magnética do conteúdo dos estômagos dos animais após serem lavados com PBS e colocados sob campo magnético externo.

Verificou-se que o resíduo do material que foi coletado após lavar os estômagos dos animais de ambos os grupos que receberam a amostra alf2 apresentaram resposta magnética sob a influência de um campo magnético a uma distância próxima de 2 cm. Isso sugere, fortemente que a amostra alf2 pode ser usada para realizar testes *in vivo*, vislumbrando aplicações no tratamento de úlceras gástricas.

CAPITULO 5

5. Conclusões e perspectivas

Foram sintetizadas com sucesso nanopartículas magnéticas recobertas com ácido oleico (OA), ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AO$), (amostra M1 e alf1) usando o método de Decomposição Térmica. Usando óleo essencial (OE) extraído da planta nativa da Amazônia *Croton cajucara Benth* (CCB) foram produzidas com sucesso amostras recobertas com uma camada de AO e outra camada de OE ($\text{Fe}_3\text{O}_4@AO/OE$), (amostras M2 e alf2). Os resultados indicaram que a amostra alf2 apresentou melhor recobrimento com OE como resultado do processo da lavagem realizado na amostra alf1.

A caracterização estrutural via DRX confirmou a formação da fase de magnetita sem a presença de outras fases cristalinas para as amostras recobertas com AO (M1 e alf1) cujos tamanhos médios foram de ~ 10 nm e ~ 8 nm, respectivamente. Através da análise de imagens MET se determinou a formação de nanopartículas de forma quase esférica. Foram determinados tamanhos médios de 10,5 nm e 8,5 nm para as amostras M1 e alf1, respectivamente. Após o segundo recobrimento, os tamanhos aumentaram em $\sim 30\%$ (3,2 nm) e $\sim 19\%$ ($\sim 1,6$ nm) para as amostras M2 e alf2, respectivamente.

Análise de dados obtidos por TGA mostraram uma redução do teor de AO na amostra M2 (67,5 %) quando comparado com o teor de AO na amostra M1 (93%), o que foi atribuído à forte interação entre as duas camadas de revestimento proporcionando a mudança de ligações quelante monodentada para bidentada nos grupos carboxílicos. Além disso, os resultados de TGA revelaram o desprendimento de OE em ~ 50 °C, mantendo a integridade do recobrimento de AO até ~ 380 °C, para as amostras M2 e alf2.

Os resultados de medidas de magnetização indicam que a forte redução da magnetização de saturação observada na amostra M2 com relação à amostra M1 pode estar associada ao enriquecimento superficial de íons ferrosos em estado de baixo *spin* na superfície das partículas provocado pelas distorções nos sítios octaédrico e tetraédrico. A análise dos dados de M vs T indicam um valor da temperatura de bloqueio de $T_B \sim 210$ K para a amostra M1, o que sugere a ocorrência de fortes interações partícula-partícula.

Já para a amostra M2, verificou-se que a temperatura de bloqueio é de $T_B \sim 35$ K. Isto indica que as interações partícula-partícula foram reduzidas significativamente, após o recobrimento adicional, como resultado do aumento da distância entre núcleos magnéticos vizinhos em comparação com a amostra recoberta somente com AO. Este valor de $T_B \sim 35$ K obtido experimentalmente para a amostra M2, está próxima do valor estimado de relação $T_B = K_{EFF}V/25k_B$ (~ 30 K).

Por outro lado, as medidas magnéticas DC para a amostra recoberta com AO da segunda série (alf1) mostraram que o sistema se encontra em estado bloqueado em 5K e no estado superparamagnético em 300 K; as curvas ZFC/FC indicam um recobrimento mais eficiente do que a amostra M1 da primeira série, também com recobrimento de AO. A análise de laços de histerese em várias temperaturas revelou a ocorrência de um comportamento tipo *spin-glass* (CG) em baixas temperaturas e superparamagnético (SP) na região de $T > 80$ K para a amostra alf1. Já para a amostra recoberta com camadas de AO e OE (alf2), os resultados revelaram um comportamento de estado bloqueado (BS) consistente com partículas que não interagem para $T < 40$ K. Acima desta temperatura, o sistema apresenta um comportamento SP. As medidas de susceptibilidade AC em baixas temperaturas confirmaram a ocorrência do comportamento tipo *spin-glass* na amostra recoberta com AO e um estado BS na amostra recoberta com camadas de AO e OE. A mudança drástica na resposta magnética na amostra alf2, com relação à amostra alf1, foi atribuída ao recobrimento bem sucedido realizado com OE sobre a camada de AO, o que enfraqueceu consideravelmente as interações partícula-partícula, responsáveis pelo comportamento tipo *spin-glass*, determinado na amostra recoberta somente com camada de AO.

Resultados de toxicidade aguda *in vivo*, obtidos para a amostra alf2, indicam que o sistema não apresenta efeitos tóxicos para doses abaixo de 25 $\mu\text{g/mL}$. Além disso, verificou-se que houve retenção das nanopartículas no estômago dos animais usando campo magnético externo. Estes resultados mostraram que a amostra alf2 apresenta um alto potencial para aplicações biomédicas, como para tratamento de úlceras gástricas, usando as nanopartículas como carregadores de OE e assistida por campo magnético externo.

Como resultado da pesquisa feita, surgiram os seguintes trabalhos futuros:

- Otimizar o processo de funcionalização utilizando-se outros reagentes que promovam características hidrofílicas, ampliando as rotas de administração da solução das nanopartículas magnéticas.
- Avaliar o efeito de toxicidade *in vitro* para diferentes concentrações em culturas de células de tecido do estômago.
- Avaliar o efeito antiulcerogênico das nanopartículas recobertas com OE, usando modelos de testes em animais, com úlceras induzidas por etanol.
- Testar outras alternativas, no uso de campos magnéticos externos, que permitam aproveitar as propriedades superparamagnéticas do núcleo, com o intuito de direcionar e reter as nanopartículas em órgãos de interesse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ADAMS, F. C.; BARBANTE, C. Nanoscience, nanotechnology and spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 86, p. 3-13, 2013.
- 2 WAGNER, V.; DULLAART, A.; BOCK, A.-K.; ZWECK, A. The emerging nanomedicine landscape. **Nature biotechnology**, v. 24, n. 10, p. 1211-1217, 2006.
- 3 MAINE, E.; THOMAS, V.; UTTERBACK, J. Radical innovation from the confluence of technologies: Innovation management strategies for the emerging nanobiotechnology industry. **Journal of Engineering and Technology Management**, v. 32, p. 1-25, 2014.
- 4 MATHUR, A.; JANU, O. P. AN OVERVIEW ON RISK AND OPPORTUNITIES OF NANOBIO TECHNOLOGY. 2016.
- 5 MALFERTHEINER, P.; CHAN, F. K.; MCCOLL, K. E. Peptic ulcer disease. **The Lancet**, v. 374, n. 9699, p. 1449-1461, 2009.
- 6 SHIM, Y. K.; KIM, N. Nonsteroidal anti-inflammatory drug and aspirin-induced peptic ulcer disease. **The Korean Journal of Gastroenterology**, v. 67, n. 6, p. 300-312, 2016. ISSN 1598-9992.
- 7 SANTOS, R.; GUIMARAES, G.; NOBRE, M.; PORTELA, A. Analysis about phytotherapy as an integrating practice in the Brazilian Unified Health System (UHS). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 486-491, 2011.
- 8 BRITO, A. S.; RODRIGUEZ, J.; HIRUMA-LIMA, C.; HAUN, M.; NUNES, D. Antiulcerogenic activity of trans-dehydrocrotonin from *Croton cajucara*. **Planta Medica**, v. 64, n. 02, p. 126-129, 1998.
- 9 YIN, Y.; TALAPIN, D. The chemistry of functional nanomaterials. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 7, p. 2484-2487, 2013.
- 10 WANG, Y.; HU, A. Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 2, n. 34, p. 6921-6939, 2014.
- 11 PLATHE, K. L.; VON DER KAMMER, F.; HASSELLÖV, M.; MOORE, J. N.; MURAYAMA, M.; HOFMANN, T.; HOHELLA, M. F. The role of nanominerals and mineral nanoparticles in the transport of toxic trace metals: Field-flow fractionation and analytical TEM analyses after nanoparticle isolation and density separation. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 102, p. 213-225, 2013.

- 12 YANG, S.; WANG, C.; SAHIN, H.; CHEN, H.; LI, Y.; LI, S.-S.; SUSLU, A.; PEETERS, F. M.; LIU, Q.; LI, J. Tuning the optical, magnetic, and electrical properties of ReSe₂ by nanoscale strain engineering. **Nano letters**, v. 15, n. 3, p. 1660-1666, 2015.
- 13 YOO, E. J.; LYU, M.; YUN, J. H.; KANG, C. J.; CHOI, Y. J.; WANG, L. Memory Devices: Resistive Switching Behavior in Organic–Inorganic Hybrid CH₃NH₃PbI₃– xCl_x Perovskite for Resistive Random Access Memory Devices (Adv. Mater. 40/2015). **Advanced Materials**, v. 27, n. 40, p. 6303-6303, 2015.
- 14 LI, F.; LIU, J.; EVANS, D. G.; DUAN, X. Stoichiometric synthesis of pure MFe₂O₄ (M= Mg, Co, and Ni) spinel ferrites from tailored layered double hydroxide (hydrotalcite-like) precursors. **Chemistry of materials**, v. 16, n. 8, p. 1597-1602, 2004.
- 15 KUMAR, A.; SHARMA, P.; VARSHNEY, D. Structural, vibrational and dielectric study of Ni doped spinel Co ferrites: Co 1– x Ni x Fe 2 O 4 (x= 0.0, 0.5, 1.0). **Ceramics International**, v. 40, n. 8, p. 12855-12860, 2014.
- 16 SILVA, M. F.; PINEDAB, E. A. G.; BERGAMASCOA, R. APLICAÇÃO DE ÓXIDOS DE FERRO NANOESTRUTURADOS COMO ADSORVENTES E FOTOCATALISADORES NA REMOÇÃO DE POLUENTES DE ÁGUAS RESIDUAIS. **Quim. Nova**, v. 38, n. 3, p. 393-398, 2015.
- 17 TANNOUS, C.; GIERALTOWSKI, J. The Stoner–Wohlfarth model of ferromagnetism. **European journal of physics**, v. 29, n. 3, p. 475, 2008.
- 18 CULLITY, B. D.; GRAHAM, C. D. **Introduction to magnetic materials**. John Wiley & Sons, 2011.
- 19 ATHERTON, D. L.; BEATTIE, J. A mean field Stoner-Wohlfarth hysteresis model. **IEEE transactions on magnetics**, v. 26, n. 6, p. 3059-3063, 1990.
- 20 STONER, E.; WOHLFARTH, E. Philos. Trans. R. Soc. London, Ser. A. **A mechanism of magnetic hysteresis in heterogeneous alloys**, v. 240, p. 599-642, 1948.
- 21 KLEINT, C.; KRAUSE, M.; HÖHNE, R.; WALTER, T.; SEMMELHACK, H.; LORENZ, M.; ESQUINAZI, P. Exchange anisotropy in epitaxial Fe 3 O 4/CoO and Fe 3 O 4/Co x Fe 3– x O 4 bilayers grown by pulsed laser deposition. **Journal of applied physics**, v. 84, n. 9, p. 5097-5104, 1998.
- 22 DREXLER, K. E.; PETERSON, C.; PERGAMIT, G. Unbounding the future. **William Morrow, New York**, p. 294, 1991.
- 23 SALUNKHE, A. B.; KHOT, V. M.; PAWAR, S. Magnetic hyperthermia with magnetic nanoparticles: a status review. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 14, n. 5, p. 572-594, 2014.

