



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
CENTRO TECNOLÓGICO
ESCOLA DE ENGENHARIA INDUSTRIAL METALÚRGICA DE VOLTA REDONDA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA METALÚRGICA

TESE

**“DESENVOLVIMENTO E
CARACTERIZAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE MAGHEMITA
(γ -Fe₂O₃) APLICADAS AO
TRATAMENTO DE HIPERTERMIA
MAGNÉTICA”**

Aluna: Mara Carolina do Carmo Paresque

Orientadores: Prof. Dr. Marcos Flávio Campos

Prof.^a Dra Elizabeth Mendes de Oliveira

Setembro de 2019

VOLTA REDONDA

MARA CAROLINA DO CARMO PARESQUE

**“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
MAGHEMITA (γ -Fe₂O₃) APLICADAS AO TRATAMENTO DE HIPERTERMIA
MAGNÉTICA”**

Área de Concentração: Modelamento e Simulação de Processos e Fenômenos

Linha de Pesquisa: Energia e Meio Ambiente

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica da UFF-EEIMVR como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Engenharia Metalúrgica.

Orientadores

Prof. Dr. Marcos Flavio de Campos

Prof.^a Dra. Elizabeth Mendes de Oliveira

Volta Redonda

2019

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Jose Adilson de Castro, os meus sinceros agradecimentos pela sua extrema dedicação e competência na orientação desse doutoramento, levarei os seus ensinamentos por toda a minha vida. À Elizabeth Mendes de Oliveira, que mais do que uma orientadora, mais do que uma amiga, foi uma irmã durante todos esses anos, levarei nossa amizade e parceria para toda a vida. Ao professor Marcos Flávio de Campos pela sua inusitada orientação e parceria nessa pesquisa. Aos amigos que conquistei ao longo da minha vida acadêmica, que fizeram parte de todas as minhas vitórias e derrotas, e hoje moram em meu coração, a vocês Fabiana Campos, Daniele Baêta, Daniele Nogueira, Josué Medeiros e Jilder Dandy Peña Serna, o meu mais sincero obrigado por estarem em minha vida e fazerem esse fardo ser leve diante de todas as minhas dificuldades. Aos pós-doutorandos Fernanda Sampaio, Leonardo Martins e Ingrid Russoni, cuja humildade, otimismo e boa vontade me incentivou a prosseguir, obrigada pela amizade conquistada. Ao professor Wallace Nunes (Instituto de Física – UFF), e as professoras Mariella Alzamora (UFRJ) e Magda Fontes (CBPF) que me receberam tão abertamente em suas instituições e contribuíram imensamente com sua inestimável ajuda na realização dos procedimentos experimentais e com sugestões na melhoria deste trabalho. Aos professores Edwin (UFF), Flavio Garcia (CBPF) e Yutão Xing (UFF) que disponibilizaram seus equipamentos para execução dos ensaios experimentais, meus sinceros agradecimentos pelo suporte. Aos Técnicos Celinho e Bonifácio pela sua alegria e por estarem sempre presentes, dando incentivo além do apoio técnico. Ao CBPF e também a equipe do LDRX – UFF, em especial o Técnico Douglas, pelo suporte que tornou esse trabalho possível. E, finalmente ao meu amigo, companheiro, meu alicerce de todos os dias, meu namorado Jonhy Florêncio que esteve ao meu lado em cada etapa dessa caminhada, meus sinceros agradecimentos. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

MARA CAROLINA DO CARMO PARESQUE

**“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
MAGHEMITA (γ -Fe₂O₃) APLICADAS AO TRATAMENTO DE HIPERTERMIA
MAGNÉTICA”**

Orientadores:

Prof. Dr. Marcos Flávio Campos – UFF

Prof.^a Dra. Elizabeth Mendes de Oliveira – CEFET/RJ

Volta Redonda

2019

MARA CAROLINA DO CARMO PARESQUE

**“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS
DE MAGHEMITA ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) APLICADAS AO TRATAMENTO DE
HIPERTERMIA MAGNÉTICA”**

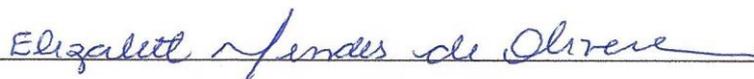
Aprovada em 12 de Setembro de 2019.

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Marcos Flávio de Campos – UFF

EEIMVR– UFF– Universidade Federal Fluminense



Prof.^a Dra. Elizabeth Mendes de Oliveira – CEFET/RJ

Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca


Prof. Dr. Gláucio Soares da Fonseca – UFF

EEIMVR– UFF– Universidade Federal Fluminense

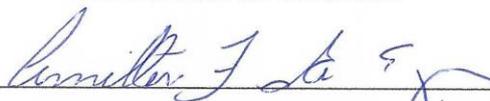

Prof. Dr. Wesley Luiz da Silva Assis – UFF

EEIMVR– UFF – Universidade Federal Fluminense



Prof.^a Dra. Marise Maleck de Oliveira

Universidade de Vassouras



Prof. Dr. Amilton Ferreira da Silva Júnior – CEFET/RJ

Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Considerações iniciais.....	16
1.2 Objetivo Geral.....	21
1.3 Objetivo Específico.....	21
1.4 Ineditismo.....	22
1.5 Organização da tese.....	22
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	24
2.1 Nanotecnologia e nanopartículas magnéticas.....	24
2.2 Aplicação das nanopartículas na biomedicina.....	28
2.2.1 Contraste para imagem por ressonância magnética (IRM).....	29
2.2.2 Liberação controlada de fármacos.....	31
2.2.3 Hipertermia magnética.....	32
2.3 Nanopartículas de óxido de ferro.....	34
2.3.1 Métodos de obtenção de nanopartículas de óxido de ferro.....	35
2.3.2 Co-precipitação.....	36
2.4 Funcionalização da superfície das nanopartículas.....	39
2.4.1 Polietileno glicol (PEG).....	41
2.4.2 Àgar.....	42
2.5 Propriedades magnéticas das nanopartículas.....	43
2.5.1 Ciclo de histerese das nanopartículas superparamagnéticas.....	46
2.6 Mecanismos de geração de calor.....	48
2.6.1 Efeitos da relaxação.....	48
2.6.2 Perdas por histerese.....	51
2.7 SAR.....	52
2.8 Equação do calor em sistemas biológicos.....	53
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	56
4. METODOLOGIA.....	65
4.1 Síntese das MNPs.....	66
4.2 Caracterização das nanopartículas.....	69
4.2.1 Difração de raios -x.....	69
4.2.2 Análise Rietveld.....	70

SUMÁRIO

4.2.3 Nanosight (NTA).....	71
4.2.4 Análise termogravimétrica (TGA).....	72
4.2.5 Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	73
4.2.6 Espectroscopia Mössbauer.....	73
4.2.7 Espectroscopia por infravermelho (FTIR).....	75
4.2.8 Potencial zeta.....;	76
4.3 Avaliação das propriedades magnéticas.....	78
4.3.1 Curvas ZFCFC.....	78
4.3.2 Histeresímetro.....	79
4.4 Avaliação de propriedades para hipertermia.....	81
4.4.1 Ensaio de hipertermia magnética.....	81
4.5 Solução numérica.....	82
4.5.1 Solver SDI.....	84
4.5.2 Formulação matemática.....	86
4.5.2.1 Condições de contorno.....	88
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	89
5.1 Caracterização das nanopartículas.....	89
5.1.1 DRX.....	89
5.1.2 Análise Rietveld.....	96
5.1.3 Análise Nanosight.....	102
5.1.3.1 Influência do tempo de revestimento na espessura e tamanho da camada polimérica das NPs.....	102
5.1.3.2 Influência da variação de temperatura, concentração de PEG e de ágar na espessura e tamanho da camada polimérica das NPs.....	104
5.1.4 Análises TGA-DSC.....	111
5.1.5 Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	118
5.1.6 Espectroscopia Mössbauer.....	120
5.1.7 Análises FTIR.....	124
5.1.8 Potencial zeta.....	127
5.2 Avaliação das propriedades magnéticas.....	129
5.2.1 Curva ZFC-FC.....	129
5.2.2 Curvas de histerese.....	132
5.3 Avaliação de propriedades para hipertermia.....	135

