

Universidade de Brasília

Instituto de Física

**Investigação de propriedades magnéticas e ópticas de
fluidos magnéticos biocompatíveis**

Fernando Mendes Lucas de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Paulo César de Moraes

Co-orientadores: Prof. Dr. Kalil Skeff Neto

Prof. Dr. Aderbal Carlos de Oliveira

Dissertação apresentada ao
programa de Pós-Graduação em
física como parte dos requisitos à
obtenção do título de Mestre em
Física.

Brasília – DF

Fevereiro, 2009

“Se foi fácil e rápido, pode ter a certeza: ainda não terminou...”

(desconhecido)

Dedico este trabalho aos meus pais Waldir e Maria, exemplos de vida, garra e determinação. Exemplos que miro minha vida e, quem sabe um dia, desejo me tornar, ao menos, parecido.

Agradecimentos

Este estudo é fruto de um longo caminho traçado com o apoio de várias pessoas. É humildemente que presto minha gratidão a estas pessoas que permitiram que esse percurso fosse no mínimo o mais bem acompanhado possível. Agradeço:

A Deus por tudo que tenho e pela fé que me mantém de pé.

Aos meus amados pais por serem à base da minha sustentação, exemplo de vida, detentores da minha mais profunda gratidão e admiração. Pessoas a quem devo tudo que sou e donos de um profundo poço de compreensão e paciência.

A minha querida irmã pela amizade, pelos conselhos e companhia.

A minha família como um todo: avós, tios e primos.

Aos meus amigos/colegas de trabalho: Samuel, Elói, Patrícia, Ana Paula, e Leandro pela ajuda, companheirismo e paciência devotados durante as muitas horas de laboratório.

Aos meus amigos/colegas do grupo de pesquisa: Fábio (Japonês) e Belo (Gustavo) pela amizade e pelas horas, por eles devotadas, na fase de conclusão deste trabalho.

Ao meu orientador prof. Paulo César pelo apoio e confiança depositada. Além dos incentivos, oportunidades e experiências oferecidas.

Aos meus co-orientadores: prof. Aderbal e prof. Kalil, em especial, pelos ensinamentos, discussões e experiências propiciadas, tanto na carreira acadêmica quanto na vida como um todo.

Aos Meus amigos da longa jornada e dos momentos de felicidade e tristeza: Márcio, Gabi, Dinei, Leandro Belo, Paula, Juan (João Henrique), Pedro, Vivi, Ednardo, Venturin, Felix, Luis, Carlão, Prudêncio, Jonatas, Baiano, Camila, Deise, Mirian, Juliano, José Antônio, Eliana, Anailde, Priscila, Dieme e, por último, o Careca.

Ao suporte fornecido Pelo Laboratório de Manipulação de Amostra, na pessoa do amigo Marcelo Parise.

A professora Emília Lima do Instituto de Química da UFG pelas as amostras fornecidas para este estudo.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica de Transmissão por proporcionar as micrografias utilizadas nesse trabalho.

E ao CNPq pela bolsa de mestrado.

Resumo

Neste estudo foram utilizadas as técnicas de birrefringência magnética estática, espectroscopia fotoacústica e microscopia eletrônica de transmissão para investigar o efeito da diluição de amostras de fluido magnético biocompatível à base de maghemita recoberta com ácido dimercaptosuccinico. As amostras investigadas apresentam características semelhantes, porém com diferentes graus de cobertura molecular. Os dados obtidos foram analisados comparando, entre si, as diferentes amostras usadas e analisando as características de cada uma em função do tempo. Parâmetros importantes como os estáticos: diâmetro modal e sua dispersão e os dinâmicos: valores médios do grau de aglomeração ($\langle Q_M \rangle$) e da população relativa das espécies moleculares adsorvidas (N_L/N_S), foram quantificados e discutidos.

Abstract

In this study static magnetic birefringence, photoacoustic spectroscopy and transmission electronic microscopy were used to investigate the dilution effect of dimercaptosuccinic acid-coated maghemite nanoparticles suspended as biocompatible magnetic fluids. The samples investigated have similar characteristics though presenting different surface grafting coefficient. The data were analyzed comparing different diluted samples and the time evolution of their properties. Important parameters were determined and discussed, among them static: modal diameter and diameter dispersion, and dynamic ones: average Q-cluster size value ($\langle Q_M \rangle$) and relative populations of adsorbed molecular species (N_L/N_S).

Índice

RESUMO	V
ABSTRACT	VI
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELAS	XI
CAPÍTULO 1	1
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2	3
FLUIDOS MAGNÉTICOS	3
2.1 HISTÓRICO.	3
2.2 TIPOS DE FLUIDOS MAGNÉTICOS.	4
2.2.1 <i>Fluidos magnéticos iônicos</i>	4
2.2.2 <i>Fluidos magnéticos surfactados</i>	5
2.2.3 <i>Fluidos magnéticos híbridos ou iônico-surfactado</i>	6
2.3 SÍNTESE DOS FLUIDOS MAGNÉTICOS.....	7
2.3.1 <i>Redução do tamanho</i>	7
2.3.2 <i>Coprecipitação</i>	8
2.4 ESTABILIDADE COLOIDAL	9
2.4.1 <i>Força gravitacional e movimento browniano</i>	9
2.4.2 <i>Interação magnética</i>	10
2.4.3 <i>Interação estérica</i>	10
2.4.4 <i>Interação de dipolos oscilantes (van der Waals)</i>	11
2.5 PROPRIEDADES MAGNÉTICAS	11
2.5.1 <i>Monodomínio magnético</i>	11
2.5.2 <i>Tipos de ordenamento magnético</i>	12
2.6 APLICAÇÕES DOS FMB	14
2.6.1 <i>Carreador de fármacos e radionuclídeos</i>	14
2.6.2 <i>Hipertermia</i>	15
2.6.3 <i>Agente de contraste em RMN</i>	15
CAPÍTULO 3	16
MÉTODOS E TÉCNICAS	16
3.1 BIRREFRINGÊNCIA MAGNÉTICA ESTÁTICA (BME).....	16

3.1.1	<i>Birrefringência óptica</i>	16
3.1.2	<i>Origem e modelos de BME</i>	18
3.1.3	<i>Obtenção dos dados de BME</i>	23
3.2	ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA.....	25
3.2.1	<i>Origem histórica</i>	25
3.2.2	<i>Espectroscopia fotoacústica e geração do sinal fotoacústico</i>	26
3.2.3	<i>Obtenção de dados</i>	29
3.2.4	<i>Fotoacústica nos fluidos biocompatíveis</i>	30
3.3	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO	32
3.3.1	<i>Origem da MET</i>	32
3.3.2	<i>Princípios básicos do microscópio e da formação da imagem</i>	33
3.3.3	<i>Distribuição dos diâmetros</i>	35
	CAPÍTULO 4	36
	AMOSTRAS E PROCEDIMENTOS PRELIMINARES	36
4.1	AMOSTRAS	36
4.1.1	<i>Diâmetros e dispersões</i>	37
4.2	DILUIÇÕES.....	39
	CAPÍTULO 5	41
	RESULTADOS E DISCUSSÕES	41
5.1	ANÁLISE DOS RESULTADOS DE BIRREFRINGÊNCIA	41
5.1.1	<i>Análise via concentrações</i>	41
5.1.2	<i>Análise temporal</i>	43
5.2	ANÁLISE DOS RESULTADOS DE FOTOACÚSTICA.....	47
	CAPÍTULO 6	52
	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	52
	REFERÊNCIAS	54
	ANEXO	57
	TRABALHOS PUBLICADOS E SUBMETIDOS	57

Lista de Figuras

FIGURA 2.1: DIAGRAMA DE FLUIDO IÔNICO, ONDE AS SETAS INDICAM O VETOR MOMENTO MAGNÉTICO DAS PARTÍCULAS E OS SINAIS, A DENSIDADE DE CARGA.	4
FIGURA 2.2: DIAGRAMA DE FLUIDO SURFACTADO, ONDE AS SETAS INDICAM O VETOR MOMENTO MAGNÉTICO DAS PARTÍCULAS E É ADSORVIDA UMA CAMADA MOLECULAR A SUA SUPERFÍCIE PARA ATINGIR A ESTABILIDADE.	5
FIGURA 2.3: DIAGRAMA DE FLUIDO HÍBRIDO, DIAGRAMA DE FLUIDO SURFACTADO, ONDE AS SETAS INDICAM O VETOR MOMENTO MAGNÉTICO DAS PARTÍCULAS E É ADSORVIDA UMA BICAMADA MOLECULAR A SUA SUPERFÍCIE PARA ATINGIR A ESTABILIDADE, QUE É CONSEGUIDA VIA REPULSÃO ESTÉRICA E ELETROSTÁTICA.	6
FIGURA 2.4: FÓRMULA ESTRUTURAL DO DMSA	7
FIGURA 2.5: SÍNTESE POR REDUÇÃO DE TAMANHO.	7
FIGURA 2.6: SÍNTESE POR COPRECIPITAÇÃO.	8
FIGURA 2.7: INTERAÇÃO ENTRE DIPOLOS SEPARADOS A UMA DISTÂNCIA r	10
FIGURA 3.1: NA FIGURA (B) OBSERVA-SE A IMAGEM DUPLA ENQUANTO NA (A) E (C) E POSSÍVEL OBSERVAR, COM A AJUDA DE UM POLARIZADOR, O FEIXE ORDINÁRIO E O EXTRAORDINÁRIO, RESPECTIVAMENTE (OLYMPUS®).	17
FIGURA 3.2: CRIO-MICROSCOPIA DE TRANSMISSÃO. NA FIGURA A) MICROGRAFIA É A CAMPO NULO, ENQUANTO B) NO CAMPO DE SATURAÇÃO (BUTTER K ET AL., 2003).....	18
FIGURA 3.3: SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA NORMALIZADO PARA DUAS AMOSTRAS DE NiFe_2O_4 COM CONCENTRAÇÕES DIFERENTES (2.54×10^{16} e 7.63×10^{16} part/cm ⁻³). O GRÁFICO INSERIDO REPRESENTA O SINAL DE BME EM FUNÇÃO DE H^2 A BAIXOS CAMPOS (SKEFF NETO K. ET AL., 2001).....	21
FIGURA 3.4: SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA NORMALIZADO DE UM FM A BASE DE MAGUEMITA RECOBERTA COM DMSA E ALGUMAS CONCENTRAÇÕES (1:1, 1:3 E 1:10). O GRÁFICO INSERIDO MOSTRA A FUNÇÃO P(Q) PARA AS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (OLIVEIRA F.M.L. ET AL., 2006).	22
FIGURA 3.5: DIAGRAMA DO APARATO UTILIZADO NA MEDIDA DE BIRREFRINGÊNCIA MAGNETO-ÓPTICA.	23
FIGURA 3.6: CÉLULA FOTOACÚSTICA.	27
FIGURA 3.7: DISTRIBUIÇÃO DA TEMPERATURA NO INTERIOR DA CÉLULA (ROSENCWAIG A. AND GERSHO A., 1976).	29
FIGURA 3.8: DIAGRAMA DA MONTAGEM EXPERIMENTAL DE PAS.	30
FIGURA 3.9: ESPECTRO FOTOACÚSTICO DE AMOSTRAS DE MAGNETITA COBERTAS COM ÁCIDO CÍTRICO COM NÚCLEOS DE TAMANHO DIFERENTE (MORAIS P.C. ET AL., 2003).	31
FIGURA 3.10: MICROGRAFIA TÍPICA DE UM FLUIDO MAGNÉTICO	34
FIGURA 4.1: (A) MICROGRAFIA DA AMOSTRA DMSA1; (B) HISTOGRAMA DA CONTAGEM DA AMOSTRA DMSA1, EM QUE A CURVA REPRESENTA AJUSTE DE ACORDO COM O MODELO.....	37
FIGURA 4.2: (A) MICROGRAFIA DA AMOSTRA DMSA2; (B) HISTOGRAMA DA CONTAGEM DA AMOSTRA DMSA2, EM QUE A CURVA REPRESENTA AJUSTE DE ACORDO COM O MODELO.....	38

FIGURA 4.3: (A) MICROGRAFIA DA AMOSTRA DMSA3; (B) HISTOGRAMA DA CONTAGEM DA AMOSTRA DMSA3, EM QUE A CURVA REPRESENTA AJUSTE DE ACORDO COM O MODELO.....	38
FIGURA 5.1: SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA NORMALIZADO PARA A AMOSTRAS DMSA1A E DMSA1C. ONDE OS SÍMBOLOS REPRESENTAM DADOS EXPERIMENTAIS E AS LINHAS O AJUSTE SEGUNDO O MODELO.....	42
FIGURA 5.2: CONTRIBUIÇÃO AO SINAL DE BME RELATIVA AOS MONÔMEROS (A) E AGLOMERADOS (B) PARA AS DILUIÇÕES DA AMOSTRA DMSA1.	42
FIGURA 5.3: (A) SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA NORMALIZADO PARA A AMOSTRA DMSA1B NOS DIA-0 E DIA-5. ONDE OS SÍMBOLOS REPRESENTAM DADOS EXPERIMENTAIS E AS LINHAS O AJUSTE SEGUNDO O MODELO. (B) CONTRIBUIÇÃO DOS AGLOMERADOS E MONÔMEROS AO SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA DA AMOSTRA DMSA1B NOS DIAS DIA-0 E DIA-5.	43
FIGURA 5.4: (A) SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA NORMALIZADO PARA A AMOSTRA DMSA2B NOS DIA-0 E DIA-5. ONDE OS SÍMBOLOS REPRESENTAM DADOS EXPERIMENTAIS E AS LINHAS O AJUSTE SEGUNDO O MODELO. (B) CONTRIBUIÇÃO DOS AGLOMERADOS E MONÔMEROS AO SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA DA AMOSTRA DMSA2B NOS DIAS DIA-0 E DIA-5.	44
FIGURA 5.5: (A) SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA NORMALIZADO PARA A AMOSTRA DMSA1B E DMSA2B NO DIA-0. ONDE OS SÍMBOLOS REPRESENTAM DADOS EXPERIMENTAIS E AS LINHAS O AJUSTE SEGUNDO O MODELO. (B) CONTRIBUIÇÃO DOS AGLOMERADOS E MONÔMEROS AO SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA DA AMOSTRA DMSA1B E DMSA2B NO DIA-0.	45
FIGURA 5.6: (A) SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA NORMALIZADO PARA A AMOSTRA DMSA1B E DMSA2B NO DIA-5. ONDE OS SÍMBOLOS REPRESENTAM DADOS EXPERIMENTAIS E AS LINHAS O AJUSTE SEGUNDO O MODELO. (B) CONTRIBUIÇÃO DOS AGLOMERADOS E MONÔMEROS AO SINAL DE BIRREFRINGÊNCIA DA AMOSTRA DMSA1B E DMSA2B NO DIA-5.	45
FIGURA 5.7: GRÁFICO DA FUNÇÃO $P(Q)$ GERADA A PARTIR DO AJUSTE DOS DADOS BIRREFRINGÊNCIA DAS AMOSTRAS.....	46
FIGURA 5.8: ESPECTROS FOTOACÚSTICOS DA AMOSTRA DMSA1B NOS VÁRIOS DIAS APÓS A DILUIÇÃO.	47
FIGURA 5.9: ESPECTROS FOTOACÚSTICOS DA AMOSTRA DMSA2B NOS VÁRIOS DIAS APÓS A DILUIÇÃO.	48
FIGURA 5.10: ESPECTROS FOTOACÚSTICOS DA AMOSTRA DMSA3B NOS VÁRIOS DIAS APÓS A DILUIÇÃO.	48
FIGURA 5.11: N_i/N_s EM FUNÇÃO DO TEMPO PARA AS DMSA1B, DMSA2B E DMSA3B. ONDE OS SÍMBOLOS REFEREM-SE ÀS RAZÕES CALCULADAS E AS CURVAS SÓLIDAS FORAM AJUSTADAS SEGUNDO O MODELO PROPOSTO.....	49
FIGURA 5.12: MODELO DE LIGAÇÃO MOLECULAR NA SUPERFÍCIE DA NANOPARTÍCULA.	51

Lista de Tabelas

TABELA 2.1: ORDENAMENTOS MAGNÉTICOS.	12
TABELA 4.1: CARACTERÍSTICAS PRELIMINARES DAS AMOSTRAS	37
TABELA 4.2: CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DAS AMOSTRAS ESTUDADAS.	39
TABELA 4.3: AMOSTRAS UTILIZADAS NAS MEDIDAS DE FOTOACÚSTICA.	39
TABELA 4.4: AMOSTRAS UTILIZADAS NAS MEDIDAS DE BIRREFRINGÊNCIA.....	39

Capítulo 1

Introdução

Os fluidos magnéticos são materiais de grande interesse devido à sua alta aplicabilidade tecnológica (Rosensweig, 1997). Dentre as possíveis aplicações as biológicas e biomédicas - como carreadores de fármacos, hipertermia e agente de contraste de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) - merecem destaque (Pankhurst, et al., 2003). Para as aplicações nessas áreas um fluido magnético necessita, além de uma boa estabilidade, salinidade e pH semelhantes ao do meio em que será utilizado. Quando atendidas essas condições e apresentando uma baixa toxicidade o fluido pode ser dito biocompatível.

Esta dissertação tem como objetivo estudar o comportamento de amostras de fluido magnético biocompatível, à base de maghemita recoberta com ácido dimercaptosucínico, quando diluídas. A partir da diluição serão observadas as mudanças ocorridas nas amostras em função da concentração e do tempo, após a diluição. Sendo, nessa observação, utilizados parâmetros relacionados: à agregação e à adsorção de espécimes moleculares a superfície da nanopartículas – que nos permitem de avaliar propriedades importantes para a estabilidade do fluido e para sua aplicabilidade.

Esse acompanhamento será feito com amostras de características semelhantes, por meio das técnicas de Birrefringência Magnética Estática e Espectroscopia Fotoacústica, tendo como suporte a Microscopia Eletrônica de Transmissão.

O presente trabalho está organizado da seguinte forma: no Capítulo 2 são descritas as principais características dos fluidos magnéticos, fatores críticos para estabilidade, métodos de produção, e como o foco deste trabalho é o estudo de fluidos magnéticos biocompatíveis um enfoque especial é dado às aplicações biológicas e biomédicas; no Capítulo 3 é feita uma breve introdução acerca das técnicas utilizadas, neste trabalho, o procedimento utilizado na obtenção dos dados e os modelos usadas para sua análise e interpretação; no Capítulo 4 são expostas as características básicas das amostras utilizadas bem como descrita a metodologia utilizada na diluição e na análise das micrografias, resultados que são pré-requisitos para uma análise acurada das demais técnicas; no Capítulo 5 são discutidos e analisados os dados de

Birrefringência Magnética Estática e também os dados obtidos por meio da Espectroscopia Fotoacústica; no Capítulo 6 são apresentadas as conclusões e perspectivas.

Como anexo, estão dispostos ao final da dissertação, os trabalhos publicados e relacionados ao assunto discutido nesta dissertação, bem como os artigos submetidos à publicação e que contêm os dados aqui analisados.

Capítulo 2

Fluidos Magnéticos

Os fluidos magnéticos, também conhecidos como ferrofluidos ou colóides magnéticos, apresentam-se como uma suspensão coloidal ultra-estável onde partículas magnéticas, da ordem de poucos nanômetros ($\sim 10\text{nm}$), estão dispersas em um líquido carreador, que pode ter natureza polar ou apolar. Tais propriedades garantem a esses colóides propriedades tais como a viscosidade e a maleabilidade dos líquidos e a resposta a campos magnéticos dos sólidos.

2.1 Histórico.

Os primeiros registros dos fluidos magnéticos (FMs) datam do início da década de 1930 quando Bitter (Bitter, 1932) produziu uma suspensão coloidal de partículas de magnetita (Fe_3O_4) com diâmetro em torno de $1\ \mu\text{m}$. No final da década de 30 Elmore (Elmore, 1938) conseguiu produzir um FM com partículas com diâmetro da ordem de $20\ \text{nm}$; contudo, ainda seria necessário diminuí-lo para conseguir um colóide ultra-estável. Somente na década de 1960 Papell (Papell, 1965) produziu o primeiro fluido ultra-estável com o objetivo de controlar o fluxo de combustíveis de foguetes espaciais na ausência de gravidade, sendo que no final da mesma década Rosensweig (Rosensweig, 1969) conseguiu produzir, através do conhecido processo de moagem de pó magnético, fluidos com carreadores químicos como querosene e ésteres. Já em 1973, Kalafalla e Reimers (Kalafalla, et al., 1973) introduziram a produção de FMs por meio de síntese química de nanopartículas magnéticas surfactadas, e em 1982 Massart (Massart, 1982) desenvolveu a coprecipitação em meios iônicos, método amplamente utilizado até hoje devido ao seu baixo custo, curto tempo de preparação e permitindo um maior controle sobre a dispersão dos diâmetros em comparação com o método de moagem amplamente utilizado até então.

2.2 Tipos de Fluidos Magnéticos.

O FM é formado por partículas magnéticas suspensas em um líquido carreador e como decorrência natural elas interagem umas com as outras. Tal interação levaria à floculação, formação de aglomerados de partículas, e a conseqüente precipitação do fluido como um todo. Contudo, num FM estável isso não ocorre devido à inserção de mecanismos de repulsão capazes de contrabalançar as forças atrativas (magnéticas e de Van der Waals). Dentre esses mecanismos de repulsão estão a adsorção de moléculas na superfície da nanopartícula, repulsão estérica, e o acúmulo de cargas na superfície da mesma, repulsão eletrostática. De acordo com o agente repulsivo os fluidos podem ser classificados em iônicos e surfactados ou ainda iônico-surfactado ou híbrido.

2.2.1 Fluidos magnéticos iônicos

Nos fluidos iônicos a estabilidade coloidal necessária é dada pela força eletrostática. O núcleo magnético é envolto por uma densidade superficial de carga. Em um fluido em meio básico os grupamentos hidroxila (OH^-) são adsorvidos nas superfícies tornando-as carregadas negativamente. De maneira semelhante, em meio ácido, os grupamentos hidrônio (H_3O^+) se associam às partículas tornando-as carregadas positivamente. Obviamente, necessita-se da presença de um líquido carreador polar para que ocorra a devida dispersão desses macroíons, como mostrado na Figura 2.1.

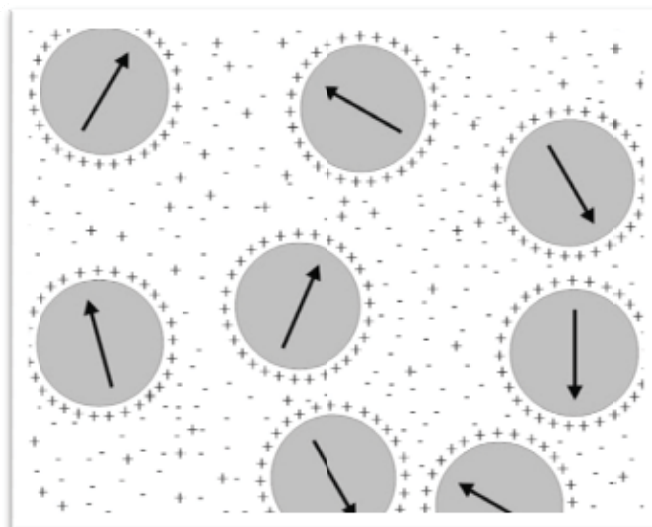


Figura 2.1: Diagrama de fluido iônico, onde as setas indicam o vetor momento magnético das partículas e os sinais, a densidade de carga.

2.2.2 Fluidos magnéticos surfactados

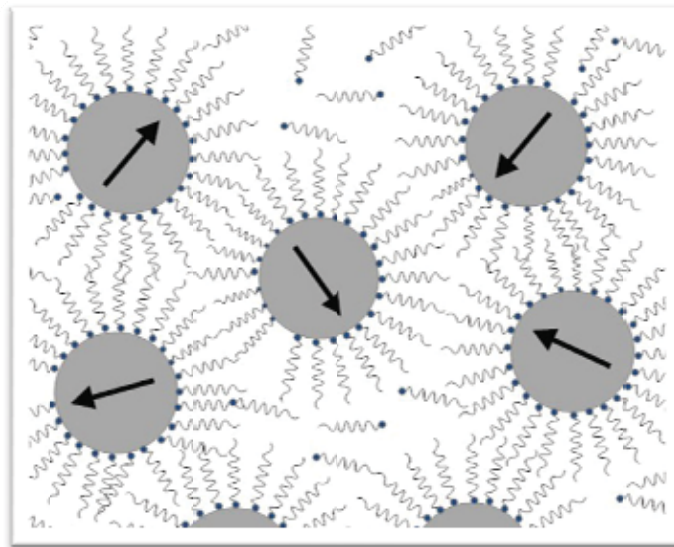


Figura 2.2: Diagrama de fluido surfactado, onde as setas indicam o vetor momento magnético das partículas e é adsorvida uma camada molecular a sua superfície para atingir a estabilidade.

Neste caso, ao invés de se adsorver íons à superfície da nanopartícula, são adsorvidas moléculas, que acabam por criar uma camada estabilizante, dita surfactante, que impedirá estericamente o contato físico entre os núcleos magnéticos mantendo a estabilidade coloidal (Figura 2.2). Moléculas com essa capacidade de formar cobertura estérica necessitam ter extremidades polares e apolares, ou seja, possuírem uma terminação polar - hidroxila ou carboxila por exemplo, a qual se ligará fortemente à superfície da partícula, e uma terminação apolar – geralmente um hidrocarboneto - que ficará voltada para o líquido carreador. Em decorrência dessa terminação apolar é necessário um carreador de mesma natureza, o que possibilita a aplicação dos FMs em sistemas que necessitem de compostos dessa natureza.

2.2.3 Fluidos magnéticos híbridos ou iônico-surfactado

Se durante o processo de síntese do fluido magnético for acrescentado excesso de cobertura molecular isso poderá acarretar a formação de uma dupla camada de surfactante. Assim, a segunda extremidade polar ficará voltada para o líquido carreador, o que leva a um acúmulo de carga, que permite a dispersão em um solvente polar (Figura 2.3). Dessa maneira, o fluido apresentará dois mecanismos de repulsão diferentes, o estérico, devidos às moléculas, e o eletrostático, devido à densidade superficial de carga. As características da carga apresentada dependerá, assim como no fluido iônico, do pH do meio e da natureza do grupo polar voltado para o líquido carreador.

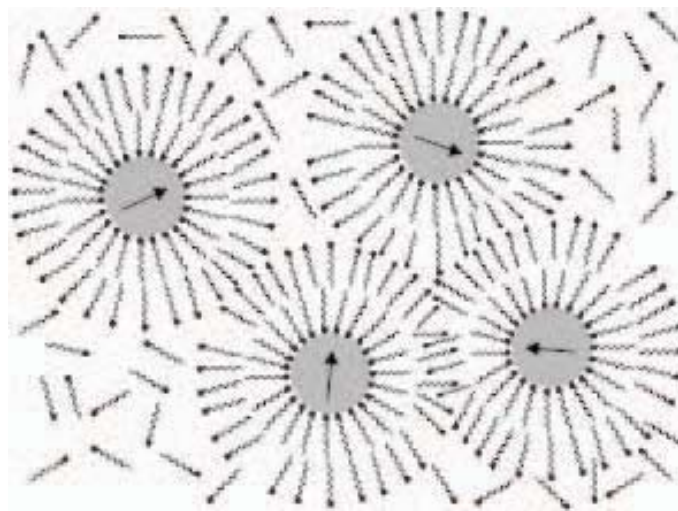


Figura 2.3: Diagrama de fluido híbrido, Diagrama de fluido surfactado, onde as setas indicam o vetor momento magnético das partículas e é adsorvida uma bicamada molecular a sua superfície para atingir a estabilidade, que é conseguida via repulsão estérica e eletrostática.

Devido à maior estabilidade desses fluidos, graças à maior repulsão e afinidade com meios polares, eles podem desempenhar um papel importante na nanobiotecnologia. Se conseguirmos conciliar a estabilidade com uma baixa, ou nula, toxicidade, em uma solução fisiológica (pH 7 e salinidade 0.9%) poderemos ter um fluido dito biocompatível.

Esses fluidos com capacidade para aplicações *in vivo* e *in vitro* serão o alvo do trabalho desenvolvido nesta dissertação. Serão considerados neste trabalho os fluidos magnéticos biocompatíveis (FMB) de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$) recoberta com DMSA - **D**imercaptosuccinic acid – (Figura 2.4) em solução fisiológica.

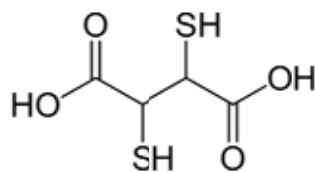


Figura 2.4: Fórmula estrutural do DMSA

2.3 Síntese dos fluidos magnéticos

Existem muitos métodos de produção de colóides magnéticos; redução de tamanho, coprecipitação, microemulsão, aerosol, entre outros. Neste trabalho será dada ênfase aos dois primeiros devido à importância histórica do primeiro e por ser o segundo o método utilizado na produção das amostras utilizadas neste trabalho.

2.3.1 Redução do tamanho

Desenvolvido por Pappel (Papell, 1965) o método de redução de tamanho consiste na moagem de partículas magnéticas micrométricas. Partículas magnéticas da ordem de alguns microns são postas para moer em contato com o solvente e o surfactante por longos períodos de tempo (~1000h), até que se consiga obter partículas com diâmetros da ordem de dezenas de nanômetros. Após a etapa de moagem as partículas são centrifugadas (~ 20000 g), o que permite obter partículas com diâmetros da ordem de 10 nm (Rosensweig, 1997) – Figura 2.5.