- 24 ISSA, B.; OBAIDAT, I. M.; ALBISS, B. A.; HAIK, Y. Magnetic nanoparticles: surface effects and properties related to biomedicine applications. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 11, p. 21266-21305, 2013.
- 25 LIU, X.; HU, Q.; FANG, Z.; ZHANG, X.; ZHANG, B. Magnetic chitosan nanocomposites: a useful recyclable tool for heavy metal ion removal. **Langmuir**, v. 25, n. 1, p. 3-8, 2008.
- 26 PISANIC, T. R.; BLACKWELL, J. D.; SHUBAYEV, V. I.; FIÑONES, R. R.; JIN, S. Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons. **Biomaterials**, v. 28, n. 16, p. 2572-2581, 2007.
- 27 WIOGO, H. T.; LIM, M.; BULMUS, V.; YUN, J.; AMAL, R. Stabilization of magnetic iron oxide nanoparticles in biological media by fetal bovine serum (FBS). **Langmuir**, v. 27, n. 2, p. 843-850, 2010.
- 28 AMSTAD, E.; TEXTOR, M.; REIMHULT, E. Stabilization and functionalization of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Nanoscale**, v. 3, n. 7, p. 2819-2843, 2011.
- 29 MOHAMMED, L.; GOMAA, H. G.; RAGAB, D.; ZHU, J. Magnetic nanoparticles for environmental and biomedical applications: A review. **Particuology**, v. 30, p. 1-14, 2017.
- 30 FLEET, M. The structure of magnetite. **Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, v. 37, n. 4, p. 917-920, 1981.
- 31 SAKO, E.; PANDOLFELLI, V. Artigo revisão-A relação entre a corrosão e a microestrutura: a chave para o desenvolvimento de concretos refratários espinelizados de alto desempenho. **Cerâmica**, v. 60, p. 127-143, 2014.
- 32 KIM, K.-S. Functionalization of magnetic nanoparticles for biomedical applications. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 8, p. 1289-1305, 2014.
- 33 KIEVIT, F. M.; ZHANG, M. Surface engineering of iron oxide nanoparticles for targeted cancer therapy. **Accounts of chemical research**, v. 44, n. 10, p. 853-862, 2011.
- 34 COTIN, G.; PIANT, S.; MERTZ, D.; FELDER-FLESCH, D.; BEGIN-COLIN, S. Chapter 2 - Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: Synthesis, Functionalization, and Application A2 - Mahmoudi, Morteza. In: LAURENT, S. (Ed.). **Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications**: Elsevier, 2018. p.43-88.
- 35 TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, p. 55-75, 1951.

- 36 ANAND, U.; LU, J.; LOH, D.; AABDIN, Z.; MIRSAIDOV, U. Hydration layer-mediated pairwise interaction of nanoparticles. **Nano letters**, v. 16, n. 1, p. 786-790, 2016.
- 37 MARGENAU, H. Van der Waals forces. **Reviews of Modern Physics**, v. 11, n. 1, p. 1, 1939.
- 38 ALBANESE, A.; CHAN, W. C. Effect of gold nanoparticle aggregation on cell uptake and toxicity. **ACS nano**, v. 5, n. 7, p. 5478-5489, 2011.
- 39 PATIL, R.; THORAT, N.; SHETE, P.; OTARI, S.; TIWALE, B.; PAWAR, S. In vitro hyperthermia with improved colloidal stability and enhanced SAR of magnetic core/shell nanostructures. **Materials Science and Engineering: C**, v. 59, p. 702-709, 2016.
- 40 PINCUS, P. Colloid stabilization with grafted polyelectrolytes. **Macromolecules**, v. 24, n. 10, p. 2912-2919, 1991.
- 41 JAIN, N.; WANG, Y.; JONES, S. K.; HAWKETT, B. S.; WARR, G. G. Optimized steric stabilization of aqueous ferrofluids and magnetic nanoparticles. **Langmuir**, v. 26, n. 6, p. 4465-4472, 2009.
- 42 BRYCE, N. S.; PHAM, B. T.; FONG, N. W.; JAIN, N.; PAN, E. H.; WHAN, R. M.; HAMBLEY, T. W.; HAWKETT, B. S. The composition and end-group functionality of sterically stabilized nanoparticles enhances the effectiveness of co-administered cytotoxins. **Biomaterials Science**, v. 1, n. 12, p. 1260-1272, 2013.
- 43 KAINZ, Q. M.; REISER, O. Polymer-and dendrimer-coated magnetic nanoparticles as versatile supports for catalysts, scavengers, and reagents. **Accounts of chemical research**, v. 47, n. 2, p. 667-677, 2014.
- 44 CHOI, Y.-W.; LEE, H.; SONG, Y.; SOHN, D. Colloidal stability of iron oxide nanoparticles with multivalent polymer surfactants. **Journal of colloid and interface science**, v. 443, p. 8-12, 2015.
- 45 KOBAYASHI, M.; SKARBA, M.; GALLETTO, P.; CAKARA, D.; BORKOVEC, M. Effects of heat treatment on the aggregation and charging of Stöber-type silica. **Journal of colloid and interface science**, v. 292, n. 1, p. 139-147, 2005.
- 46 KOLHATKAR, A. G.; JAMISON, A. C.; LITVINOV, D.; WILLSON, R. C.; LEE, T. R. Tuning the magnetic properties of nanoparticles. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 8, p. 15977-16009, 2013.
- 47 KITTEL, C. Physical theory of ferromagnetic domains. **Reviews of modern Physics**, v. 21, n. 4, p. 541, 1949.

- 48 SCHUELE, W.; DEETSCREEK, V. Appearance of a weak ferromagnetism in fine particles of antiferromagnetic materials. **Journal of Applied Physics**, v. 33, n. 3, p. 1136-1137, 1962.
- 49 LEE, J. S.; CHA, J. M.; YOON, H. Y.; LEE, J.-K.; KIM, Y. K. Magnetic multi-granule nanoclusters: A model system that exhibits universal size effect of magnetic coercivity. **Scientific reports**, v. 5, 2015.
- 50 JEONG, U.; TENG, X.; WANG, Y.; YANG, H.; XIA, Y. Superparamagnetic colloids: controlled synthesis and niche applications. **Advanced Materials**, v. 19, n. 1, p. 33-60, 2007.
- 51 KITTEL, C. **Introduction to solid state physics**. Wiley, 2005.
- 52 RONDINONE, A. J.; SAMIA, A. C.; ZHANG, Z. J. Superparamagnetic relaxation and magnetic anisotropy energy distribution in CoFe₂O₄ spinel ferrite nanocrystallites. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 103, n. 33, p. 6876-6880, 1999.
- 53 MORALES, M. D. P.; VEINTEMILLAS-VERDAGUER, S.; MONTERO, M.; SERNA, C.; ROIG, A.; CASAS, L.; MARTINEZ, B.; SANDIUMENGE, F. Surface and internal spin canting in γ -Fe₂O₃ nanoparticles. **Chemistry of Materials**, v. 11, n. 11, p. 3058-3064, 1999.
- 54 WANG, H.; ZHU, T.; ZHAO, K.; WANG, W.; WANG, C.; WANG, Y.; ZHAN, W. Surface spin glass and exchange bias in Fe₃O₄ nanoparticles compacted under high pressure. **Physical Review B**, v. 70, n. 9, p. 092409, 2004.
- 55 SINGH, S.; SEEHRA, M. Size dependence of the effective magnetic anisotropy in Co, Ni, Fe, and magnetite nanoparticles: Testing the core-shell-surface-layer (CSSL) model. **arXiv preprint arXiv:1710.07832**, 2017.
- 56 LESLIE-PELECKY, D. L.; RIEKE, R. D. Magnetic properties of nanostructured materials. **Chemistry of materials**, v. 8, n. 8, p. 1770-1783, 1996.
- 57 MANOVA, E.; KUNEV, B.; PANEVA, D.; MITOV, I.; PETROV, L.; ESTOURNÈS, C.; D'ORLÉAN, C.; REHSPRINGER, J.-L.; KURMOO, M. Mechano-synthesis, characterization, and magnetic properties of nanoparticles of cobalt ferrite, CoFe₂O₄. **Chemistry of Materials**, v. 16, n. 26, p. 5689-5696, 2004.
- 58 WAHAJUDDIN, S. A. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplateforms as drug carriers. **International journal of nanomedicine**, v. 7, p. 3445, 2012.
- 59 BEDANTA, S.; KLEEMANN, W. Supermagnetism. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 42, n. 1, p. 013001, 2008.
- 60 BROWN JR, W. F. Thermal fluctuations of a single-domain particle. **Physical Review**, v. 130, n. 5, p. 1677, 1963.