SUMÁRIO

5.4 SAR.....	138
5.5 Resultados de simulação computacional.....	140
6. CONCLUSÕES.....	145
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	147

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Esquema da estratégia terapêutica utilizando NPs magnéticas.....	17
Figura 2.1: Mecanismos de estabilização de nanopartículas: (a) estabilização por efeito estérico e (b) estabilização eletrostática.....	39
Figura 2.2: Cadeia química do PEG.....	42
Figura 2.3: Cadeia química do ágar.....	43
Figura 2.4: Parede de domínio, onde δ_0 corresponde a largura da parede de domínio.....	45
Figura 2.5: Ciclo de histerese.....	47
Figura 2.6: Curva de magnetização típica de material superparamagnético.....	48
Figura 4.1: Experimentos realizados.....	65
Figura 4.2: Esquema da síntese das NPMs de óxido de ferro.....	67
Figura 4.3: Dispersões preparadas com diferentes pH nas amostras M7, M9 e ME14.....	77
Figura 4.4: Aspecto típico das curvas ZFC/FC.....	79
Figura 4.5: Molécula computacional e volume de controle finito para integração das equações de transporte.....	83
Figura 4.6: Malha para o método de Volumes Finitos.....	83
Figura 4.7: Solução linha a linha.....	85
Figura 4.8: Solução coluna a coluna.....	85
Figura 4.9: Matriz tri-diagonal.....	86
Figura 5.1: Difratomogramas das amostras MAG-10, MAG-20 e MAG-30.....	90
Figura 5.2: Difratomogramas das amostras MAG-50 e MAG-60.....	91
Figura 5.3: Difratograma padrão da magnetita.....	92
Figura 5.4: Difratomogramas das amostras M1, M2 e M3: efeito da adição de ágar (PEG 3,5 g e 25°C).....	92
Figura 5.5: Difratomogramas das amostras M4, M5 e M6: efeito da adição de ágar (PEG 3,5 g e 80°C).....	93
Figura 5.6: Difratomogramas das amostras M7, M8 e M9: efeito da adição de ágar (PEG 7,0 g e 25°C).....	94
Figura 5.7: Difratomogramas das amostras M10, M11 e M12: efeito da adição de ágar (PEG 7,0 g e 80°C).....	95
Figura 5.8: Difratomogramas das amostras ME14 (1g), ME16 (2g) e ME17 (3g): PPEG 3,5g e temperatura de 25°C.....	96
Figura 5.9: Refinamento Rietveld das amostras MAG-10, MAG-20 e MAG-30.....	97
Figura 5.10: Refinamento Rietveld das amostras MAG-50 e MAG-60.....	97
Figura 5.11: Refinamento Rietveld das amostras M1, M2 e M3.....	98
Figura 5.12: Refinamento Rietveld das amostras M4, M5 e M6.....	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 5.13: Refinamento Rietveld das amostras M7, M8 e M9.....	99
Figura 5.14: Refinamento Rietveld das amostras M10, M11 e M12.....	99
Figura 5.15: Refinamento Rietveld das amostras extrapoladas ME14, ME16, ME17 e M-Ag.....	100
Figura 5.16: Comparação entre os valores de D_{10} , D_{50} , D_{90} e diâmetro médio para as amostras com variados tempos de revestimento.....	104
Figura 5.17: Distribuição granulométrica das amostras M1, M2, M3 e M4.....	108
Figura 5.18: Distribuição granulométrica das amostras M5, M6, M7 e M8.....	109
Figura 5.19: Distribuição granulométrica das amostras M9, M10, M11 e M12.....	109
Figura 5.20: Distribuição granulométrica das amostras ME13, ME14, ME15 e ME16.....	110
Figura 5.21: Distribuição granulométrica das amostras ME17 e M-Ag.....	110
Figura 5.22: Variação de massa em relação à temperatura da amostra M1 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.....	112
Figura 5.23: Variação de massa em relação à temperatura da amostra M3 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.....	112
Figura 5.24: Variação de massa em relação à temperatura da amostra M7 utilizando nitrogênio como atmosfera ambiente.....	113
Figura 5.25: Variação de massa em relação à temperatura da amostra M9 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.....	113
Figura 5.26: Variação de massa em relação à temperatura da amostra ME14 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.....	114
Figura 5.27: Variação de massa em relação à temperatura da amostra ME16 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.....	114
Figura 5.28: Variação de massa em relação à temperatura da amostra ME17 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.....	115
Figura 5.29: Variação de massa em relação à temperatura da amostra M-Ag utilizando nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.....	115
Figura 5.30: Microscopia eletrônica de transmissão da amostra M1 em escala de 20 nm	119
Figura 5.31: Microscopia eletrônica de transmissão da amostra ME14 em escala de 20 nm	119
Figura 5.32: Espectro Mössbauer à temperatura ambiente das amostras M1, M9, ME14 e M-Ag.....	121
Figura 5.33: Espectro Mössbauer à baixa temperatura das amostras M1 e ME14.....	123
Figura 5.34: Espectro de infravermelho das amostras M1, M3 e M7.....	125
Figura 5.35: Espectro de infravermelho da amostra M9, ME14 e M-Ag.....	126
Figura 5.36: Espectro de FTIR de uma amostra de ágar.....	127
Figura 5.37: Curvas FC (superior) e ZFC (inferior) da amostra M1.....	130
Figura 5.38: Curvas FC (superior) e ZFC (inferior) da amostra ME14.....	130

LISTA DE FIGURAS

Figura 5.39: Medidas de magnetização M (emu/g) versus campo magnético H (kOe), a temperatura ambiente.....	134
Figura 5.40: Evolução de temperatura das amostras, dispersas em água, em relação ao tempo, sob influência de campo magnético externo ($H = 200$ G e $f = 307$ kHz).....	136
Figura 5.41: Comparação da evolução de temperaturas durante o experimento para determinação do SAR. Ajuste e validação do modelo magneto hidrodinâmico acoplado à equação de conservação de energia ($H_0 = 200$ G e $f = 307$ kHz).....	141
Figura 5.42: Distribuição de temperatura e vetores de velocidade da corrente da corrente sanguínea no interior do tecido submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (20 s) : a) detalhe da região de contraste de temperatura; b) Perfusão e identificação das células tumorais.....	141
Figura 5.43: Distribuição de corrente induzida no interior do tecido submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (20 s).....	142
Figura 5.44: Distribuição de corrente e potencial elétrico induzidos no interior do tecido submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (20 s).....	142
Figura 5.45: Componente horizontal dos vetores de indução magnética e potencial magnético no interior do tecido tumoral submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (20 s).....	143
Figura 5.46: Componente horizontal dos vetores de campo elétrico e corrente no interior do tecido tumoral submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (90 s).....	143
Figura 5.47: Distribuição de temperaturas no interior do tecido tumoral submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (90 s).....	144