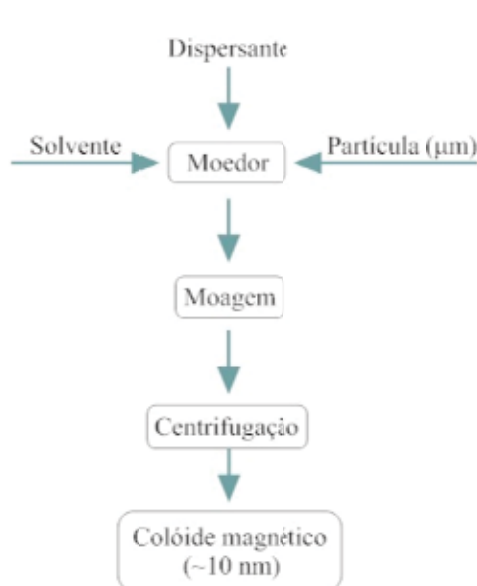


Figura 2.5: Síntese por redução de tamanho.

Esse método, pioneiro em síntese de partículas nanométricas, apesar de produzir fluidos surfactados, exige muito tempo na produção, elevando seu custo devido ao grande volume de solvente e surfactante utilizado, sendo, portanto, pouco utilizado atualmente.

2.3.2 Coprecipitação

caA coprecipitação química, síntese utilizada nas amostras aqui estudadas, consiste em acrescentar uma solução concentrada de hidróxido de amônia (NH_4OH) em uma solução aquosa de um sal de Fe^{3+} e um sal de Fe^{2+} , ou outro metal divalente (Co, Ni, Zn, Cd, Mn) para produção de ferritas diferente da aqui utilizada. Então, o precipitado é isolado por meio de centrifugação ou decantação magnética, sendo posteriormente lavado em água e em solução de ácido nítrico (HNO_3) para obtenção de partículas menores e descarte de resíduos de etapas anteriores (Figura 2.6).

Após a lavagem com HNO_3 completa-se o processo de obtenção da maghemita a partir da oxidação da magnetita então obtida. A solução, depois de novamente centrifugada, é colocada para aquecer a $90^\circ C$, juntamente com nitrato férrico ($Fe(NO_3)_3$), por 30 minutos, separada novamente e então peptizada em água, para fluidos iônicos, ou dispersa no surfactante, no caso em questão DMSA, sendo em seguida regulado o pH e a salinidade adequados (Massart, 1995).

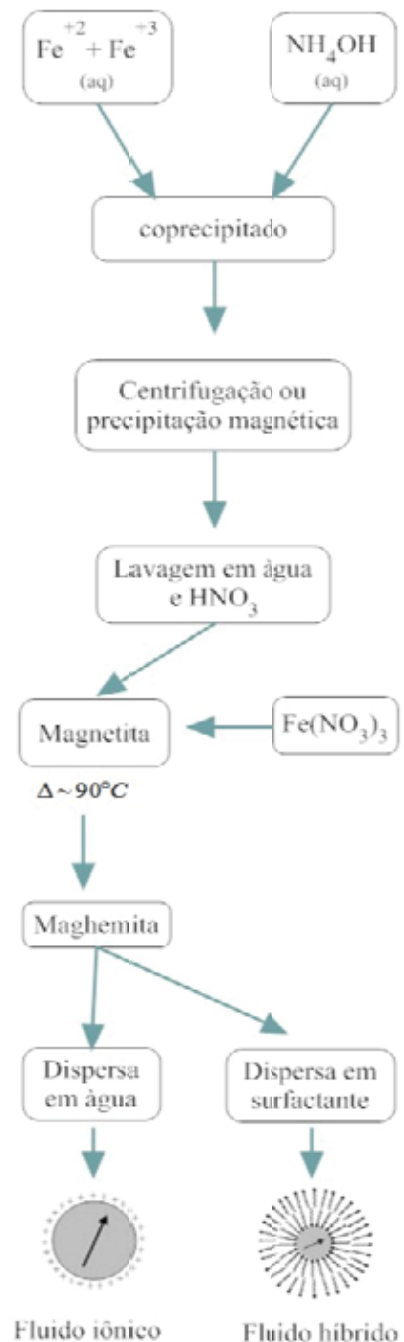


Figura 2.6: Síntese por coprecipitação.

2.4 Estabilidade Coloidal

Como já foi visto, os FMs consistem de suspensões coloidais estáveis de partículas magnéticas em um líquido carreador. Contudo, para atingir a estabilidade coloidal, propriedade fundamental desses fluidos, é necessário que as interações atrativas e repulsivas se equilibrem, num jogo de forças onde se destacam as interações magnética, gravitacional, estérica, de Van der Waals e o movimento browniano.

2.4.1 Força gravitacional e movimento browniano

Para que não ocorra a precipitação das partículas do fluido devido a ação da força gravitacional é necessário que o tamanho dessas seja tão pequeno que o movimento browniano permita sua dispersão no líquido carreador. Assumindo que as partículas sejam esféricas de diâmetro D , para elas ficarem dispersas em um líquido de viscosidade η o diâmetro médio é dado por (Shilomis, 1974)

$$D \leq \sqrt[7]{\frac{\eta^2 \kappa_B T}{\rho_s (\Delta\rho)^2 g^2}} \quad (2.1)$$

onde κ_B é a constante de Boltzmann, T a temperatura absoluta, ρ_s a densidade da partícula, g a aceleração gravitacional e $\Delta\rho$ a diferença das densidades da partícula e do fluido $\Delta\rho = (\rho_s - \rho_l)$. Dessa forma, podemos estimar um diâmetro máximo de partícula permitido para a estabilidade de um fluido magnético típico de maghemita, $\eta = 1 \text{ cp}$, $\rho_l = 1 \text{ g/cm}^3$, $\rho_s = 5,49 \text{ g/cm}^3$, submetido à temperatura ambiente e a uma aceleração gravitacional de $9,8 \text{ m/s}^2$ como sendo de $D_{max} = 2,15 \text{ }\mu\text{m}$.

2.4.2 Interação magnética

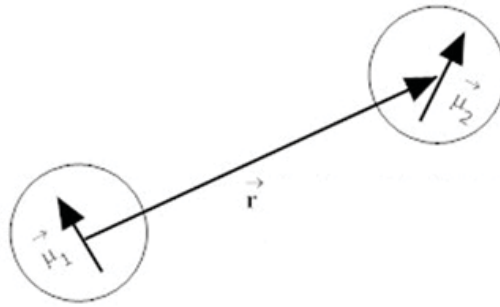


Figura 2.7: Interação entre dipolos separados a uma distância \vec{r} .

A energia magnética de duas partículas separadas por uma distância \vec{r} , como disposto na Figura 2.7, pode ser descrita pela interação de dois dipolos magnéticos pontuais (Rosensweig, 1997)

$$E_{mag} = \frac{1}{4\pi\mu_0} \left[\frac{(\vec{\mu}_1 \cdot \vec{\mu}_2)}{r^3} - \frac{3(\vec{\mu}_1 \cdot \vec{r})(\vec{\mu}_2 \cdot \vec{r})}{r^5} \right] \quad (2.2)$$

onde $\mu = \mu_0 M_s V$, com M_s sendo a magnetização de saturação e V o volume da partícula. Por conseguinte, a maior energia entre duas partículas será dada quando essas estiverem alinhadas, ou seja, $\vec{\mu}_1 \cdot \vec{\mu}_2 = \mu^2$ e $(\vec{\mu}_1 \cdot \vec{r})(\vec{\mu}_2 \cdot \vec{r}) = \mu^2 r^2$. Assim a energia máxima é dada por:

$$E_{max} = \frac{1}{4\pi\mu_0} \left[\frac{-2\mu^2}{r^3} \right]. \quad (2.3)$$

2.4.3 Interação estérica

A repulsão estérica, presente em fluidos surfactados, é devida à adsorção de moléculas na superfície das partículas de maneira a permitir uma separação entre as mesmas por meio do contato físico das moléculas superficiais. Esse mecanismo é um dos mais eficientes e utilizados na estabilização dos FMs, sendo a energia repulsiva entre duas partículas esféricas e idênticas dada por

$$\frac{E_s}{\kappa_B T} = \begin{cases} \frac{\pi D^2 \xi}{2} \left[2 - \frac{l+2}{t} \ln \left(\frac{1+t}{1+l/2} \right) - \frac{l}{t} \right], & s \leq 2\delta, \\ 0 & , s > 2\delta \end{cases} \quad (2.4)$$

onde ξ é a concentração de moléculas adsorvidas na superfície, dito *grafting*, $l = \frac{2s}{D}$, com s sendo a distância entre as superfícies das partículas, $t = \frac{2\delta}{D}$ e δ a espessura da camada molecular (Rosensweig, 1997).

2.4.4 Interação de dipolos oscilantes (van der Waals)

Essa força, de natureza atrativa, que ocorre mesmo em partículas neutras e apolares devido à interação de dipolos oscilante. É uma interação em nível quântico onde as flutuações dos elétrons orbitais, devido a perturbações das nuvens eletrônicas e dos movimentos vibracionais das moléculas, acabam por gerar o aparecimento de um dipolo instantâneo. A energia associada à interação de van der Waals entre duas partículas idênticas é

$$E_{VW} = -\frac{A}{6} \left[\frac{2}{l^2+4l} + \frac{2}{(l+2)^2} + \ln \frac{l^2+4l}{(l+2)^2} \right] \quad (2.5)$$

onde A é a constante de Hamaker, da ordem de $10^{-19} N.m$ para o ferro, magnetita e maghemita em hidrocarbonetos (Rosensweig, 1997).

2.5 Propriedades magnéticas

2.5.1 Monodomínio magnético

Domínios magnéticos são regiões de um sólido onde os momentos magnéticos dos átomos são orientados em uma direção fixa. Se todos os momentos magnéticos de um material fossem orientados em uma mesma direção seria necessária uma energia magnetostática considerável para manter sua organização; desta forma esses materiais tendem a se organizar em domínios com diferentes direções de alinhamento de maneira a minimizar a energia do siste-

ma. Essas divisões são feitas por meio de paredes de domínio, que são regiões de transição na direção dos momentos de dois domínios adjacentes (Rosensweig, 1997).

Se uma partícula magnética é suficientemente pequena pode não haver um volume suficiente capaz de suportar uma parede (~100 átomos) ou ser necessária uma energia elevada para a construção da divisão em domínios, o que não compensaria a redução de energia decorrente desse processo. Devido a essa inviabilidade da construção de multidomínios todos os momentos magnéticos dessas partículas estão em uma única direção, possuindo então um monodomínio magnético (McCurrie, 1994).

2.5.2 Tipos de ordenamento magnético

Existem várias formas de ordenamento magnético nos sólidos. As diferenças de organizações são devidas à orientação e magnitude dos spins em um mesmo domínio e são classificadas em: ferromagnético, antiferromagnético, ferrimagnético, paramagnético, diamagnético.

Tabela 2.1: Ordenamentos magnéticos.

Ordenamento	Alinhamento dos <i>spins</i>	Descrição
Ferromagnético	↑↑↑↑↑↑↑↑↑↑↑↑	Spins de mesma magnitude e alinhados paralelamente em um mesmo domínio. Momento magnético total não-nulo.
Antiferromagnético	↑↓↑↓↑↓↑↓↑↓↑↓	Spins de mesma magnitude que se alinham antiparalelamente. Momento magnético total nulo.
Ferrimagnético	↑↓↑↓↑↓↑↓↑↓↑↓	Spins de magnitude distinta alinhados antiparalelamente. Momento magnético total não-nulo.
Paramagnético	Aleatória	Orientação randômica de spins que tendem a se alinhar paralelamente a um campo externo aplicado.

Outros ordenamentos possíveis são o diamagnetismo e o superparamagnético. O diamagnetismo é o comportamento magnético de átomos ou moléculas que não apresentam um momento magnético total. Entretanto, quando submetidas a um campo magnético os elétrons

destes materiais tendem a criar uma corrente em torno do átomo de maneira a se opor ao campo aplicado (Jackson, 1998), sendo, portanto, considerado o mais fraco dos ordenamentos. O conceito de superparamagnetismo, presente nos colóides magnéticos, foi introduzido por Bean (Bean, 1955). É o comportamento apresentado por partículas nanométricas que apresentam monodomínio magnético. O comportamento dessas partículas é semelhante ao paramagnético só que com um momento magnético muito maior (1000 vezes), daí o nome dado.

Para descrever o comportamento magnético de um fluido contendo partículas magnéticas nanométricas em suspensão dois mecanismos de relaxação são fundamentais: a rotação Browniana e a relaxação de Néel (Bacri, et al., 1986). Processos esses que levam o fluido a apresentar um superparamagnetismo extrínseco ou intrínseco, respectivamente.

No modelo para a rotação Browniana o alinhamento do momento magnético é fixo na direção de fácil magnetização; portanto, os momentos são alinhados pela rotação da partícula como um todo no líquido carreador. Dessa forma o mecanismo de desalinhamento é dado pela agitação térmica, caracterizando assim o superparamagnetismo extrínseco. O tempo característico desse tipo de relaxação é dado por (Bacri, et al., 1986)

$$\tau_B = \frac{3V\eta}{\kappa T} \quad (2.6)$$

sendo η a viscosidade do líquido carreador e V o volume da partícula.

Já no modelo de Néel o momento magnético pode não estar alinhado com o eixo de fácil magnetização, ou seja, o momento magnético pode girar dentro da própria partícula. Neste caso, a rotação do momento magnético está ligada a uma barreira de energia anisotrópica, que para um cristal uniaxial, a campo zero, é igual a KV , onde K é a constante de anisotropia da partícula. O tempo característico do mecanismo de rotação do momento magnético é dado por

$$\tau_N = \tau_0 e^{\frac{KV}{\kappa T}} \quad (2.7)$$

onde τ_0 é o período de precessão de Larmor típico em torno do campo de anisotropia.

Na suspensão líquida os dois mecanismos ocorrem simultaneamente, sendo o processo dominante aquele com menor tempo característico. Por outro lado, em uma “suspensão congelada” apenas a relaxação de Néel subsiste.

2.6 Aplicações dos FMB

Inúmeras são as aplicações dos FMs nas áreas das engenharias e ciências dos materiais, como resfriador de alto-falantes e transformadores ou ainda como separador magnético. Mas a área que recentemente vem despertando o maior interesse são as possíveis aplicações na biomedicina. Como o foco desse trabalho é a caracterização de fluidos biocompatíveis algumas técnicas biomédicas, em uso e em desenvolvimento, serão explicitadas nesta seção.

2.6.1 Carreador de fármacos e radionuclídeos

A maior desvantagem da maioria das terapias convencionais, que vão desde um simples antiinflamatório até uma quimioterapia, são os efeitos colaterais. Eles causam desconforto e sintomas diversos que acabam por levar o paciente a abandonar o tratamento, além de atacar não só células doentes como também as saudáveis. Devido a esses fatores o uso de estratégias de entrega do medicamento *in locu*, ou seja, que o medicamento atue especificamente no sítio a ser tratado é tão desejado.

A partir da década de 1970, começou-se a desenvolver os primeiros polímeros e FMBs com o objetivo de direcionar medicamentos em aplicações *in vivo*. Com os avanços obtidos desde então, hoje temos dois principais tipos de carreadores baseados em nanopartículas magnéticas: (i) uma partícula magnética recoberta com um polímero biocompatível ao qual é ligado o fármaco ou (ii) um polímero biocompatível poroso onde é ligado o fármaco e o material magnético é precipitado ou introduzido no interior de seus poros. Ambos os carreadores podem utilizar-se de um gradiente de campo magnético para aumentar a concentração das partículas, e conseqüentemente do fármaco, na região desejada reduzindo assim os efeitos colaterais e aumentando a eficiência do medicamento.

De forma semelhante podem ser ligadas às nanopartículas magnéticas radionuclídeos, como β emissores, aumentando a radioatividade no local do tumor em mais 70% com relação ao tratamento convencional (Pankhurst, et al., 2003).

2.6.2 Hipertermia

Procedimento terapêutico usado para aumentar a temperatura numa dada região do alvo afetada por tumores, buscando-se um aumento pontual e moderado de temperatura, capaz de promover a citólise das células carcinogênicas. Como o FM pode ser aquecido quando submetido a um campo magnético oscilante, devido ao movimento de realinhamento do momento magnético com o campo externo, e ao mesmo tempo pode ser direcionado por um segundo gradiente de campo, como no caso do carreamento de fármacos, eles permitem um aquecimento em uma área restrita onde se localiza, por exemplo, o tumor (Pankhurst, et al., 2003).

2.6.3 Agente de contraste em RMN

Os agentes de contraste utilizados na Ressonância Magnética Nuclear (RMN) são compostos administrados aos pacientes com objetivo de melhorar o contraste entre o tecido normal e o doente ou para indicar o status de funções de órgão e fluxo sanguíneo. Os fluidos magnéticos vêm sendo usados como agente de contraste em RMN para localizar e diagnosticar infartos, tumores e lesões no cérebro e coração. Isso devido ao fato das nanopartículas tenderem a se acumular nessas regiões graças às diferentes composições de tecidos e/ou processos endocíticos (Pankhurst, et al., 2003).

As propriedades contrastantes dos FMs são devidas às interações dipolares entre os núcleos e sua vizinhança e o momento magnético que as partículas possuem. O que na presença de campos magnéticos permite imagens com maior definição.

Capítulo 3

Métodos e Técnicas.

Como visto no capítulo anterior, as propriedades de um fluido magnético dependem de um delicado equilíbrio de forças e uma simples mudança em um parâmetro, que poderia se imaginar desprezível, pode vir a alterar toda a estabilidade coloidal do sistema. Com intuito de verificar essas alterações de forma concisa utilizamos, neste trabalho, três técnicas de caracterização física capazes de fornecer informações complementares entre si.

3.1 Birrefringência Magnética Estática (BME)

Fluidos magnéticos homogêneos são, via de regra, isotrópicos com relação à transmissão de luz devido à disposição aleatória das partículas que o compõem. Isto significa que quando um feixe de luz atravessa a amostra nenhuma direção de propagação preferencial é apresentada. Entretanto, se submetemos esse fluido a um campo magnético ele perderá seu caráter aleatório de disposição das partículas, dando origem a dois eixos ópticos - um paralelo e outro perpendicular ao campo aplicado – ao longo dos quais a luz se propaga com velocidades diferentes. Esse fenômeno é chamado birrefringência magneto-óptica e será tratado brevemente nesta seção.

3.1.1 Birrefringência óptica

Apesar de a maioria dos materiais que utilizamos rotineiramente ser opticamente isotrópicos, índice de refração que independe da direção de propagação e do estado de polarização da luz, há muitos sólidos cristalinos que são opticamente anisotrópicos – como a calcita, a turmalina e o quartzo . Este caráter anisotrópico faz com que tais cristais apresentem direções cristalinas com índices de refração diferentes - sendo assim, chamados de birrefringentes. As primeiras observações de materiais birrefringentes datam de meados do século XVII. Elas descrevem que ao ser colocado um cristal de calcita (CaCO_3) polido sobre uma imagem apareceram duas imagens (Figura 3.1).



Figura 3.1: Na figura (b) observa-se a imagem dupla enquanto na (a) e (c) é possível observar, com a ajuda de um polarizador, o feixe ordinário e o extraordinário, respectivamente (Olympus®).

Conforme a Figura 3.1 foi observado que os feixes possuíam planos de vibração da luz polarizada perpendiculares entre si. Um dos feixes obedecia à lei de Snell, como um feixe comum passando de um meio isotrópico para outro, sendo chamado de raio ordinário **O**. Enquanto o outro não a obedecia, sendo chamado raio extraordinário **E**, e nem mesmo se encontrava no mesmo plano de incidência.

Essa diferença de comportamento dos dois feixes pode ser explicada, classicamente, pela interação da luz incidente com os elétrons do material. Os elétrons tendem a oscilar de acordo com o campo elétrico da luz **E**. Ao mesmo tempo sofrem a ação de forças eletrostáticas de natureza restauradora, devido a instabilidade gerada pelo deslocamento de sua posição de equilíbrio. Como resultado dessa oscilação forçada em torno da posição de equilíbrio os elétrons tornam-se fontes secundárias, que retransmitem a onda eletromagnética com a frequência das oscilações forçadas. O que acontece nos materiais birrefringentes é que essas forças restauradoras são diferentes nos dois eixos ópticos de maneira que a resposta ao campo elétrico é diferente. Assim, quanto maior a agilidade dessa restauração maior a velocidade de propagação da luz e conseqüentemente menor o índice de refração.

Como esses cristais apresentam uma organização cristalina diferente na direção dos eixos ópticos temos assim índices de refração diferentes e uma birrefringência associada.

$$\Delta n = n_e - n_o \quad (3.1)$$

Onde n_e e n_o são o índice de refração do eixo extraordinário e ordinário, respectivamente.

3.1.2 Origem e modelos de BME

Graças ao critério aleatório da disposição das partículas, devido ao movimento Browniano, os fluidos magnéticos não possuem diferença na velocidade de propagação nos ao longo dos diferentes eixos ópticos, sendo, portanto, isotrópicos. Entretanto, quando esse mesmo fluido é colocado em presença de um campo magnético externo, \vec{H} , esta simetria é quebrada (Figura 3.2).

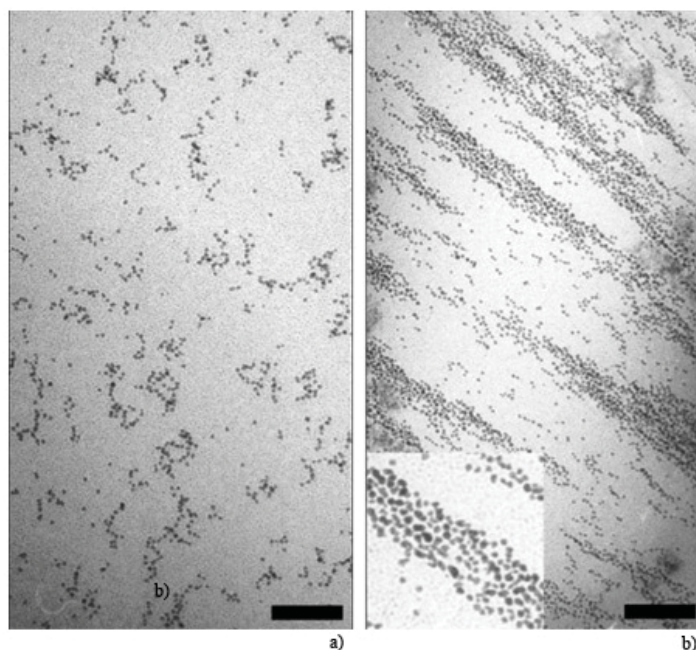


Figura 3.2: Crio-microscopia de transmissão. Na figura a) micrografia é a campo nulo, enquanto b) no campo de saturação (Butter K et al., 2003).

Como as partículas possuem um momento magnético associado, $\vec{\mu}$, quando submetidas a um campo magnético externo elas tendem a se alinhar a ele. Esse processo de alinhamento acaba por gerar uma anisotropia e o surgimento da birrefringência magnética estática, Δn .

$$\Delta n = n_{\parallel} - n_{\perp} \quad (3.2)$$

Onde o eixo extraordinário equivale ao eixo paralelo (n_{\parallel}) ao campo aplicado enquanto o eixo ordinário é perpendicular (n_{\perp}) a àquele. Sendo a birrefringência proporcional ao campo aplicado.

Em uma primeira aproximação, a birrefringência óptica é devida à anti-simetria do tensor susceptibilidade elétrica do meio com relação ao campo elétrico da luz incidente (Bacri J.C. et al., 1996). Ou seja, depende de como se dará a interação entre o campo elétrico inci-

dente com a amostra submetida ao campo magnético – a polarizabilidade elétrica. A origem da anti-simetria do tensor susceptibilidade elétrica está relacionada ao fato de as partículas não serem perfeitamente esféricas e a anisotropia óptica inerente ao material magnético de que o núcleo é formado, sendo esta na maioria das vezes desprezível. Assim, assumindo que a fração volumétrica $\phi = \frac{\pi}{6} N \int D^3 P(D) dD \ll 1$, com $P(D)$ a ser definida na seção 3.3.3, e que $D \ll \lambda$ (comprimento de onda da luz incidente), podemos redefinir a expressão da birrefringência como:

$$\Delta n \cong \frac{\phi(\chi_{\parallel}^{el} - \chi_{\perp}^{el})}{2\sqrt{\varepsilon_1}} \quad (3.3)$$

Onde ε_1 é a permissividade do meio, χ_{\parallel}^{el} e χ_{\perp}^{el} são, respectivamente, a susceptibilidade elétrica relativa por unidade de volume na direção paralela e perpendicular ao campo e ϕ é a fração volumétrica.

Como já mencionado, existe distribuição aleatória das partículas, e seus respectivos momentos magnéticos, na ausência de campo. Mas ao se aplicar um campo magnético externo (\vec{H}) as partículas tendem a se alinhar, de maneira tal que a uma determinada intensidade de campo praticamente todas as partículas, com seu momento de dipolo magnético $\vec{\mu}$, estarão alinhadas com \vec{H} . A birrefringência atingirá assim seu valor de saturação:

$$\Delta n_s = \phi \delta n_0 = \frac{\phi(\chi_{\parallel}^{el} - \chi_{\perp}^{el})}{2\sqrt{\varepsilon_1}} \quad (3.4)$$

Sendo δn_0 é a birrefringência característica de uma partícula na suspensão.

Dessa forma, levando-se em conta a estatística das possíveis orientações do momento de dipolo magnético devido ao movimento browniano e o acréscimo da intensidade do campo magnético, perpendicular à luz incidente, tem-se a expressão para a birrefringência dada pela função de Langevin de segunda ordem (Bacri J.C. et al., 1996):

$$\Delta n(H) = \Delta n_s L_2(x) = \Delta n_s \left(1 - \frac{3}{x} \coth x + \frac{3}{x^2} \right) \quad (3.5)$$

sendo $x = \frac{\mu H}{k_B T}$, onde o termo do numerador corresponde à energia magnética e o do denominador, à energia térmica devido ao movimento randômico. O momento de dipolo magnético, em função do diâmetro D e da magnetização de saturação M_s , é dado por:

$$\mu = \frac{\pi D^3 M_s}{6} \quad (3.6)$$

Da equação 3.5 temos que para baixos campos a dependência com o campo magnético seria quadrática:

$$\Delta n = \Delta n_s \left(\frac{x^2}{15} \right) \quad (3.7)$$

No entanto, em alguns casos essa situação limite não é verificada (Skeff Neto K. et al., 2001; Bakuzis A. F. et al., 2001), mostrando-se, portanto, ineficiente a baixos campos. Com o objetivo de corrigir essa deficiência Xu e Ridler (Xu M. and Ridler P. J., 1997) propuseram algumas modificações que mais tarde foram complementadas por Skeff et al (Skeff Neto K. et al., 2001).

O sinal da birrefringência seria, assim, um somatório da contribuição de partículas isoladas e agregados, principalmente, devido à interação entre as partículas. A maior parte da contribuição para a anisotropia óptica apresentada pelos fluidos magnéticos quando submetidos a campos magnéticos teria sua origem nos agregados. De modo que coexistiriam partículas isoladas – monômeros - e agregados com diferentes números de partículas, Q-mero ($Q = 1, 2, 3, 4, \dots$), gerando um somatório de contribuições para o sinal total (Xu M. and Ridler P. J., 1997).

$$\Delta n = \sum_Q C_Q \Delta n_Q \quad (3.8)$$

Onde C_Q é a fração volumétrica de Q-mero no volume total de partículas do FM tal que $\sum_Q C_Q = 1$, e Δn_Q é a contribuição à birrefringência do Q-mero.

Com o objetivo de reduzir as discrepâncias a baixas e altas intensidades de H , foi incluído ao modelo a dependência da susceptibilidade magnética rotacional associada às estruturas das cadeias formadas (Skeff Neto K. et al., 2001). O acréscimo deste termo que inclui a dependência da permeabilidade magnética com o campo magnético permitiu uma melhor compreensão dos dados experimentais (Figura 3.3).

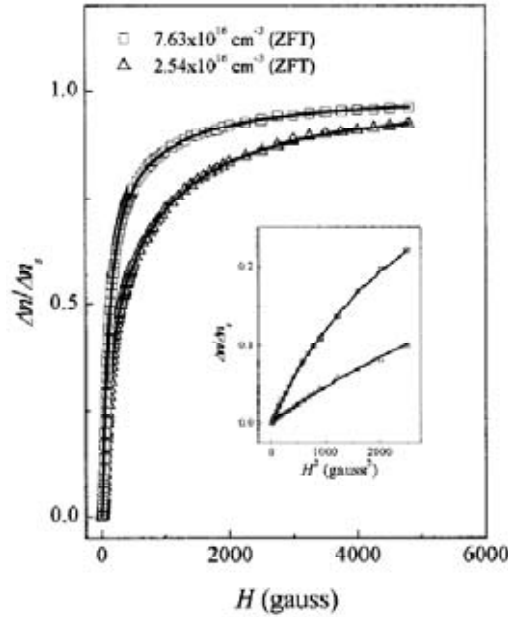


Figura 3.3: Sinal de birrefringência normalizado para duas amostras de NiFe_2O_4 com concentrações diferentes (2.54×10^{16} e 7.63×10^{16} part/ cm^{-3}). O gráfico inserido representa o sinal de BME em função de H^2 a baixos campos (Skeff Neto K. et al., 2001).