- 61 LAURENT, S.; DUTZ, S.; HÄFELI, U. O.; MAHMOUDI, M. Magnetic fluid hyperthermia: focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles. **Advances in colloid and interface science**, v. 166, n. 1, p. 8-23, 2011.
- 62 VOUILLE, C.; THIAVILLE, A.; MILTAT, J. Thermally activated switching of nanoparticles: a numerical study. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 272-276, n. Supplement, p. E1237-E1238, 2004.
- 63 BEAN, C.; LIVINGSTON, U. D. Superparamagnetism. **Journal of Applied Physics**, v. 30, n. 4, p. S120-S129, 1959.
- 64 MAHMOUDI, M.; SANT, S.; WANG, B.; LAURENT, S.; SEN, T. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): development, surface modification and applications in chemotherapy. **Advanced drug delivery reviews**, v. 63, n. 1-2, p. 24-46, 2011.
- 65 FRENKEL, J.; DORFMAN, J. Spontaneous and induced magnetisation in ferromagnetic bodies. **Nature**, v. 126, n. 3173, p. 274-275, 1930.
- 66 BLUNDELL, S. **Magnetism in Condensed Matter (Oxford master series in condensed matter physics)**. Oxford University Press, 2001.
- 67 FERRARI, E.; DA SILVA, F.; KNOBEL, M. Influence of the distribution of magnetic moments on the magnetization and magnetoresistance in granular alloys. **Physical Review B**, v. 56, n. 10, p. 6086, 1997.
- 68 BATLLE, X.; LABARTA, A. L. Finite-size effects in fine particles: magnetic and transport properties. **JOURNAL OF PHYSICS-LONDON-D APPLIED PHYSICS**, v. 35, n. 6, p. R15-R42, 2002.
- 69 LU, A. H.; SALABAS, E. E. L.; SCHÜTH, F. Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 8, p. 1222-1244, 2007.
- 70 ŘEZNÍČEK, R.; CHLAN, V.; ŠTĚPÁNKOVÁ, H.; NOVÁK, P.; MARYŠKO, M. Magnetocrystalline anisotropy of magnetite. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 24, n. 5, p. 055501, 2012.
- 71 BINDER, K.; YOUNG, A. P. Spin glasses: Experimental facts, theoretical concepts, and open questions. **Reviews of Modern physics**, v. 58, n. 4, p. 801, 1986.
- 72 MØRUP, S.; HANSEN, M. F.; FRANDSEN, C. Magnetic interactions between nanoparticles. **Beilstein journal of nanotechnology**, v. 1, p. 182, 2010.
- 73 ZHANG, J.; BOYD, C.; LUO, W. Two mechanisms and a scaling relation for dynamics in ferrofluids. **Physical review letters**, v. 77, n. 2, p. 390, 1996.

- 74 FIORANI, D.; DORMANN, J.; CHERKAOUI, R.; TRONC, E.; LUCARI, F.; D'ORAZIO, F.; SPINU, L.; NOGUES, M.; GARCIA, A.; TESTA, A. Collective magnetic state in nanoparticles systems. **Journal of magnetism and magnetic materials**, v. 196, p. 143-147, 1999.
- 75 SUZUKI, M.; FULLEM, S. I.; SUZUKI, I. S.; WANG, L.; ZHONG, C.-J. Observation of superspin-glass behavior in Fe₃O₄ nanoparticles. **Physical Review B**, v. 79, n. 2, p. 024418, 2009.
- 76 PETRACIC, O.; KLEEMANN, W.; BINEK, C.; KAKAZEI, G.; POGORELOV, Y.; SOUSA, J.; CARDOSO, S.; FREITAS, P. Superspin glass behavior of interacting ferromagnetic nanoparticles in discontinuous magnetic multilayers. **Phase Transitions: A Multinational Journal**, v. 75, n. 1-2, p. 73-79, 2002.
- 77 F HASANY, S.; H ABDURAHMAN, N.; R SUNARTI, A.; JOSE, R. Magnetic iron oxide nanoparticles: chemical synthesis and applications review. **Current nanoscience**, v. 9, n. 5, p. 561-575, 2013.
- 78 LAURENT, S.; SAEI, A. A.; BEHZADI, S.; PANAHIFAR, A.; MAHMOUDI, M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for delivery of therapeutic agents: opportunities and challenges. **Expert opinion on drug delivery**, v. 11, n. 9, p. 1449-1470, 2014.
- 79 UNNI, M.; UHL, A. M.; SAVLIWALA, S.; SAVITZKY, B. H.; DHAVALIKAR, R.; GARRAUD, N.; ARNOLD, D. P.; KOURKOUTIS, L. F.; ANDREW, J. S.; RINALDI, C. Thermal decomposition synthesis of iron oxide nanoparticles with diminished magnetic dead layer by controlled addition of oxygen. **ACS nano**, v. 11, n. 2, p. 2284-2303, 2017.
- 80 MIJATOVIC, D.; EIJKEL, J.; VAN DEN BERG, A. Technologies for nanofluidic systems: top-down vs. bottom-up—a review. **Lab on a Chip**, v. 5, n. 5, p. 492-500, 2005.
- 81 THAKKAR, K. N.; MHATRE, S. S.; PARIKH, R. Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 6, n. 2, p. 257-262, 2010.
- 82 TOMBÁ CZ, E.; TURCU, R.; SOCOLIUC, V.; VÉKÁS, L. Magnetic iron oxide nanoparticles: Recent trends in design and synthesis of magnetoresponse nanosystems. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 468, n. 3, p. 442-453, 2015.
- 83 ANBARASU, M.; ANANDAN, M.; CHINNASAMY, E.; GOPINATH, V.; BALAMURUGAN, K. Synthesis and characterization of polyethylene glycol (PEG) coated Fe₃O₄ nanoparticles by chemical co-precipitation method for biomedical applications. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 135, p. 536-539, 2015.

- 84 DARR, J. A.; ZHANG, J.; MAKWANA, N. M.; WENG, X. Continuous Hydrothermal Synthesis of Inorganic Nanoparticles: Applications and Future Directions. **Chemical reviews**, v. 117, n. 17, p. 11125-11238, 2017.
- 85 LI, H.; YAN, K.; SHANG, Y.; SHRESTHA, L.; LIAO, R.; LIU, F.; LI, P.; XU, H.; XU, Z.; CHU, P. K. Folate-bovine serum albumin functionalized polymeric micelles loaded with superparamagnetic iron oxide nanoparticles for tumor targeting and magnetic resonance imaging. **Acta biomaterialia**, v. 15, p. 117-126, 2015.
- 86 EFFENBERGER, F. B.; COUTO, R. A.; KIYOHARA, P. K.; MACHADO, G.; MASUNAGA, S. H.; JARDIM, R. F.; ROSSI, L. M. Economically attractive route for the preparation of high quality magnetic nanoparticles by the thermal decomposition of iron (III) acetylacetonate. **Nanotechnology**, v. 28, n. 11, p. 115603, 2017.
- 87 ROCA, A.; MORALES, M.; O'GRADY, K.; SERNA, C. Structural and magnetic properties of uniform magnetite nanoparticles prepared by high temperature decomposition of organic precursors. **Nanotechnology**, v. 17, n. 11, p. 2783, 2006.
- 88 XU, Z.; SHEN, C.; HOU, Y.; GAO, H.; SUN, S. Oleylamine as both reducing agent and stabilizer in a facile synthesis of magnetite nanoparticles. **Chemistry of Materials**, v. 21, n. 9, p. 1778-1780, 2009.
- 89 HUFSCHMID, R.; ARAMI, H.; FERGUSON, R. M.; GONZALES, M.; TEEMAN, E.; BRUSH, L. N.; BROWNING, N. D.; KRISHNAN, K. M. Synthesis of phase-pure and monodisperse iron oxide nanoparticles by thermal decomposition. **Nanoscale**, v. 7, n. 25, p. 11142-11154, 2015.
- 90 MAITY, D.; CHOO, S.-G.; YI, J.; DING, J.; XUE, J. M. Synthesis of magnetite nanoparticles via a solvent-free thermal decomposition route. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 321, n. 9, p. 1256-1259, 2009.
- 91 SUN, S.; ZENG, H.; ROBINSON, D. B.; RAOUX, S.; RICE, P. M.; WANG, S. X.; LI, G. Monodisperse $m\text{Fe}_2\text{O}_4$ ($m = \text{Fe}, \text{Co}, \text{Mn}$) nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 1, p. 273-279, 2004.
- 92 GUARDIA, P.; BATLLE-BRUGAL, B.; ROCA, A.; IGLESIAS, O.; MORALES, M.; SERNA, C.; LABARTA, A.; BATLLE, X. Surfactant effects in magnetite nanoparticles of controlled size. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 316, n. 2, p. e756-e759, 2007.
- 93 WU, W.; WU, Z.; YU, T.; JIANG, C.; KIM, W.-S. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. **Science and technology of advanced materials**, v. 16, n. 2, p. 023501, 2015.

- 94 GOBBO, O. L.; SJAASTAD, K.; RADOMSKI, M. W.; VOLKOV, Y.; PRINAMELLO, A. Magnetic nanoparticles in cancer theranostics. **Theranostics**, v. 5, n. 11, p. 1249, 2015.
- 95 NEMALA, H.; THAKUR, J.; NAIK, V.; VAISHNAVA, P.; LAWES, G.; NAIK, R. Investigation of magnetic properties of Fe₃O₄ nanoparticles using temperature dependent magnetic hyperthermia in ferrofluids. **Journal of Applied Physics**, v. 116, n. 3, p. 034309, 2014.
- 96 WILSON, D.; LANGELL, M. XPS analysis of oleylamine/oleic acid capped Fe₃O₄ nanoparticles as a function of temperature. **Applied Surface Science**, v. 303, p. 6-13, 2014.
- 97 SUNDARESAN, V.; MENON, J. U.; RAHIMI, M.; NGUYEN, K. T.; WADAJKAR, A. S. Dual-responsive polymer-coated iron oxide nanoparticles for drug delivery and imaging applications. **International journal of pharmaceuticals**, v. 466, n. 1, p. 1-7, 2014.
- 98 PARHI, P.; MOHANTY, C.; SAHOO, S. K. Nanotechnology-based combinational drug delivery: an emerging approach for cancer therapy. **Drug discovery today**, v. 17, n. 17, p. 1044-1052, 2012.
- 99 EL-BOUBBOU, K.; AZAR, D.; BEKDASH, A.; ABI-HABIB, R. J. Doxironide Magnetic Nanoparticles for Selective Drug Delivery to Human Acute Myeloid Leukemia. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 13, n. 5, p. 500-512, 2017.
- 100 KOBAYASHI, K.; WEI, J.; IIDA, R.; IJIRO, K.; NIIKURA, K. Surface engineering of nanoparticles for therapeutic applications. **Polymer journal**, v. 46, n. 8, p. 460-468, 2014.
- 101 MAJEWSKI, P.; THIERRY, B. Functionalized magnetite nanoparticles— synthesis, properties, and bio-applications. **Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences**, v. 32, n. 3-4, p. 203-215, 2007.
- 102 DOBSON, J. Nanoscale biogenic iron oxides and neurodegenerative disease. **FEBS letters**, v. 496, n. 1, p. 1-5, 2001.
- 103 BACON, B. R.; STARK, D. D.; PARK, C. H.; SAINI, S.; GROMAN, E. V.; HAHN, P. F.; COMPTON, C. C.; FERRUCCI, J. T. Ferrite particles: a new magnetic resonance imaging contrast agent. Lack of acute or chronic hepatotoxicity after intravenous administration. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 110, n. 2, p. 164-171, 1987.
- 104 MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, J. V.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.
- 105 VAN DEN BERG, M. E. Plantas medicinais na Amazônia (contribuição ao seu conhecimento sistemático). **Coleção Adolpho Ducke**, 1982.