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1: Exemplos de aplicações de nanomateriais nas diversas indústrias.....	26
Tabela 4.1: Lista de reagentes utilizados, suas respectivas marcas e quantidades utilizadas.	67
Tabela 4.2: Planejamento fatorial das sínteses.....	68
Tabela 4.3: Planejamento fatorial das sínteses das amostras com carga de ágar extrapolado	69
Tabela 4.4: Parâmetros utilizados na análise Rietveld.....	71
Tabela 5.1: Valores de diâmetros médios e parâmetros de rede obtidos a partir do refinamento Rietveld para amostras com tempos de revestimento variados.....	101
Tabela 5.2: Valores de diâmetros médios e parâmetros de rede obtidos a partir do refinamento Rietveld.....	101
Tabela 5.3: Dados Nanosight para variados tempos de revestimento.....	103
Tabela 5.4: Dados Nanosight para variadas temperaturas, concentrações de revestimento e quantidade de ágar.....	105
Tabela 5.5: Porcentagem de perda de massa.....	116
Tabela 5.6: Parâmetros de todos os espectros a temperatura ambiente (RT).....	122
Tabela 5.7: Dados dos parâmetros de espectroscopia Mössbauer para Magnetita e Maghemita a temperatura ambiente e 4,2 K.....	122
Tabela 5.8: Parâmetros dos espectros adquiridos a 4,2 K.....	124
Tabela 5.9: Potencial zeta amostras M7, M9 e ME14 para diferentes pH.....	128
Tabela 5.10: Resultados de saturação magnética.....	134
Tabela 5.11: Variação de temperatura em ensaio de hipertermia magnética.....	137
Tabela 5.12: Avaliação dos parâmetros do ensaio de hipertermia magnética.....	139

LISTA DE ABREVIATURAS

BHT	Bio-heat transfer equation
NPs	Nanopartículas
NPMs	Nanopartículas magnéticas
MRI	Imagem por ressonância magnética
DRX	Difração de Raios X
FC	Field-Cooling
ZFC	Zero-Field-Cooling
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
MET	Microscópio Eletrônico de Transmissão
TGA	Análise termogravimétrica
NTA	Nanoparticles Tracking Analyzer
ILP	Intrinsic loss power
PPMS	Physical Properties Measurements System
MPHMTP	Multi Phase Heat and Mass Transfer Program
SAR	Specific absorption rate
$\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	Cloreto férrico
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	Sulfato ferroso
NH_4OH	Hidróxido de Amônio
PEG	Polietilenoglicol
Fe_3O_4	Magnetita
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Maghemita
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Hematita

RESUMO

A nanotecnologia tem desempenhado um importante papel na sociedade, no que tange a criação de nanopartículas com propriedades multifuncionais voltadas para as diversas aplicações biomédicas, tais como as nanopartículas magnéticas. Estas permitem novas oportunidades como agentes de contraste para imagem em ressonância magnética, liberação específica de fármacos através de campo magnético e tratamento de tumores via hipertermia, temática dessa pesquisa. Nesse contexto, as nanopartículas (NPs) mais empregadas são a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) devido a sua baixa citotoxicidade, alta biocompatibilidade com o organismo e propriedades magnéticas requeridas para a hipertermia magnética. Nesta tese foram sintetizadas NPs através do método de co-precipitação com revestimento de Polietilenoglicol. Variou-se a temperatura do meio reacional e a quantidade de revestimento empregado. Visando um maior controle e estabilidade das NPs em solução, foram adicionadas quantidades variáveis de ágar no meio reacional. As técnicas de DRX, NTA, TGA, Refinamento Rietveld, MET, FTIR, Espectroscopia Mössbauer, Potencial Zeta, Curvas ZFC/FC, Histeresímetro e Indutor Magnético foram utilizadas para caracterizar as amostras sintetizadas e avaliar sua viabilidade para aplicação na técnica de hipertermia magnética. As NPs sintetizadas apresentaram diâmetros médios na faixa entre 12 e 13 nm para sínteses realizadas a temperatura ambiente e entre 16 e 18 nm para sínteses realizadas a 80 °C. Observou-se que a presença do ágar durante a síntese não comprometeu a estrutura cristalina das NPs. A presença de oxigênio no meio reacional possibilitou a formação da fase maghemita ($\gamma\text{-Fe}_3\text{O}_2$) pura com propriedades adequadas para hipertermia. As NPs apresentaram boa estabilidade em suspensão coloidal, valores satisfatórios de magnetização de saturação (M_s) e SAR. Visando demonstrar sua aplicabilidade em um tratamento individualizado e personalizado, o modelo MPHMT (Multi Phase Heat and Mass Transfer Program) foi aplicado a uma condição de tratamento hipotético, após sua calibração com os resultados do ensaio de indução magnética. Os resultados do modelo indicam que os efeitos de dosagem e perfusão sanguínea podem ser previstos de forma precisa pelo modelo.

Palavras-Chaves: nanopartículas de óxido de ferro, hipertermia magnética, simulação computacional.

ABSTRACT

Nanotechnology has played an important role in society, as regards the creation of nanoparticles with multifunctional properties used for various biomedical applications, such as magnetic nanoparticles. These allow new opportunities as contrast agents for magnetic resonance image, specific drug delivery through the magnetic field and via the hyperthermia treatment of tumors subject of this research. In this context, the most used nanoparticle is magnetite (Fe_3O_4) and maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) due to its low cytotoxicity, high biocompatibility with the body and the attractive opportunities in biomedicine. In this context, the most commonly used nanoparticles (NPs) are magnetite (Fe_3O_4) and maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) due to their low cytotoxicity, high biocompatibility with the organism and magnetic properties required for magnetic hyperthermia. In this thesis NPs were synthesized by the polyethylene glycol co-precipitation method. The temperature of the reaction medium and the amount of coating employed were varied. For greater control and stability of the NPs in solution, varying amounts of agar were added to the reaction medium. The XRD, NTA, TGA, Rietveld Refining, MET, FTIR, Mössbauer Spectroscopy, Zeta Potential, ZFC/FC Curves, Hysteresimeter and Magnetic Inductor techniques were used to characterize the synthesized samples and evaluate their viability for application in the magnetic hyperthermia technique. The synthesized NPs presented average diameters in the range between 12 and 13 nm for syntheses performed at room temperature and between 16 and 18 nm for syntheses performed at 80°C . It was observed that the presence of agar during synthesis did not compromise the crystalline structure of the NPs. The presence of oxygen in the reaction medium allowed the formation of the pure maghemite phase ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) with properties suitable for hyperthermia. The NPs presented good colloidal suspension stability, satisfactory saturation magnetization (M_s) and SAR values. In order to demonstrate its applicability in an individualized and personalized treatment, the Multi Phase Heat and Mass Transfer Program (MPHMTP) model was applied to a hypothetical treatment condition after its calibration with the results of the magnetic induction test. The model results indicate that the effects of dosing and blood perfusion can be accurately predicted by the model.

Key Words: iron oxide nanoparticles, magnetic hyperthermia, computational simulation.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações iniciais

Desde a década de setenta, as nanopartículas (NPs) têm desempenhado um papel relevante na medicina e na biociência. As dimensões das NPs as tornam candidatas ideais para a nanoengenharia de superfícies e produção de nanoestruturas funcionais. Devido às suas características únicas, não presentes em outros materiais, as nanopartículas podem ser utilizadas nos mais variados segmentos de pesquisas (Lodhia *et al.*, 2010).

Nesse contexto, o desenvolvimento de materiais nanométricos com propriedades magnéticas é um assunto de extrema importância tanto para a compreensão de suas propriedades fundamentais quanto para novas aplicações tecnológicas, incluindo necessidades clínicas (Aphesteguy *et al.*, 2015).

Entre as pesquisas realizadas acerca dos nanomateriais, destacam-se temas como a síntese, a caracterização e as propriedades dos materiais produzidos. Devido ao seu singular tamanho (que pode variar entre 1 e 100 nm), esses materiais apresentam distintas propriedades físicas, químicas, eletrônicas, magnéticas, catalíticas e eletroquímicas se comparadas com aquelas apresentadas pelo mesmo material sólido convencional (*bulk*), viabilizando possíveis aplicações em várias áreas da tecnologia (Horn *et al.*, 2001).