De acordo com a proposta de Skeff Neto *et al.* (Skeff Neto K. et al., 2001), a magnetização associada ao Q-mero é, então, dada por:

$$M_Q = [1 + \beta C_Q P_Q(H)] M_s \quad (3.9)$$

Sendo β uma constante de ajuste e $P_Q(H)$ uma função do tipo log-normal, \bar{H} é um campo modal e σ_H um desvio padrão associado à cadeia Q . O modelo pode ser assim descrito em função do diâmetro, D_M , e campo modais e suas respectivas dispersões:

$$\Delta n(H; D_M, \sigma, \bar{H}, \sigma_H) = \Delta n_s \int [\sum_Q C_Q \Delta n_Q(H, D)] D^3 P(D) dD \quad (3.10)$$

Com

$$\Delta n_Q(H, D) = \left[1 - \frac{3}{x_Q} \coth(x_Q) + \frac{3}{x_Q^2} \right], \quad (3.11)$$

Sendo:

$$x_Q = \begin{cases} \frac{\pi M_s D^3 H}{6 \kappa_B T}, & \text{se } Q = 1. \\ \frac{\pi M_s D^3 H Q}{6 \kappa_B T} [1 + \beta \phi M_s C_Q P_Q(H)], & \text{se } Q > 1. \end{cases} \quad (3.12)$$

Em 2005 o modelo de Skeff Neto *et al.* (Skeff Neto K. et al., 2001) foi revisto incluindo uma abordagem para visualizar a interação entre partículas (Gravina, 2005).

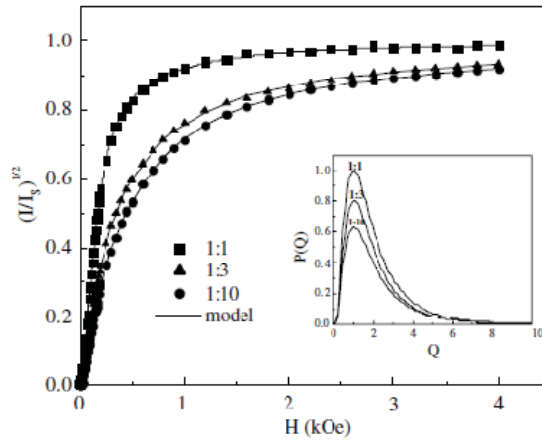


Figura 3.4: Sinal de birrefringência normalizado de um FM a base de maguemita recoberta com DMSA e algumas concentrações (1:1, 1:3 e 1:10). O gráfico inserido mostra a função $P(Q)$ para as diferentes concentrações (Oliveira F.M.L. et al., 2006).

Essa nova abordagem substitui a soma discreta sobre os valores de Q por uma função contínua (Figura 3.4). A equação 3.13 é re-escrita como

$$\Delta n(H; D_M, \sigma, \bar{H}, \sigma_H) = \Delta n_s \int \int C_Q \Delta n_Q(H, D) D^3 P(D) P(Q) \partial D \partial Q. \quad (3.13)$$

Sendo $P(Q)$ uma função log-normal que descreve o perfil dos aglomerados

$$P(Q) = \frac{\exp(2\sigma_Q^2)}{Q\sigma_Q\sqrt{2\pi}} \cdot \exp\left[\frac{-\ln^2(Q/Q_M)}{2\sigma_Q^2}\right] \quad (3.14)$$

e

$$x_Q = \begin{cases} \frac{\pi M_s D^3 H}{6 \kappa_B T}, & \text{se } Q = 1. \\ \frac{\pi M_s D^3 H Q_M}{6 \kappa_B T} [1 + \beta \phi M_s C_Q P_Q(H)], & \text{se } Q_M > 1. \end{cases} \quad (3.15)$$

Dessa forma, a partir da $P(Q)$ é possível identificar o número modal de aglomerados na cadeia $\langle Q \rangle$ e sua dispersão associada σ_Q . Isto permite uma maior facilidade na avaliação do tamanho dos clusters e a conseqüente aplicabilidade do fluido.

Devido ao sucesso dessa abordagem (Gravina, 2005; Oliveira F.M.L et al., 2006) ela será a utilizada na análise dos dados no presente trabalho.

3.1.3 Obtenção dos dados de BME

Como já mencionado, as medidas de birrefringência são simples e o equipamento utilizado para as medidas também.

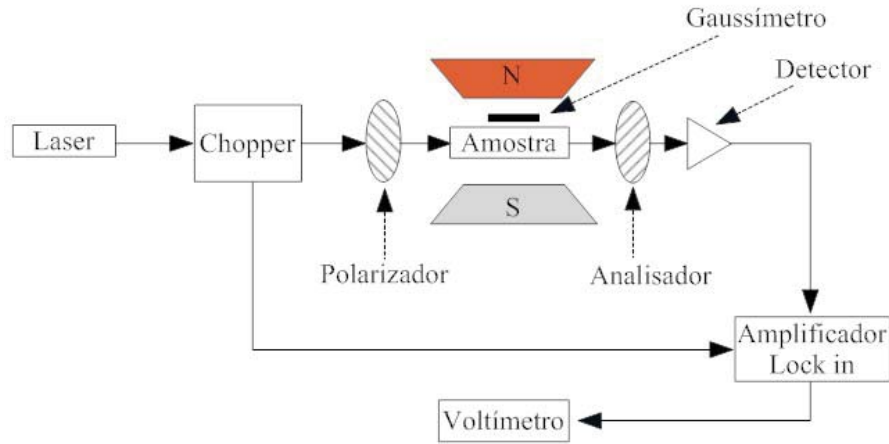


Figura 3.5: Diagrama do aparato utilizado na medida de birrefringência magneto-óptica.

A fonte de luz utilizada no experimento consiste em um laser de $\lambda = 632 \text{ nm}$. O feixe de luz passa por um chooper, que em conjunto com o *lock in* tem o objetivo de cortar o ruído e amplificar o sinal. Em seguida o feixe passa por um polarizador para garantir que a luz seja linearmente polarizada. Após atravessar o polarizador a luz passa pelo porta-amostras, de quartzo com espessura interna de 1 mm. Finalmente, o feixe de luz atinge o analisador- que está a 90° em relação ao polarizador- incidindo sobre um foto-detector. O sinal obtido chega

ao amplificador *lock in* e sua intensidade pode então ser medida com um voltímetro (Figura 3.5).

Enquanto a luz e o sinal óptico percorrem o caminho acima descrito, o campo magnético é aplicado. O campo é gerado por meio de um sistema de bobinas acoplado a uma fonte de corrente contínua podendo variar de 0 a 4000 Oe. A intensidade do campo externo aplicado é medida por meio de um gaussímetro, como disposto na Figura 3.5. Assim, a intensidade luminosa, I , é proporcional ao sinal da birrefringência (Bacri J.C. et al., 1986):

$$I = \frac{E_0^2}{2} \sqrt{t_{\perp} t_{\parallel}} \left\{ \begin{aligned} & \cosh \Psi'' [\cos^2(\alpha + \beta) + \cos^2(\alpha - \beta)] \oplus \\ & \oplus 2 \sinh \Psi'' \cos^2(\alpha + \beta) \cos^2(\alpha - \beta) + \cos \Psi' [\cos^2(\alpha - \beta) - \cos^2(\alpha + \beta)] \end{aligned} \right\} \quad (3.16)$$

Em que E_0 é a amplitude do campo elétrico da luz incidente; t_{\perp} e t_{\parallel} são, respectivamente, os coeficientes de transmissão perpendicular e paralelo ao campo; $\Psi' = 2\pi e \Delta n / \lambda$, sendo e a espessura da amostra; $e^{-\Psi''} = \sqrt{t_{\parallel} / t_{\perp}}$ e α e β os ângulos que o polarizador e analisador fazem com o campo, respectivamente.

Na montagem utilizada os polarizadores estão cruzados e ao mesmo tempo cada um está orientado a um ângulo de $\alpha = \beta = 45^\circ$ com relação à direção do campo \vec{H} aplicado. O feixe de luz incide numa direção perpendicular a esse plano. Considerando essa geometria a intensidade do sinal pode ser simplificada a:

$$I \cong E_0^2 t_{\parallel} \operatorname{sen}^2 \left(\frac{\pi e \Delta n}{\lambda} \right) \quad (3.17)$$

Assim, para valores de $\pi e \Delta n / \lambda$ pequenos, o que geralmente ocorre na BME, o seno pode ser substituído pelo seu argumento e o valor da birrefringência passa a ser proporcional a \sqrt{I} .

3.2 Espectroscopia Fotoacústica

A Espectroscopia Fotoacústica - PAS, como toda a espectroscopia óptica, se baseia na obtenção de informações do material a ser analisado por meio da interação dos fótons com a matéria. A principal diferença da PAS para as outras espectroscopias ópticas é que os dados obtidos por ela são resultantes do espectro não-radiativo, decorrente da excitação do sistema de vibrações cristalinas, moleculares ou atômicas. Nessa seção será feita uma breve discussão acerca desta técnica e sua aplicação ao estudo dos FMs.

3.2.1 Origem histórica

Em 1880, Alexander Graham Bell trabalhava com fones e, acidentalmente, percebeu que um som audível era emitido quando um feixe de luz solar era interrompido. Tal feixe incidia sobre uma célula fechada que continha alguns discos finos. Ouvindo o som, Bell, um tanto quanto intrigado, começou a estudar o fenômeno.

Ele repetiu o experimento com uma grande variedade de sólidos, líquidos e gases e acabou por descobrir que o som dependia da luz incidente e que nos líquidos a intensidade do som era muito menor que nos gases.

Mais tarde, em 1881, baseado nos experimentos de Bell, John Tyndall e Wilhelm Röntgen verificaram o mesmo para uma variedade de gases e o ratificaram. Sendo, a partir do resultado, levantadas hipóteses teóricas e desenvolvida uma célula fotoacústica, que comprovou a principal origem do sinal observado: calor emanado da amostra para o gás (Rosencwaig, 1975).

Depois desse surto inicial a PAS foi raramente utilizada na caracterização de gases sendo praticamente esquecida no campo da curiosidade, voltando a ser amplamente utilizada somente no final da década de 1960, quando o seu potencial na caracterização de materiais foi descoberto. Desde então, a fotoacústica vem se mostrando uma importante técnica na caracterização de sólidos e mesmo de estruturas biológicas (Rosencwaig, 1975).

Tal interesse por essa técnica se baseou, dentre outras coisas, no fato de os dados obtidos a partir do seu uso serem qualitativamente semelhantes aos obtidos pela espectroscopia de absorção e transmissão. Contudo, diferentemente dessas técnicas, na fotoacústica o espalhamento da luz incidente não representa um grande problema, uma vez que o interesse é pela parcela absorvida, transformada em calor. Devido ao uso da luz refletida e transmitida aquelas

técnicas não são tão eficientes, sendo a sua utilização inviável para investigação de uma vasta gama de substâncias orgânicas e inorgânicas (Rosencwaig, 1975).

Como a fonte de informação utilizada na espectroscopia fotoacústica é a energia não radiativa, liberada pela amostra, tornou-se possível fazer medidas em compostos como condutores, isolantes e metais, onde não era possível o estudo via espectroscopia de absorção; permitiu o estudo simplificado e rápido de sistemas biológicos que demandavam grande preparo e foi possível analisar plantas, tecidos e micro-organismos e as concentrações relativas de seus metabolitos com uma pequena quantidade de material

Dentre as recentes e promissoras aplicações estão a sua utilização na caracterização de fluidos magnéticos tanto iônicos (Morais P.C. et al., 2002) quanto biocompatíveis (Morais P.C. et al., 2003).

3.2.2 Espectroscopia fotoacústica e geração do sinal fotoacústico

Na espectroscopia fotoacústica a amostra é colocada dentro de uma célula hermeticamente fechada contendo ar, ou algum outro gás, e que possua um microfone, que irá captar a variação de pressão. Sobre a amostra é incidido um feixe de luz monocromático, que ao passar por um chopper se torna pulsado. Ao incidir sobre a amostra parte da energia do feixe é convertida em energia não radiativa, ou seja, sem a emissão de fótons. Como resultado da absorção da energia do feixe de luz parte da população de moléculas e/ou átomos da amostra se excitará, passando do estado fundamental para estados excitados. Como consequência do retorno do sistema ao estado fundamental ocorre um aumento da temperatura da amostra. Surge, assim, um fluxo periódico de calor da amostra, que absorveu energia, para o gás em torno desta, criando uma variação de pressão que é então detectada pelo microfone.

A primeira explicação para tal fenômeno, proposta por Bell, era que essa variação de pressão teria origem em ciclos de adsorção das moléculas do gás desencadeada pela variação da temperatura da amostra. Contudo, na década de 1970, foi observado que esta contribuição era mínima e que o sinal fotoacústico tem por origem o fluxo periódico de calor da superfície da amostra para o gás que está nas suas proximidades. Esse fluxo produz flutuações na pressão do gás da célula e essa flutuação é detectada pelo microfone (Rosencwaig, 1975).

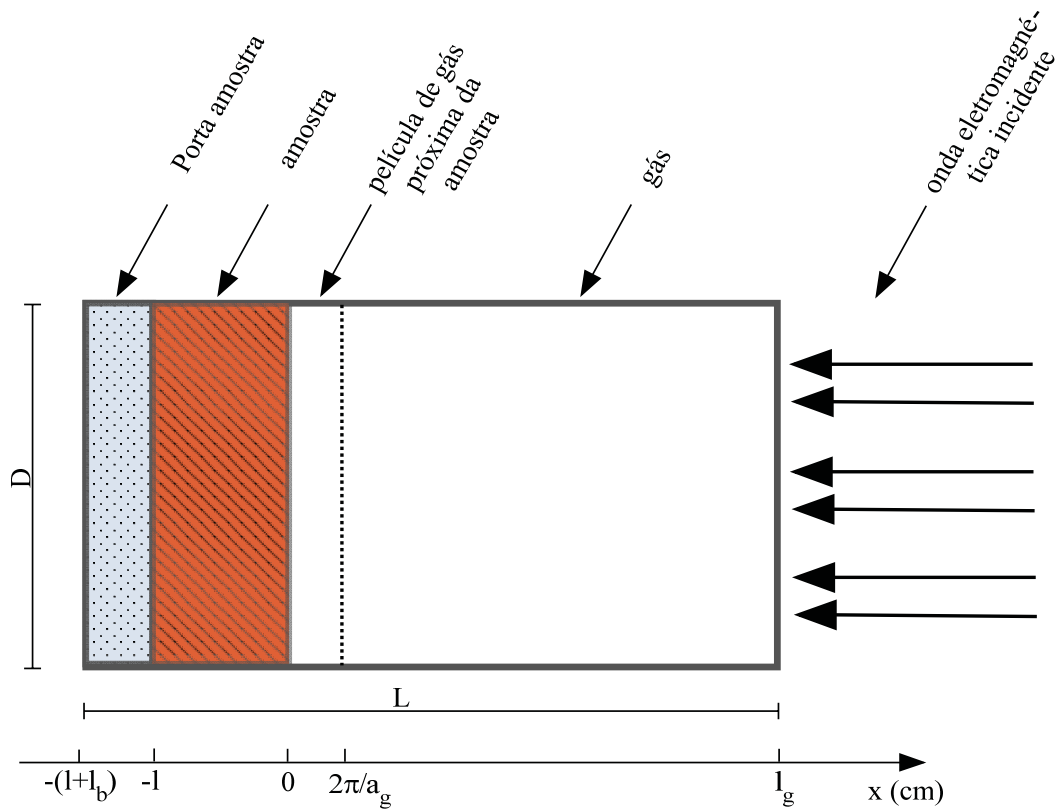


Figura 3.6: Célula fotoacústica.

Para fazermos uma breve análise da dinâmica do calor e da temperatura no interior da célula fotoacústica faz-se necessário algumas considerações.

Assumindo que a célula fotoacústica tenha comprimento L , diâmetro D , amostra e porta amostra de espessura l e l_b , respectivamente (Figura 3.6), e $L = l_g + l + l_b$. Além disso, o sistema é caracterizado através dos seguintes parâmetros:

- κ_i - condutividade térmica do material i (cal/cm.s.°C);
- ρ_i - densidade do material i (g/cm³);
- C_i - calor específico do material i (cal/g°.C);
- $\alpha_i = \frac{\kappa_i}{\rho_i C_i}$ - difusibilidade térmica do material i (cm²/s);
- $a_i = \left(\frac{\omega}{2\alpha_i}\right)^{1/2}$ - coeficiente de difusão térmica do material i (cm⁻¹);
- $\zeta_i = \frac{1}{a_i}$ - comprimento de difusão térmica do material i (cm);
- i - dependendo do material pode ser s para a amostra sólida, g para o gás da célula, e b para o porta amostra;
- ω - freqüência do chooper (rad/s).

Quando o feixe de luz vindo de uma fonte monocromática de intensidade I_0 (W/cm²) passa pelo chopper a sua intensidade é modulada senoidalmente e passa a ser descrito por:

$$I' = \frac{I_0}{2} (1 + \cos \omega t). \quad (3.18)$$

Como sabemos que, ao menos em parte, a luz incidente é convertida em calor, a intensidade de energia absorvida em um ponto x da amostra é dada por

$$I = I' e^{\beta x} = \frac{I_0}{2} e^{\beta x} (1 + \cos \omega t) \quad (3.19)$$

em que β é o coeficiente de absorção óptica da amostra. Como decorrência direta deste aquecimento periódico surge um gradiente de temperatura entre a amostra e o restante da célula, gerando assim um fluxo de calor.

Nessas condições, o fluxo alternado de calor no gás será dado por (Rosencwaig A. and Gersho A., 1976):

$$\Phi_{ac}(x, t) = \Theta \exp(-\sigma_g x + i\omega t) \quad (3.20)$$

onde Θ é a amplitude complexa da temperatura no limite sólido-gás. A correspondente variação de temperatura é dada por:

$$T_{ac}(x, t) = \exp(-a_g x) [\Theta_1 \cos(\omega t - a_g x) - \Theta_2 \sin(\omega t - a_g x)] \quad (3.21)$$

em que Θ_1 e Θ_2 são, respectivamente, a componente real e imaginária de Θ . Vale ressaltar que $a_g = \left(\frac{\omega \rho_g c_g}{2 \kappa_g}\right)^{1/2}$ está diretamente ligada, por meio de um termo exponencial, à temperatura do gás da célula. Ou seja, um aumento da densidade e do calor específico bem como uma redução da condutividade térmica do gás presente na célula pode diminuir a influência da temperatura na vizinhança da amostra.

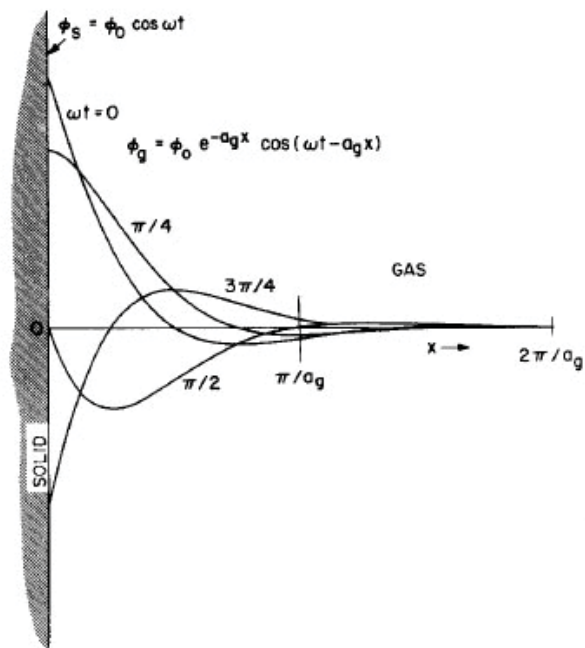


Figura 3.7. Distribuição da temperatura no interior da célula (Rosencwaig A. and Gersho A., 1976).

O peso do termo exponencial é tal que a uma distância $x = 2\pi/\alpha_g = 2\pi\zeta_g$ da amostra o valor da variação de temperatura é nula (Figura 3.7). Para o ar, na frequência de modulação 100 Hz essa distância é aproximadamente 0,1 cm, ou seja, acima desta distância não é observado nenhum comportamento periódico na temperatura e no fluxo de calor.

A partir destes resultados podemos concluir que, ao contrário do que antes se pensava, não ocorre uma expansão do gás como um todo. Apenas uma fina camada em torno da amostra se contrai e expande periodicamente. Ela forma uma espécie de pistão acústico que produz uma variação de pressão e esta sim se propaga pelo restante da coluna de gás até ser detectada pelo microfone (Rosencwaig A. and Gersho A., 1976).

3.2.3 Obtenção de dados

Na PAS de sólidos a amostra é colocada dentro de uma célula fechada contendo ar – ou outra espécie de gás – e um microfone sensível. No presente estudo, a amostra foi iluminada por uma lâmpada de xenônio – Xe de 150 watts de potência. A luz emitida pela lâmpada incide em um monocromador duplo de 0,2 m (modelo Spex 1680), obtendo assim uma fonte monocromática de comprimento de onda, λ , variável. Saindo do monocromador, a luz passa por um chopper com baixa frequência, 4 Hz, uma vez que o sinal fotoacústico é reduzido com o

aumento da frequência do chopper. Finalmente, a luz modulada incide sobre a amostra (Figura 3.8).

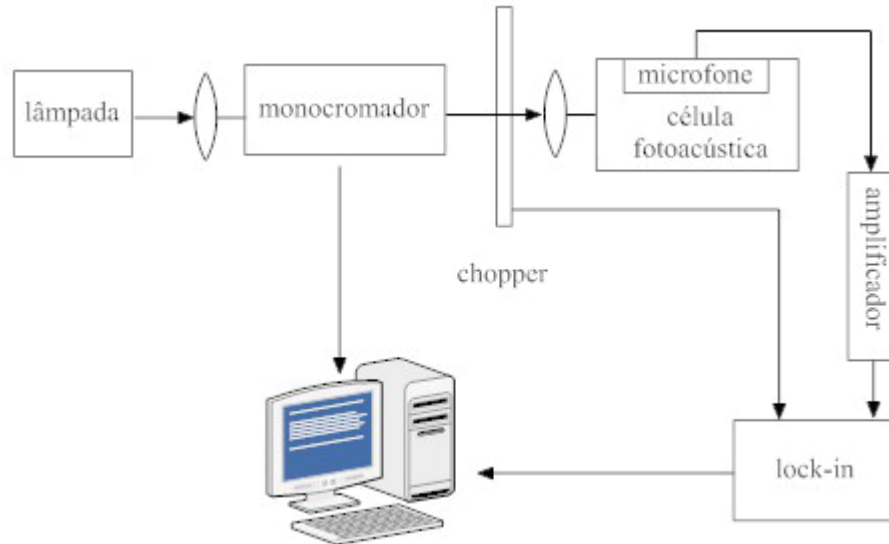


Figura 3.8: Diagrama da montagem experimental de PAS.

O som captado pelo microfone é enviado, simultaneamente com o sinal de referência do chopper, para amplificador e em seguida para o *lock in*. São ajustadas as fases e o ganho do sinal de maneira a reduzir a relação sinal ruído. Então, o sinal amplificado e ajustado pelo lock-in bem como a informação sobre o respectivo comprimento de onda são recebidos pelo sistema de aquisição de dados que traçará o espectro fotoacústico.

O sistema utilizado é de feixe único, ou seja, não possui uma saída que sirva como referência para descontar os espectros da lâmpada, monocromador, e componentes ópticos do equipamento. Portanto, antes de analisar os dados obtidos, faz-se necessário a normalização. Esta é feita dividindo o espectro obtido pelo espectro de um absorvedor negro, que absorverá de forma semelhante todo o espectro da luz incidente, retirando assim a contribuição da aparelhagem.

Para as amostras analisadas foram observadas uma faixa do espectro que vai desde o ultra-violeta próximo, $\lambda = 300 \text{ nm}$, até uma pequena faixa do infra-vermelho, $\lambda = 1000 \text{ nm}$.

3.2.4 Fotoacústica nos fluidos biocompatíveis

Apesar de em meados da década de 1960, já existir uma grande quantidade de pesquisa sobre os fluidos magnéticos e na década de 1970 a espectroscopia fotoacústica ter surgido

como uma ferramenta importante na análise de líquidos e sólidos, somente em 2002 surgiram as primeiras publicações que conciliaram a técnica com o ramo de pesquisa (Morais P.C. et al., 2002; Oliveira A.C. et al., 2002). Os trabalhos mostraram a possibilidade de se obter informações acerca da partícula magnética e suas coberturas moleculares, o que despertou o interesse da sua aplicação no estudo de fluidos biocompatíveis (Figura 3.9).

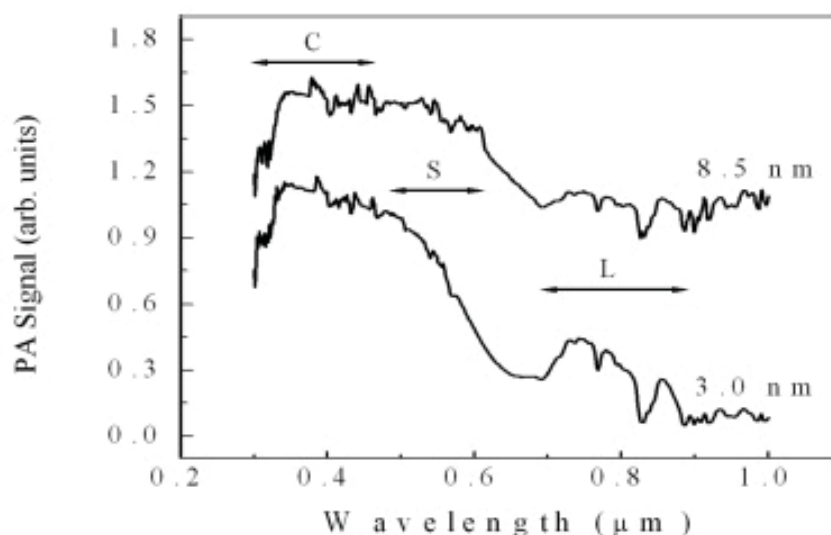


Figura 3.9: Espectro fotoacústico de amostras de magnetita cobertas com ácido cítrico com núcleos de tamanho diferente (Morais P.C. *et al.*, 2003).

Através desses estudos puderam ser identificadas três bandas de absorção que expressam características fundamentais da amostras. A Banda-C, observada entre os comprimentos de onda de 300-500 nm, está intimamente ligada à absorção da luz incidente pelo núcleo da nanopartícula, coincidindo com a região relacionada com o espectro obtido para a maioria das ferritas. Observa-se a presença de estruturas cuja dependência com o comprimento de onda é muito intensa, características típicas da absorção de semicondutores (Oliveira A.C. et al., 2002).

Já a Banda-S, em torno de 550 nm, mostrou-se relacionada com a superfície molecular formada durante o processo de síntese das nanopartículas. Essa superfície é formada por grupamentos hidroxila (-OH) que durante o processo de síntese em meio aquoso formam uma espécie de camada, ligando-se a superfície da nanopartícula.

Por último, foi identificada a Banda-L, 700-900 nm, correspondente à camada molecular estabilizante. Tal camada, como já explicado, é inserida durante a preparação do material com o objetivo de criar uma barreira física que tenda evitar a aglomeração e a conseqüente floculação da amostra de FM.

Pelo fato de ambos os componentes das Bandas S e L possuírem um mesmo sítio ligante à superfície da partícula magnética observa-se uma forte relação entre a intensidade das duas bandas. Quando um acréscimo da intensidade da Banda-S é observado simultaneamente percebe-se uma redução da intensidade da Banda-L, e vice-versa. Essa informação é de grande importância uma vez que a estabilidade e a própria funcionalidade de um FMB está estritamente ligada à capacidade manter as moléculas estabilizantes/funcionais adsorvidas ao núcleo (Avelino S.R. et al., 2006).

A possibilidade de relacionar o espectro fotoacústico com as camadas adsorvidas é uma das informações básicas para consolidar a PAS como uma técnica fundamental na produção e aplicação de fluidos magnéticos que possuam coberturas moleculares adsorvidas na superfície das nanopartículas.

3.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Na busca do entendimento da estrutura dos fluidos magnéticos a determinação do tamanho das partículas que os compõem é um fator de primordial relevância. A estabilidade coloidal, as propriedades magneto-ópticas bem como a aplicabilidade de tais materiais são profundamente dependentes do tamanho das nanopartículas. Dentre as técnicas convencionais utilizadas para a medida dos diâmetros estão o espalhamento de nêutrons, Raios-X e a Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), sendo esta última a metodologia acolhida no presente trabalho.

3.3.1 Origem da MET

A idéia de se utilizar elétrons como fonte de radiação para microscopia surgiu com a hipótese levantada pelo físico francês Maurice De Broglie. Segundo ele o comportamento dual, onda-partícula, da radiação também se aplicava à matéria. Dessa forma, de acordo com De Broglie, para uma dada partícula o comprimento de onda λ associado ao momento p é dado por (Eisberg R. and Resnick R., 1979):

$$\lambda = h/p \quad (3.22)$$

Em que $h = 6.63 \times 10^{-34} \text{ J.s}$ é a constante de Planck e $p = \sqrt{2mE_c}$, onde m é a massa da partícula e E_c a energia cinética da partícula. De onde obtemos, utilizando a expressão da energia cinética relativística para um elétron submetido a um potencial acelerador de 80 kV, um comprimento de onda em torno de $\lambda \approx 0,035 \text{ \AA}$.