- 106 DI STASI, L. C.; SANTOS, E. G.; DOS SANTOS, C. M.; HIRUMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia**. Editora Unesp, 1989.
- 107 MARTINS, J. E. C. **Plantas medicinais de uso na Amazônia**. Cultural CEJUP, 1989.
- 108 VIEIRA, R. F.; BIZZO, H. R.; DESCHAMPS, C. Genetic resources of aromatic plants from Brazil. **Israel journal of plant sciences**, v. 58, n. 3-4, p. 263-271, 2010.
- 109 ALBUQUERQUE, J. D. Plantas medicinais de uso popular. **Brasília: ABEAS/MEC**, 1989.
- 110 RODRIGUES, R. M. A flora da Amazônia. **Belem: CEJUP 463p.-. Por (En) Geog**, v. 4, 1989.
- 111 LOPES, D.; BLZZO, H. R.; SÁ SOBRINHO, A. F.; PEREIRA, M. V. Linalool-Rich Essential Oil from Leaves of Croton cajucara Benth. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 6, p. 705-708, 2000.
- 112 MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; BRABO, S. N.; DA SILVA, M. N. Terpenoids from Croton cajucara. **Phytochemistry**, v. 49, n. 3, p. 823-828, 1998.
- 113 MARIA DO SOCORRO, S. R.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; BIZZO, H. R.; DE ALMEIDA RODRIGUES, I.; SOARES, R. M. A.; SOUTO-PADRÓN, T.; ALVIANO, C. S.; LOPES, A. H. C. Antileishmanial activity of a linalool-rich essential oil from Croton cajucara. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 47, n. 6, p. 1895-1901, 2003.
- 114 ALVIANO, W.; MENDONÇA-FILHO, R.; ALVIANO, D.; BIZZO, H.; SOUTO-PADRÓN, T.; RODRIGUES, M.; BOLOGNESE, A.; ALVIANO, C.; SOUZA, M. Antimicrobial activity of Croton cajucara Benth linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganisms. **Molecular Oral Microbiology**, v. 20, n. 2, p. 101-105, 2005.
- 115 BIGHETTI, E. J.; HIRUMA-LIMA, C. A.; GRACIOSO, J. S.; BRITO, A. R. S. Anti-inflammatory and Antinociceptive Effects in Rodents of the Essential Oil of Croton cajucara Benth. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, n. 12, p. 1447-1453, 1999.
- 116 DE PAULA, A. C. B.; GRACIOSO, J. S.; TOMA, W.; HIRUMA-LIMA, C. A.; CARNEIRO, E. M.; BRITO, A. R. S. The antiulcer effect of Croton cajucara Benth in normoproteic and malnourished rats. **Phytomedicine**, v. 15, n. 10, p. 815-825, 2008.
- 117 HIRUMA-LIMA, C.; GRACIOSO, J.; RODRIGUEZ, J.; HAUN, M.; NUNES, D.; BRITO, A. S. Gastroprotective effect of essential oil from Croton cajucara Benth.(Euphorbiaceae). **Journal of ethnopharmacology**, v. 69, n. 3, p. 229-234, 2000.

- 118 PAULA, A. C. B. D.; TOMA, W.; GRACIOSO, J. D. S.; HIRUMA-LIMA, C. A.; CARNEIRO, E. M.; BRITO, A. S. The gastroprotective effect of the essential oil of *Croton cajucara* is different in normal rats than in malnourished rats. **British journal of nutrition**, v. 96, n. 2, p. 310-315, 2006.
- 119 FERREIRA, S.; VANE, J. New aspects of the mode of action of nonsteroid anti-inflammatory drugs. **Annual review of pharmacology**, v. 14, n. 1, p. 57-73, 1974.
- 120 LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, n. 1, p. 41-60, 2008.
- 121 VITORIANO, I.; SARAIVA-PAVA, K.; MATOS, A.; VALE, F.; SANTOS, A.; LOPES, A.; OLEASTRO, M.; ROXO-ROSA, M. The cellular and flagella morphologies of ulcerogenic *Helicobacter pylori* paediatric strains. **Microscopy and Microanalysis**, v. 19, n. S4, p. 21-22, 2013.
- 122 MARSHALL, B.; WARREN, J. R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. **The Lancet**, v. 323, n. 8390, p. 1311-1315, 1984.
- 123 MARSHALL, B. J.; MCGECHIE, D.; ROGERS, P.; GLANCY, R. Pyloric *Campylobacter* infection and gastroduodenal disease. **The Medical Journal of Australia**, v. 142, n. 8, p. 439-444, 1985.
- 124 POSSE, R. S. A.; TOLEDO, R. A.; CABRAL, M. L. V. *Helicobacter pylori*: clínica, diagnóstico y tratamiento. **Revista de posgrado de la vía cátedra de medicina**, v. 158, p. 9-12, 2006.
- 125 WALLACE, J. L.; GRANGER, D. N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. **The FASEB Journal**, v. 10, n. 7, p. 731-740, 1996.
- 126 KONTUREK, S.; KONTUREK, P.; PAWLIK, T.; SLIWOWSKI, Z.; OCHMANSKI, W.; HAHN, E. DUODENAL MUCOSAL PROTECTION BY BICARBONATE. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 55, n. 2, p. 5-17, 2004.
- 127 PHILLIPSON, M. Acid transport through gastric mucus. **Upsala journal of medical sciences**, v. 109, n. 1, p. 1-24, 2004.
- 128 GLAVIN, G. B.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. **The FASEB journal**, v. 6, n. 3, p. 825-831, 1992.
- 129 HIRSCHOWITZ, B. I.; KEELING, D.; LEWIN, M.; OKABE, S.; PARSONS, M.; SEWING, K.; WALLMARK, B.; SACHS, G. Pharmacological aspects of acid secretion. **Digestive diseases and sciences**, v. 40, n. 2, p. 3S-23S, 1995.

- 130 SUN, S.; ZENG, H. Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 28, p. 8204-8205, 2002.
- 131 BOUTEKEDJIRET, C.; BENTAHAR, F.; BELABBES, R.; BESSIERE, J. Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, n. 6, p. 481-484, 2003.
- 132 VUONG, T. K. O.; LE, T. L.; PHAM, D. V.; PHAM, H. N.; LE NGO, T. H.; DO, H. M.; NGUYEN, X. P. Synthesis of high-magnetization and monodisperse Fe₃O₄ nanoparticles via thermal decomposition. **Materials Chemistry and Physics**, v. 163, p. 537-544, 2015.
- 133 GUARDIA, P.; PÉREZ, N.; LABARTA, A.; BATLLE, X. Controlled synthesis of iron oxide nanoparticles over a wide size range. **Langmuir**, v. 26, n. 8, p. 5843-5847, 2009.
- 134 YIN, M.; WILLIS, A.; REDL, F.; TURRO, N. J.; O'BRIEN, S. P. Influence of capping groups on the synthesis of γ -Fe₂O₃ nanocrystals. **Journal of materials research**, v. 19, n. 4, p. 1208-1215, 2004.
- 135 SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature methods**, v. 9, n. 7, p. 671-675, 2012.
- 136 STURGES, H. A. The choice of a class interval. **Journal of the american statistical association**, v. 21, n. 153, p. 65-66, 1926.
- 137 IDRIS, S. S.; RAHMAN, N. A.; ISMAIL, K.; ALIAS, A. B.; RASHID, Z. A.; ARIS, M. J. Investigation on thermochemical behaviour of low rank Malaysian coal, oil palm biomass and their blends during pyrolysis via thermogravimetric analysis (TGA). **Bioresource technology**, v. 101, n. 12, p. 4584-4592, 2010.
- 138 KALLUMADIL, M.; TADA, M.; NAKAGAWA, T.; ABE, M.; SOUTHERN, P.; PANKHURST, Q. A. Suitability of commercial colloids for magnetic hyperthermia. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 321, n. 10, p. 1509-1513, 2009.
- 139 BRAND, R. NORMOS programs, version 1990. **The NORMOS program is available from Wissel GmbH, D-82319 Starnberg, Germany**, 1990.
- 140 JASWIR, I.; NOVIENDRI, D.; SALLEH, H. M.; TAHER, M.; MIYASHITA, K. Isolation of fucoxanthin and fatty acids analysis of *Padina australis* and cytotoxic effect of fucoxanthin on human lung cancer (H1299) cell lines. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 81, p. 18855-18862, 2011.
- 141 GUIDELINE, D. U. T. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**: OECD, OECD Publishing, Paris, France 2001.
- 142 PETERNELE, W. S.; FUENTES, V. M.; FASCINELI, M. L.; SILVA, J. R. D.; SILVA, R. C.; LUCCI, C. M.; AZEVEDO, R. B. D. Experimental investigation of

- the coprecipitation method: an approach to obtain magnetite and maghemite nanoparticles with improved properties. **Journal of Nanomaterials**, v. 2014, p. 94, 2014.
- 143 JENKINS, R.; SNYDER, R. L. Introduction to X-ray Powder Diffractometry, Volume 138. **Chemical analysis, a series of monographs on analytical chemistry and its applications**, 1996.
- 144 TOBY, B. H. R factors in Rietveld analysis: How good is good enough? **Powder diffraction**, v. 21, n. 1, p. 67-70, 2006.
- 145 HAAVIK, C.; STØLEN, S.; FJELLVÅG, H.; HANFLAND, M.; HÄUSERMANN, D. Equation of state of magnetite and its high-pressure modification: Thermodynamics of the Fe-O system at high pressure. **American Mineralogist**, v. 85, n. 3-4, p. 514-523, 2000.
- 146 PATSULA, V.; MOSKVIN, M.; DUTZ, S.; HORÁK, D. Size-dependent magnetic properties of iron oxide nanoparticles. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 88, p. 24-30, 2016.
- 147 KIM, D. K.; MIKHAYLOVA, M.; ZHANG, Y.; MUHAMMED, M. Protective coating of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 8, p. 1617-1627, 2003.
- 148 ZHANG, L.; HE, R.; GU, H.-C. Oleic acid coating on the monodisperse magnetite nanoparticles. **Applied Surface Science**, v. 253, n. 5, p. 2611-2617, 2006.
- 149 BLOEMEN, M.; BRULLOT, W.; LUONG, T. T.; GEUKENS, N.; GILS, A.; VERBIEST, T. Improved functionalization of oleic acid-coated iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 14, n. 9, p. 1100, 2012.
- 150 PARK, J.; AN, K.; HWANG, Y.; PARK, J.-G.; NOH, H.-J.; KIM, J.-Y.; PARK, J.-H.; HWANG, N.-M.; HYEON, T. Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals. **Nature materials**, v. 3, n. 12, p. 891-895, 2004.
- 151 KHALIL, M.; YU, J.; LIU, N.; LEE, R. L. Non-aqueous modification of synthesized hematite nanoparticles with oleic acid. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 453, n. Supplement C, p. 7-12, 2014.
- 152 LAN, Q.; LIU, C.; YANG, F.; LIU, S.; XU, J.; SUN, D. Synthesis of bilayer oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles and their application in pH-responsive Pickering emulsions. **Journal of colloid and interface science**, v. 310, n. 1, p. 260-269, 2007.
- 153 JADHAV, N. V.; PRASAD, A. I.; KUMAR, A.; MISHRA, R.; DHARA, S.; BABU, K.; PRAJAPAT, C.; MISRA, N.; NINGTHOUJAM, R.; PANDEY, B. Synthesis of oleic acid functionalized Fe₃O₄ magnetic nanoparticles and studying their