Dentre os diferentes tipos de nanopartículas atuantes, considera-se que as nanopartículas magnéticas (NPMs), em particular o óxido de ferro, representam uma classe importante, devido à sua biocompatibilidade e estabilidade (Nkurikiyimfura *et al.*, 2013), bem como suas propriedades magnéticas: superparamagnetismo, alta coercividade, baixa temperatura de Curie, alta susceptibilidade magnética, entre outras (Wu *et al.*, 2008), além também do custo de produção reduzido (Laurent *et al.*, 2008).

Dentre as partículas de óxido de ferro, se destacam como mais promissoras as de magnetita (Fe_3O_4), maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e a hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$). No entanto, as nanopartículas de magnetita são os materiais mais estudados devido à sua rápida resposta ao campo magnético através do comportamento superparamagnético à temperatura ambiente com elevada magnetização de saturação (Petcharoen *et al.*, 2012).

As NPs de óxido de ferro possuem uma propriedade interessante, a capacidade para gerar calor quando submetidas a um campo magnético alternado. Este fenômeno térmico pode ser devido à perda de energia durante o processo de desmagnetização. Esta propriedade é crucial para as aplicações na hipertermia (Dias *et al.*, 2011) nas quais é necessária a aplicação de calor numa determinada zona do organismo.

Atualmente, a área de biomedicina tem aumentado fortemente o interesse na utilização de nanomateriais, visto que este tipo de material apresenta características bastante diferentes do mesmo material em escala macroscópica. Em aplicações biomédicas é constantemente necessário que hajam nanopartículas magnéticas biocompatíveis, quimicamente estáveis e não tóxicas (Chaughule *et al.*, 2012), para aplicações que envolvem sua administração dentro do organismo (*in vivo*) e as externas ao organismo (*in vitro*).

As aplicações *in vivo* são classificadas em terapêuticas (ver Figura 1.1) como hipertermia e liberação de drogas, além das diagnósticas como imagens de ressonância magnética nuclear e se baseiam, geralmente, no seu transporte passivo até o alvo pretendido pela circulação sanguínea, enquanto as aplicações *in vitro* compreendem essencialmente as diagnósticas, como a biosseparação (separação/seleção celular) (Faraji *et al.*, 2010).

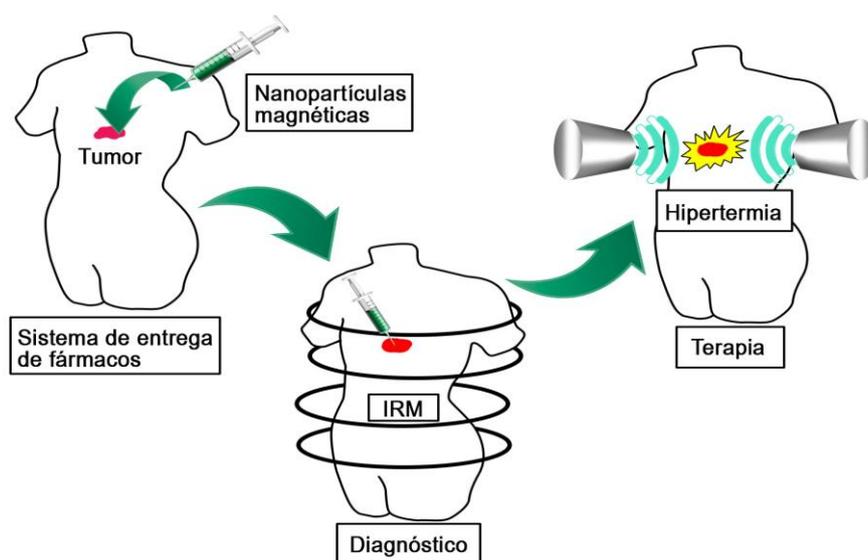


Figura 1.1. Esquema da estratégia terapêutica utilizando NPs magnéticas

(Adaptado de Ito *et al.*, 2005)

Uma importante característica das nanopartículas magnéticas consiste na sua manipulação pela ação de um campo magnético externo que combinada com uma penetrabilidade intrínseca dos campos magnéticos no tecido humano é capaz de proporcionar a elaboração de várias aplicações que envolvem transporte e/ou imobilização de NPMs com o intuito de promover marcação de entidades biológicas. Isso possibilita o carreamento de drogas, tais como fármacos anticâncer, em uma região alvo do organismo (Wang, *et. al.*, 2011).

As (NPs) podem aquecer devido às respostas ressonantes que estas apresentam a um campo magnético variável, isso proporciona resultados vantajosos no que se refere à transferência de energia do campo excitado à nanopartícula, além de tornar possível a aplicação desse tipo de material em técnicas de hipertermia, liberando quantidades suficientes de energia térmica em locais pontuais do organismo, tal como um tumor ou ainda, aperfeiçoando os procedimentos de quimioterapia e radioterapia, nos quais, o aquecimento imposto sob o tecido doente leva a uma destruição mais eficiente das células tumorais (Pankhurst *et al.*, 2003).

Para que seja possível utilizar NPMs em bioaplicações é imprescindível que estas partículas sejam elaboradas a partir de materiais biocompatíveis, tais como um núcleo de óxido de ferro tais como, magnetita (Fe_3O_4) ou maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), para que apresente um valor considerável de susceptibilidade magnética e um revestimento que permita que esse tipo de material seja introduzido no corpo humano (Indira *et al.*, 2010).

No entanto, para que o uso de NPMs seja possível em diversos campos da biomedicina é necessário que o tipo de partículas utilizadas apresente magnetização efetiva e um comportamento superparamagnético. É necessário também à partícula estar compreendida num tamanho entre 5 e 20 nm, apresentando assim um monodomínio magnético, bem como ser recoberta por uma superfície adaptada e funcionalizada quimicamente (Gupta e Gupta, 2005). Portanto, tão importante quanto as NPs utilizadas seguirem um padrão de comportamento magnético, é também a necessidade das mesmas serem biofuncionalizadas antes que ocorra qualquer contato com o tecido humano.

A hipertermia por indução magnética, uma das terapias para o tratamento do câncer, expõe o tecido cancerígeno a um campo magnético alternado. O campo magnético não é absorvido pelo tecido vivo e pode ser aplicado em regiões profundas do organismo humano. Quando as partículas magnéticas estão sob influência de um campo magnético variável, origina-se um gradiente de temperatura devido a perdas por histerese (Zhang *et al.*, 2010). A quantidade de calor gerado depende da natureza do material magnético e dos parâmetros do campo magnético externo.

As NPMs que circundam o tumor quando colocadas sob a oscilação de um campo magnético se aquecem até certa temperatura que depende das propriedades do material magnético utilizado, da força do campo magnético, da frequência de oscilação e da capacidade de resfriamento da corrente sanguínea no local do tumor. Por meio dessa oscilação é possível gerar temperaturas de cerca de 42 °C – 45 °C capazes de danificar e matar as células cancerosas, geralmente com lesão mínima nos tecidos normais (Kita *et al.*, 2010).

Por meio da técnica de hipertermia é possível reduzir tumores, pois em elevadas temperaturas as células tumorais que vivem em condições de hipóxia (com baixa quantidade de oxigênio) são severamente danificadas. Isso acontece, pois quando a temperatura é aumentada, estas células não têm a capacidade de manter um pH adequado à sua sobrevivência (porque este já é naturalmente ácido devido à falta de oxigênio) e, portanto, morrem preferencialmente (Zagar *et al.*, 2010a; Zagar *et al.*, 2010b).

Outra vantagem da hipertermia magnética é o fato de o aquecimento ser restrito somente à região do tumor, minimizando o máximo possível à agressão as células saudáveis. Visto que as células tumorais são mais facilmente aquecidas do que os tecidos normais vizinhos, a hipertermia magnética consiste em um tratamento útil contra o câncer apresentando poucos efeitos secundários locais (Souza *et al.*, 2011).