A possibilidade de aumentar o poder de resolução de um microscópio óptico, de 300 nm para quase 10.000 vezes maior, suscitou, no início do século XX, o interesse por parte da comunidade científica. E em 1939 Ernst Ruska e Heinrich Rohrer desenvolveram o primeiro microscópio eletrônico de transmissão, patenteado pela Siemens, o que lhes rendeu o Nobel de física em 1986.

3.3.2 Princípios básicos do microscópio e da formação da imagem

No microscópio eletrônico de transmissão típico o feixe de elétrons é gerado por um cátodo situado no topo do aparelho. Em seguida, o feixe é colimado e acelerado em direção à amostra por uma diferença de potencial, geralmente de 60-120 KeV. Antes de atingir a amostra, que está na parte inferior do microscópio, o feixe passa por uma seqüência de lentes magnéticas que são utilizadas para direcionar e focalizá-lo. Todo esse meio que o feixe de elétrons percorre, desde a produção até o aparato fotográfico, é mantido sob alto vácuo, 10^{-5} Pa , (Damiani F. and Tatsch P.J., 2000).

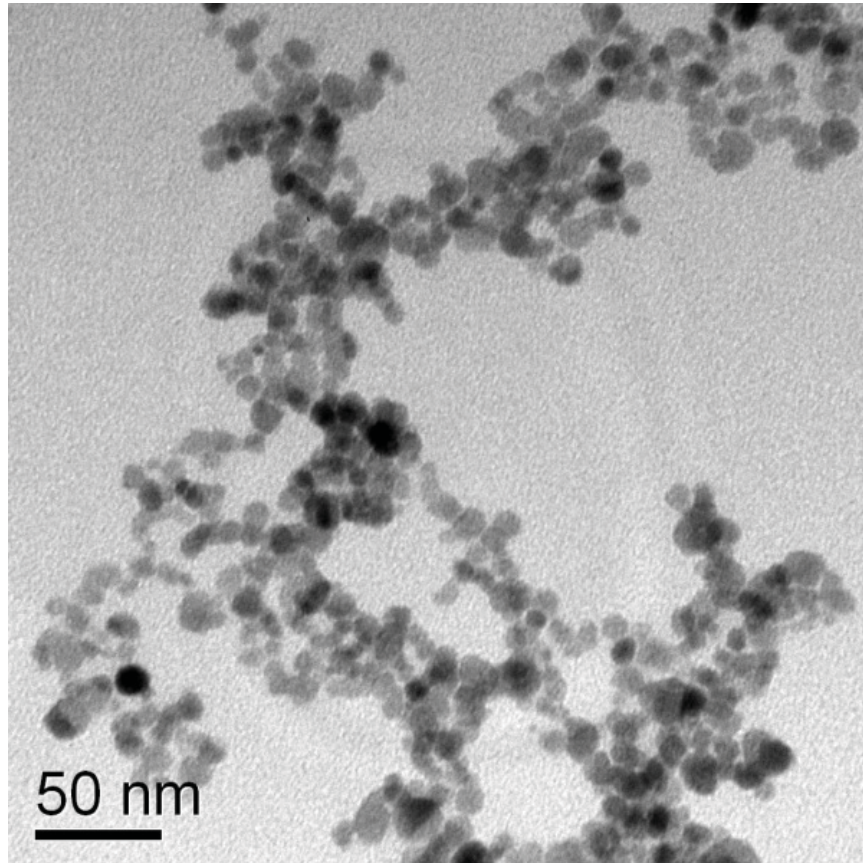


Figura 3.10: Micrografia típica de um fluido magnético

Quando o feixe incide sobre a amostra ocorre uma série de interações e fenômenos, onde os mais relevantes para a MET são: os elétrons que colidiram elasticamente, ou seja, aqueles que após o espalhamento possuem energia cinética igual àquela dos elétrons incidentes do feixe; os elétrons inelasticamente espalhados e os elétrons transmitidos. Os elétrons transmitidos atravessam a amostra e o contraste é obtido pelo efeito do espalhamento e dispersão dos elétrons que interagem com os átomos da amostra. Assim, a dispersão que será proporcional ao tamanho da partícula, faz com que os elétrons que deveriam atingir o anteparo não o façam, formando assim a imagem, Figura 3.10, (Báo S.N. and Carvalho S.M.F, 2008).

3.3.3 Distribuição dos diâmetros

A estabilidade coloidal de um fluido magnético está fortemente condicionada ao tamanho da partícula. Estas não devem se agregar, e para tanto o diâmetro deve ter uma ordem de grandeza que permita uma reversibilidade de homogeneidade mesmo quando o fluido for submetido a um gradiente de campo magnético, uma vez que submetido a um gradiente de campo magnético surgem gradientes de concentração em determinadas regiões, o que pode levar à separação do sistema em duas fases. Daí a busca por métodos que produzam fluidos com partículas de diâmetros cada vez menores e ao mesmo tempo monodispersos.

Mesmo com o contínuo desenvolvimento das técnicas de preparação dos FMs ainda não se conseguiu produzir fluidos monodispersos para uma variedade de materiais e em quantidades apreciáveis para as aplicações. Os fluidos magnéticos atualmente produzidos são polidispersos, necessitando portanto de um ajuste estatístico para a descrição de sua polidispersidade. Convencionalmente, esse ajuste é realizado através de uma distribuição log-normal caracterizada por um diâmetro modal D_M e sua dispersão σ , dada por:

$$P(D) = \frac{\exp(-2\sigma^2)}{D\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot \exp\left[\frac{-\ln^2(D/D_M)}{2\sigma^2}\right], \quad (3.23)$$

sendo a curva ajustada ao histograma feita a partir da contagem das partículas visualizadas com as micrografias feitas no MET (Berkovski, 1996). Para o cálculo desses dois parâmetros é assumido o diâmetro geométrico com partículas esféricas, sendo importante o uso de no mínimo 1000 contagens por amostra.

Capítulo 4

Amostras e procedimentos preliminares

Os FMBs podem ser ferramentas de grande valia nas mais diversas áreas da biomedicina. Mas, para otimizar a sua aplicação alguns processos necessitam ser melhor entendidos. A fim de estudar as mudanças decorrentes da diluição e do conseqüente envelhecimento das amostras pós-diluição foram utilizadas três amostras com características semelhantes. Cada amostra teve seu manejo adequado à sua utilização.

Este capítulo é dedicado às amostras, seu manejo e obtenção de características essenciais à análise das técnicas de BME e espectroscopia fotoacústica.

4.1 Amostras

Neste trabalho foram utilizadas três amostras de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$), produzidas pela professora Emília Lima do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás (UFG), pelo método de coprecipitação. O seu preparo e estabilização foram realizados de modo a obter FMs em solução salina de cloreto de sódio a 0,9% e pH 7. Esses valores de salinidade e pH foram escolhidos de maneira a se assemelhar com os valores encontrados no sangue humano. Todas as amostras foram recobertas com DMSA, mas com concentrações de surfactantes (*grafting*) diferentes.

As três amostras foram denominadas de DMSA1, DMSA2 e DMSA3 e a solução original de cada uma possuía, respectivamente, uma concentração de $1,0 \times 10^{16}$, $1,7 \times 10^{16}$ e $1,7 \times 10^{16}$ partículas por centímetro cúbico. Além da concentração, anteriormente às medidas realizadas no trabalho, foi quantificado o grau de adsorção de surfactante à superfície das nanopartículas – *grafting*, ξ . Durante o processo de quantificação por espectroscopia de infravermelho com transformada de *Fourier* acoplada à técnica de *reflexão total atenuada* (FTIR-ATR) observou-se que a amostra DMSA1 possuía o menor *grafting* enquanto a amostra DMSA3 detinha o maior. Ou seja, $\xi_1 < \xi_2 < \xi_3$ (Tabela 4.1).

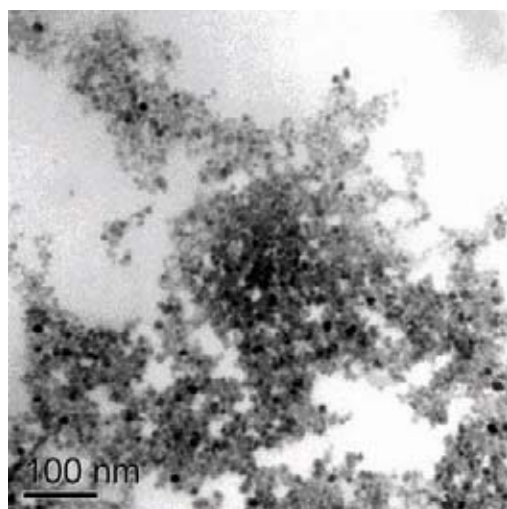
Tabela 4.1: Características preliminares das amostras

Amostra	Concentração (<i>part./cm</i> ³)	<i>Grafting</i> relativo (ξ)
DMSA1	$1,0 \times 10^{16}$	Menor
DMSA2	$1,7 \times 10^{16}$	Médio
DMSA3	$1,7 \times 10^{16}$	Maior

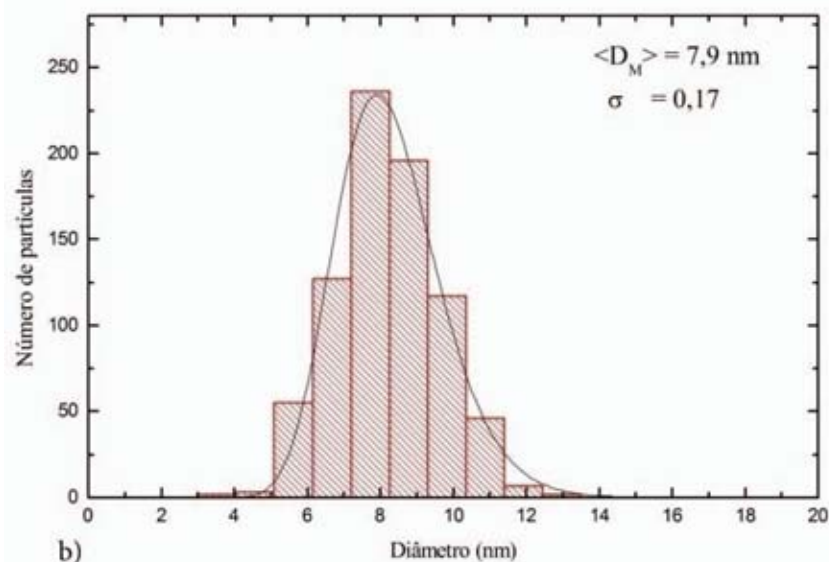
Tais informações são de grande valia para o trabalho em questão, mas não suficientes para a análise aqui realizada, sendo necessária ainda a obtenção dos valores dos diâmetros e suas dispersões.

4.1.1 Diâmetros e dispersões

Para complementar a descrição das amostras foram realizadas medidas de microscopia eletrônica de transmissão. A partir destas medidas foram calculados, usando o modelo explicitado na seção 3.3.3 do capítulo anterior, o diâmetro modal e sua dispersão (Figuras 4.1, 4.2 e 4.3).

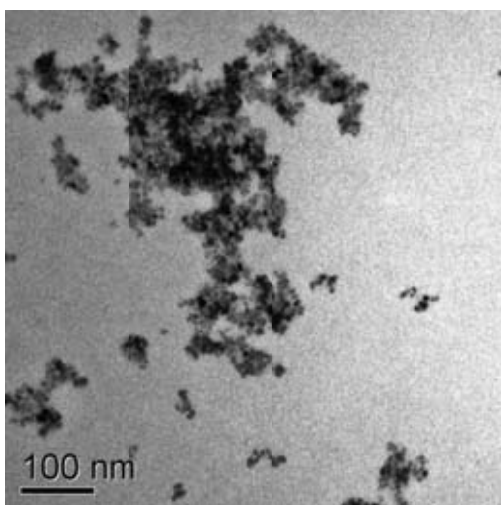


a)

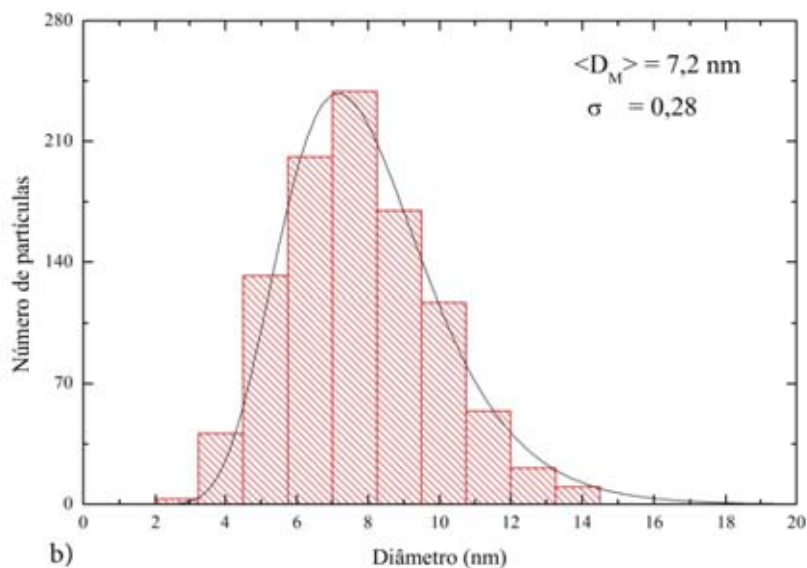


b)

Figura 4.1: (a) micrografia da amostra DMSA1; (b) histograma da contagem da amostra DMSA1, em que a curva representa ajuste de acordo com o modelo.

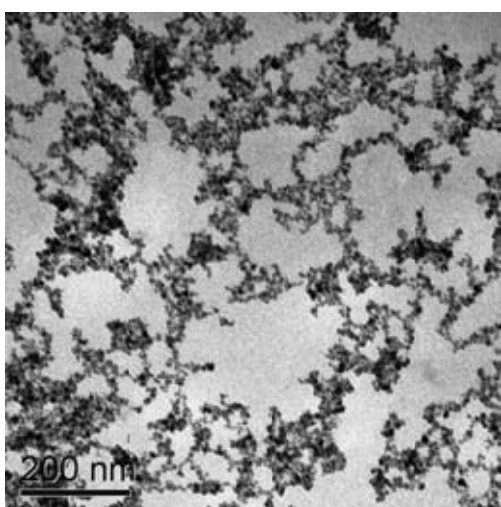


a)

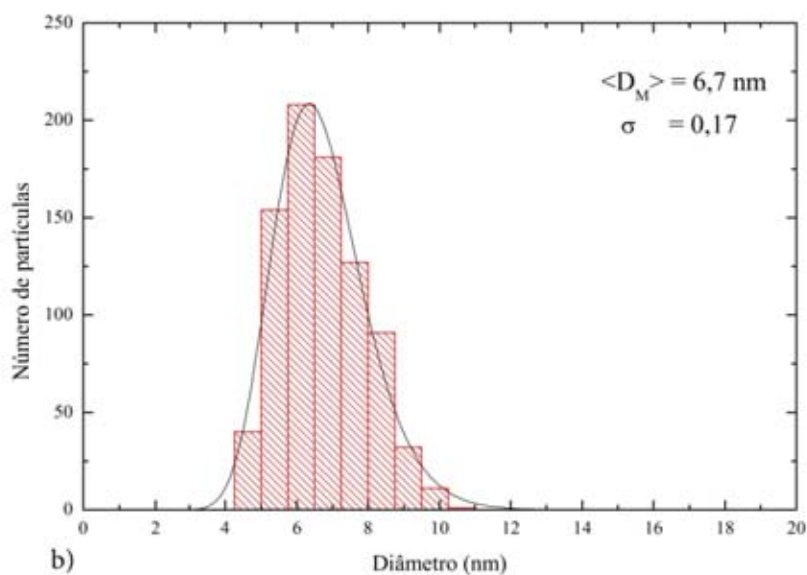


b)

Figura 4.2: (a) micrografia da amostra DMSA2; (b) histograma da contagem da amostra DMSA2, em que a curva representa ajuste de acordo com o modelo.



a)



b)

Figura 4.3: (a) micrografia da amostra DMSA3; (b) histograma da contagem da amostra DMSA3, em que a curva representa ajuste de acordo com o modelo.

Dessa forma, obtemos um conjunto de informações para as amostras originais que serão os pontos de partida para as análises dos dados de birrefringência e fotoacústica, dispostos na Tabela 4.2.

Tabela 4.2: Características básicas das amostras estudadas.

Amostra	Diâmetro (nm) < D_M >	Dispersão (σ)	Concentração ($part./cm^3$)	<i>Grafting</i> relativo (ξ)
DMSA1	7,9	0,17	$1,0 \times 10^{16}$	Menor
DMSA2	7,2	0,28	$1,7 \times 10^{16}$	Médio
DMSA3	6,7	0,17	$1,7 \times 10^{16}$	Maior

4.2 Diluições

A partir das amostras principais foram feitas diluições a fim de se analisar como se dá o reequilíbrio do sistema, a priori estável, com a mudança de concentração de partículas e dispersantes. Para esse fim as amostras foram diluídas utilizando água pura -destilada e deionizada- como solvente.

As amostras iniciais foram diluídas de maneira a gerar dois conjuntos de amostras: um utilizado na fotoacústica e outro na BME. O primeiro conjunto foi formado por meio da diluição das três amostras originais na proporção 1:4, ou seja, para uma parte de fluido foram acrescentadas três partes de água (Tabela 4.3). No segundo, o da birrefringência, foram utilizadas as duas primeiras amostras (DMSA1 e DMSA2) diluídas a 1:4 e ainda a diluição 1:2 e 1:6 para a amostra DMSA1 (Tabela 4.4). A fim de facilitar a identificação foram atribuídos novos nomes às amostras como mostrado nas tabelas.

Tabela 4.3: Amostras utilizadas nas medidas de fotoacústica.

Amostra	Diluição	Diâmetro (nm) < D_M >	Dispersão (σ)	Concentração ($part./cm^3$)
DMSA1b	1:4	7,9	0,17	$2,5 \times 10^{15}$
DMSA2b	1:4	7,2	0,28	$4,25 \times 10^{15}$
DMSA3b	1:4	6,7	0,17	$4,25 \times 10^{15}$

Tabela 4.4: Amostras utilizadas nas medidas de birrefringência.

Amostra	Diluição	Diâmetro (nm) < D_M >	Dispersão (σ)	Concentração ($part./cm^3$)
DMSA1a	1:2	7,9	0,17	5×10^{15}
DMSA1b	1:4	7,9	0,17	$2,5 \times 10^{15}$
DMSA1c	1:6	7,9	0,17	$1,67 \times 10^{15}$
DMSA2b	1:4	7,2	0,28	$4,25 \times 10^{15}$

Tais diluições visam observar o comportamento das bandas S e L com o tempo por meio da técnica de espectroscopia fotoacústica. A formação de agregados e a estabilidade coloidal em função de diluições diferentes e do tempo foram avaliadas usando-se a birrefringência magnética estática.

Capítulo 5

Resultados e discussões

Neste capítulo serão expostos os resultados das medidas de birrefringência e fotoacústica bem como as suas respectivas análises. Todos os dados aqui apresentados seguiram a rotina experimental apresentada nos capítulos anteriores. Os resultados experimentais foram discutidos levando-se em conta os modelos anteriormente descritos.

5.1 Análise dos resultados de birrefringência

Como exposto anteriormente, duas metodologias foram utilizadas para a análise dos dados de birrefringência magnética estática (BME). Uma, utilizando-se diluições e, conseqüentemente, concentrações diferentes da amostra DMSA1; outra, utilizando-se as duas amostras, DMSA1 e DMSA2, em uma mesma diluição em função do tempo.

5.1.1 Análise via concentrações

Utilizando-se as três diluições da amostra DMSA1, do conjunto de amostras da Tabela 4.4, e a metodologia já descrita previamente, foram realizadas as medidas de BME (Figura 5.1). Os dados da amostra DMSA1b foram omitidos para permitir uma melhor visualização na Figura 5.1, já que seus valores se apresentam entre os dados das amostras DMSA1a e DMSA1c.

A partir do ajuste dos dados usando o modelo previamente descrito (seção 3.1.2) foi possível obter a contribuição ao sinal de birrefringência decorrente da presença de monômeros e de aglomerados presentes na amostra (Figura 5.2).

Também foram estimados os valores da aglomeração e suas dispersões para as três amostras. A amostra DMSA1a apresentou $\langle Q \rangle = 4,3$ e $\sigma_Q = 0,45$ enquanto ambas DMSA1b

e DMSA1c, apresentaram valores de $\langle Q \rangle = 4$, mas com diferentes dispersões: $\sigma_Q = 0,38$ e $\sigma_Q = 0,32$, respectivamente.

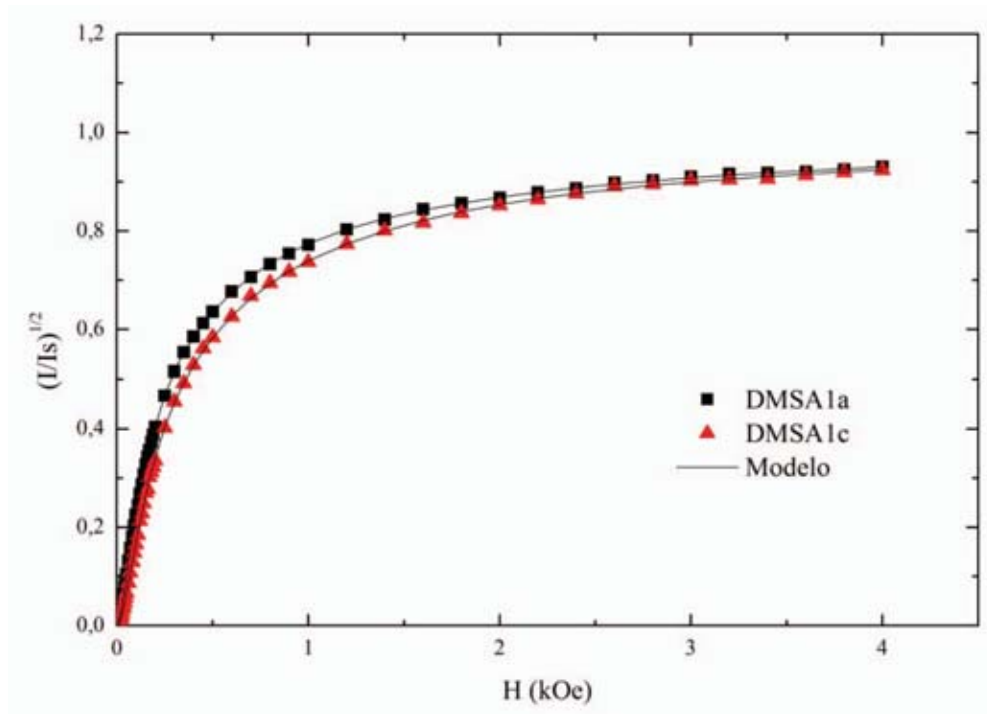


Figura 5.1: Sinal de birrefringência normalizado para a amostras DMSA1a e DMSA1c. Onde os símbolos representam dados experimentais e as linhas o ajuste segundo o modelo.

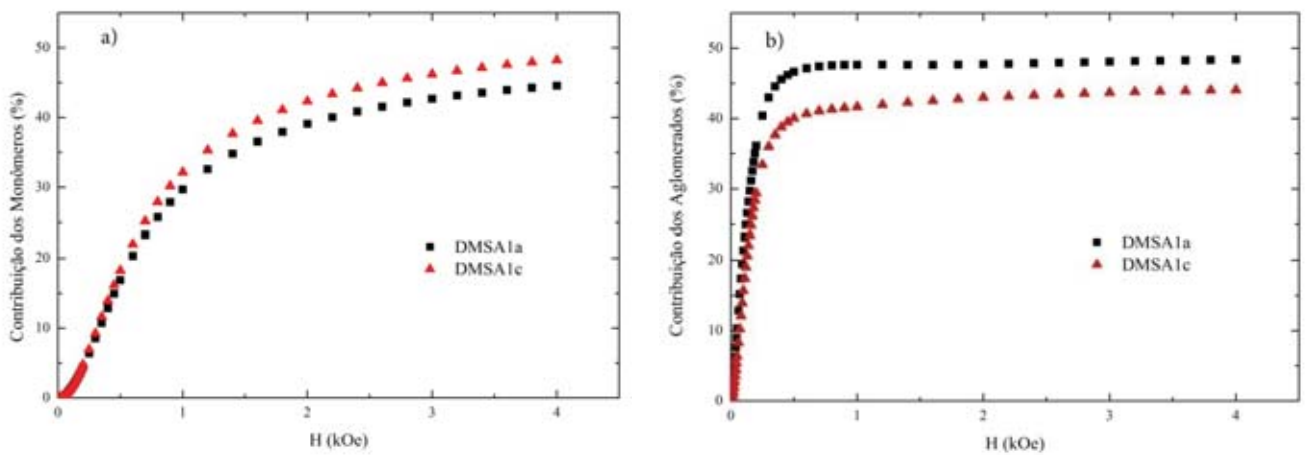


Figura 5.2: Contribuição ao sinal de BME relativa aos monômeros (a) e aglomerados (b) para as diluições da amostra DMSA1.

Tais dados indicam que, pelo menos no intervalo analisado, com o aumento da diluição ocorre uma redução na aglomeração e na sua dispersão. Apesar de ser reduzida a quantidade de surfactante, devido a diluição ter sido realizada com água pura, a redução da concentração

de partículas foi suficiente para aumentar a distância entre elas o que possibilitou uma redução da aglomeração e uma redução da dispersão dos clusters, ocasionando, portanto, um aumento na contribuição dos monômeros ao sinal total, como anteriormente descrito (Oliveira F.M.L. *et al.*, 2006).

5.1.2 Análise temporal

Nesta fase de medidas foram utilizadas as amostras DMSA1b e DMSA2b. As amostras foram submetidas a campo, necessário à medida, no dia da diluição- Dia-0- sendo a mesma amostra dois dias após re-submetida a campo- Dia-2- e, de forma análoga, cinco dias após a primeira medida- Dia-5.

Assim como na seção anterior, os dados do Dia-2, Figuras 5.3 e 5.4, foram omitidos pelo fato de seus valores estarem entre as duas curvas apresentadas.

O conjunto de dados foi agrupado de duas maneiras distintas com o objetivo de facilitar a análise. Nas Figuras 5.3 e 5.4 os dados foram agrupados por amostra, ou seja, os dados foram organizados de forma a mostrar características do envelhecimento das amostras. Entretanto, nas Figuras 5.5 e 5.6 mostra-se a comparação das duas amostras dia a dia, avaliando-se, assim, as possíveis diferenças decorrentes da modificação do *grafting* de cada amostra.

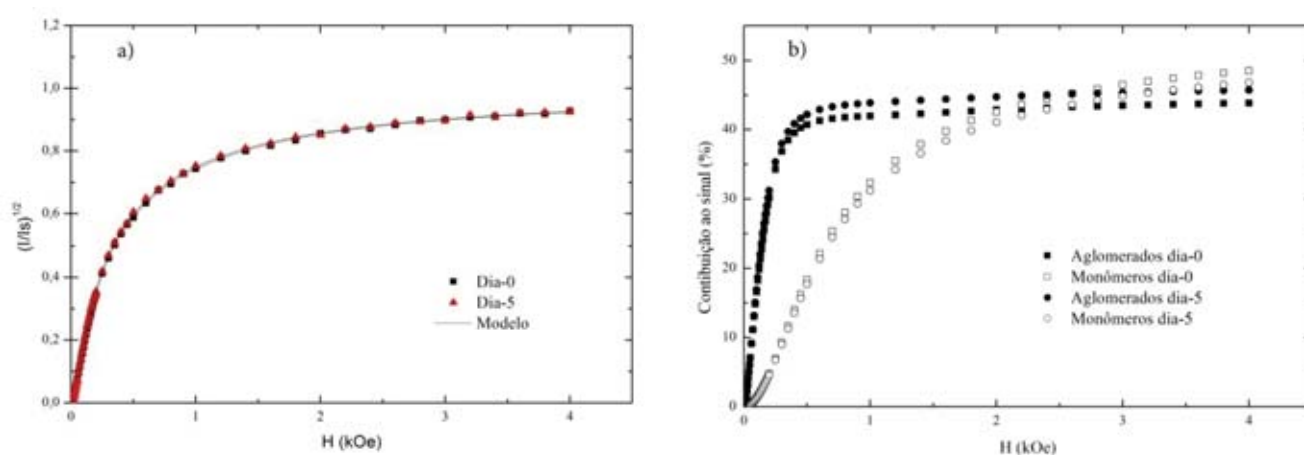


Figura 5.3: (a) Sinal de birrefringência normalizado para a amostra DMSA1b nos Dia-0 e Dia-5. Onde os símbolos representam dados experimentais e as linhas o ajuste segundo o modelo. (b) contribuição dos aglomerados e monômeros ao sinal de birrefringência da amostra DMSA1b nos dias Dia-0 e Dia-5.