- interaction with tumor cells for potential hyperthermia applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 108, p. 158-168, 2013.
- 154 LI, D.; JIANG, D.; CHEN, M.; XIE, J.; WU, Y.; DANG, S.; ZHANG, J. An easy fabrication of monodisperse oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles. **Materials Letters**, v. 64, n. 22, p. 2462-2464, 2010.
- 155 LI, Y.-S.; CHURCH, J. S.; WOODHEAD, A. L. Infrared and Raman spectroscopic studies on iron oxide magnetic nano-particles and their surface modifications. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 324, n. 8, p. 1543-1550, 2012.
- 156 CARP, O.; PATRON, L.; CULITA, D. C.; BUDRUGEAC, P.; FEDER, M.; DIAMANDESCU, L. Thermal analysis of two types of dextran-coated magnetite. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 101, n. 1, p. 181-187, 2010.
- 157 MAMANI, J.; COSTA-FILHO, A.; CORNEJO, D.; VIEIRA, E.; GAMARRA, L. Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles coated with lauric acid. **Materials Characterization**, v. 81, p. 28-36, 2013.
- 158 PRADHAN, P.; GIRI, J.; BANERJEE, R.; BELLARE, J.; BAHADUR, D. Cellular interactions of lauric acid and dextran-coated magnetite nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 311, n. 1, p. 282-287, 2007.
- 159 QIAN, Z.; ZHANG, Z.; CHEN, Y. A novel preparation of surface-modified paramagnetic magnetite/polystyrene nanocomposite microspheres by radiation-induced miniemulsion polymerization. **Journal of colloid and interface science**, v. 327, n. 2, p. 354-361, 2008.
- 160 YANG, K.; PENG, H.; WEN, Y.; LI, N. Re-examination of characteristic FTIR spectrum of secondary layer in bilayer oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles. **Applied surface science**, v. 256, n. 10, p. 3093-3097, 2010.
- 161 PILON, L.; KELLY, C. Modification of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) properties by reactive blending with a monoterpene derivative. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 2, 2016.
- 162 PERILLO, E.; HERVÉ-AUBERT, K.; ALLARD-VANNIER, E.; FALANGA, A.; GALDIERO, S.; CHOURPA, I. Synthesis and in vitro evaluation of fluorescent and magnetic nanoparticles functionalized with a cell penetrating peptide for cancer theranosis. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 499, p. 209-217, 2017.
- 163 BELAÏD, S.; LAURENT, S.; VERMEERSCH, M.; VANDER ELST, L.; PEREZ-MORGA, D.; MULLER, R. N. A new approach to follow the formation of iron oxide nanoparticles synthesized by thermal decomposition. **Nanotechnology**, v. 24, n. 5, p. 055705, 2013.

- 164 QIAO, R.; YANG, C.; GAO, M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: from preparations to in vivo MRI applications. **Journal of Materials Chemistry**, v. 19, n. 35, p. 6274-6293, 2009.
- 165 DARWISH, M. S. Effect of carriers on heating efficiency of oleic acid-stabilized magnetite nanoparticles. **Journal of Molecular Liquids**, v. 231, p. 80-85, 2017.
- 166 LIANG, S.; ZHANG, X.; WU, Z.; LIU, Y.; ZHANG, H.; SUN, H.; SUN, H.; YANG, B. Decoration of up-converting NaYF₄: Yb, Er (Tm) nanoparticles with surfactant bilayer. A versatile strategy to perform oil-to-water phase transfer and subsequently surface silication. **CrystEngComm**, v. 14, n. 10, p. 3484-3489, 2012.
- 167 PRADHAN, P.; GIRI, J.; BANERJEE, R.; BELLARE, J.; BAHADUR, D. Preparation and characterization of manganese ferrite-based magnetic liposomes for hyperthermia treatment of cancer. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 311, n. 1, p. 208-215, 2007.
- 168 DUNLOP, D. Superparamagnetic and single-domain threshold sizes in magnetite. **Journal of Geophysical Research**, v. 78, n. 11, p. 1780-1793, 1973.
- 169 MEIORIN, C.; MURACA, D.; PIROTA, K. R.; ARANGUREN, M. I.; MOSIEWICKI, M. A. Nanocomposites with superparamagnetic behavior based on a vegetable oil and magnetite nanoparticles. **European Polymer Journal**, v. 53, p. 90-99, 2014.
- 170 CORNELL, R. **Schwertmann, The Iron Oxides**: VCH Publishers, NY 1996.
- 171 COOK, L. J. K.; MOHAMMED, R.; SHERBORNE, G.; ROBERTS, T. D.; ALVAREZ, S.; HALCROW, M. A. Spin state behavior of iron (II)/dipyrazolylpyridine complexes. New insights from crystallographic and solution measurements. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 289, p. 2-12, 2015.
- 172 OGATA, F.; KAMBARA, T.; GONDAIRA, K.; SASAKI, N. Pressure-induced high-spin-low-spin transition in transition metal compounds. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 31, p. 123-124, 1983.
- 173 MICHA, J.; DIENY, B.; RÉGNARD, J.; JACQUOT, J.; SORT, J. Estimation of the Co nanoparticles size by magnetic measurements in Co/SiO₂ discontinuous multilayers. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 272, p. E967-E968, 2004.
- 174 VOUILLE, C.; THIAVILLE, A.; MILTAT, J. Thermally activated switching of nanoparticles: a numerical study. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 272, p. E1237-E1238, 2004.

- 175 LIMA JR, E.; BRANDL, A.; ARELARO, A.; GOYA, G. Spin disorder and magnetic anisotropy in Fe₃O₄ nanoparticles. **Journal of Applied Physics**, v. 99, n. 8, p. 083908, 2006.
- 176 GITTLEMAN, J.; ABELES, B.; BOZOWSKI, S. Superparamagnetism and relaxation effects in granular Ni-SiO₂ and Ni-Al₂O₃ films. **Physical review B**, v. 9, n. 9, p. 3891, 1974.
- 177 FÉLIX, L. L.; COAQUIRA, J.; MARTÍNEZ, M.; GOYA, G.; MANTILLA, J.; SOUSA, M.; DE LOS SANTOS VALLADARES, L.; BARNES, C.; MORAIS, P. Structural and magnetic properties of core-shell Au/Fe₃O₄ nanoparticles. **Scientific reports**, v. 7, p. 41732, 2017.
- 178 CARREY, J.; MEHDAOUI, B.; RESPAUD, M. Simple models for dynamic hysteresis loop calculations of magnetic single-domain nanoparticles: Application to magnetic hyperthermia optimization. **Journal of Applied Physics**, v. 109, n. 8, p. 083921, 2011.
- 179 VARGAS, J.; LIMA, E.; ZYSLER, R.; DUQUE, J. S.; DE BIASI, E.; KNOBEL, M. Effective anisotropy field variation of magnetite nanoparticles with size reduction. **The European Physical Journal B**, v. 64, n. 2, p. 211-218, 2008.
- 180 BØDKER, F.; MØRUP, S.; LINDEROTH, S. Surface effects in metallic iron nanoparticles. **Physical Review Letters**, v. 72, n. 2, p. 282, 1994.
- 181 PISANE, K.; SINGH, S.; SEEHRA, M. Unusual enhancement of effective magnetic anisotropy with decreasing particle size in maghemite nanoparticles. **Applied Physics Letters**, v. 110, n. 22, p. 222409, 2017.
- 182 CHIBA, K.; CHIKAZUMI, S. Magnetocrystalline anisotropy of magnetite. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 31, p. 813-814, 1983.
- 183 MYDOSH, J. Disordered magnetism and spin glasses. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 157, p. 606-610, 1996.
- 184 DORMANN, J.; FIORANI, D.; TRONC, E. Advances in chemical physics. **Vol. XCVII, Eds. I. Prigogine y Stuart A. Rice, John Wiley and Sons**, v. 283, 1997.
- 185 KHURSHID, H.; LAMPEN-KELLEY, P.; IGLESIAS, Ò.; ALONSO, J.; PHAN, M.-H.; SUN, C.-J.; SABOUNGI, M.-L.; SRIKANTH, H. Spin-glass-like freezing of inner and outer surface layers in hollow γ -Fe₂O₃ nanoparticles. **Scientific reports**, v. 5, p. 15054, 2015.
- 186 SHARMA, S.; KUMAR, R.; KUMAR, S.; KUMAR, V. S.; KNOBEL, M.; REDDY, V.; BANERJEE, A.; SINGH, M. Magnetic study of Mg_{0.95}Mn_{0.05}Fe₂O₄ ferrite nanoparticles. **solid state communications**, v. 141, n. 4, p. 203-208, 2007.