Para que essa aplicação seja possível, ou seja, para que ocorra produção de calor sem haver magnetismo remanescente, é necessário que o tamanho dos cristais do núcleo magnético esteja compreendido em escala nanométrica e apresentem um comportamento superparamagnético.

O Instituto Nacional do Câncer, nos EUA reconhece três tipos distintos de tratamentos por hipertermia: a hipertermia local, onde o calor é aplicado em uma pequena área, tal como um tumor, utilizando várias técnicas que liberam energia para aquecer o tumor (micro-ondas, radiofrequência e ultrassom); a hipertermia regional, na qual grandes áreas de tecidos, tais como cavidade corporal, órgão ou membro são aquecidos por meio de aplicadores externos e; a hipertermia por todo corpo que é utilizada no tratamento de metástase tumoral que se espalhou ao longo do organismo (Soares *et al.*, 2014).

A hipertermia dos fluidos magnéticos envolve a dispersão de partículas magnéticas através do “tecido-alvo”. As NPs magnéticas são colocadas dentro do tumor através de uma injeção direta ou através de um anticorpo tumoral específico, depois o tumor ser exposto a um campo magnético alternado com força e frequência suficientes para causar aquecimento das partículas por perdas de histerese ou relaxação de Néel. Devido a sua capacidade de serem funcionalizadas e carregadas por um campo magnético e pelo seu potencial em biocompatibilidade e teragnóstico, as nanopartículas magnéticas representam uma ferramenta de ponta para a nanomedicina, em especial terapias de hipertermia (Laurent *et al.*, 2011).

O altíssimo grau de toxicidade conferido aos tratamentos de quimioterapia impulsiona inúmeras tentativas de buscar técnicas alternativas que minimizem os danos causados a tecidos e órgãos saudáveis que são comumente afetados por esse tratamento agressivo. Dessa forma, esse trabalho se propôs a sintetizar e caracterizar nanopartículas magnéticas (NPMs) de óxido de ferro recobertas com polietileno glicol (PEG) visando estudar a capacidade e viabilidade da utilização do aquecimento induzido dessas nanopartículas para potencializar o tratamento quimioterápico reduzindo seu impacto no organismo.

1.2 Objetivo Geral

Este trabalho teve como objetivo geral produzir NPs com núcleo magnético de óxido de ferro, em especial, nanopartículas de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) recobertas com polietileno glicol (PEG) e ágar visando potencial aplicação para o tratamento de tumores malignos por hipertermia magnética.

1.3 Objetivo Específico

Dentre os objetivos específicos, destacamos:

- Sintetizar nanopartículas de óxido de ferro de forma fácil, reprodutível e com baixo custo utilizando o método de co-precipitação;
- Realizar o revestimento das NPMs por meio de polietileno glicol (PEG);
- Utilizar ágar no meio reacional durante a síntese visando estreitar a distribuição granulométrica das NPMs;
- Caracterizar as NPMs com relação a sua morfologia, propriedades químicas e magnéticas;
- Avaliar a eficiência das NPMs na técnica de hipertermia magnética;
- Simular numericamente o processo de aquecimento localizado das nanopartículas inseridas em um cenário de tratamento tumoral na região mamária na presença de um campo magnético externo.

1.4 Ineditismo

Do ponto de vista do desenvolvimento das NPs, o método de co-precipitação associado ao recobrimento e controle reacional pela adição de ágar, apresenta-se como novidade nesta tese. Foram utilizadas diferentes e complementares técnicas de caracterização e avaliação de propriedades das NPs e suspensões coloidais adequadas ao tratamento de hipertermia.

Do ponto de vista do desenvolvimento de ferramentas para a avaliação do tratamento *in situ* de células tumorosas, foi desenvolvido e implementado o acoplamento fluidodinâmico e magnético (MHD) simultaneamente ao mecanismo de aquecimento por indução magnética, relacionados aos principais mecanismos de interação e de aquecimento de partículas associados a problemas de hipertermia magnética.

Finalmente foi realizada uma adaptação do modelo MPHMTTP (Multi Phase Heat and Mass Transfer Program) por Castro, 2001. O modelo foi acoplado ao modelo tradicional de conservação de energia (equação bio calor), demonstrando a capacidade de análise e aplicabilidade do modelo magneto hidrodinâmico (MHD).

1.5 Organização da tese

O presente trabalho foi estruturado de forma a possibilitar um melhor entendimento da temática abordada. No capítulo 2 foram abordados os fundamentos teóricos básicos para a compreensão dos fenômenos físicos que governam a hipertermia magnética bem como o comportamento dos fluidos magnéticos. No capítulo 3 foi feito um levantamento do cenário geral do desenvolvimento de nanopartículas de óxido de ferro relacionadas às aplicações médicas bem como a utilização de distintos recobrimentos descritos na literatura. O capítulo 4 fez uma descrição da síntese das nanopartículas bem como técnicas de recobrimentos do nanomaterial visando sua aplicação em áreas relacionadas à biomedicina, além de toda a instrumentação utilizada na caracterização das amostras, utilizadas neste trabalho. No capítulo 5, os resultados obtidos através de cada técnica de caracterização, foram discutidos investigando a influência da temperatura, quantidade de revestimento e ágar envolvidos na síntese. Este

capítulo também contou com a descrição do modelo MPHMTM-MHD que possibilitou simular numericamente o processo de aquecimento localizado das nanopartículas mediante a presença de um campo magnético externo em uma situação de tratamento de câncer de mama. No capítulo 6 foi apresentada uma ampla discussão e um fechamento do trabalho de acordo com os resultados obtidos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo foi realizada uma explanação acerca das NPMs, suas aplicações na área de biomedicina, bem como as características que tornaram esse tipo de material tão interessante para essa e outras aplicações tecnológicas. Tratando em especial das NPs de óxido de ferro, foram discutidas as suas propriedades magnéticas, bem como os principais métodos de obtenção e de funcionalização da superfície.

2.1 Nanotecnologia e nanopartículas magnéticas

A nanotecnologia representa um importante papel no que diz respeito ao avanço de diversos setores tecnológicos nos dias atuais. O crescente interesse nesse intrigante ramo tecnológico fez aumentar, em diversos países, não só as pesquisas como também o investimento financeiro visando o aprimoramento e desenvolvimento de vários segmentos da sociedade, tais como: informática, telecomunicações, robótica, química, no tratamento de efluentes, no desenvolvimento de novas técnicas de diagnósticos e tratamento de doenças, no desenvolvimento de novos remédios e produtos estéticos e além da produção de novos materiais para inúmeras aplicações.

Esse ramo da ciência representa os materiais compreendidos em escala nanométrica ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$), ou seja, uma classe de materiais que apresenta dimensões na faixa de 1nm até 100 nm (Ferreira *et al.*, 2009). Esse tipo de material está na ordem de um bilionésimo de metro e pode ser comparado a algumas estruturas conhecidas como, por exemplo, a largura de uma molécula de DNA que tem cerca de 2 nm de largura, um glóbulo vermelho do sangue que tem aproximadamente 7.000 nm de largura ou mesmo um vírus, que mede entre 20 e 450 nm (Bordelon *et al.*, 2011).

É conhecido que, em 1 nm cabem aproximadamente 10 átomos, estruturas dessa ordem de grandeza possuem dimensões atômicas e, portanto, seus comportamentos passam a ser descritos conforme a física quântica. Dessa forma, apesar de manter a mesma composição química dos materiais massivos (*bulk*), materiais nanoparticulados podem muitas vezes apresentar propriedades físicas e químicas, tais como, térmicas, ópticas, magnéticas e elétricas diferentes dos correspondentes materiais massivos em decorrência da sua ampla redução de tamanho e aumento do efeito de superfície (Hervault e Thanh, 2014).