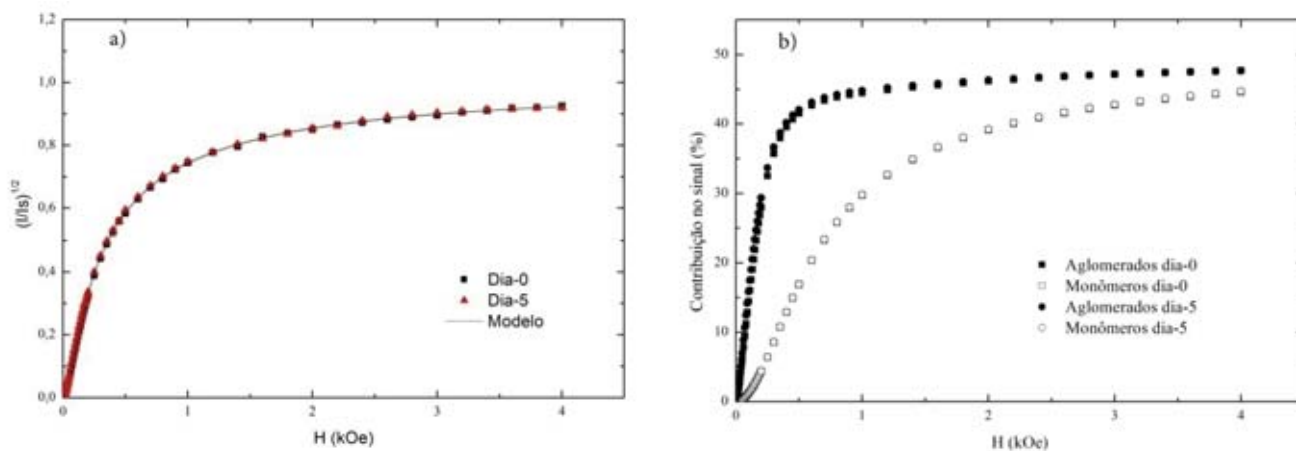


Figura 5.4: (a) Sinal de birrefringência normalizado para a amostra DMSA2b nos Dia-0 e Dia-5. Onde os símbolos representam dados experimentais e as linhas o ajuste segundo o modelo. (b) contribuição dos aglomerados e monômeros ao sinal de birrefringência da amostra DMSA2b nos dias Dia-0 e Dia-5.

Com o passar do tempo foi observada uma pequena mudança na contribuição do sinal dos aglomerados e, conseqüentemente, das partículas para o sinal total da birrefringência para a amostra DMSA1b. Já para amostra DMSA2b percebeu-se um comportamento praticamente idêntico durante as medidas realizadas em tempos diferentes.

Os dados obtidos por meio do ajuste da função $P(Q)$ indicam que o número modal de aglomerados manteve-se constante durante o período de medição para as duas amostras $\langle Q \rangle = 4$ para a DMSA1b e $\langle Q \rangle = 2$ para a DMSA2b. Nas dispersões houve uma pequena mudança: a amostra DMSA1b apresentou uma modesta redução de $\sigma_Q = 0,38$ para $\sigma_Q = 0,36$ enquanto para amostra DMSA2b observou-se um pequeno acréscimo de $\sigma_Q = 0,59$ para $\sigma_Q = 0,62$.

Esses resultados corroboram a hipótese de que a influência da diluição na formação de aglomerados é praticamente instantânea, como indicado pela constância apresentada com relação ao número de aglomerados. Assim, a mudança em $\langle Q \rangle$ deve ocorrer imediatamente após a diluição, num intervalo de tempo menor que o decorrido entre a diluição e a primeira medida. Essa estabilidade observada no sinal da birrefringência e nos parâmetros referentes à agregação, para até cinco dias após a diluição, mostra-se de grande importância para as aplicações biológicas. Uma vez que, nas aplicações biomédicas, o fluido é automaticamente dilu-

ido, quando da sua entrada no sistema circulatório do paciente. Sendo, portanto, fundamental a estabilidade para se ter uma boa eficiência do tratamento.

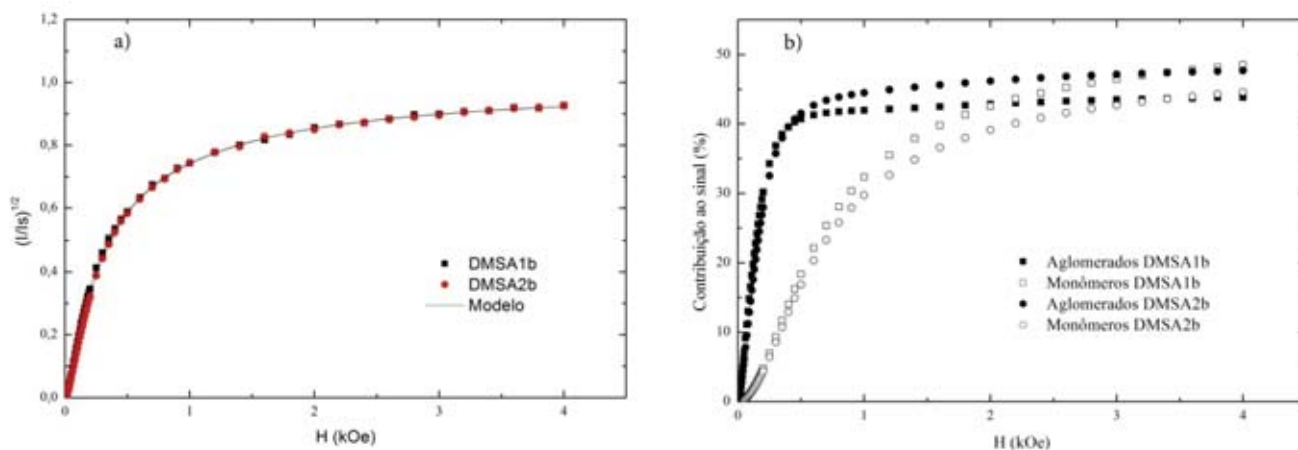


Figura 5.5: (a) Sinal de birrefringência normalizado para a amostra DMSA1b e DMSA2b no Dia-0. Onde os símbolos representam dados experimentais e as linhas o ajuste segundo o modelo. (b) contribuição dos aglomerados e monômeros ao sinal de birrefringência da amostra DMSA1b e DMSA2b no Dia-0.

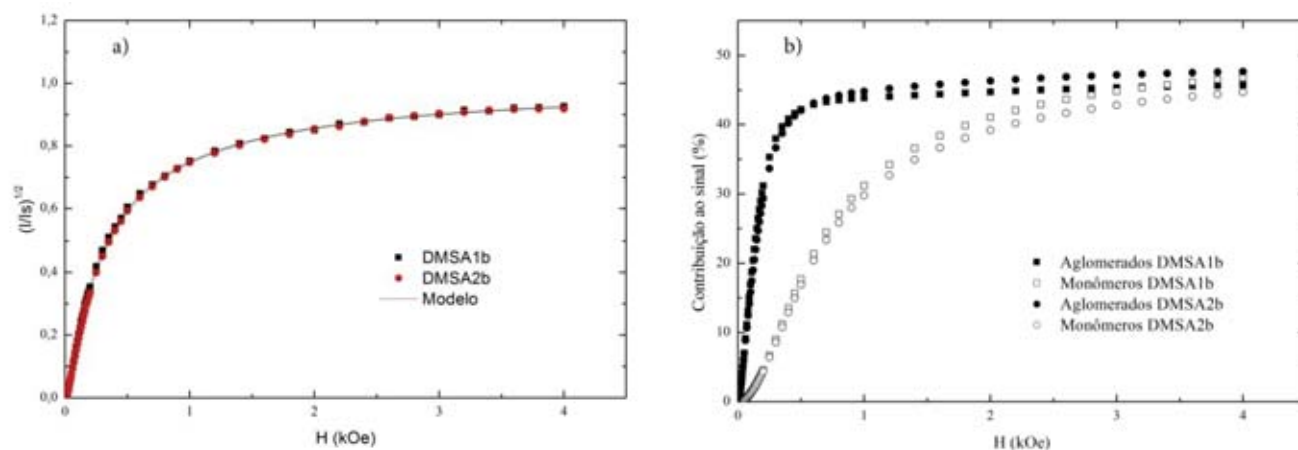


Figura 5.6: (a) Sinal de birrefringência normalizado para a amostra DMSA1b e DMSA2b no Dia-5. Onde os símbolos representam dados experimentais e as linhas o ajuste segundo o modelo. (b) contribuição dos aglomerados e monômeros ao sinal de birrefringência da amostra DMSA1b e DMSA2b no Dia-5.

Por outro lado, se fizermos uma comparação entre as amostras, como o realizado nas Figuras 5.5 e 5.6, e tomarmos os parâmetros $\langle Q \rangle$ e σ_Q já apresentados, é possível observar o efeito do *grafting*. A amostra DMSA1b, cuja amostra “mãe” possui menor *grafting* que a

amostra “mãe” da DMSA2b, apesar da estabilidade de $\langle Q \rangle$ no intervalo analisado, apresentou um grau de aglomeração maior que a amostra DMSA2b, como é mostrado no gráfico das funções $P(Q)$ referentes às medidas do Dia-5 (Figura 5.7).

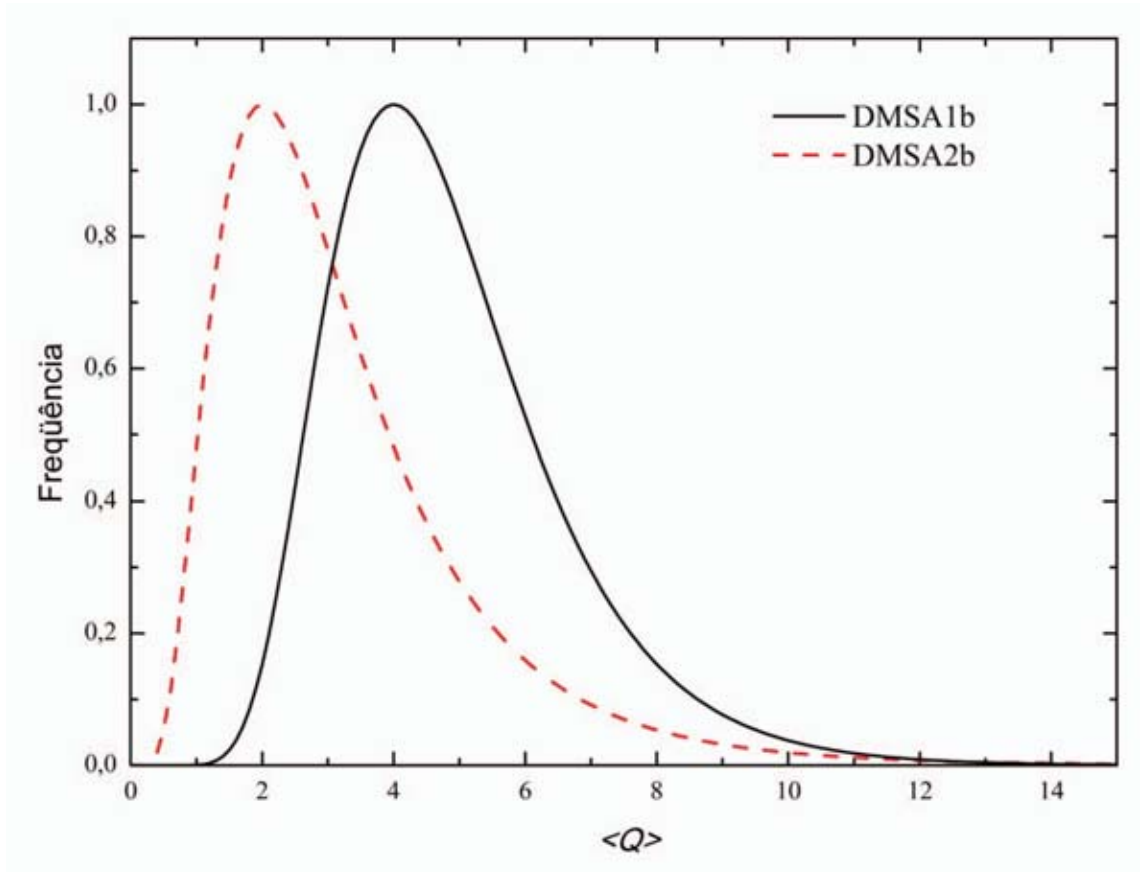


Figura 5.7: Gráfico da função $P(Q)$ gerada a partir do ajuste dos dados birrefringência das amostras DMSA1b e DMSA2b, no Dia-5.

5.2 Análise dos resultados de fotoacústica

Nas medidas dos espectros fotoacústicos foram utilizadas as amostras diluídas DMSA1b, DMSA2b e DMSA3b (Tabela 4.3). Foram medidos os espectros nos dias da diluição- Dia 0-, dois dias após- Dia 2-, cinco dias após- Dia 5-, oito dias após- Dia 8-, quinze dias após- Dia 15-, trinta dias após- Dia 30- e quarenta após dias-Dia 40- a diluição. Os espectros podem ser vistos nas Figuras 5.8, 5.9 e 5.10.

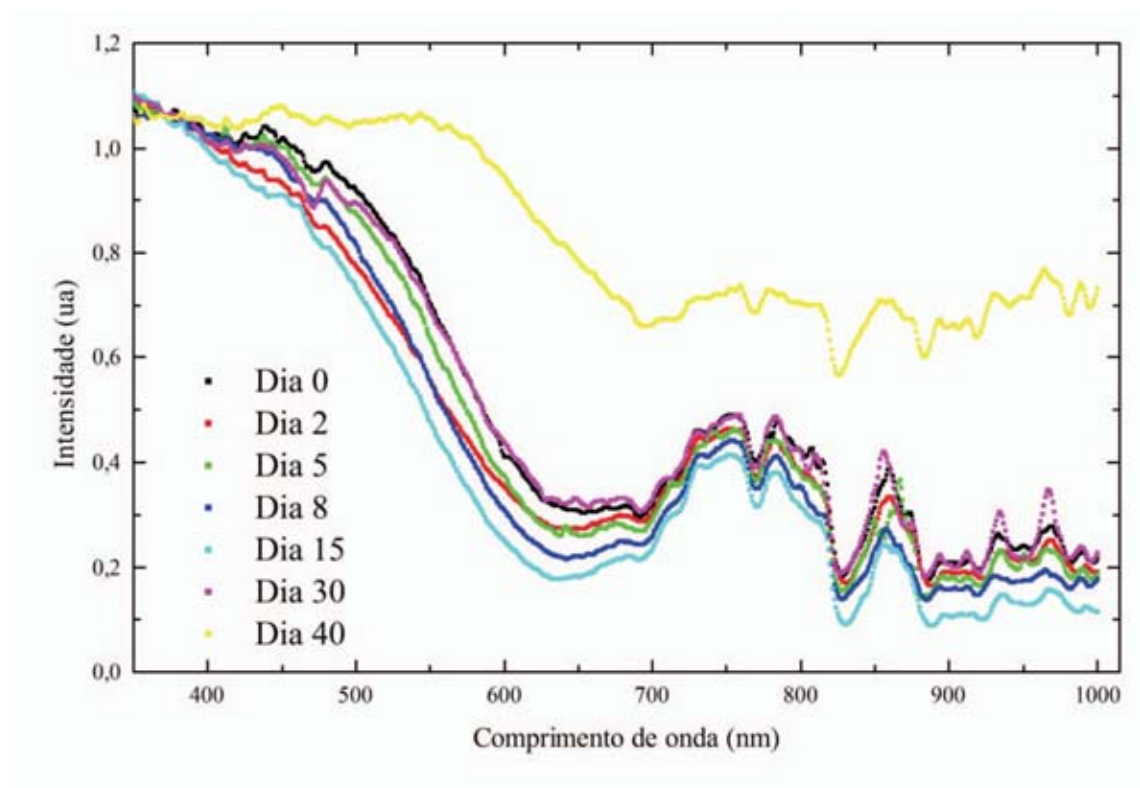


Figura 5.8: Espectros fotoacústicos da amostra DMSA1b nos vários dias após a diluição.

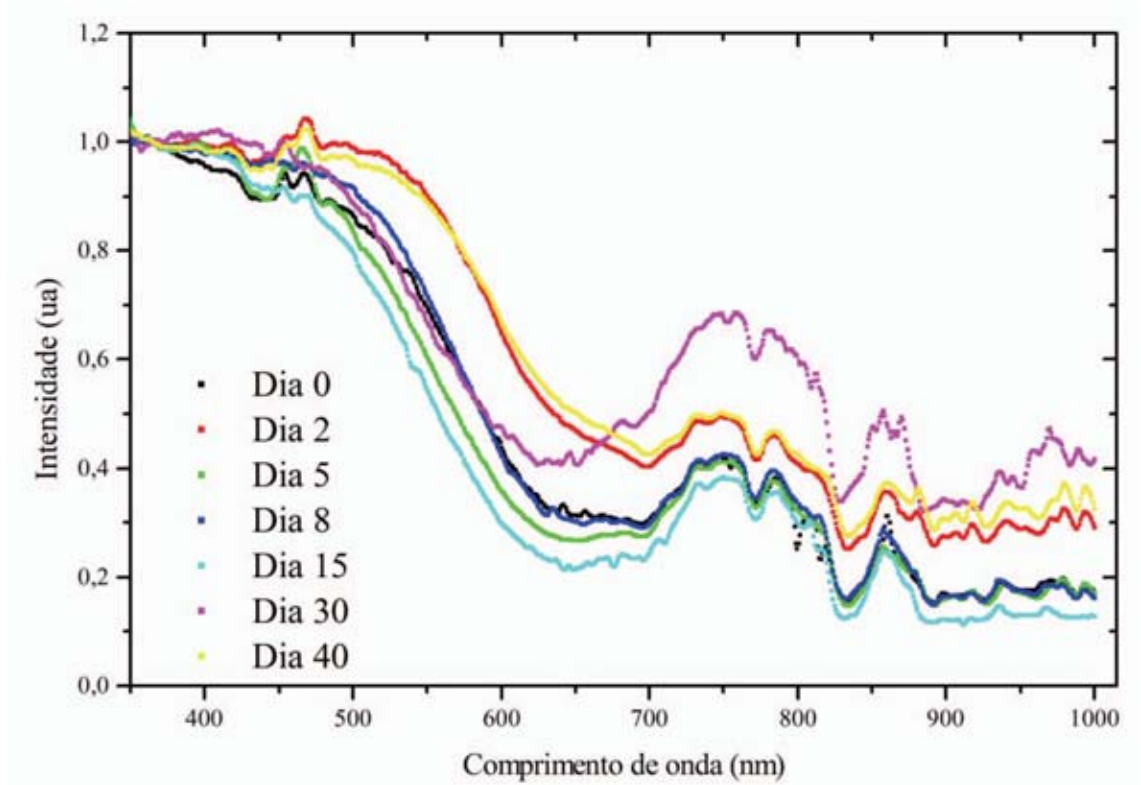


Figura 5.9: Espectros fotoacústicos da amostra DMSA2b nos vários dias após a diluição.

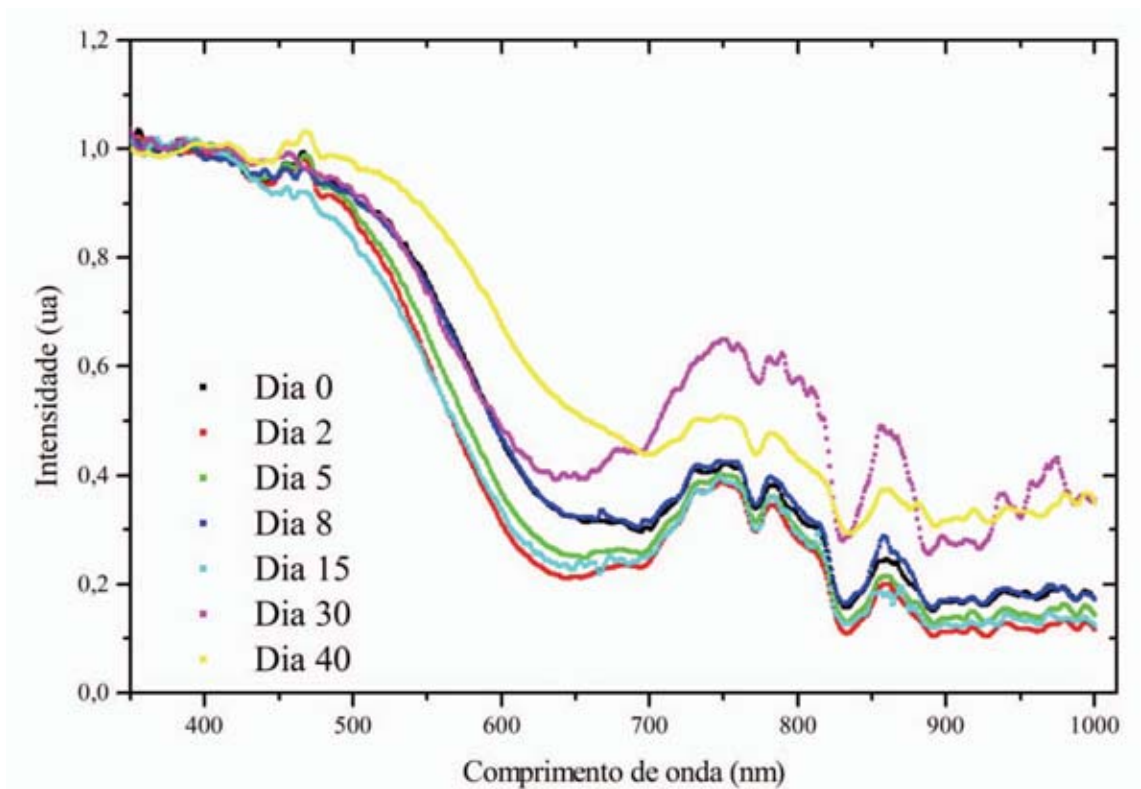


Figura 5.10: Espectros fotoacústicos da amostra DMSA3b nos vários dias após a diluição.

Como descrito na literatura (Oliveira A. C. et al., 2002; Morais P.C. et al., 2003 e Avelino S.R et al., 2006) e já exposto anteriormente (seção 3.2.4) os espectros fotoacústicos dos fluidos magnéticos biocompatíveis podem ser avaliados em três bandas: Banda-C, Banda-S e Band-L. Como nenhuma mudança na Banda-C (a banda do núcleo) é esperada com a diluição o foco de nossa discussão serão as bandas S e L.

Considerando a Banda-S como sendo a região do espectro com λ entre 450 e 550 nm e a Banda-L com λ entre 700 e 900 nm foram avaliadas as áreas sob as curvas. Ou seja, para cada espectro foram calculadas as áreas sob as regiões correspondentes a Banda-S e a Banda-L. A partir dos valores obtidos e sabendo que os sítios de ligação da ferrita podem ser ocupados tanto pela hidroxila, *OH* quanto pela extremidade ligante do DMSA -na maioria das vezes o grupamento carboxila, *COOH*, (Fauconnier N. et al., 1997) - foi calculada a intensidade relativa de absorção das duas bandas observadas e seus dados foram normalizados a 0,5 no Dia 0, para facilitar a interpretação (Figura 5.11).

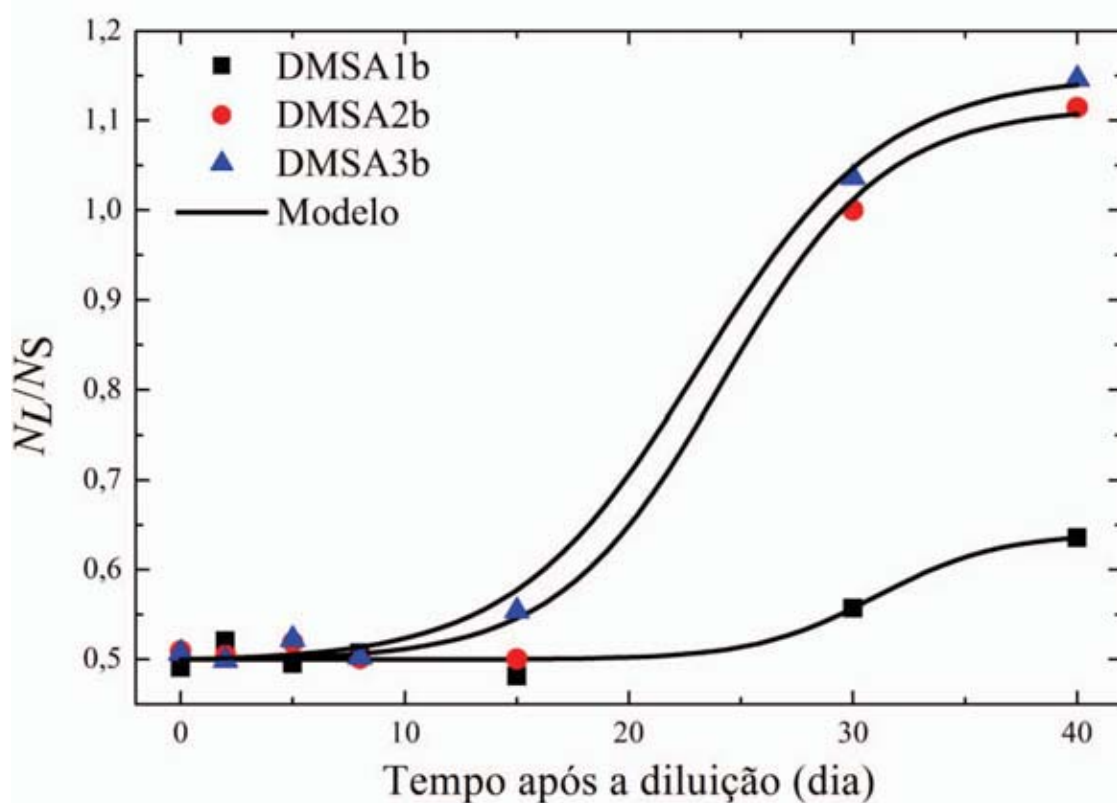


Figura 5.11: N_L/N_S em função do tempo para as DMSA1b, DMSA2b e DMSA3b. Onde os símbolos referem-se às razões calculadas e as curvas sólidas foram ajustadas segundo o modelo proposto

Dessa forma, podemos avaliar um coeficiente de *grafting* da superfície, N , dos grupos ligados, hidroxila (N_S) e carboxila (N_L), por meio da razão entre as intensidades correspondentes às bandas L e S, isto é:

$$\frac{N_L}{N_S} = \frac{AuL}{AuS} \quad (5.1)$$

Sendo AuL é a área sob a Banda-L e AuS é a área sob a Banda-S.

Antes da diluição a população relativa das moléculas adsorvidas na superfície é determinada por equilíbrio estabelecido durante o processo de surfactação. Quando a amostra é diluída, este equilíbrio é rompido e a amostra passa por uma situação de instabilidade. Como consequência o sistema tende a se reorganizar a fim de obter um novo equilíbrio.

No presente caso, assumimos que a força responsável pelo restabelecimento da condição de estabilidade é o gradiente de pressão osmótica entre a solução (π_B) e as coberturas das partículas (π_L, π_S). Dessa forma, propusemos um modelo simples que seja capaz de estimar a variação das moléculas adsorvidas devido aos gradientes de pressão osmótica $\{(\pi_L - \pi_B) - (\pi_S - \pi_B)\}$. Assim, a variação do número relativo de hidroxilas ligadas à partícula com relação ao tempo pode ser dada por

$$\frac{dN_S}{dt} = - \frac{(N_S - N_L)}{\tau} \quad (5.2)$$

Onde τ é o tempo característico para se obter um novo equilíbrio após a diluição. Resolvendo a equação, obtemos:

$$\frac{N_L}{N_S} = B + (T - B) \left\{ 1 + \exp \left[\frac{-(t-t_0)}{\tau} \right] \right\}^{-1} \quad (5.3)$$

Onde B e T são respectivamente os limites assintóticos inferiores e superiores e t_0 é o tempo para o qual a razão N_L/N_S é a metade da diferença entre os limites.

De acordo com os resultados obtidos, subte-se que com o passar do tempo uma maior quantidade de sítios ligantes das partículas está sendo ocupada pelos grupos carboxila. Tal processo poderia ser descrito como a saída das de *OH* em detrimento da ligação dos

COOH nos sítios passíveis de ligação com a nanopartícula. Entretanto, do processo de diluição é esperado uma redução da densidade de ambos os tipos de moléculas adsorvidas na superfície.

A solução proposta para resolver essa aparente incongruência é que há uma redução de ambas as espécies moleculares. A diferença de adsorção seria, então, devida ao aumento das ligações do segundo grupamento carboxila da molécula de DMSA. Ou seja, alguns dos sítios que antes eram ocupados por hidroxilas passariam a ser ocupados com a segunda extremidade da molécula surfactante. Implicando, portanto, em uma redução de ambas as espécies moleculares, mas a razão N_L/N_S aumentaria devido ao aumento da quantidade de moléculas de DMSA duplamente adsorvidas (Figura 5.12).