- 187 HOHENBERG, P. C.; HALPERIN, B. I. Theory of dynamic critical phenomena. **Reviews of Modern Physics**, v. 49, n. 3, p. 435, 1977.
- 188 GUNNARSSON, K.; SVEDLINDH, P.; NORDBLAD, P.; LUNDGREN, L.; ARUGA, H.; ITO, A. Dynamics of an Ising spin-glass in the vicinity of the spin-glass temperature. **Physical review letters**, v. 61, n. 6, p. 754, 1988.
- 189 ZHOU, Y.; RIGAUX, C.; MYCIELSKI, A.; MENANT, M.; BONTEMPS, N. Dynamics of the spin-glass freezing in semimagnetic semiconductors. **Physical Review B**, v. 40, n. 11, p. 8111, 1989.
- 190 STEVENS, J. G.; KHASANOV, A. M.; MILLER, J.; POLLAK, H.; LI, Z. **Mossbauer mineral handbook**. Mossbauer Effect Data Center North Carolina, 1998.
- 191 XIAO, K.; LI, Y.; LUO, J.; LEE, J. S.; XIAO, W.; GONIK, A. M.; AGARWAL, R. G.; LAM, K. S. The effect of surface charge on in vivo biodistribution of PEG-oligocholic acid based micellar nanoparticles. **Biomaterials**, v. 32, n. 13, p. 3435-3446, 2011.
- 192 JIANG, J.; CHEN, Y.; ZHU, Y.; YAO, X.; QI, J. Efficient in vitro labeling of human prostate cancer cells with superparamagnetic iron oxide nanoparticles. **Cancer biotherapy & radiopharmaceuticals**, v. 26, n. 4, p. 461-467, 2011.
- 193 BISHT, G.; RAYAMAJHI, S.; BIPLAB, K.; PAUDEL, S. N.; KARNA, D.; SHRESTHA, B. G. Synthesis, Characterization, and Study of In Vitro Cytotoxicity of ZnO-Fe₃O₄ Magnetic Composite Nanoparticles in Human Breast Cancer Cell Line (MDA-MB-231) and Mouse Fibroblast (NIH 3T3). **Nanoscale research letters**, v. 11, n. 1, p. 537, 2016.
- 194 PERIYATHAMBI, P.; VEDAKUMARI, W. S.; BOJJA, S.; KUMAR, S. B.; SASTRY, T. P. Green biosynthesis and characterization of fibrin functionalized iron oxide nanoparticles with MRI sensitivity and increased cellular internalization. **Materials Chemistry and Physics**, v. 148, n. 3, p. 1212-1220, 2014.
- 195 YOUNG, A. L. XRD-Powder X-ray Diffraction and its Application to Biotherapeutic Formulation Development. **American Pharmaceutical Review**, v. 15, n. 1, p. 74, 2012.
- 196 ZABASHTA, Y.; KASPROVA, A.; SENCHUROV, S.; GRABOVSKII, Y. The location of the thioglycolic acid molecules in intrafibrillar unordered areas of the human hair keratin structure. **International journal of cosmetic science**, v. 34, n. 3, p. 223-225, 2012.
- 197 RIETVELD, H. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. **Journal of applied Crystallography**, v. 2, n. 2, p. 65-71, 1969.
- 198 YOUNG, R. A. **The rietveld method**. International union of crystallography, 1993.

- 199 MICROSCOPY, P. S. E. **Jl Goldstein and H. Yakowitz**: Plenum, New York 1975.
- 200 NAKAMOTO, K.; NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. Wiley, 1977.
- 201 BROWN, M. E. **Introduction to thermal analysis: techniques and applications**. Springer Science & Business Media, 2001.
- 202 MALVERN, Z. N. S. U. M. Malvern Instruments Ltd. **Worcestershire, UK**, 2007.
- 203 PUSEY, P.; TOUGH, R.; PECORA, R. **Dynamic Light Scattering with Applications to Chemistry e Biology**: Plenum Press, New York 1985.
- 204 FONER, S. Versatile and sensitive vibrating-sample magnetometer. **Review of Scientific Instruments**, v. 30, n. 7, p. 548-557, 1959.
- 205 LONG, G. J.; GRANDJEAN, F. **Mössbauer spectroscopy applied to inorganic chemistry**. Springer Science & Business Media, 2013.

Anexos (Técnicas de caracterização)

Nessa seção serão descritos em forma sucinta os princípios fundamentais das diferentes técnicas de caracterização usadas neste trabalho.

1- Difração de raios-X (DRX) e método de Rietveld

Os raios são ondas eletromagnéticas de elevada energia, com comprimento de onda entre 10 e 0,01 nm, encontrando-se no espectro eletromagnético entre os raios gama e ultravioleta. A Difração de raios-X é um fenômeno físico que ocorre quando um feixe de elétrons com um determinado comprimento de onda semelhante à distância interplanar dos átomos, interage com uma substância cristalina. A Difração de raios-X é baseada na dispersão coerente do feixe pela matéria e pela interferência construtiva de ondas que estão em fase que estão dispersas em determinadas direções do espaço¹⁴³.

Os raios-X podem ser produzidos por diferentes processos que permitem a obtenção de raios-X monocromáticos; aqui, os elétrons desacelera após colisão com um metal de referência, geralmente cobre (Cu). Se um elétron que gera os raios-X contém energia suficiente, é capaz de separar um elétron da camada mais interna do material cristalino; como consequência, os elétrons de níveis de energia mais altos enchem a vaga, emitindo raios-X ao se nivelarem. A difração ocorre apenas em certos ângulos de acordo com a lei de Bragg:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin\theta \quad (30)$$

Onde λ é o comprimento de onda da fonte de raios-X, θ é o ângulo formado pelo feixe incidente e os planos cristalinos, n é um número inteiro e d_{hkl} é a distância entre planos cristalinos (Figura 46). O padrão de difração depende da estrutura cristalina da amostra e dos átomos que a formam.

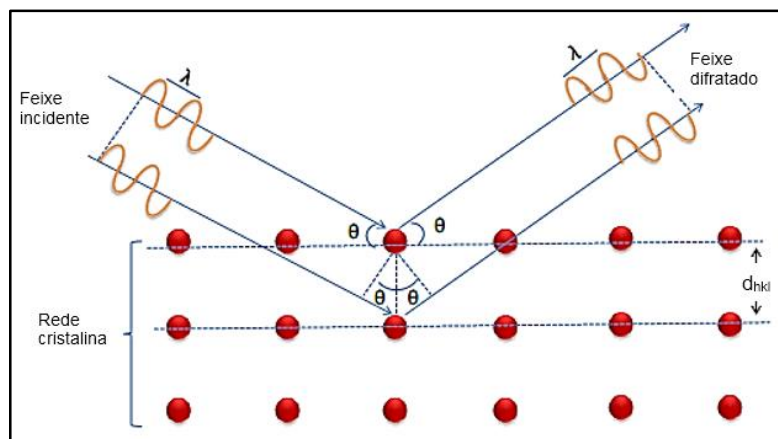


Figura 46. Esquema da Difração de raios-X pelos planos cristalinos dos átomos, adaptado.¹⁹⁵

Um difractômetro de raios-X é composto por uma fonte de energia que geralmente é um ânodo rotativo que produz um feixe de raios-X de um certo comprimento de onda, um monocromador que isola o feixe de raios-X produzido, um colimador que alinha o feixe de raios-X, um goniômetro rotativo onde a amostra cristalina é colocada e que permite posicionar-se em ângulos diferentes em relação ao feixe e um detector que é responsável por registrar ou coletar o padrão de difração. A Figura 47 mostra um diagrama esquemático do difractômetro de raios X operado no modo de reflexão:

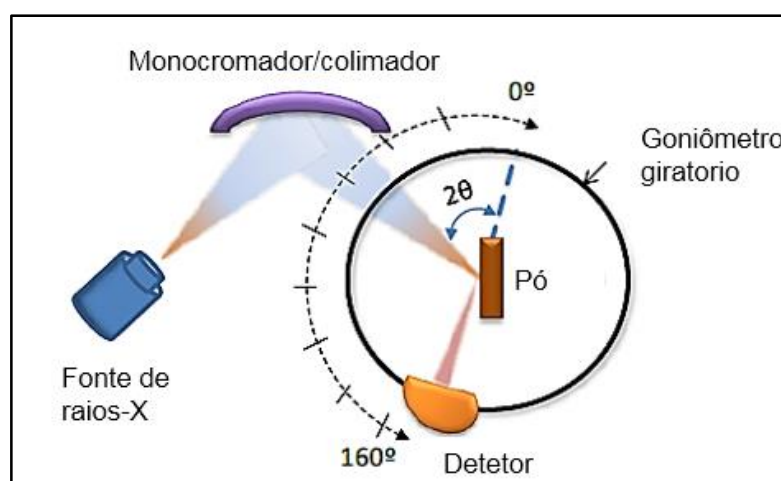


Figura 47. Diagrama representativo de um difratômetro de raios-X, adaptado.¹⁹⁶

Além disso, através desta técnica, o parâmetro da célula unitária pode ser calculado utilizando-se a seguinte equação para cristais cúbicos:

$$d_{hkl} = \frac{a}{\sqrt{(h^2 + k^2 + l^2)}} \quad (31)$$

Onde d é a distância interplanar e pode ser obtido a partir da lei de Bragg, hkl são os índices de Miller dos planos cristalográficos e a é o parâmetro da célula unitária.

1.1 Método de Rietveld

O método de Rietveld é utilizado para o refinamento de estruturas cristalinas, que pode ser utilizado no tratamento dos dados obtidos a partir da DRX. O refinamento consiste em ajustar uma curva teórica aos picos da curva obtida experimentalmente, minimizando a diferença entre as curvas teórica e a experimental utilizando-se método de mínimos quadrados^{197, 198}, onde a função de minimização F_m é dado por:

$$F_m = \sum w(I_0 - I_c)^2 \quad (32)$$

Onde I_0 é a intensidade medida no iésimo passo, I_c representa a intensidade calculada para o mesmo dado, multiplicada por um fator de ponderação $w = 1/I_0$. Para um refinamento seja efetuado com sucesso, os dados experimentais devem ser de boa qualidade, o incremento do ângulo 2θ , e devem ser fornecidos parâmetros que sejam similares com a estrutura ideal (posições atômicas, número de ocupação, parâmetros de rede e grupo espacial), pois a partir desses dados será realizado o ajuste.

1.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) é uma técnica importante para a caracterização morfológica das amostras. Na Figura 48 é mostrado um diagrama esquemático dos principais componentes do modo de funcionamento de MET. A fonte de emissão é um feixe de elétrons, onde geralmente é utilizado um filamento de tungstênio para gerar os elétrons utilizando emissão termo-iônica. A temperaturas acima de 2700 K, o filamento de tungstênio emite uma grande quantidade de elétrons, onde são acelerados através de uma elevada diferença de potencial. O feixe de elétrons produzidos são magnificação por lentes condensadores e tendem a acelerar para formar um feixe paralelo.

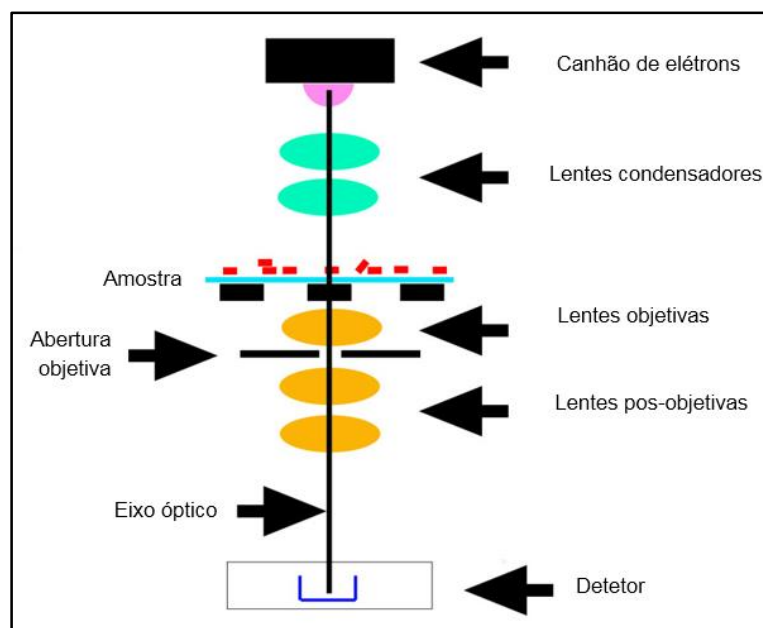


Figura 48. Representação das partes de um microscópio eletrônico de transmissão.