Os efeitos quânticos, que passam a governar os materiais em escala nanométrica e o considerável aumento na área superficial apresentado pelas nanopartículas, dão origem aos efeitos de superfície e estes são os responsáveis pelas características singulares observadas em materiais que tem seu tamanho drasticamente reduzido. A relação entre a área da superfície e o volume é muito maior em NPs do que nos materiais massivos, dando origem a um sistema que em alguns casos pode ser considerado como um sistema bidimensional ou unidimensional.

No que tange a razão entre a superfície e o volume ocorre um aumento em decorrência da diminuição do tamanho das partículas, a forma como as partículas interagem tanto com os sistemas que a cercam, quanto sozinhas são drasticamente afetadas. Dessa forma, materiais em escala nanométrica são altamente reativos (Plathe *et al.*, 2013), ou seja, materiais em escala nanométrica tem uma alta energia superficial que faz com que as partículas se agreguem para minimizar a energia do sistema, tornando-se necessária a funcionalização de sua superfície para que algumas aplicações sejam possíveis.

Devido a essas propriedades singulares, existe um crescente esforço no que se relaciona ao melhor entendimento e inovação de sistemas que tem como base as características e propriedades únicas apresentadas por objetos nanoestruturados, para que seja possível para pesquisadores de todo o mundo desenvolver novos materiais e dispositivos tecnológicos cada vez menores, mais modernos e econômicos. Conforme Tabela 2.1.

Nesse sentido, destacam-se as NPMs e são assim conhecidas por responderem a presença de um campo magnético, possibilitando sua manipulação. Esse tipo de material vem despertado grande interesse devido às suas distintas propriedades magnéticas, que estão relacionadas à estrutura cristalina, aos efeitos quânticos e ao aumento da área superficial, todos esses fatores estão associados ao seu tamanho, quando é drasticamente reduzido (Lodhia *et al.*, 2010).

Tabela 2.1. Exemplos de aplicações de nanomateriais nas diversas indústrias, adaptado por (Stefan dos Santos Cunha, 2014).

Indústria	Exemplos de Aplicações de Nanomateriais
Automobilística e Aeronáutica	Formação de materiais mais leves, pneus mais resistentes, plásticos não inflamáveis e econômicos
Eletrônica e Comunicações	Armazenamento de dados, aumento na velocidade de processamento
Química e Materiais	Catalisadores mais eficientes, ferramentas de corte mais duras, fluidos magnéticos inteligentes
Farmacêutica, Biotecnologia e Biomédica	Novos fármacos baseados em nanoestruturas, conjunto para autodiagnóstico, materiais para regeneração de ossos e tecidos, hipertermia magnética
Setor de Fabricação	Novos microscópios e instrumentos de medida, ferramentas para manipular a matéria a nível atômico, bioestruturas
Setor Energético	Novos tipos de bateria, fotossíntese artificial, economia de energia ao utilizar materiais mais leves e circuitos menores
Meio Ambiente	Membranas seletivas para remover contaminantes ou sal da água, novas possibilidades de reciclagem, desenvolvimento de materiais para biorremediação criando os chamados “ <i>Lab-on-a-Chip</i> ” para detecção e quantificação de poluentes
Defesa	Detectores de agentes químicos e orgânicos, circuitos eletrônicos mais eficientes, sistemas miniaturizados de observação, tecidos mais leves

Uma propriedade encontrada exclusivamente em NPMs é conhecida como superparamagnetismo (Bean e Livingston, 1959). Essa propriedade confere as NPMs a capacidade de permanecerem magnetizadas apenas enquanto estão na presença de um campo magnético, não retendo nenhum tipo de magnetização na ausência do campo. Em razão disso, uma das vertentes do magnetismo mais estudadas é o nanomagnetismo devido às suas inúmeras aplicações práticas que vão desde a geologia até a gravação

magnética, dos ferrofluidos ao transporte de drogas que podem ser direcionadas a órgãos ou tecidos específicos (Salem *et al.*, 2003).

O nanomagnetismo é responsável por estudar as diversas propriedades e aplicações do magnetismo de nanopartículas isoladas, nanofios, filmes finos e multicamadas, e também amostras magnéticas volumosas que incorporam partículas nanoscópicas. As propriedades e características de qualquer sistema nanoparticulado são fortemente dependentes da morfologia das partículas, do seu tamanho e da sua cristalinidade (Gupta e Gupta, 2005, Knobel *et al.*, 2008). Torna-se então imprescindível o conhecimento de tais propriedades para que seja possível escolher dentre os diversos tipos de nanopartículas, aquelas que são mais indicadas para cada tipo de aplicação específica.

A possibilidade de funcionalização ou de modificação química da superfície das NPs com diferentes materiais que incluem polímeros, surfactantes ou materiais orgânicos permite conferir a essas partículas características distintas que as tornam interessantes para diversas aplicações tecnológicas. Essas NPs são compostas basicamente de um núcleo magnético (como por exemplo, ferro, níquel e cobalto) recoberto por uma camada de algum ligante específico apropriado para a aplicação de interesse.

Em destaque estão as NPs de óxido de ferro devido a sua biocompatibilidade, estabilidade e biodegradabilidade (Gubin, 2009), que conferem a esse tipo de material o potencial para revolucionar a área da biomedicina (Sun *et al.*, 2008) através do transporte controlado de fármacos, como agentes de contraste em imagem por ressonância magnética nuclear, em tecnologias baseadas na separação magnética de DNA/RNA, proteínas, bactérias, vírus e outras biomoléculas, além do tratamento de câncer pela técnica de hipertermia magnética.

Para que sejam produzidas NPs viáveis voltadas para aplicações biológicas, faz-se imprescindível que haja um rigoroso domínio do tamanho, da distribuição granulométrica, da morfologia e da cristalinidade das partículas que é feito através do controle de parâmetros químicos e físicos durante o processo de síntese, além também do recobrimento adequado para esse tipo de aplicação (Ostroverkhov *et al.*, 2019). Dessa forma é possível controlar a qualidade e desempenho das nanopartículas, tornado possível estudar e prever seu comportamento em ambientes de interesse.

2.2 Aplicações das nanopartículas na biomedicina

Um dos setores que teve um crescente interesse no desenvolvimento e uso de nanomateriais magnéticos é relacionado à biomedicina, onde esse tipo de material é utilizado em aplicações de diagnósticos, terapêuticas e em uma nova modalidade que combina as duas áreas e é conhecida como teragnóstico (terapêutica + diagnóstico) (Hervault e Thanh, 2014; Lyutyy et al., 2019). Esse interesse se deve ao fato de partículas em escala nanométrica possuírem tamanho comparável a sistemas e entidades biológicas como, por exemplo, o de vírus (20 a 450 nm), proteínas (5 a 50 nm) e genes (2 nm de largura e de 10 a 100 nm de comprimento) (Pankhurst et al., 2003), o que permite a essas partículas atingirem diversos sistemas biológicos.

O recobrimento adequado pode promover o ancoramento das NPMs a estruturas biológicas, evitar a ligação do ferro com componentes do sangue e impedir que o sistema retículo endotelial detenha as partículas inseridas no organismo imediatamente após sua inserção (Gaoa e Xu, 2009). Também torna-se possível atingir alvos específicos dentro do organismo, como órgãos, células ou tecidos através da funcionalização adequada da superfície das nanopartículas com agentes biologicamente ativos, como por exemplo, vitaminas, hormônios, antibióticos, anticorpos, além de outras moléculas e íons específicos capazes de guiar as partículas a região de tratamento (Sun *et al.*, 2008).