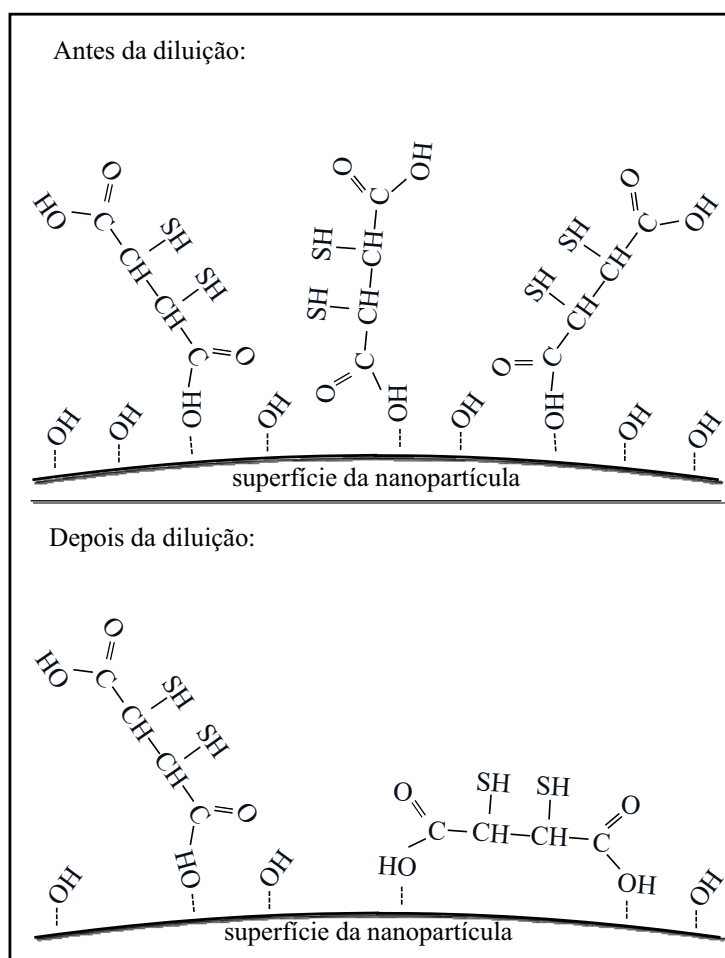


Figura 5.12: Modelo de ligação molecular na superfície da nanopartícula.

Capítulo 6

Conclusões e Perspectivas

Nesse trabalho foram utilizadas as técnicas de Birrefringência Magnética Estática, Espectroscopia Fotoacústica e Microscopia Eletrônica de Transmissão, esta última como suporte às demais técnicas, com intuito de estudar a influência da diluição e a evolução temporal, pós-diluição, das amostras de fluidos magnéticos biocompatíveis. Foram utilizadas amostras de maghemita recoberta com DMSA com *grafting* diferentes entre si.

Pode se concluir a partir da técnica de birrefringência que:

- Para o conjunto de amostras DMSA1 o aumento da diluição, na escala estudada, implicou na redução do número modal de aglomerados, $\langle Q_M \rangle$, e da sua dispersão σ_Q . Esse resultado é decorrente da menor concentração de partículas e o conseqüente aumento da distância entre elas;
- Pouca mudança ocorreu com o passar do tempo com relação ao número de aglomerados e sua dispersão. Esse resultado nos leva a crer que a mudança da granulidade da amostra com a diluição ocorre quase que imediatamente após a diluição;
- Foi observada uma estabilidade tanto das propriedades magnéticas do fluido quanto dos parâmetros relacionados à sua agregação ($\langle Q_M \rangle$ e σ_Q). Isto nos mostra uma propriedade importante da amostra, do ponto de vista de aplicações biológico, e abre a possibilidade de se estimar um período no qual as propriedades magnéticas são conservadas
- Para as duas amostras com *grafting* diferentes, usadas nas medidas de BME, observou-se um $\langle Q_M \rangle$ maior para a amostra com menor grau de adsorção. Mostrando o fato de que uma maior cobertura gera um melhor desempenho do mecanismo de repulsão e um menor grau de aglomeração.

Pode-se concluir a partir da técnica de fotoacústica que:

- Foi observado um comportamento sigmoidal na razão entre a absorção das Bandas L e S para as três amostras analisadas. Esse resultado possibilitou a proposição de um modelo simplificado para tal comportamento, levando em conta o gradiente de pressão osmótica gerado no momento da diluição;
- Para explicar o comportamento sigmoidal foi levantada a hipótese de que há uma perda de adsorção dos dois tipos moleculares (OH^- e $COOH^-$). Porém, devido a existência de dois grupamentos carboxila na molécula de DMSA ocorre a ligação do segundo grupo, deslocando a relação de sítios ligados, N_L/N_S , para valores maiores.

E ainda pela microscopia eletrônica de transmissão

- Observou-se que as amostras possuíam diâmetros pequenos (6,7 a 7,9 nm) e uma polidispersão de com valores menores que $\sigma_Q \leq 0,28$. Características essas fundamentais para estabilidade coloidal e para a aplicabilidade biológica.

Como perspectivas futuras a este trabalho sugerimos:

- O estudo com amostras recobertas com outro surfactante para a comparação com os dados obtidos via espectroscopia fotoacústica e com o modelo proposto, bem como o uso de várias diluições de uma mesma amostra;
- Na investigação via BME, assim como na fotoacústica, é aconselhável o uso de mais amostras com características semelhantes as das amostras aqui estudadas, porém com diferentes espécimes surfactantes. Também é interessante modificar a rotina de medição de maneira tal que as amostras sejam submetidas a campo uma única vez.

Referências

Avelino S.R., Oliveira F.M.L., Oliveira A.C., Morais P.C. 2006. Use of the photoacoustic spectroscopy in the investigation of the dilution process in surface-coated nanoparticles. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 2006, Vol. 352, (3692-3696).

Bacri J. C., Perzynski R., Salin D., Cabuil V., Massart R. 1986. Magnetic Colloidal Properties of Ionic Ferrofluids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 1986, Vol. 62, (36-46).

Bacri J. C., Persynski R. 1996. Magnetic Fluids and Applications Handbook. Berkovski B. (editor in chief). *Magnetic Fluids and Applications Handbook*. Paris : Begell house, inc, 1996.

Bakuzis A. F., Skeff Neto K., Silva L. P., Azevedo R. B., Morais P. C. 2001. Experimental evidence of monomer contribution to the static magnetic birefringence in magnetic fluids. *Journal of Applied Physics*. 2001, Vol. 90, (891-895).

Báo S.N., Carvalho S.M.F. 2008. *Apostila de Microscopia Eletrônica de Transmissão em Biologia*. Brasília : Instituto de Biologia - Departamento de Biologia Celular, 2008.

Bean P.C. 1955. Hysteresis Loops of Mixtures of Ferromagnetic Micropowders. *Journal of Applied Physics*. 1955, Vol. 26, (1381-1383).

Berkovski, B. (editor in chief). 1996. *Magnetic fluids and applications handbook*. New York : Begell house, inc., 1996.

Bitter F. 1932. Experiments of the nature of ferromagnetism. *Physical Review*. 41, 1932, (507-528).

Butter K., Bomans P. H. H, Frederick P. M., Vroege G. J., Philipse A. P. 2003. Direct observation of dipolar chains in iron ferrofluids by cryogenic electron microscopy. *Nature materials*. 2003, Vol. 2, (88-91).

Damiani F., Tatsch P. J. 2000. *Apostila de Medidas para Caracterização e Análise de Materiais - Microscopia Eletrônica de Transmissão*. Campinas - SP : UNICAMP - Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação - Departamento de Semicondutores Instrumentos e Fotônica, 2000.

Eisberg R., Resnick R. 1979. *Física Quântica*. s.l. : Elsevier, 1979.

Elmore W.C. 1938. The magnetization of ferromagnetic colloids. *Physical Review*. 1938, Vol. 54, (1092-1095).

Fauconnier N., Pons J.N., Roger J., Bee A. 1997. Thiolation of Maghemite Nanoparticles by Dimercaptosuccinic Acid. *Journal of Colloid and Interface Science*. 194, 1997, (427-433).

Gravina, P.P. 2005. *Estudo de fluidos magnéticos concentrados por birrefringência magnética estática*. Instituto de Física, UnB. Brasília : s.n., 2005. Dissertação.

Jackson, J.D. 1998. *Classical Electrodynamics*. California : John Wiley & Sons, Inc, 1998.

Kalafalla S.E., e Reimers G.W. 1973. 3 764 540 US Patent, 1973.

Massart R. 1982. *Magnetic fluid and process for obtaining them*. 4 329 241 US Patent, 1982.

Massart R.. 1995. Synthesis of very fine maghemite particles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 1995, Vol. 149, (6-9).

McCurrie R. A. 1994. *Ferrimagnetic Materials Structure and Properties*. San Diego : Academic Press Limited, 1994.

Morais P.C., Tronconi A.L., Oliveira A.C. 2002. Use of the Photoacoustic Spectroscopy in investigation of ionic magnetic fluids. *European Cells and Materials*. 2002, Vol. 3, (19-21).

Morais P.C., Oliveira A.C., Tronconi A.L., Goetze T., Buske N. 2003. Photoacoustic Spectroscopy: a promising technique to investigate magnetic fluids. *IEEE Transactions on Magnetics*. 2003, Vol. 39, (2654-2656).

Oliveira A.C., Tronconi A.L., Buske N., Morais P.C. 2002. Photoacoustic spectroscopy of magnetic fluids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2002, Vol. 252, (56-58).

Oliveira F.M.L, Avelino S.R., Elói M.T.A, Gravina P.P., Skeff Neto K., Lima E.C.D., Morais P.C. 2006. The influence of the nanoparticles dilution upon the structure of molecular-coated magnetic fluid. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 2006, Vol. 352, (3689-3691).

Olympus®. Olympus website. [Online] [Citado em: 17 de novembro de 2008.] Modificada. <http://www.olympusmicro.com/copyright/index.html>.

Pankhurst Q. A., Connolly J. , Jones S. K. , Dobson J. 2003. Applications of magnetic nanoparticle in biomedicine. *Journal of Physics D*. 2003, Vol. 36, (R167-R181).

Papell S.S. 1965. *Low viscosity fluid obtained by the colloidal suspension of magnetic particles*. 3 215 572 US Patent, 1965.

Rosencwaig A. 1975. Photoacoustic Spectroscopy: A New tool for Investigations of Solids. *Analytical Chemistry*. 1975, Vol. 47, (592A-604A).

Rosencwaig A., Gersho A. 1976. Theory of the photoacoustic effect with solids. *Journal of Applied Physics*. 1976, Vol. 47, (64-69).

Rosensweig R.E. 1969. 3 700 595 US Patent, 1969.

Rosensweig R.E. 1997. *Ferrohydrodynamics*. Mineola, NY : Dover Publications, INC., 1997.

Shiliomis M.I. 1974. Magnetic Fluids. *Sov. Phys. Usp.* 1974, Vol. 17, (153-169).

Skeff Neto K., Bakuzis A. F., Morais P. C., Pereira A. R. 2001. The influence os aggregates and relative permeability on the magnetic birefringence in ionic magnetic fluids. *Journal of Applied Physics*. 2001, Vol. 89, (3362-3368).

Xu M., Ridler P. J. 1997. Linear dichroism and birefringence effects in magnetic fluids. *Journal of Applied Physics*. 1997, Vol. 82, (326-332).

Anexo

Trabalhos Publicados e Submetidos



The influence of the nanoparticles dilution upon the structure of molecular-coated magnetic fluid

F.M.L. Oliveira ^a, S.R. Avelino ^a, M.T.A. Elói ^a, P.P. Gravina ^a, K. Skeff Neto ^a,
E.C.D. Lima ^b, P.C. Morais ^{a,*}

^a Universidade de Brasília, Instituto de Física, Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte, 70919-970, Brasília-DF, Brazil

^b Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química, 74001-970, Goiânia-GO, Brazil

Available online 2 August 2006

Abstract

In this study the transmitted light intensity of three biocompatible magnetic fluid samples based on dimercaptosuccinic-coated maghemite nanoparticles was investigated using the typical birefringence experimental setup. The field dependence of the transmitted light intensity follows the typical second-order Langevin profile as the nanoparticle volume fraction reduces by dilution of the stock sample. As the stock sample is diluted the field dependence of the transmitted light intensity is analyzed in terms of changes in the sample morphology which is described by a distribution function of the chain-like structure length.

© 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

PACS: 47.65.Cb; 61.46.Df; 42.25.Lc

Keywords: Colloids; Nanoclusters; Nanocrystals; Nanoparticles

1. Introduction

Magnetic fluids (MFs) are highly-stable colloidal suspensions containing isolated and/or chain-like structured nanometer-sized magnetic particles dispersed in polar or non-polar solvents [1]. A key aspect for magnetic fluid colloidal stability is the balance between repulsive and attractive interactions among the nanoparticles. Besides the thermal motion, steric [1] and electrostatic [2] repulsive interactions work against Van der Waals [3] and dipolar [4] attractive interactions. For the purpose of biological and biomedical applications biocompatible magnetic fluids (BMFs) were developed from molecular-coated magnetic nanoparticles peptized in physiological medium. Colloidal stability in BMFs is provided by a combined action of steric and electrostatic repulsive interactions. Multifunctional bioactive molecules such as citric acid, polyaspartic acid,

and dextran are frequently used as efficient surface coating agents [5]. However, biocompatibility goes far beyond the physico-chemical aspects, requiring in addition, low toxicity and safe biological disposable routes, among others [6].

In this study, static magnetic birefringence measurements were used to investigate the morphology of a BMF sample based on maghemite nanoparticles surface-coated with dimercaptosuccinic acid (DMSA). Maghemite or magnetite nanoparticles surface-coated with DMSA and dispersed in physiological medium has been widely tested and proved to be a standard biocompatible magnetic fluid sample [6–11]. Static magnetic birefringence (SMB) has been established as an excellent technique to investigate particle-chain formation and particle-chain disruption in magnetic fluid samples [12–14]. Besides SMB measurements valuable data regarding the MF properties have been provided by other experimental techniques. Magnetic resonance, for instance, has been proved to be a powerful experimental technique for the investigation of MF samples regarding the nanoparticle chain disruption of longer structures down to shorter ones upon dilution [15,16].

* Corresponding author. Tel.: +55 61 32736655; fax: +55 61 32723151.
E-mail address: pcmor@unb.br (P.C. Morais).

The focus here is the effect of the sample dilution upon the average size of the nanoparticle-based chain-like structures. Once dilution of stock samples of magnetic fluids, up to two orders of magnitude, is a standard procedure during *in vivo* tests the average size and fraction of nanoparticle-based chain-like structures may have an enormous impact on the biomedical applications of BMFs. In our experiments, dilution was realized by adding physiological solution to the MF stock sample in order to preserve the samples biocompatibility.

2. Experimental procedures

The maghemite-based BMF sample used in the present study was prepared using the two-step chemical route described in the literature [17]. Shortly, in the first step, magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles were produced by co-precipitating Fe(II) and Fe(III) in alkaline medium, following oxidation into maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) by aeration. In the second step the as-produced maghemite nanoparticles were dispersed in DMSA aqueous solution. The pH was immediately adjusted to pH5 with NaOH solution. The suspension was kept under stirring for 30 min and then isolated from the supernatant by centrifugation. The DMSA excess was removed by washing the precipitate with acetone and deionized water. After drying the precipitate under a nitrogen stream, the nanoparticles were peptized in 0.9% NaCl aqueous solution under stirring, while the pH was adjusted to around pH7. Finally, a stable BMF was obtained after centrifugation. The stock BMF sample containing 1.5×10^{17} particle/cm³ (obtained from SMB technique) was diluted in physiological solution (1:1, 1:3, and 1:10) in order to produce three BMF samples for our investigations. The particles mean size was obtained from X-ray diffraction data (9.3 nm).

The room-temperature SMB data were obtained using a home-made system consisting of a chopped laser beam (632 nm) crossing perpendicularly the sample cell (1-mm-thick optical path) before illuminating the photodetector [18]. The sample cell consists of a double goniometer-like device that allows full angular rotation of both polarizer and analyzer and it is mounted in the gap of an electromagnet. The laser beam and the applied external magnetic field are perpendicular to one another, whereas the polarizer was kept perpendicular to the analyzer. In our experimental setup the transmitted light intensity (I) is recorded as a function of the applied external field (H). At this point one should remind that in the conventional SMB experimental setup the transmitted light intensity (I) scales with the birefringence signal (Δn) according to $\Delta n \approx \sqrt{I}$.

3. Results

Symbols in Fig. 1 show the normalized SMB experimental data regarding the three samples used in this study. The model used to fit the data shown in Fig. 1 is a recent extension of the model elaborated by Skeff Neto et al. [12], in

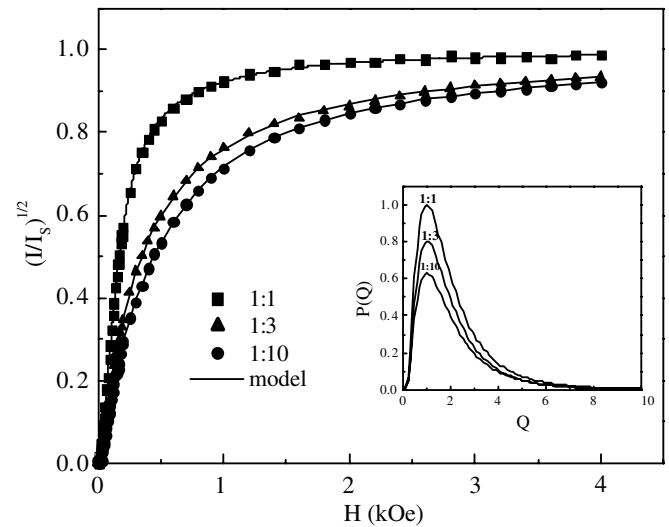


Fig. 1. Square-root of the transmitted light intensity (I/I_s) versus field (H) for the DMSA-coated maghemite-based MF samples. Symbols represent the experimental data whereas the solid lines represent the best fit according to Eq. (1). The inset shows the results of $P(Q)$ distribution functions for the samples.

which the field dependence of the magnetic permeability associated to agglomerates (dimers, trimers, tetramers, etc.) is taken into account. In a recent analysis, however, Gravina [19] described the effect of the magnetic fluid sample morphology (chain-like structures of monomers) via a continuous distribution function. In other words, instead of a discrete contribution (summation) of Q -mers (dimers, trimers, tetramers, ...) weighted by their own frequencies (C_Q) as described in Ref. [12], Gravina [19] introduced the lognormal distribution function describing the frequency versus the length of the chain-like structure. At this point we should emphasize that different attempts to describe the chain-like profile in magnetic fluid samples has been put forward recently [20–22]. Huang and Lai [20] found an exponential decay of the frequency of chain-like structures composed of identical units as the length of the chain increases. On the other hand, recent atomic force microscopy (AFM) analysis of nanosized spherically-shaped proteins revealed the presence of multimeric states [23]. Evaluation of one- and two-dimensional parameters from the multimeric states using the AFM data showed a lognormal-like distribution [23]. The normalized SMB signal ($\Delta \bar{n} = \Delta n / \Delta n_s$) is written as usual:

$$\Delta \bar{n} = \int \int C_Q \Delta n_Q(H, D) D^3 P(D) P(Q) dD dQ, \quad (1)$$

with

$$\Delta n_Q(H, D) = \left[1 - \frac{3}{\xi_Q} \coth \xi_Q + \frac{3}{\xi_Q^2} \right], \quad (2)$$

where $\xi_1 = (\pi/6) M_S D^3 H / kT$ and $\xi_Q = Q M_S \xi_1 [1 + \beta \phi M_S C_Q F(H)]$ for $Q > 1$. M_S , β , ϕ , D are, respectively, the magnetization of saturation, a constant, volume fraction, and the diameter. The integral in Eq. (1) is carried out over both

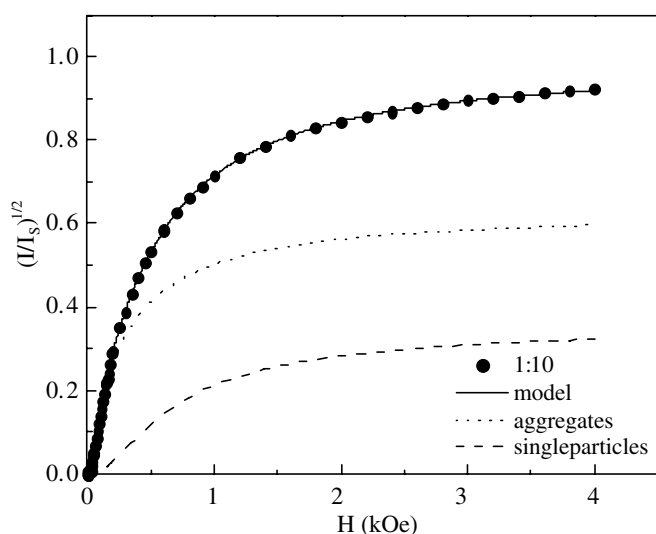


Fig. 2. Comparative contribution between single particles and aggregates for SMB signal for a diluted sample (1:10). Dashed line represents single particles contribution whereas dotted represents particles aggregates.

the particle diameter distribution $P(D)$ and the chain-length distribution $P(Q)$ constrained by $\int C_Q P(Q) dQ = 1$ [19].

4. Discussion

Nonlinear least squares fitting of the SMB signal ($\Delta n \approx \sqrt{I}$) using Eq. (1) yield values of the saturation magnetization, sample volume fraction, and average particle diameter in good agreement with the values found directly from previous evaluation of the sample using different techniques. Solid lines in Fig. 1 (inset) represent the $P(Q)$ distribution functions obtained from the analysis of the SMB data using Eq. (1). Besides the excellent agreement between the experimental data and the fitting procedure shown in Fig. 1 the obtained $P(Q)$ distribution functions (see inset in Fig. 1) show a systematic trend. As the sample is diluted, there were no significant change on standard deviation of $P(Q)$ curve and no shift of the peak position around $Q = 1$. In addition, it was observed that the fraction of particles agglomerates which contributes to SMB signal reduced with sample dilution. Fig. 2 shows the contributions from single particles and particles aggregates to SMB signal.

5. Conclusion

In conclusion, the analysis presented in this study shows that the explanation of the static magnetic birefringence data is better accomplished within the model picture that takes into account the magnetic fluid sample morphology via a continuous distribution function (lognormal function

for instance) for the nanoparticle chain-length instead of a discrete description using Q -mers (dimers, trimers, tetramers, ...). Within this description we found the reduction of the fraction of the chain-like structure as the stock magnetic fluid sample is diluted. This finding may have an important impact on the *in vivo* applications of the biocompatible magnetic fluids, once drug delivery systems based on biocompatible magnetic fluids can be engineered to reach peripheral vessels.

Acknowledgments

This work was partially supported by the Brazilian agencies FINATEC and CNPq.

References

- [1] R.E. Rosensweig, Ferrohydrodynamics, Cambridge University, New York, 1985.
- [2] G.M. Bell, S. Levine, L.N. McCartney, J. Colloid Interf. Sci. 33 (1970) 335.
- [3] H.C. Hamaker, Physica IV 10 (1937) 1058.
- [4] C. Menager, L. Belloni, V. Cabuil, M. Dubois, T. Gulik-Krzywicki, T. Zemb, Langmuir 12 (1996) 3516.
- [5] P.C. Morais, R.L. Santos, A.C.M. Pimenta, R.B. Azevedo, E.C.D. Lima, Thin Solid Films, in press.
- [6] A. Halbreich, J. Roger, J.N. Pons, D. Geldwerth, M.F. Da Silva, M. Roudier, J.C. Bacri, Biochimie 80 (1998) 379.
- [7] C. Sestier, M.F. Da Silva, D. Sabolovic, J. Roger, J.N. Pons, Electrophoresis 19 (1998) 1220.
- [8] S.B. Chaves, L.M. Lacava, Z.G.M. Lacava, O. Silva, F. Pelegrini, N. Buske, C. Gansau, P.C. Morais, R.B. Azevedo, IEEE Trans. Magn. 38 (2002) 3231.
- [9] L.P. Silva, S. Kuckelhaus, M.H.A. Guedes, Z.G.M. Lacava, A.C. Tedesco, P.C. Morais, R.B. Azevedo, J. Magn. Mater. 289 (2005) 463.
- [10] M.P. Garcia, V.N. Veloso, Z.G.M. Lacava, P.C. Morais, R.B. Azevedo, J. Magn. Mater. 293 (2005) 277.
- [11] S.B. Chaves, L.P. Silva, Z.G.M. Lacava, P.C. Morais, R.B. Azevedo, J. Appl. Phys. 97 (2005) 10Q917.
- [12] K. Skeff Neto, A.F. Bakuzis, P.C. Morais, A.R. Pereira, R.B. Azevedo, L.M. Lacava, Z.G.M. Lacava, J. Appl. Phys. 89 (2001) 3362.
- [13] J. Li, B. Zhao, Y. Lin, X. Qiu, X. Ma, J. Appl. Phys. 92 (2002) 1128.
- [14] H.E. Horng, C.Y. Hong, S.Y. Yang, H.C. Yang, Appl. Phys. Lett. 82 (2003) 2434.
- [15] L.B. Silveira, J.G. Santos, F. Pelegrini, C. Gansau, N. Buske, P.C. Morais, IEEE Trans. Magn. 39 (2003) 2642.
- [16] G.R.R. Gonçalves, A.F. Bakuzis, K. Skeff Neto, F. Pelegrini, P.C. Morais, J. Magn. Mater. 289 (2005) 142.
- [17] Y.S. Kang, S. Risbud, J.F. Rabolt, P. Stroeve, Chem. Mater. 8 (1996) 2209.
- [18] M. Xu, P.J. Ridler, J. Appl. Phys. 82 (1997) 326.
- [19] P.P. Gravina, MSc. thesis, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil, 2005.
- [20] J.Y. Huang, P.Y. Lai, Physica A 281 (2000) 105.
- [21] P. Licinio, J. Magn. Mater. 252 (2002) 238.
- [22] A.V. Teixeira, I. Morfin, F. Ehrburger-Dolle, C. Rochas, E. Geissler, P. Licinio, P. Panine, Phys. Ver. E 67 (2003) 021504.
- [23] L.P. Silva, R.B. Azevedo, P.C. Morais, M.M. Ventura, S.M. Freitas, Proteins 61 (2005) 642.

Use of the photoacoustic spectroscopy in the investigation of the dilution process in surface-coated nanoparticles

S.R. Avelino, F.M.L. Oliveira, A.C. Oliveira, P.C. Morais *

Universidade de Brasília, Instituto de Física, 70919-970, Brasília-DF, Brazil

Available online 22 August 2006

Abstract

In this study photoacoustic spectroscopy was used to investigate the effect of water dilution of a biocompatible magnetic fluid sample upon the nanoparticle surface-coating. The observed spectral features, in the 300–1000 nm wavelength region, are analyzed in terms of three distinct bands (L, S, and C). Band-L, in the spectral range of 650–900 nm, is related to the characteristic coating layer of the magnetic nanoparticle. Band-S, occurring around 470 nm, is related to the metal–polyoxy-hydroxy surface layer built up at the surface during the nanoparticle synthesis. Changes of band-L and band-S features upon water dilution of the stock magnetic fluid sample are discussed in terms of surface reorganization of the DMSA (dimercaptosuccinic acid) surface-coating agent with simultaneous surface release of hydroxyl-groups. The model picture of the surface reorganization is consistent with the picture of disruption of longer chain-like structures into shorter ones as a result of the sample dilution.

© 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

PACS: 61.46.+w; 73.61.Tm; 75.50.Mm; 78.20.Hp

Keywords: Colloids; Nanoclusters; Nanocrystals; Nanoparticles; Optical spectroscopy; Photoinduced effects; Adsorption

1. Introduction

In the last decade the rapid growth of nanoscience and nanotechnology has promoted an enormous demand for the engineering of new nanosized materials and systems. Such a trend had pushed the classical nanosized materials characterization techniques up to the limit of their capability. At the same time, methodologies of data analysis have been developed for well-established materials characterization techniques never before used for investigating nanosized materials. The magnetic nanosized-based materials fit within this scenario as they can be used to produce, for instance magnetic nanocomposites [1], magnetic fluids [2], and magnetoliposomes [3].

Magnetic fluid (MF) is a typical nanosized-based material consisting of monodomain magnetic nanoparticles sus-

pending in organic or inorganic liquid carriers, engineered to be an ultra-stable magnetic colloid. The nanoparticle concentration in a typical MF sample may go up to 15% volume fraction [4]. In ionic MFs the colloidal stability is mainly achieved through the electrostatic repulsion among positively or negatively charged nanoparticles [5]. In that case, the surface charge density and the ionic strength of the medium need to be precisely controlled in such a way that electrostatic repulsion does overcome the magnetic dipolar attraction that favors flocculation. In the usual ionic MF low pH aqueous medium sets in a positive charge density at the nanoparticle, due to proton transfer from the medium to the hydroxyl group chemisorbed to the nanoparticle surface. By contrast, negative surface charge density is obtained at high pH values as a result of the proton transfer from the nanoparticle chemisorbed hydroxyl-group out to the aqueous medium, thus leaving behind negatively charged oxygen atoms at the nanoparticle surface. A microscopic model for the pH-dependent surface charge-discharge process in metal oxide-based ionic MFs

* Corresponding author. Tel.: +55 61 32736655; fax: +55 61 32723151.
E-mail address: pcmor@unb.br (P.C. Morais).

involves the proton tunneling across a strongly bonded water layer around the nanoparticle surface [6]. In surface-coated MFs, however, molecular species attached to the nanoparticle surface maintain colloidal stability, once steric repulsion among neighboring coated magnetic nanoparticles overcame the attractive interactions [7]. The outer ends of the surface molecular coating in surface-coated MFs may be either polar or non-polar, thus resulting in stable aqueous-based MFs or stable hydrocarbon-based MFs, respectively. In addition to the nanoparticle electrostatic repulsion and dipolar attraction the thermal energy and the Van der Waals interaction also play an important role in the magnetic colloidal stability. Thermal energy favors colloidal stability by taking magnetic nanoparticles apart while Van der Waals interaction tend to stick nanoparticles together favoring aggregation.