As diferentes técnicas de microscopia eletrônica são baseadas na análise dos efeitos que os elétrons produzem em uma substância quando eles interagem sobre ela. Um resumo desses efeitos é mostrado na Figura 49. Sistemas de detecção adequados para cada um dos processos permitem obter informações sobre a amostra irradiada¹⁹⁹.

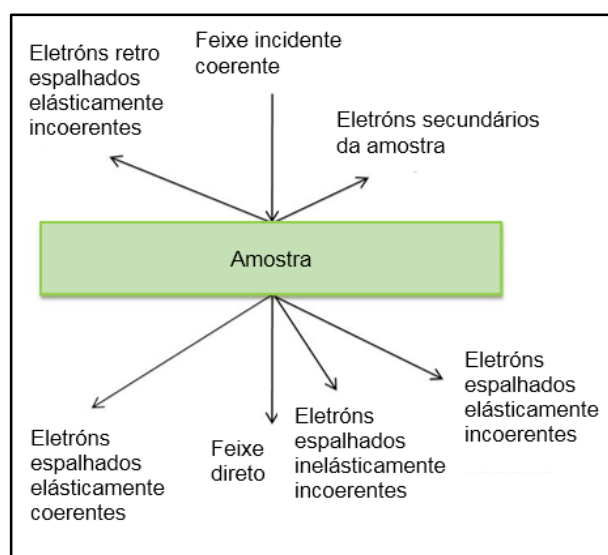


Figura 49. Efeitos produzidos sobre uma amostra quando é atingida por um feixe de elétrons.

2. Espectroscopia infravermelho (FTIR)

A técnica da espectroscopia infravermelha (IR) tem por objetivo a identificação de diversos tipos de enlace, assim como a presença de grupos funcionais específicos que formam parte do composto estudado, a partir da designação de frequências na região de infravermelho que produz a vibração de tensão ou a deformação dos enlaces implicados. Essa técnica baseia-se na interação da radiação infravermelha com as vibrações e rotações das moléculas. Um espectro de absorção é obtido quando a radiação Através sa a amostra e pode ser determinada a radiação incidente que é absorvida por uma energia particular. Cada grupo ou molécula atômica tem um espectro de absorção característico e é composto por diferentes bandas de absorção, cada uma delas relacionada a um tipo específico de ligação (caracterizada pela força de ligação e pelos átomos que a formam) e sua maneira de vibrar²⁰⁰.

Outra condição que deve ser cumprida para que uma transição vibracional seja efetiva no espectro infravermelho é que deve haver uma mudança neta no momento dipolar da molécula ou grupo atômico, isto é, no espectro infravermelho não é possível registrar os modos de vibração de moléculas diatômicas formadas pelo mesmo átomo, como por exemplo H₂ e N₂. (Figura 50).

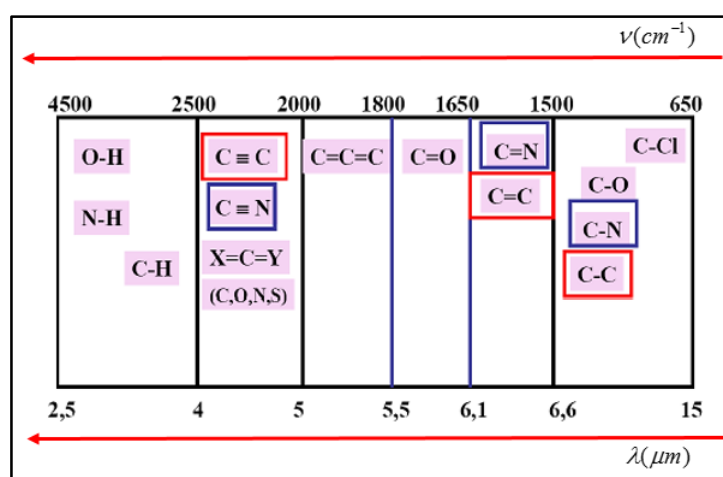


Figura 50. Resumo das absorções de enlaces em moléculas orgânicas.

3. Análises térmica (TGA)

A análise TGA fornece uma medida quantitativa de qualquer tipo de peso associado às transições induzidas termicamente. Pode registrar diretamente a variação de massa em função de temperatura ou tempo para transições que envolvem desidratação ou decomposição. A variação de massa pode ser uma perda de massa ou um ganho de massa²⁰¹. Algumas das vantagens que fornece essa técnica são:

- A amostra pode ser estudada em uma ampla gama de temperaturas que fazem uso de vários programas de aquecimento.
- Admite que a amostra está em estados de agregação suficientes variados (fluidos, géis, sólidos, entre outros.).
- É necessária uma quantidade relativamente pequena de amostra.
- Permite o controle da atmosfera utilizada durante os experimentos

É importante mencionar alguns vários fatores que influenciam durante as medidas de termogravimetria, entre os mais importantes estão:

- Fatores instrumentais: velocidade de aquecimento do forno, atmosfera, geometria do cadinho e forno, composição do cadinho, velocidade de aquisição de dados e sensibilidade do mecanismo aquisição.
- Fatores específicos da amostra: quantidade de amostra, solubilidade da mostra nos gases separados, tamanho de partícula, calor de reação, grau de embalagem, natureza da amostra e condutividade térmica.
- Fontes de erro específicas da técnica: efeito de flutuação, efeito do forno (convecção, turbulência) e erros na medição da temperatura.

4. Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

A técnica de Espalhamento de Luz Dinâmico (*Dynamic Light Scattering* – DLS) é utilizada para obter informação diâmetro hidrodinâmico (Dh) das partículas. O DLS mede movimentos brownianos e os relaciona ao tamanho das partículas. Partículas maiores irão se movimentar mais lentamente que partículas menores, se a

temperatura for a mesma. Considerando que o movimento aleatório das pequenas partículas em um fluido é consequência dos choques das moléculas do fluido nas partículas, definido como “Movimento Browniano” e que modula o sinal de luz espalhada ²⁰². A técnica DLS utiliza um laser monocromático coerente com um comprimento de onda de 660 nm como fonte de luz, o qual converge na amostra por uso de uma lente de focalização. Posteriormente, a luz é espalhada pelas partículas em todos os ângulos, as flutuações de intensidade da luz espalhada são convertidas em pulsos elétricos, os quais são alimentados a um correlacionador digital que gera uma função de auto correlação, a qual se relaciona com o coeficiente de difusão das partículas, e este, com o tamanho das partículas. A relação entre o tamanho da partícula e sua velocidade devido ao movimento Browniano é definida pela equação de Stokes-Einstein:

$$D_h = \frac{kT}{6\pi\eta D} \quad (33)$$

Onde D_h representa o diâmetro hidrodinâmico, k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta e D o coeficiente de difusão translacional (velocidade do movimento Browniano medida). Este coeficiente de difusão pode ser convertido para diâmetro hidrodinâmico (D_h) utilizando-se a equação de Stokes-Einstein ²⁰³. Dessa forma os resultados de uma análises utilizando-se DLS são apresentados como uma distribuição de intensidade de espalhamento, do número de partículas ou do volume das partículas em função do diâmetro (ou raio) das partículas. Dessa forma se as partículas que estão sendo medidas têm um tamanho pequeno, a função de correlação cai rapidamente (evidência do movimento rápido das partículas). Por outro lado, se as partículas são grandes, a função de correlação decai lentamente.

5. Magnetometria AC e DC

As medidas magnéticas de susceptibilidade podem ser realizadas em AC e DC utilizando-se um Dispositivo supercondutor de interferência quântica (SQUID). Os magnetômetros tipo SQUID são muito sensíveis e permitem a detecção de campos magnéticos ($2,067 \times 10^{-15}$ Wb) de fluxo magnético. Esses magnetômetros são constituídos por um sensor para a medição de momentos magnéticos sob diferentes condições experimentais (temperatura, frequência, entre outros.) e com base no qual tanto a magnetização M como a susceptibilidade χ são obtidas. Basicamente, esse

dispositivo consiste em dois módulos principais: O "dewar" juntamente com a sonda criogênica e o console de controle associado. O "dewar" consiste, de fora para dentro de uma tela de vácuo, um recipiente com hélio líquido com sua respectiva sonda criogênica; que é integrado por um íman supercondutor com um sistema de detecção e um sistema de controle de temperatura de alto desempenho para proporcionar uma precisão rápida onde podem ser realizadas medidas numa faixa de temperatura entre 1,7 e 400 K (Figura 51).

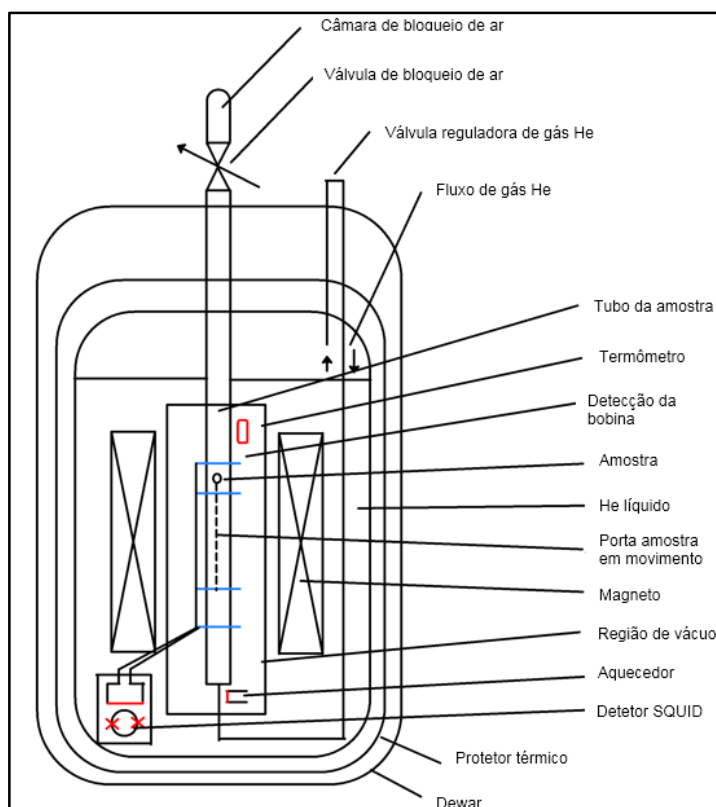


Figura 51. Esquema do magnetômetro tipo SQUID.