Usualmente, as NPs são utilizadas em áreas relacionadas a diagnósticos ou terapia principalmente na forma de ferrofluido, que consiste basicamente em um meio aquoso ou outro fluido biocompatível com o organismo no qual as nanopartículas estão dispersas (Roca *et al.*, 2019). A estabilidade desse fluido é importantíssima nesse tipo de aplicação dependendo fortemente do tamanho das partículas suspensas no ferrofluido e do tipo de camada que reveste suas superfícies. As partículas devem apresentar um tamanho reduzido a ponto da influência do movimento Browniano superar a força gravitacional evitando a decantação das partículas, e terem suas superfícies funcionalizadas com cargas de forma a aumentar a repulsão entre os núcleos evitando a formação de aglomerados (Langer, 1990).

Para possibilitar sua inserção no organismo para aplicações *in vivo*, não só a superfície das NPMs deve ser recoberta visando promover tanto sua interação com o organismo, quanto sua estabilidade dentro do sistema, visto que, existe uma forte

tendência de nanopartículas se aglomerarem quando dispersas em solução, como também o seu tamanho deve ser inferior a 150 nm e sua magnetização de saturação deve ser elevada para possibilitar sua locomoção através de vasos sanguíneos e a passagem através de barreiras biológicas com o auxílio de um campo magnético externo (Teja *et al.*, 2009).

A camada que reveste o núcleo magnético não só impede a aglomeração das partículas quando dentro do organismo evitando a formação de coágulos, como também possibilita a solubilização das nanopartículas em água, diminui sua toxicidade e aumenta sua biocompatibilidade com o organismo.

Dentre as diversas áreas dentro da biomedicina nas quais as NPs já são utilizadas ou estão sendo estudadas por apresentarem um grande potencial de aplicação, as NPMs que apresentam um comportamento superparamagnético em temperatura ambiente são amplamente desejadas, visto que apresentam baixa ou nenhuma remanência magnética durante sua rápida mudança de estado magnético, o que contribui para evitar sua aglomeração em solução ou no organismo. Partículas nessas condições apresentam melhores respostas quando submetidas a campos magnéticos, diminuindo assim a quantidade necessária de NPMs utilizada durante o tratamento (Teja *et al.*, 2009). Dentre essas áreas, as que mais se destacam são: contraste para imagem por ressonância magnética (IRM), liberação controlada de fármacos e hipertermia magnética.

2.2.1 Contraste para imagem por ressonância magnética (IRM)

A imagem por ressonância magnética é uma técnica de imagem não invasiva utilizada em diagnósticos médicos que possibilita a visualização e estudo de tecidos moles devido a sua alta capacidade de diferenciar tecidos, podendo ser aplicada a todo o corpo humano (Gonçalves e Ramalho, 2017). Essa técnica proporciona um contraste mais elevado e um maior grau de detalhamento quando comparada a tomografia computadorizada, por exemplo, o que possibilita a aquisição de imagens nítidas mesmo nas regiões do corpo que são formadas por estruturas que possuem densidades semelhantes entre si.

A obtenção de imagens através dessa técnica é possível graças à alta concentração de água existente nos sistemas biológicos, pois dela provém grande parte dos numerosos átomos de hidrogênio que constituem o corpo (Sun *et al.*, 2008;

Carvalho *et al.*, 2014). Após serem submetidos a um forte campo magnético, os átomos se alinham na direção do campo aplicado e são excitados em seguida por ondas de radiofrequência. Após esse processo, os átomos de hidrogênio realizam um processo de relaxação nuclear restabelecendo assim a sua condição de equilíbrio ao libertar o excesso de energia que foi recebido do pulso de radiofrequência (Thomas *et al.*, 2013).

O sinal produzido nesse processo é então tratado e origina as imagens que serão utilizadas para diagnósticos. Porém, nem sempre o sinal obtido através da técnica de ressonância magnética resulta em imagens suficientemente nítidas para o diagnóstico, sendo então necessário aumentar o contraste das imagens para possibilitar uma diferenciação mais eficaz dos tecidos em análise através do uso de agentes de contraste (Laurent *et al.*, 2008).

Nesse sentido, faz-se necessário a utilização de agentes capazes de modificar a amplitude dos sinais gerados pelos átomos de hidrogênio na presença do campo magnético ao interferir no seu tempo de relaxação e conseqüentemente aumentar o contraste da imagem (Lee *et al.*, 2014). Para isso, atualmente é mais comumente utilizado agentes de contraste a base de gadolínio (Gd), que são materiais que apresentam propriedades paramagnéticas e atuam diminuindo o tempo de relaxação dos tecidos em que estão presentes fazendo com que esses átomos se alinhem mais rapidamente na direção do campo aplicado, fazendo com que dessa forma, o contraste entre as regiões e o sinal produzido aumente.

No entanto, o íon Gd não pode ser utilizado sozinho no organismo, pois apresenta uma alta toxicidade e meia-vida biológica de algumas semanas, portanto, deve ser sempre utilizado junto a um agente quelante capaz de reduzir tanto sua toxicidade quanto seu tempo de meia-vida no organismo facilitando a eliminação do composto através dos rins (Elias *et al.*, 2008). A fim de reduzir as reações adversas provocadas pelo uso de compostos à base de Gd, o uso de NPs vem sendo amplamente estudado como um novo grupo de agentes de contraste de IRM para aplicações clínicas.

Dentre essas, estão as NPs de óxido de ferro que ganham destaque devido a suas propriedades superparamagnéticas únicas, bem como seu tamanho reduzido, sua biodegradabilidade e a possibilidade de inúmeras modificações químicas da sua superfície (Stephen *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2015). Essas modificações químicas possibilitam aumentar a biocompatibilidade das partículas com o organismo (visto que o

ferro é abundante no corpo humano), torná-las não tóxicas, capazes de se concentrar quase que especificamente no tecido ou órgão de destino, evitar que as partículas se agreguem impedindo assim que elas sejam reconhecidas pelo sistema imune, além de aumentar o tempo de circulação das partículas na corrente sanguínea, permitindo melhores interações biológicas e melhor desempenho como agente de contraste (Lee *et al.*, 2014).

2.2.2 Liberação controlada de fármacos

Uma das principais desvantagens do uso convencional de fármacos é o modo como sua administração é feita, pois nesse caso, ocorre um aumento da concentração da droga na corrente sanguínea até que o nível máximo de dissolução seja atingido, seguido de uma diminuição no nível da substância ministrada. Isso torna necessária a administração de uma nova dosagem com o objetivo de conservar os níveis de concentração da droga no organismo dentro da faixa adequada para o sucesso do tratamento. As oscilações no nível de medicação durante o tratamento podem levar a inconvenientes, pois concentrações inferiores à faixa terapêutica tornam-se ineficazes podendo levar em alguns casos a resistência ao fármaco, enquanto concentrações acima da faixa ideal de tratamento podem causar toxicidade (Bizerra e Silva, 2016).

No que diz respeito aos tratamentos convencionais por fármacos, a falta de especificidade com o local da patologia, sua distribuição sistêmica, além da necessidade do uso de altas dosagens para que seja possível alcançar a concentração ideal no local do tratamento ocasionando reações adversas eventualmente também representam desvantagens no seu uso em aplicações clínicas (Kim *et al.*, 2009). No entanto, avanços no ramo da nanotecnologia têm possibilitado a criação de sistemas de liberação controlada de fármacos em escala nanométrica que mantêm os níveis de drogas no sistema dentro da faixa terapêutica por um tempo prolongado aumentando assim a eficiência do tratamento, diminuindo a frequência com a qual o agente ativo é administrado, o aparecimento de efeitos colaterais, além de possibilitarem a entrega de substâncias como anticorpos, drogas, biomoléculas e hormônios.

O uso de materiais nanoestruturados permite que as paredes dos vasos sanguíneos sejam penetradas e possibilita que a máxima concentração de fármacos atinja exclusivamente a região alvo, permitindo que uma menor quantidade de fármaco

seja inserida no organismo. Para isso, as NPs devem ter sua superfície funcionalizada com substâncias específicas para o tipo de aplicação desejada (Wu *et al.*, 2015).