Traditional techniques used in the investigation of MF samples are the static magnetic birefringence [8] and magnetization [9]. Since the beginning of the last decade, however, magnetic resonance has been systematically used as a valuable tool in the investigation of several properties of MFs [10]. More recently Raman spectroscopy emerged as a powerful characterization technique to investigate qualitatively as well as quantitatively nanoparticle surface chemisorbed species. Raman spectroscopy has been used to investigate the interactions of the molecular species chemisorbed at the nanoparticle surface of copper and zinc-ferri-ite ionic MFs [11]. Also, the single surface-coated MF based on dodecanoic acid (first coating) and diluted in hydrocarbon and the double surface-coated MF based on dodecanoic acid (first coating) following an ethoxylated polyalcohol (second coating) and peptized in water, were investigated using Raman spectroscopy [12]. Even more recently, photoacoustic spectroscopy has been introduced as a very promising characterization technique to investigate MF samples [13]. Despite the simplicity of the photoacoustic spectroscopy the experimental data taken from thin MF films deposited onto flat inert surfaces revealed important details regarding the core nanoparticle properties [14], the surface nanoparticle structure [15], and the nanoparticle coating layer characteristics [16]. In this study we used photoacoustic spectroscopy to investigate the effect of water dilution upon the surface molecular coating of maghemite nanoparticles peptized as biocompatible magnetic fluids. Dimercaptosuccinic acid (DMSA) was used as the surface-coating agent for maghemite nanoparticles suspended in aqueous medium as a magnetic fluid sample. The photoacoustic spectra were recorded at room temperature using optical excitation in the wavelength range of 0.3–1.0 μm . A first approach for the interpretation of the effect of sample dilution upon the photoacoustic spectra will be discussed in the present study.

2. Photoacoustic spectroscopy and magnetic fluids

Photoacoustic (PA) spectroscopy is a well-established experimental technique based on the measurement of the

acoustic signal resulting from the non-radiative de-excitation processes that occur in a material system under excitation by modulated electromagnetic radiation [17]. The PA effect was discovered by Bell about 125 years ago [18], though the theoretical interpretation was given a few decades ago by Parker [19] and the applications to solid materials explored by Rosencwaig and Gersho [20]. In the conventional PA spectroscopy the sample (solid or liquid) to be investigated is placed inside a closed chamber (the photoacoustic cell) filled with a suitable gas. While modulated radiation shines onto the sample surface the generated photoacoustic signal is detected by a sensitive microphone attached to the photoacoustic cell [21]. Fig. 1 shows a schematic representation of the PA experimental setup. All the PA spectra were normalized to the spectra of a highly absorbing (black) film recorded in the same wavelength range (0.3–1.0 μm). In our experimental setup the light from a 150 W Xe lamp is dispersed by a 0.22 m double monochromator (Spex model 1680) and used as the variable wavelength light source. The light is chopped at a frequency of a few hertz, to improve the acoustic signal-to-noise ratio. Although photoacoustic spectroscopy (PAS) has been used as a material characterization technique for over three decades [22], PAS has been only recently used in the investigation of magnetic nanoparticles peptized as MFs [13–16]. Despite the simplicity of the PAS the experimental data taken from the MF samples had revealed important details concerning the core nanoparticle properties, the surface nanoparticle structure, and the nanoparticle coating layer characteristics [13–16].

The photoacoustic features observed from the analysis of magnetic fluid samples have been described in terms of three distinct bands, namely L, S, and C [13]. Band-L, around 0.7 μm , has been associated to the nanoparticle surface-coating layer. Therefore, band-L can be used to probe the chemical group the molecular coating species use to bind at the nanoparticle surface, indicating the surface grafting coefficient of the coating species [23]. Band-S, typically around 0.5 μm , is related to the modified metal-polyoxyhydroxy surface layer built up at the nanoparticle surface during the aqueous chemical synthesis, which is particularly enriched by hydroxyl-groups. In case of metal oxide-based nanoparticles band-S can be quantitatively used to obtain the surface grafting coefficient associated to the surface-

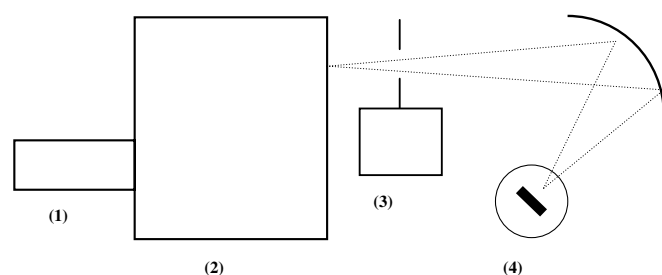


Fig. 1. Typical experimental setup of the photoacoustic experiment: (1) is the lamp, (2) is the monochromator, (3) is the chopper, and (4) is the PA cell.

stabilizing polyoxy-hydroxy layer [23]. Finally, band-C, observed in the low-wavelength side of the spectra (0.3–0.4 μm), is discussed in terms of the core size-dependence of the optical absorption [15]. Here, shifts in the band-C wavelength position are associated to the quantum confinement effect whereas multiplicity in the photoacoustic feature may indicate the energy level structure inside the quantum dot structure [15]. In addition, the wavelength dependence of the PA signal in the band-C region may indicate the dimensionality of the nanosized structure [24].

3. Results

Following the standard procedure described in the literature [25] DMSA-coated $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanoparticles, with mean diameter value (core sizes) of 9.3 nm, were synthesized and latter on used to produce a stable biocompatible MF sample. The stock biocompatible MF sample, containing about 1×10^{16} particle/ cm^3 , was stabilized around pH of seven and salinity of 0.9% NaCl (physiological condition). The stock biocompatible MF sample (concentration quoted as 1:1) was used to produce several diluted samples, quoted as 1:2, 1:4, 1:20, 1:50, and 1:100. Sample 1:4, for instance, was produced by mixing one volume of the stock biocompatible MF sample with three volumes of physiological solution. The PA spectra were recorded from the biocompatible MF samples prepared using a two step procedure: firstly depositing a thin liquid film on top of a polished quartz substrate and secondly drying the thin film in air at atmospheric pressure. Following the standard experimental setup the BMF samples were enclosed in a sealed, high-performance, PA cell at atmospheric pressure, coupled to a sensitive microphone. For the six samples investigated, several PA features were observed in the wavelength range of 0.3–1 μm , as shown in Fig. 2.

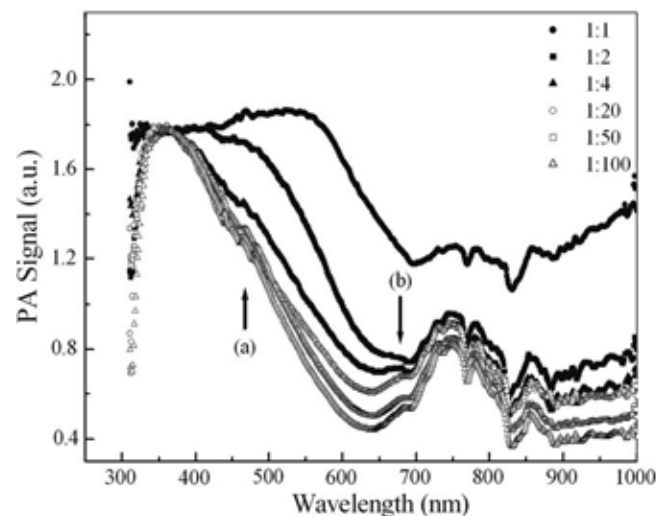


Fig. 2. Photoacoustic spectra of the DMSA-coated maghemite-based stock magnetic fluid sample (1:1) and five magnetic fluid samples obtained from the stock sample after dilution (1:2, 1:4, 1:20, 1:50, and 1:100), in the 0.3–1.0 μm range.

4. Discussion

As previously discussed [13,23] the data shown in Fig. 2 can be analyzed in terms of three distinct bands (band-C, band-S, and band-L), in the wavelength range of our investigation (0.3–1.0 μm). Band-C was observed around 0.36 μm in the biocompatible MF samples, which is about the same intensity for all samples investigated. Band-S was observed around 0.47 μm (see arrow-(a) in Fig. 2), which intensity reduces as the dilution of the biocompatible MF increases (from 1:1 to 1:100). Finally, in the 0.65–0.90 μm region, one observes the complex structure labeled band-L, which changes continuously as the dilution of the biocompatible MF proceeds. Differences and similarities of the features occurring in bands C, S, and L will be discussed as follows. As pointed out above band-C is related to the absorption of the incident light by the core nanoparticle. We should mention that the PA signal scales with the optical absorption coefficient and, under low optical excitation intensities, the PA signal scales linearly with the optical absorption coefficient. Further, the optical absorption edge of most bulk ferrite-based crystals is in the range of 0.3–0.4 μm [26]. At this point it is important to mention that a semiconductor quantum dot model has been successfully used to explain the charge–discharge mechanism as well as the stability of aqueous colloids based on ferrite nanoparticles [27]. Therefore, the main feature of band-C in the PA spectra shown in Fig. 2, particularly the sharp drop of the PA signal at decreasing wavelength, is a signature of the optical processes near the semiconductor absorption edge. Note from Fig. 2 that band-C peaks at about the same wavelength for all the biocompatible MF samples investigated, for dilution is expected to cause little influence upon the energy level inside the 9.3 nm diameter quantum dot structure (core nanoparticle).

Band-S is related to the metal–polyoxy-hydroxy surface layer built up at the ferrite-based nanoparticle surface, which is particularly enriched by hydroxyl-groups [28]. The shoulder around 0.47 μm (see arrow-(a) in Fig. 2) indicates the hydroxyl-group bonded at the nanoparticle surface whereas the shoulder intensity scales with the surface hydroxyl-group grafting coefficient, similar to the observations provided by ionic MF samples [29]. The relatively lower surface-grafting coefficient associated to hydroxyl-groups in the DMSA-coated MF sample, in comparison to ionic MFs, explains the relative reduction of the PA signal intensity of the band-S feature. The interesting aspect related to the band-S provided by the spectra shown in Fig. 2 (see arrow-(a)) is the reduction of the shoulder intensity as the dilution of the MF sample increases. This is a clear indication of the reduction of the surface-grafting coefficient associated to hydroxyl-group. As observed in the PA spectra of Fig. 2 the reduction of the band-S intensity coincides with the onset of a new structure in the lower-wavelength side (around 0.68 μm) of band-L (see arrow-(b) in Fig. 2). Further, the peak-to-valley ratio of this new structure increases as the MF sample dilution increases.

At this point it is important to mention that the features observed in both band-L and band-S are related to d–d transitions between $T_{1g} \leftrightarrow A_{2g}$ (band-S) and $T_{2g} \leftrightarrow A_{2g}$ (band-L) levels.

The explanation of the continuous change in both band-S and band-L features due to the dilution of the biocompatible MF sample, as observed in the PA spectra of Fig. 2, is based on the following arguments. Disruption of longer chain-like structures into shorter ones due to sample dilution exposes the nanoparticle contact area to the solvent. We claim that in the as prepared MF sample the nanoparticle contact area is surface-coated mainly by the hydroxyl-group instead of by the DMSA molecules. This is because the shorter hydroxyl-group allows efficient particle–particle coupling inside the chain-like structure with extra reduction of the free energy. On the other hand, the binding of the DMSA molecule onto the nanoparticle surface is realized via replacement of hydroxyl-groups by one of the two carboxyl-groups, leaving behind the second carboxyl-group plus the two thiol-groups facing the solvent outside. Therefore, the disruption of the chain-like structure with the consequent exposure of the nanoparticle contact area favors the substitution of the left over surface hydroxyl-groups by the nearby unbonded thiol-groups from the DMSA molecules. This model picture explains the reduction of the shoulder intensity around $0.47 \mu\text{m}$ as the dilution proceeds. Likewise, the proposed model picture explains the onset of the new structure in the lower-wavelength side (around $0.68 \mu\text{m}$) of band-L (see arrow-(b) in Fig. 2) as well as its intensity increase as the dilution increases. In support to this view the new structure around $0.68 \mu\text{m}$ appears at shorter wavelengths as compared to the typical band-L features around $0.78 \mu\text{m}$ and $0.86 \mu\text{m}$ and related to the binding of the carboxyl oxygen to the transition-metal ions at the nanoparticle surface. In other words, the binding of the thiol-group onto the nanoparticle surface via the sulfur atom wider the d–d transitions associated to the $T_{2g} \leftrightarrow A_{2g}$ levels.

Recent experiments, performed using different techniques, have revealed disruption of longer chain-like structures into shorter ones as a result of MF dilution. Magnetic resonance experiments performed with surface-coated MF samples have revealed that disruption of longer chain-like structures takes place upon dilution of the sample [30]. Also, disruption of longer chain-like structures (chain of nanoparticles) into shorter chains upon dilution of MF samples explains the birefringence signal in static magnetic birefringence measurements performed using different samples [31].

5. Conclusion

In conclusion, the photoacoustic (PA) spectroscopy has been successfully used to investigate DMSA-coated maghemite-based biocompatible magnetic fluid samples containing nanoparticles with core size around 9.3 nm in diameter. The photoacoustic spectra were used to draw

conclusions about the reorganization of the molecular surface-coating upon dilution of the magnetic fluid sample with the stock sample solvent. Upon sample dilution the reduction of the PA signal intensity in the band-S followed by the onset of a new structure located in the lower-wavelength side of the band-L is explained via a reorganization process of the nanoparticle surface molecular coating. As a result of sample dilution longer chain-like structures break down into shorter ones, thus exposing the surface contact area to the solvent. The photoacoustic data are explained once one assumes the replacement of the exposed surface hydroxyl-group by the nearby thiol-group from the DMSA molecule.

Acknowledgements

This work was partially supported by the Brazilian agencies FINATEC and CNPq.

References

- [1] E. Strable, J.W.M. Bulte, B. Moskowitz, K. Vivekanandan, M. Allen, T. Douglas, *Chem. Mater.* 13 (2001) 2201.
- [2] P.C. Morais, V.K. Garg, A.C. Oliveira, L.P. Silva, R.B. Azevedo, A.M.L. Silva, E.C.D. Lima, *J. Magn. Mater.* 225 (2001) 37.
- [3] M. De Cuyper, M. Hødenius, Z.G.M. Lacava, R.B. Azevedo, M.F. Da Silva, P.C. Morais, M.H.A. Santana, *J. Colloid Interf. Sci.* 245 (2002) 274.
- [4] B. Berkowski, V. Bashtovoy, *Magnetic Fluids and Applications Handbook*, UNESCO Series of Learning Materials, New York, NY, 1996.
- [5] R. Massart, *IEEE Trans. Mag.* 17 (1981) 1247.
- [6] Q. Fanyao, P.C. Morais, *J. Chem. Phys.* 111 (1999) 8588.
- [7] N. Buske, *Prog. Coll. Pol. Sci.* 95 (1994) 175.
- [8] S.R. Wilson, P.J. Ridler, B.R. Jennings, *J. Phys. D Appl. Phys.* 29 (1996) 885.
- [9] P.C. Morais, B.M. Lacava, A.F. Bakuzis, L.M. Lacava, L.P. Silva, R.B. Azevedo, Z.G.M. Lacava, N. Buske, W.C. Nunes, M.A. Novak, *J. Magn. Mater.* 226 (2001) 1899.
- [10] A.L. Tronconi, P.C. Morais, F. Pelegrini, F.A. Tourinho, *J. Magn. Mater.* 122 (1993) 90.
- [11] P.C. Morais, S.W. da Silva, M.A.G. Soler, M.H. Sousa, F.A. Tourinho, *J. Magn. Mater.* 201 (1999) 105.
- [12] P.C. Morais, S.W. da Silva, M.A.G. Soler, N. Buske, *J. Phys. Chem. A* 104 (2000) 2894.
- [13] A.C. Oliveira, A.L. Tronconi, N. Buske, P.C. Morais, *J. Magn. Mater.* 252 (2002) 56.
- [14] J.G. Santos, L.B. Silveira, A. C Oliveira, P.C. Morais, *J. Phys. IV* 125 (2005) 27.
- [15] P.C. Morais, A.C. Oliveira, A.L. Tronconi, C. Gansau, T. Goetze, N. Buske, *IEEE Trans. Mag.* 39 (2003) 2654.
- [16] P.C. Morais, A.L. Tronconi, A.C. Oliveira, R.L. Santos, E.C.D. Lima, *J. Phys. IV* 125 (2005) 505.
- [17] A. Rosencwaig, A. Gersho, *Science* 190 (1975) 556.
- [18] A.G. Bell, *Am. J. Sci.* 20 (1880) 305.
- [19] J.G. Parker, *Appl. Opt.* 12 (1973) 2974.
- [20] A. Rosencwaig, A. Gersho, *J. Appl. Phys.* 47 (1976) 64.
- [21] A. Rosencwaig, *Optoacoustic Spectroscopy and Detection*, Academic, London, 1977.
- [22] A. Rosencwaig, *Photoacoustic and Photoacoustic Spectroscopy*, John Wiley, New York, 1980.
- [23] A.L. Tronconi, A.C. Oliveira, E.C.D. Lima, P.C. Morais, *J. Magn. Mater.* 272–276 (2004) 2335.

- [24] P.C. Morais, A.C. Oliveira, A.L. Tronconi, R.L. Santos, E.C.D. Lima, *J. Phys. IV* 125 (2005) 505.
- [25] T. Goetze, C. Gansau, N. Buske, M. Roeder, P. Gönert, M. Bahr, *J. Magn. Magn. Mater.* 252 (2002) 399.
- [26] Y.-M. Chiang, D. Birnie III, W.D. Kingery, *Physical Ceramics: Principles for Ceramic Science and Engineering*, John Wiley, New York, 1997.
- [27] Q. Fanyao, P.C. Morais, *J. Phys. Chem. B* 104 (2000) 5232.
- [28] P.C. Morais, S.W. da Silva, M.A.G. Soler, N. Buske, *Biomol. Eng.* 17 (2001) 41.
- [29] P.C. Morais, A.L. Tronconi, A.C. Oliveira, *Eur. Cells Mater.* 3 (S2) (2002) 19.
- [30] P.C. Morais, G.R.R. Gonçalves, K. Skeff Neto, F. Pelegrini, N. Buske, *IEEE Trans. Magn.* 38 (2002) 3225; L.B. Silveira, J.G. Santos, F. Pelegrini, C. Gansau, N. Buske, P.C. Morais, *IEEE Trans. Magn.* 39 (2003) 2642; G.R.R. Gonçalves, A.F. Bakuzis, K. Skeff Neto, F. Pelegrini, P.C. Morais, *J. Magn. Magn. Mater.* 289 (2005) 142.
- [31] K. Skeff Neto, A.F. Bakuzis, P.C. Morais, A.R. Pereira, R.B. Azevedo, L.M. Lacava, Z.G.M. Lacava, *J. Appl. Phys.* 89 (2001) 3362; A.F. Bakuzis, K. Skeff Neto, L.P. Silva, R.B. Azevedo, P.C. Morais, *J. Appl. Phys.* 90 (2001) 891; A.R. Pereira, G.R.R. Gonçalves, A.F. Bakuzis, P.C. Morais, R.B. Azevedo, K. Skeff Neto, *IEEE Trans. Magn.* 37 (2001) 2657.

Aging investigation of biocompatible magnetic fluids modulated by sample dilution

F. M. L. Oliveira, A. P. Canizares, L. C. Figueiredo, K. Skeff Neto, and P. C. Morais^{a)}
Instituto de Física, Universidade de Brasília, Física Aplicada, Brasília DF 70910-900, Brazil

(Received 9 September 2008; accepted 18 December 2008; published online 9 February 2009)

In this study static magnetic birefringence (SMB) was used to investigate the effects of aging of two biocompatible magnetic fluid (BMF) samples after dilution with pure water. The two BMF samples are based on dimercaptosuccinic-coated maghemite nanoparticles, with very similar average core diameters (7.2 and 7.9 nm) but presenting different dimercaptosuccinic acid surface grafting coefficients. Stock samples were submitted to different degrees of dilution and left to age on shelf before recording the SMB signal. Changes in the diluted and aged samples were evaluated via the average Q -cluster size value ($\langle Q \rangle$) and Q -cluster size-dispersion value (σ_Q) related to a log-normal distribution function $P(Q)$. The $\langle Q \rangle$ and σ_Q values were obtained from the analysis of the SMB signal. We found strong evidences that the higher the dilution and the higher the surface grafting coefficient the lower both the $\langle Q \rangle$ and σ_Q values. © 2009 American Institute of Physics.

[DOI: [10.1063/1.3075586](https://doi.org/10.1063/1.3075586)]

A key issue related to magnetic fluids (MF) with important consequences to both fundamentals and applications, the latter running from industrial to medical ones, is the clusterization process which tighten single nanoparticle units together in a more complex agglomerate, herein referred as Q -cluster.¹ Cluster formation in MF samples can be induced, for instance, by applying an external magnetic field,² by either reducing the sample's temperature³ or increasing nanoparticle's concentration,⁴ or then by changing the characteristics of the nanoparticle's surface molecular layer⁵⁻⁸ that ultimately plays a central role in stabilizing the magnetic colloid. The influence of the surface grafting on the MF properties has been investigated using, for instance, static magnetic measurements,⁵ magnetic resonance,⁶ optical transmission experiments,⁷ photoacoustic spectroscopy,⁸ and static magnetic birefringence (SMB).⁹

SMB has long been used as a nondestructive basic MF characterization technique, for it provides important, though indirect, information regarding the clusterization process in MFs.⁹⁻¹² As indicated in the literature it has been possible to infer the average size and size dispersion of the built-in Q -cluster within MF samples by analyzing the SMB data.^{9,10} Therefore, as far as the time evolution of the clusterization process is concerned SMB measurements provide an indirect though robust way to probe the aging of MFs by looking at the field dependence of the sample's birefringence signal. In the present study we report on the use of SMB in the investigation of the aging of biocompatible MF (BMF) samples containing maghemite nanoparticle surface coated with dimercaptosuccinic acid (DMSA) and suspended in physiological solution. The samples' aging is here presented as changes in the average Q -cluster size value ($\langle Q \rangle$) and Q -cluster size-dispersion value (σ_Q) related to a log-normal distribution function $P(Q)$. Two BMF samples with very

similar maghemite core size but presenting different DMSA grafting coefficients were used as the stock samples. The highest nominal DMSA grafting coefficient was fixed for $G < 3\%$, where G represents the DMSA molar concentration ($[DMSA]$) to iron molar concentration ($[Fe]$) ratio.

The stock samples were prepared and stabilized in 0.9% sodium chloride aqueous solution at pH7, following the routine already described in the literature.¹³ According to this chemical protocol the DMSA molecule is expected to coordinate iron ion sites using the carboxylate groups instead of thiol groups, leaving the protonated thiol groups facing the bulk solvent.¹⁴ Eventually, under specific chemical conditions disulfide cross linkages ($-S-S-$) among neighboring DMSA molecules at the same nanoparticle surface may take place.¹⁵ In the stock samples we used in this study, however, chances of finding disulfide links ($-S-S-$), linking together DMSA-functionalized neighboring nanoparticles is minimal. First, it is because the pH range of the samples that were manipulated rules out the deprotonation of the thiol groups. Second, it is because the G ratio for both samples is considerably low, thus minimizing the onset of thiol bridges. Third, right after production the stock samples were centrifuged to remove out any eventual flocculation phase. Samples were labeled DMSA1 and DMSA2, with average core diameters (diameter dispersion) of 7.9 (0.18) and 7.2 nm (0.27), respectively. The particle size (core diameter) histograms obtained from the transmission electron micrographs were curve fitted using the log-normal distribution function.¹⁶ Stock samples DMSA1 and DMSA2 contained 1.0×10^{16} and 1.7×10^{16} particle/ml, respectively. Samples prepared for the SMB measurements were obtained by diluting the stock samples using milli- Q water as solvent. The stock samples were diluted to produce samples labeled as 1:2, 1:4, and 1:6. For instance, sample 1:6 was produced by adding five volumes of water in one volume of stock MF sample. Dilution of the pH7 stock samples with pure water is an extreme protocol compared to dilution using the 0.9% sodium chloride solu-

^{a)} Author to whom correspondence should be addressed. Tel.: +55-61-3273-6655. FAX: +55-61-3272-3151. Electronic mail: pcmor@unb.br.

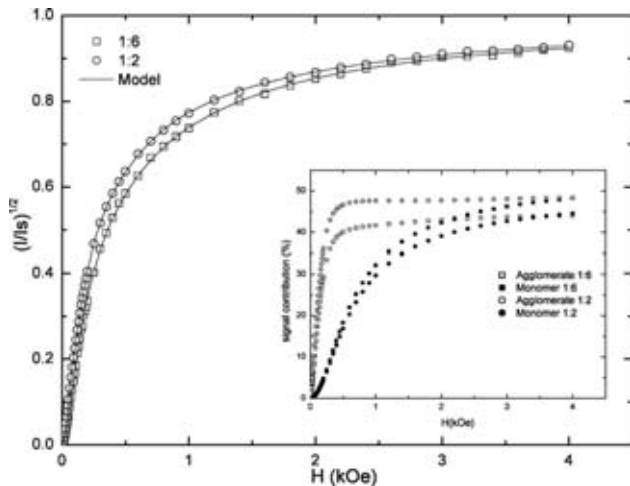


FIG. 1. Day 0 normalized SMB signal of sample DMSA1 after different dilutions (1:2 and 1:6). Symbols are experimental values, whereas solid lines are the curve fittings using Eqs. (1), (2a), and (2b). The inset shows the obtained contributions of monomers and agglomerates.

tion. Actually, DMSA-coated maghemite in the stock samples is expected to hold negative surface charge density.¹⁷ Dilution with pure water will enhance the colloidal stability in this case as the ionic strength of the bulk solvent will reduce, thus enhancing the electrostatic repulsion among the suspended nanoparticles. This strategy was intentionally meant to probe the sensitivity of the SMB technique in the investigation of the colloidal clustering process. Attenuated total reflectance Fourier-transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy was used to quantify the relative DMSA surface grafting in both BMF samples, as described in the literature.¹³ From the ATR-FTIR data we found sample DMSA1 presenting the lower surface grafting coefficient compared to sample DMSA2. Sample DMSA1 was diluted to produce three samples (1:2, 1:4, and 1:6), whereas sample DMSA2 was diluted to produce one sample (1:4).

The SMB measurements were carried out using a homemade system consisting of a chopped laser beam (632 nm) crossing perpendicularly the sample cell (1 mm thick optical path) before illuminating the photodetector. The sample cell embodies a double goniometerlike device that allows full angular rotation of polarizer and analyzer. The transmitted light intensity (I) is then recorded as a function of the applied external field in the range of 0–4 kOe. Note that in conventional SMB experiment the light intensity (I) scales with the birefringence signal (Δn) according to $\Delta n \approx I^{1/2}$.¹⁸

Open symbols in Fig. 1 represent the normalized SMB data of sample DMSA1 at dilutions 1:2 (circles) and 1:6 (squares) at day 0. Symbols regarding sample DMSA1 at 1:4 dilution were not included in Fig. 1 once they fall just in between symbols of samples 1:2 and 1:6. Solid and open symbols in the inset of Fig. 1 represent the contributions of monomers (isolated nanoparticles) and agglomerates (Q -cluster) to the net birefringence signal (Δn), respectively. As will be discussed below the model used to fit the experimental data (see solid lines in Fig. 1) is a recent extension of the model proposed by Neto *et al.*,¹¹ in which the field dependence of the magnetic susceptibility associated to differ-

ent Q -mers (dimer, trimer, tetramer, etc.) is taken into account. Within this new approach Gravina¹⁹ described the effect of the MF sample texture (Q -cluster) via a continuous distribution function. Instead of a discrete contribution (summation) of Q -mers (dimer, trimer, tetramer, etc.) weighted by their own frequencies as described in Ref. 11, Gravina¹⁹ introduced the log-normal distribution function $P(Q)$ describing the frequency versus size (Q) of the Q -cluster structure. $P(Q)$ is characterized by its own average Q -cluster size value ($\langle Q \rangle$) and average Q -cluster size-dispersion value (σ_Q). Following this new approach the field dependence of the normalized SMB signal ($\Delta n/\Delta n_s$) is written as

$$\begin{aligned} (\Delta n/\Delta n_s)(H) = & \int C_1 \Delta n_1(H, D) D^3 P(D) dD \\ & \oplus \int \int C_2 \Delta n_Q(H, D, Q) D^3 P(D) \\ & \times P(Q) dD dQ, \end{aligned} \quad (1)$$

with

$$\Delta n_1(H, D) = [1 - (3/\xi_1) \coth \xi_1 + (3/\xi_1^2)] \quad (2a)$$

and

$$\Delta n_Q(H, D, Q) = [1 - (3/\xi_Q) \coth \xi_Q + (3/\xi_Q^2)], \quad (2b)$$

where $\xi_1 = (\pi/6) M_s D^3 H / kT$ and $\xi_Q = (\pi/6) (2QK_Q / M_s) [1 + \beta P(H)] D^3 H / kT$ for $Q > 1$. M_s , K_Q , D , Q , and β are the saturation magnetization, Q -cluster effective rotational anisotropy, nanoparticle diameter, cluster size, and a constant, respectively. The argument of Eq. (2b) was developed assuming the volume of the Q -cluster (V_Q) equals $V_Q = QV$, where V is the nanoparticle volume, $(\pi/6) D^3$. In addition, the field dependence of the Q -cluster rotational susceptibility is described by $\chi_Q^r = [1 + \beta P(H)]$, as previously discussed.¹¹ Then, from the Q -cluster rotational susceptibility, $\chi_Q^r = M_Q / H_A^Q$, the Q -cluster saturation magnetization is given by $M_Q = \chi_Q^r H_A^Q = (2K_Q / M_s) [1 + \beta P(H)]$. Therefore, the Q -cluster effective magnetic moment is described by $M_Q V_Q = (\pi/6) \times (2QK_Q / M_s) [1 + \beta P(H)] D^3$. The first integral in Eq. (1) is carried out over the particle diameter distribution $P(D)$ only whereas the second integral in Eq. (1) is carried out over both the particle diameter distribution $P(D)$ and the Q -cluster distribution $P(Q)$, constrained by $C_1 + C_2 = 1$. The curve fitting of the data displayed in Fig. 1 (day 0) indicates that the higher the dilution the lower the average Q -cluster size value ($\langle Q \rangle$) and Q -cluster size-dispersion value (σ_Q). From the fitting procedure we found $\langle Q \rangle$ (σ_Q) equals 4.3 (0.45) and 4.0 (0.32) for dilution 1:2 and 1:6, respectively (see data in Fig. 1).