Para obter a medida do momento magnético da amostra, este é colocado entre as bobinas de detecção, vibrando a uma frequência e amplitude característica. Aplicar um campo magnético perpendicular (no caso do eletroímã) ou paralelo (para bobina) ao movimento da amostra gera uma mudança de fluxo magnético de acordo com a lei de Faraday:

$$V_i = N \frac{d\phi}{dt} \quad (34)$$

Onde V_i é o voltagem induzido, N representa o número de voltas da bobina e $\frac{d\phi}{dt}$ é a mudança de fluxo, sendo esse último quem gera uma força eletromotriz nas bobinas

de detecção que é proporcional ao momento magnético da amostra ²⁰⁴. Dessa forma é possível obter informação da resposta magnética (m), magnetização de saturação (m_s), o valor de seu campo coercivo (H_c), a susceptibilidade (χ), magnetização remanente (M_R) e temperatura de bloqueio (T_B) ao aplicar um campo magnético (H) da amostra analisada.

6. Espectroscopia Mössbauer (EM)

A técnica de espectroscopia Mössbauer está baseada na emissão e absorção ressonante de raios gamma, ela é uma técnica muito sensível devido à elevada energia e as extremadamente estreitas larguras de linha dos raios gamma. A radiação gamma é gerada a partir de uma fonte de ⁵⁷Co metaestável que por decaimento nuclear passa ao estado metaestável ⁵⁷Fe (Figura 52).

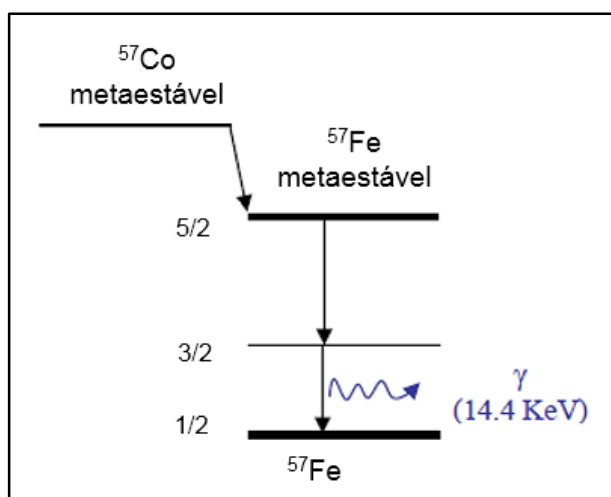


Figura 52. Radiação gama obtida de uma fonte de ⁵⁷Co metaestável.

Para que o efeito de Mössbauer aconteça deve existir absorção ressonante da radiação gamma, por isso é imprescindível que não exista recuo por parte do átomo emissor da radiação ou absorvente que possa levar a uma perda da energia da radiação²⁰⁵. Essa energia de recuo é inversamente proporcional à massa do corpo absorvente (ou emissor) como é expressada na seguinte equação:

$$E_R = \frac{E\gamma^2}{2Mc^2} \quad (35)$$

Onde E_γ é a energia da radiação γ , M é a massa do corpo que absorve ou emite radiação e c é a velocidade da luz. A absorção ressonante nuclear pode-se quebrar pela interação do átomo com seu entorno (chamadas interações hiperfinas), porém pode-se restabelecer modulando a energia dos fótons gamma pelo efeito Doppler, em outras palavras, movimentando a fonte a uma determinada velocidade ($1 \text{ mm/s} = 4,8 \times 10^{-8} \text{ eV}$).

As interações hiperfinas são três: O deslocamento isomérico (δ), a interação elétrica quadrupolar (ΔE_Q) e a interação dipolar magnética.

- Deslocamento isomérico (δ): É a interação eletrostática entre a distribuição da carga nuclear e àqueles elétrons que possuem certa probabilidade de penetrar no núcleo. Dessa forma, sua magnitude dependerá do tamanho do núcleo (diferente no estado fundamental e excitado) e da densidade eletrônica. Apenas para os elétrons S a densidade de probabilidade de estar no núcleo é apreciável. Com consequência dessa interação é produzido um certo deslocamento relativo dos níveis nucleares. O deslocamento isomérico está relacionado com as densidades eletrônicas no núcleo. A magnitude do deslocamento isomérico fornece informação sobre: o estado da carga do átomo considerado, seu entorno cristalográfico, covalência, estado do spin, entre outros.
- Interação quadrupolar elétrica (ΔE_Q): Ela está presente quando a distribuição de carga ao redor do núcleo não possui simétrica esférica e dito núcleo está num estado de spin ($I \geq 1$), existe uma interação eletrostática entre o momento quadrupolar (Q) do núcleo e o gradiente de campo elétrico (GCE) criado pela distribuição de cargas em seu entorno. Em consequência, os níveis nucleares sofrem um deslocamento energético e uma quebra parcial de sua degeneração. A GCE contém informação da configuração eletrônica do átomo, assim como da distribuição de cargas (íons) em seu entorno químico/cristalográfico.
- Interação dipolar magnética: Um átomo com uma camada eletrônica incompleta possui um certo momento paramagnético e gera um campo magnético B_{hf} no núcleo que interaciona com o momento dipolar magnético nuclear. Como consequência dessa interação se produz o efeito Zeeman

nuclear e são desdobrados os níveis I nucleares segundo o valor de m_I das componentes de I ao longo da direção de B_{hf} . A aplicação das regras de seleção apropriadas conduz à existência de seis possíveis transições entre o estado fundamental ($I=1/2$) e o excitado ($I=3/2$). Dessa forma outorgando velocidades adequadas à fonte pode-se observar as seis transições e deduzir o valor do campo magnético B_{hf} . Num material paramagnético por exemplo, acima da temperatura de ordem, o vetor B_{hf} adopta distintas orientações no espaço e sua média é nula, em consequência as seis linhas do espectro magnético hiperfino colapsam numa única linha.

APÊNDICE A – Artigos publicados e submetidos

Materials Chemistry and Physics 207 (2018) 243–252



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Materials Chemistry and Physics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/matchemphys



Magnetite-based nanobioplatfrom for site delivering *Croton cajucara Benth* essential oil

J.J. Atoche-Medrano ^a, L. León-Felix ^a, F.S.E.D.V. Faria ^b, A.F.R. Rodríguez ^b, R.M. Cunha ^b, F.H. Aragón ^a, M.H. Sousa ^c, J.A.H. Coaquira ^{a,*}, R.B. Azevedo ^d, P.C. Morais ^{a,e}

^a Institute of Physics, University of Brasília, Brasília DF 70910-990, Brazil
^b Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, Rio Branco 69915-900, Brazil
^c Faculty of Ceilândia, University of Brasília, Ceilândia DF 72220-900, Brazil
^d Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Genética e Morfologia, University of Brasília, Brasília DF 70910-900, Brazil
^e Anhui University, School of Chemistry and Chemical Engineering, Hefei 230601, China



Artigo submetido no *Journal of magnetism and magnetic materials JMMM* (sob revisão)

Evidence of particle-particle interaction quenching in oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles after over-coating with essential oil extracted from *Croton cajucara Benth*

Jason J. A. Medrano¹, Fermín F. H. Aragón², Lizbet Leon-Felix², José A. H. Coaquira², Anselmo F. R. Rodríguez³, Fernando S. E. D. V. Faria³, Marcelo H. Sousa⁴, John Mantilla⁵ and Paulo. C. Morais^{2,6}

¹Instituto de Ciências Biológicas, Pós-graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia, Universidade de Brasília, Brasília DF 70919-970, Brazil
²Núcleo de Física Aplicada, Instituto de Física, Universidade de Brasília, Brasília DF 70910900, Brazil.
³Biodiversity and Biotechnology Network of Legal Amazon, Federal University of Acre, Rio Branco AC 69915-900, Brazil
⁴ Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília, Ceilândia DF 72220-900, Brazil
⁵ Dfte UFRN, departamento de Física teórica e experimental da Universidade Federal de Rio grande do Norte, RN 59078-970, Brazil
⁶ Anhui University, School of Chemistry and Chemical Engineering, Hefei 230601, China

APÊNDICE B - Participação de eventos

- Espectroscopia FT-IR para caracterización de tensoativos orgánicos. 2014 Coloquio Regional de Física Universidad Nacional del Callao (UNAC). Lima-Perú.
- Comparación de la estructura interna de materiales nanoestructurados utilizando-se diferentes síntesis acuosas. 2015. Encuentro Científico Internacional Universidad Nacional de Ingeniería (UNI). Lima-Perú.
- Nanociencia y Biotecnología. 2015. Universidad Nacional del Centro del Perú (UNCP). Huancayo-Perú.
- Synthesis and characterization of monodisperse magnetite nanoparticles functionalized with organic ligands. 2015. 3rd International Conference on Nanoscience, Nanotechnology and Nanobiotechnology. University of Brasilia. UnB.
- Caracterización magnética, espectroscópica y termogravimetría de nanopartículas Fe_3O_4 con doble recubrimiento. 2016. Encuentro Científico Internacional Universidad Nacional de Ingeniería. (UNI) Lima-Perú.
- Tópicos de Nanociência e Nanobiotecnologia. 2017. Universidade Federal do Acre. UFAC.
- Caracterização de nanopartículas Fe_3O_4 funcionalizadas com óleo essencial de *Croton cajucara* Benth como plataforma para aplicações em biomedicina. 2017. Semana da Física. Universidade de Brasília. UnB




I SIMPÓSIO NACIONAL DE NANOBIOTECNOLOGIA
II WORKSHOP DE NANOBIOTECNOLOGIA DA UFMG
AVANÇOS E APLICAÇÕES

Certificado

Certificamos que Jason Jerry A. Medrano participou do “I SIMPÓSIO NACIONAL DE NANOBIOTECNOLOGIA, II Workshop de Nanobiotecnologia da UFMG – Avanços e Aplicações”, promovido pelo Grupo de Pesquisa em Nanobiomedicina e pelo Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal de Minas Gerais, no dias 01 e 02 de dezembro de 2016; e teve o seu trabalho Sínteses, Funcionalização e Caracterização de Nanopartículas de Magnetita com Potenciais Usos como Carreadores destacado com **MENÇÃO HONROSA** na área da Nanomateriais.





Prof. Dr. Luiz Orlando Ladeira
Coordenador do evento



Prof. Dr. Paulo Sérgio Soares Guimarães
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Física

Belo Horizonte, 02 de dezembro de 2016.