Open symbols in Fig. 2 represent the normalized SMB data of sample DMSA1 (dilution 1:4) recorded at day 0 (squares) and at day 5 (circles). Symbols regarding day 2 were not included in Fig. 2 once they fall just in between the symbols of day 0 and day 5. Solid and open symbols in the inset of Fig. 2 represent the contributions of monomers (isolated nanoparticles) and Q -clusters to the net birefringence signal (Δn), respectively. Figure 3 and its inset show the same aging experiment and the corresponding analysis for

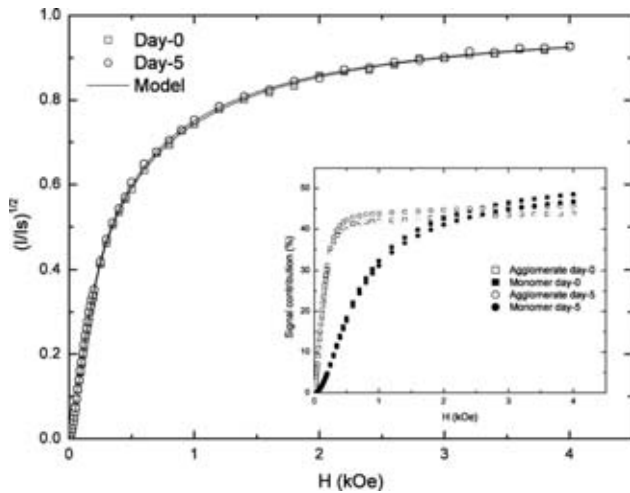


FIG. 2. Normalized SMB signal of DMSA1 sample (1:4 dilution) at day 0 and day 5. Symbols are experimental values, whereas solid lines are the curve fittings using Eqs. (1), (2a), and (2b). The inset shows the obtained contributions of monomers and agglomerates.

sample DMSA2. Solid lines in Figs. 2 and 3 represent the best curve fitting using Eqs. (1), (2a), and (2b). From the curve-fitting procedure we found slight differences (see curves in the inset) in particle texture (monomer and Q -cluster relative contents) of sample DMSA1 due to aging. However, no difference in particle texture was found from the analysis of the SMB of sample DMSA2 due to aging. This finding indicates that the aging of the investigated BMF samples occurs immediately after dilution, i.e., in a time scale much smaller than days. Nevertheless, we found an important difference on the particle texture of the two day 5 aged samples (DMSA1 and DMSA2), as indicated in Fig. 4. Figure 4 presents the $P(Q)$ distribution functions obtained from the fitting of the SMB data with $\langle Q \rangle$ (σ_Q) equals 4.0 (0.36) and 2.0 (0.62) for the day 5 samples (1:4 dilution) DMSA1 and DMSA2, respectively. This finding indicates that the higher the surface grafting coefficient the lower the

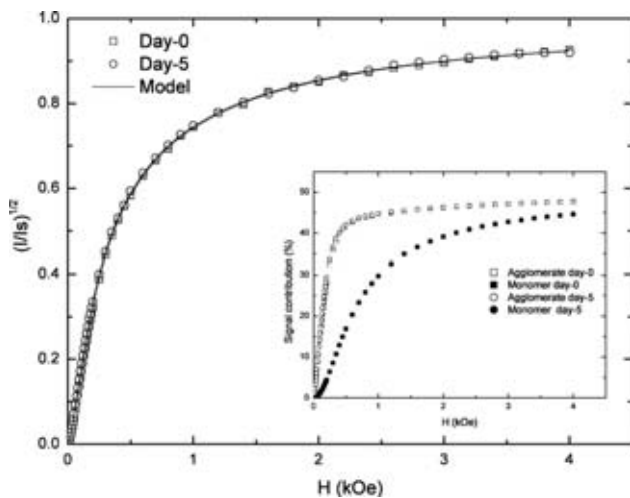


FIG. 3. Normalized SMB signal of DMSA2 sample (1:4 dilution) at day 0 and day 5. Symbols are experimental values, whereas solid lines are the curve fittings using Eqs. (1), (2a), and (2b). The inset shows the obtained contributions of monomers and agglomerates.

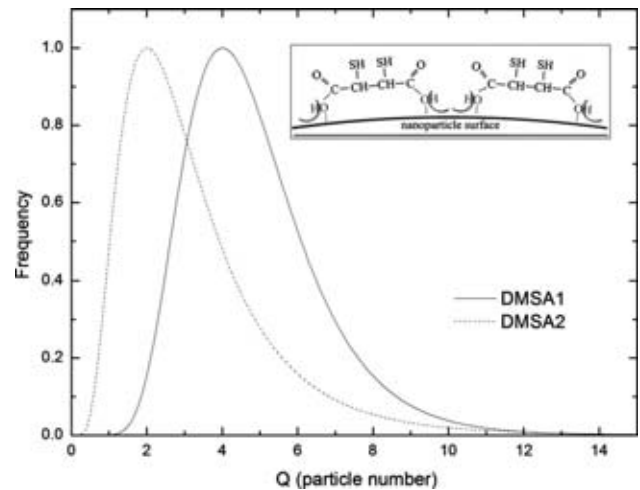


FIG. 4. Distribution function $P(Q)$ of samples DMSA1 and DMSA2 (1:4 dilution) after day 5 aging. The inset illustrates the DMSA orientation while binding at the nanoparticle surface (Ref. 15).

average Q -cluster size value ($\langle Q \rangle$) and higher the Q -cluster size-dispersion value (σ_Q). The inset of Fig. 4 is a schematic representation of the DMSA orientation while approaching the nanoparticle surface for iron complexation.¹⁵

In conclusion, dilution and aging of BMF samples containing DMSA-coated maghemite nanoparticle may change the magnetic texture of the sample, meaning the relative content of monomers and agglomerates. The actual MF sample texture can be more precisely described by the average Q -cluster size value ($\langle Q \rangle$) and average Q -cluster size-dispersion value (σ_Q) values of a log-normal distribution function $P(Q)$. We found changes in both $\langle Q \rangle$ and σ_Q depending on the initial surface grafting coefficient and the degree of dilution the stock samples are submitted to. In addition, changes in $\langle Q \rangle$ and σ_Q due to dilution take place in a time scale much smaller than days. These findings might have huge impact on shelving and diluting MF samples for biological and medical purposes.

This work was partially supported by the Brazilian agencies FINATEC, FAPDF, and MCT/CNPq.

- ¹M. Klokkenburg, B. H. Erné, J. D. Meeldijk, A. Wiedenmann, A. V. Petukhov, R. P. A. Dullens, and A. P. Philipse, *Phys. Rev. Lett.* **97**, 185702 (2006).
- ²S. Y. Yang, Y. H. Chao, and H. E. Horng, *J. Appl. Phys.* **97**, 093907 (2005).
- ³P. C. Morais, G. R. R. Gonçalves, A. F. Bakuzis, K. Skeff Neto, and F. Pelegrini, *J. Magn. Magn. Mater.* **225**, 84 (2001).
- ⁴E. Dubois, R. Perzynski, F. Boué, and V. Cabuil, *Langmuir* **16**, 5617 (2000).
- ⁵V. Socoliuc, D. Bica, and L. Vekas, *J. Colloid Interface Sci.* **264**, 141 (2003).
- ⁶P. C. Fannin, C. N. Marin, V. Socoliuc, and G. M. Istrătuță, *J. Magn. Magn. Mater.* **284**, 104 (2004).
- ⁷P. P. Gravina, A. F. Bakuzis, K. Skeff Neto, R. B. Azevedo, and P. C. Morais, *J. Magn. Magn. Mater.* **289**, 448 (2005).
- ⁸S. R. Avelino, F. M. L. Oliveira, A. C. Oliveira, and P. C. Morais, *J. Non-Cryst. Solids* **352**, 3692 (2006).
- ⁹F. M. L. Oliveira, S. R. Avelino, M. T. A. Elói, P. P. Gravina, K. Skeff Neto, E. C. D. Lima, and P. C. Morais, *J. Non-Cryst. Solids* **352**, 3689 (2006).
- ¹⁰P. C. Morais, P. P. Gravina, K. Skeff Neto, and B. M. Lacava, *Thin Solid*

- [Films](#) **515**, 226 (2006).
- ¹¹K. S. Neto, A. F. Bakuzis, P. C. Morais, A. R. Pereira, R. B. Azevedo, L. M. Lacava, and Z. G. M. Lacava, [J. Appl. Phys.](#) **89**, 3362 (2001).
- ¹²Z. Di, X. Chen, S. Pu, X. Hu, and Y. Xia, [Appl. Phys. Lett.](#) **89**, 211106 (2006).
- ¹³P. C. Morais, R. L. Santos, A. C. M. Pimenta, R. B. Azevedo, and E. C. D. Lima, [Thin Solid Films](#) **515**, 266 (2006).
- ¹⁴N. Fauconnier, J. N. Pons, J. Roger, and A. Bee, [J. Colloid Interface Sci.](#) **194**, 427 (1997).
- ¹⁵Y. W. Jun, Y. M. Huh, J. S. Choi, J. H. Lee, H. T. Song, S. Kim, S. Yoon, K. S. Kim, J. S. Shin, J. S. Suh, and J. Cheon, [J. Am. Chem. Soc.](#) **127**, 5732 (2005).
- ¹⁶B. Payet, D. Vincent, L. Delaunay, and G. Noyel, [J. Magn. Magn. Mater.](#) **186**, 168 (1998).
- ¹⁷N. Fauconnier, A. Bee, J. Roger, and J. N. Pons, [J. Mol. Liq.](#) **83**, 233 (1999).
- ¹⁸M. Xu and P. J. Ridler, [J. Appl. Phys.](#) **82**, 326 (1997).
- ¹⁹P. P. Gravina, MS thesis, Universidade de Brasília, 2005.

Time-modulation of surface functionalization in biocompatible magnetic fluids

P.C. Morais, A.P. Canizares, F.M.L. Oliveira, A.C. Oliveira

Universidade de Brasília, Instituto de Física, Núcleo de Física Aplicada, Brasília DF 70910-900, Brazil

Abstract

Photoacoustic spectroscopy (300 to 1000 nm wavelength range) was used to investigate the aging of dimercaptosuccinic acid-coated maghemite nanoparticles suspended as biocompatible magnetic fluids. The three samples investigated presented increasing surface grafting coefficient and were water-diluted at day zero. The time evolution (from day zero to day forty) of the areas under band-L and band-S photoacoustic features was used to draw conclusions on the changes on the relative populations of carboxyl (N_L) and hydroxyl (N_S) groups adsorbed onto the nanoparticle surface. We found the time-dependence of the relative populations of molecular species (N_L/N_S) peaking at band-L and band-S following a sigmoid-like curve with characteristic times of 2.7, 3.7 and 4.1 days for samples presenting increasing molecular surface grafting coefficient (N).

Keywords: A. magnetic fluid; A. nanostructures; B. chemical synthesis; D. photoacoustic; E. light absorption

*Corresponding author. Tel.: +55 61 3273 6655; fax: +55 61 3272 3151.

E-mail address: pcmor@unb.br (P.C. Morais)

1. Introduction

One of the key aspects related to biocompatible magnetic fluid (MF) samples, with important consequences to both fundamental and applied research, is the desorption of molecules out from the surface of the nanoparticle suspended in the carrier fluid. The surface molecular species are used not only to provide colloidal stability but specially to functionalize the colloidal magnetic particles, aiming particular biological and medical applications. However, desorption is a typical colloidal aging process which is closely related to nanoparticle clusterization, the latter tightening single nanoparticle units together in more complex agglomerates [1]. Cluster formation in MF samples, induced either by the application of an external magnetic field [2], reducing the MF sample temperature [3], increasing the MF nanoparticle concentration [4] or by changing the characteristics of the nanoparticle surface molecular layer [5-9], has been investigated to some extent though little effort has been devoted to understand the molecular surface-desorption process that may leads to nanoparticle clusterization. The influence of the surface grafting on the MF properties has been investigated using for instance static magnetic measurements [5], magnetic resonance [6], optical transmission experiments [7], static magnetic birefringence [8], and photoacoustic spectroscopy [9]. Photoacoustic spectroscopy (PAS) has been recently introduced as a promising MF characterization technique [10], for it provides important information regarding the nanoparticle core characteristics [11] as well as information related to molecular species adsorbed on the nanoparticle shell [9]. As reported in the literature [10] while the photoacoustic features related to the hydroxyl group adsorbed onto the surface of transition metal-oxide nanoparticles appears at shorter wavelengths (band-S) other adsorbed functional groups (such as carboxyl, carbonyl, and amino) reveal photoacoustic features at longer wavelengths (band-L). Therefore, as far as the time evolution of the molecular surface-grafting process is concerned PAS potentially provides a direct way to track changes on MF samples by looking at the relative intensities of band-L and band-S within the same photoacoustic spectrum. In the present study we report on the aging investigation of biocompatible magnetic fluid samples containing maghemite nanoparticle surface-coated with dimercaptosuccinic acid (DMSA) and suspended in physiological solution. Biocompatible magnetic fluid (BMF) samples with very similar maghemite core-size but presenting different DMSA grafting coefficients were used as the stock samples. Stock samples of magnetic fluids were then aqueous-diluted at day-zero while the photoacoustic spectra were recorded as a function of time in order to draw conclusions regarding changes on the molecular surface-grafting.

2. Experimental

The MF stock samples were prepared and stabilized in 0.9% sodium chloride aqueous solution at pH7, following the route already described in the literature [12]. Samples were labeled DMSA1, DMSA2 and DMSA3 with average core-diameters (size dispersion) of 7.9 nm (0.17), 7.2 nm (0.28) and 6.7 nm (0.17), respectively. The particle size (core diameter) histograms obtained from the transmission electron micrographs were curve-fitted using the log-normal distribution function [13]. Stock samples DMSA1, DMSA2 and DMSA3 were characterized in terms of the nanoparticle concentration as follow: 1.0×10^{16} , 1.7×10^{16} and 1.7×10^{16} particle/mL, respectively. Samples prepared for the PAS investigation were obtained by diluting the stock BMF samples using pure water as solvent. The dilution procedure was accomplished by adding three volumes of pure water in one volume of the stock sample. Attenuated total reflectance Fourier-transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy was used to quantify the relative DMSA surface grafting in both BMF stock samples, as described in the literature [12]. From the ATR-FTIR data we found sample DMSA1 presenting the lowest surface grafting coefficient whereas sample DMSA3 presented the highest surface grafting coefficient. Among all three BMF samples investigated sample DMSA2 presented intermediate surface grafting coefficient. After dilution the three BMF samples were used for recording the PAS data at day-0, day-2, day-5, day-8, day-15, day-30, and day-40. The photoacoustic (PA) spectra were recorded for all three aqueous-diluted BMF samples prepared as a thin film on top of a polished quartz substrate. The samples were enclosed in a sealed, high-performance, PA cell at atmospheric pressure, coupled to a sensitive microphone. The light from a 150 watts Xe lamp was dispersed by a 0.22 m double monochromator (Spex model 1680) and used as the variable wavelength light source. The light was chopped at a frequency of a few hertz to improve the signal-to-noise ratio. All the PA spectra were normalized to the spectra of a highly absorbing (black) film.

3. Results and discussion

Figure 1 shows typical PA spectra of sample DMSA1 recorded at day-0 and day-15. The usual region of band-C, -S and -L are also indicated in Fig. 1. Band-C has been related to the absorption of the incident light by the core nanoparticle [11]. We emphasize that the PA signal scales with the optical absorption coefficient and, under low optical excitation intensities, the PA signal scales linearly with the optical absorption coefficient. The optical absorption edge of most bulk ferrite-based crystals falls within the range of 300 to 400 nm. Band-S is related to the metal-polyoxy-hydroxy surface layer built up at the co-precipitated ferrite-based

nanoparticle surface, which is particularly enriched by hydroxyl groups [10]. The strong peak around 470 nm, observed in all ionic magnetic fluid samples investigated to date, indicates the expected high surface hydroxyl grafting coefficient. Note that the PA band around 470 nm is typical of the crystal field band of transition-metal ions in a distorted octahedral environment [9]. Finally it is claimed that band-L is related to the characteristics of the nanoparticle stabilizing molecular coating layer, thus allowing characterization of a particular BMF sample.

In order to analyze the time evolution of the relative population of carboxyl-to-hydroxyl groups, both directly adsorbed onto the nanoparticle surface, the areas under band-L (AuL) and -S (AuS) were investigated as a function of time. Figure 2 shows the time dependence of the AuL/AuS ratio. The area under the corresponding spectrum band scales with the surface grafting coefficient (N) of the adsorbed groups, namely carboxyl (N_L) and hydroxyl (N_S) groups while $AuL/AuS = N_L/N_S$. All data on Fig. 2 were normalized to 0.5 for day-0 in order to provide better comparison among different samples. Note in all three cases (see Fig. 2) the general tendency for saturation at longer times, though sample DMSA1 follows a quite different profile in comparison to samples DMSA2 and DMSA3, whose behavior is very much close together. In addition, note that all the data shown in Fig. 2 follow a sigmoid-like function, characterized by different parameters. One can easily derive a sigmoid-like function describing the aging process shown in Fig. 2 using a very simple model, as follows. Firstly, as already described in the literature, the surface of co-precipitated (alkaline medium) nanoparticles is fully-coated with hydroxyl groups. Secondly, the surface-coating of the maghemite nanoparticle with DMSA is accomplished because, under favorable chemical conditions, the carboxyl group shifts the surface-adsorbed hydroxyl group to some extent. Therefore, the BMF samples under investigation in this study contain maghemite nanoparticle surface-coated with hydroxyl and carboxyl groups, the steady-state relative population of them established by the conditions under which the coating process took place. Third, as far as the steady-state relative population of the surface molecular species is concerned water-dilution of the as-produced BMF samples takes the sample out from the equilibrium. The driving force restoring the system to another equilibrium position is the gradient of the osmotic pressure between the bulk solution (π_B) and the nanoparticle surface at the two distinct linking sites (π_L, π_S). Here we have two different molecular species (hydroxyl and carboxyl) in two different compartments (nanoparticle surface plus bulk solution). Note that the DMSA molecule normally has the first carboxyl group adsorbed onto the nanoparticle surface while the second one is facing the bulk solution.

The model picture assumes the rate (dN_S/dt) scaling with $\{(\pi_L - \pi_B) - (\pi_S - \pi_B)\}$. In other words, the differential equation describing the rate for reaching the steady-state condition is:

$$dN_S/dt = -(N_S - N_L)/\tau, \quad (1)$$

where τ is the characteristic time for approaching the steady-state condition. Solution of Eq. (1) gives:

$$N_L/N_S = B + (T - B)\{1 + \exp[(t_0 - t)/\tau]\}^{-1}, \quad (2)$$

where B (bottom) and T (top) describe the range of the N_L/N_S data and t_0 is the time at which the ratio N_L/N_S is halfway between bottom and top. The solid lines in Fig. 2 represent the best curve-fitting of the data ($AuL/AuS = N_L/N_S$) using Eq. (2).

5. Conclusion

In summary, photoacoustic spectroscopy was used in this study to follow and evaluate the aging of dimercaptosuccinic acid-coated maghemite nanoparticle suspended as biocompatible magnetic fluid samples. Photoacoustic spectra of water-diluted samples were recorded as a function of time, thus providing information for the time evolution of the relative population of molecular species (carboxyl versus hydroxyl) adsorbed onto the nanoparticle surface. We found the area under the photoacoustic band-L (band-S), which scales with the number of adsorbed carboxyl (hydroxyl) species, the appropriated variable to investigate the samples aging. A simple model picture, based on the gradient of osmotic pressure, is proposed in the present study to fit the experimental data in order to provide the characteristic time constant for the aging process.

Acknowledgments

The authors acknowledge the financial support of the Brazilian agencies MCT/CNPq and FINATEC.

References

1. M. Klokkenburg, B.H. Ern , J.D. Meeldijk, A. Wiedenmann, A.V. Petukhov, R.P.A. Dullens, A.P. Philipse, *Phys. Rev. Lett.* 97 (2006) 185702.
2. S.Y. Yang, Y.H. Chao, H.E. Horng, *J. Appl. Phys.* 97 (2005) 093907.
3. P.C. Morais, G.R.R. Gonçalves, A.F. Bakuzis, K. Skeff Neto, F. Pelegrini, *J. Magn. Magn. Mater.* 225 (2001) 84-88.
4. E. Dubois, R. Perzynski, F. Boué, V. Cabuil, *Langmuir* 16 (2000) 5617-5625.
5. V. Socoliuc, D. Bica, L. Vekas, *J. Colloid Interface Sci.* 264 (2003) 141-147.
6. P.C. Fannin, C.N. Marin, V. Socoliuc, G.M. Istr tuc , *J. Magn. Magn. Mater.* 284 (2004) 104-112.
7. P.P. Gravina, A.F. Bakuzis, K. Skeff Neto, R.B. Azevedo, P. C. Morais, *J. Magn. Magn. Mater.* 289 (2005) 448-452.
8. F.M.L. Oliveira, S.R. Avelino, M.T.A. Elói, P.P. Gravina, K. Skeff Neto, E.C.D. Lima, P.C. Morais, *J. Non-Crystal. Sol.* 352 (2006) 3689-3691.
9. S.R. Avelino, F.M.L. Oliveira, A.C. Oliveira, P.C. Morais, *J. Non-Cryst. Sol.* 352 (2006) 3692-3696.
10. P.C. Morais, A.C. Oliveira, A.L. Tronconi, C. Gansau, T. Goetze, N. Buske, *IEEE Trans. Magn.* 39 (2003) 2654-2656.
11. P.C. Morais, A.L. Tronconi, A.C. Oliveira, R.L. Santos, E.C.D. Lima, *J. Phys. IV* 125 (2005) 505-508.
12. P.C. Morais, R.L. Santos, A.C.M. Pimenta, R.B. Azevedo, E.C.D. Lima, *Thin Solid Films* 515 (2006) 266-270.
13. B. Payet, D. Vincent, L. Delaunay, G. Noyel, *J. Magn. Magn. Mater.* 186 (1998) 168-174.

Figure captions

Fig. 1. Typical photoacoustic (PA) spectra of sample DMSA1 at day-0 and day-15.

Fig. 2. N_I/N_S versus aging time. Symbols are the experimental values whereas solid lines are the best curve-fitting using Eq. (2).

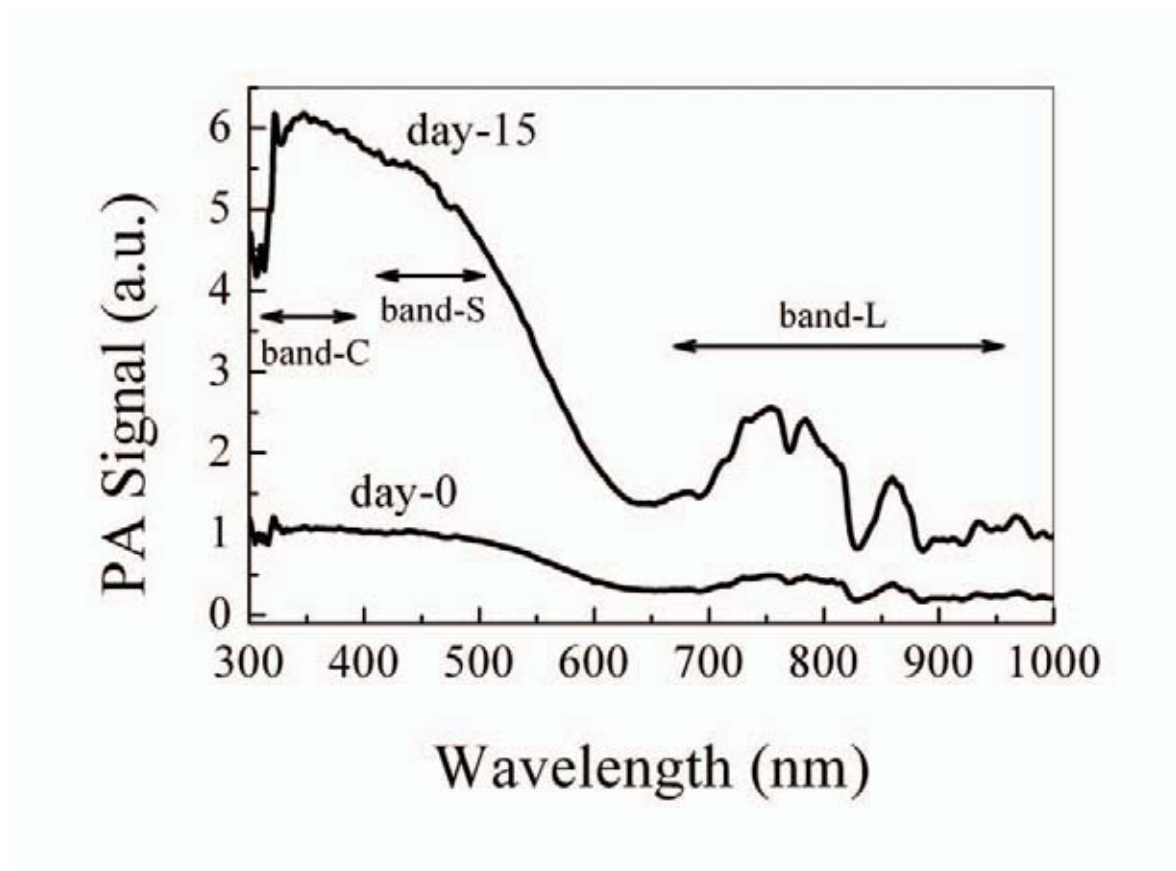


Fig. 1.

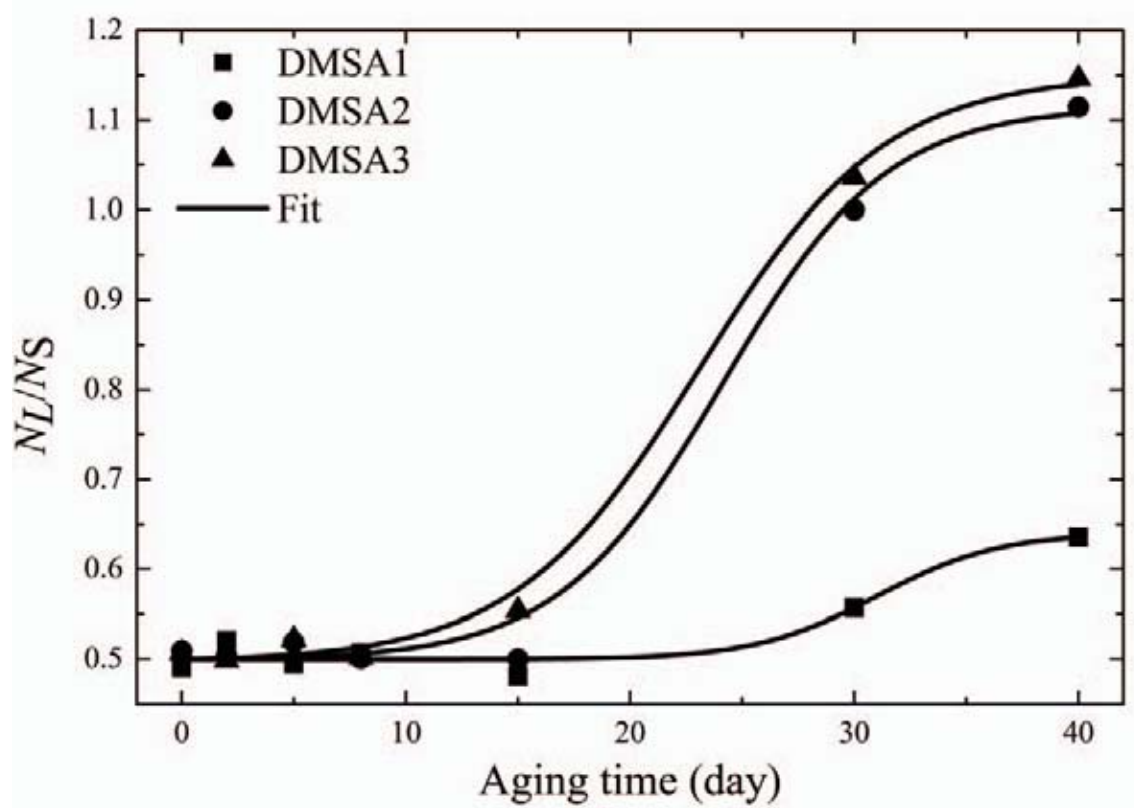


Fig. 2.