Nesse sentido, a utilização de NPMs mostra-se promissora principalmente no caso de fármacos destinados ao tratamento quimioterápico, pois permite que a maior parte do medicamento administrado interaja principalmente com as células da região doente minimizando os efeitos adversos aos quais as células normais são submetidas durante o tratamento convencional (Lübbe *et al.*, 2001). As NPMs que transportam fármacos são direcionadas para um local específico no organismo por meio da utilização de um campo magnético externo que ajuda no transporte através das paredes do sistema vascular e na retenção das mesmas na região acometida pelas células tumorais, mantendo o medicamento no local por longos períodos de tempo (Willard *et al.*, 2004).

2.2.3 Hipertermia magnética

No que se refere ao uso de NPMs no campo da biomedicina, a técnica de hipertermia magnética vem se mostrando promissora no auxílio do tratamento de tecidos neoplásicos malignos (câncer), que tem se tornado uma das maiores e mais preocupantes enfermidades da sociedade (Zhao *et al.*, 2006).

O uso de calor para o tratamento de doenças não é um conceito novo. A ideia foi inicialmente proposta por Hipócrates (460-370 a.C.) que acreditava que, em último caso, doenças que não pudessem ser curadas com o uso de medicação ou intervenção cirúrgica poderiam ser curadas com a aplicação de calor, sendo então um dos primeiros a fazer uso da técnica de hipertermia ao sugerir que tumores superficiais fossem tratados através de cauterização aplicando ferro quente (Soares *et al.*, 2012). Entretanto, desde o século XIX, a aplicação da técnica de hipertermia como modalidade dentro das técnicas disponíveis para tratamento de tumores vem ganhando notoriedade em função da sua eficácia clínica ao possibilitar uma seleção mais precisa da área a ser tratada minimizando assim os efeitos no restante do organismo (Souza *et al.*, 2011).

O tratamento de tumores através do processo de aquecimento pode ocorrer respeitando as seguintes classificações relacionadas com a faixa de temperatura atingida durante o tratamento: hipertermia moderada ou branda, cuja faixa de aquecimento da região doente varia entre 41-45 °C; hipertermia em regime quase ablativo, cujo aquecimento tumoral atinge temperaturas entre 46-49 °C; ablação de tumores, onde a

temperatura de trabalho é igual ou superior aos 50 °C; ou então a crioblacção, tratamento no qual ocorre o resfriamento intratumoral a temperaturas inferiores a -40 °C (Yarmolenko *et al.*, 2011).

A elevação da temperatura do tecido na faixa de 46-50 °C pode produzir necrose de coagulação e apoptose celular promovendo a morte das células cancerosas, no entanto, essa faixa de temperatura se aproxima da temperatura em que também ocorre destruição das células saudáveis, fazendo com que seja necessário um maior controle na utilização da técnica (Jordan *et al.*, 1999; Maier-Hauff *et al.*, 2007). Já elevações de temperatura na faixa de 41-45 °C embora não sejam normalmente capazes de produzir imediatamente a destruição das células tumorais podem, no entanto, promover a desoxigenação das células tumorais deixando-as mais suscetíveis a radiação (Hofer, 2002).

Isso acontece, pois células cancerosas são provenientes de uma desorganização genética que acarreta o descontrole celular, dessa forma, são oriundas de um ambiente ácido no qual existe pouca oferta de nutrientes e oxigênio (hipóxia) levando-as a uma condição de maior sensibilidade ao aumento de temperatura quando comparadas a células saudáveis do organismo (Rolf, 2008). Essa sensibilidade a variações de temperatura diminui a resistência das células doentes e quando aliada a tratamentos convencionais de quimioterapia e radioterapia é capaz de potencializar os resultados do tratamento.

Segundo o Instituto Americano do Câncer, existem três formas de tratamento de cancro por hipertermia: hipertermia local, na qual o calor é aplicado a uma área restrita através de mecanismos de geração de calor como, por exemplo, microondas, radiofrequência e ultrassom; hipertermia regional, na qual o calor é aplicado a grandes regiões do corpo como cavidade corporal, órgãos ou membros através de aplicadores externos ou perfusores regionais; e hipertermia por todo o corpo, que é utilizada para tratar tumores em fase metastática espalhados por todo o corpo (Laurent *et al.*, 2011; Darwish *et al.*, 2017).

Existem várias formas de levar uma região do corpo a hipertermia, porém, uma das vertentes dessa técnica consiste basicamente na realização do aquecimento de uma região doente do organismo utilizando NPMs, conhecida como magneto-hipertermia. Para isso, as NPMs, após serem inseridas no organismo na forma de ferrofluido e

atingirem a região de interesse, são submetidas à aplicação de um campo magnético alternado com força e frequência suficientes para produzir o aquecimento das partículas.

Esse aquecimento é possível devido tanto às interações dos momentos de dipolo magnéticos das nanopartículas com um campo magnético alternado a que são submetidas (Dennis *et al.*, 2013), quanto à dissipação de energia térmica por perda de histerese que pode ocorrer através do mecanismo de relaxação de Néel, assim como pelo aquecimento gerado pelo mecanismo de relaxação browniano das NMP (Shaterabadi *et al.*, 2018).

O aquecimento gerado pelas partículas depende diretamente do seu tamanho, da sua forma, das propriedades magnéticas do material utilizado, da intensidade do campo aplicado, da frequência de oscilação do campo, bem como da região onde se encontra localizado o tumor, um elevado fluxo de sangue em torno do tumor (perfusão sanguínea) favorece uma maior dissipação do calor produzido pelas NPMs aumentando a dificuldade de aquecer a região. A forma como as partículas chegam até a região-alvo também contribui para o sucesso da técnica, pois quantidades menores de partículas dispersas na região tumoral resultam numa redução da eficácia do aquecimento e consequentemente do tratamento.

Apesar da utilização da técnica de hipertermia através de NPMs apresentar um panorama bastante promissor no que diz respeito ao tratamento de câncer no futuro, essa técnica ainda não é utilizada como tratamento isolado, contudo, em alguns países já é utilizada em conjunto com radioterapia e quimioterapia para potencializar os resultados do tratamento de alguns tipos de tumores como os de útero, próstata, pescoço, cabeça, pulmões e mama (Soares *et al.*, 2012). No entanto, ainda é necessário que haja avanços na produção e controle da síntese das nanopartículas visando essa aplicação.

2.3 Nanopartículas de óxido de ferro

Para aplicações biomédicas preferencialmente são utilizadas partículas em escala nanométrica com diâmetros suficientemente pequenos a ponto de apresentar um comportamento superparamagnético. Para esse tipo de aplicação comumente são utilizadas NPs compostas por um núcleo metálico feito de óxido de ferro e uma camada

que reveste o núcleo protegendo-o da oxidação e agregação, conferindo ao nanomaterial propriedades pertinentes a aplicação de interesse.

Existem diferentes tipos de óxidos de ferro que podem apresentar composições químicas e propriedades magnéticas distintas. Dentre eles, as ferritas são óxidos formados através da ligação dos elementos ferro (Fe) e oxigênio (O), possibilitando a formação de variados compostos. Esse tipo de material pode ser dividido em dois grupos cristalográficos: cúbico e hexagonal, geralmente apresentando uma estrutura do tipo $MO(Fe_2O_3)$, na qual M representa um íon metálico divalente que pode ser ferro, cobalto, níquel, cobre, zinco ou manganês. Esta estrutura cristalina resulta numa magnetização espontânea a temperatura ambiente diferente para as partículas de ferro: 92 emu/g para a magnetita (Fe_3O_4) e 78 emu/g para a maghemita ($\gamma\text{-}Fe_2O_3$) (Lodhita, 2010).

2.3.1 Métodos de obtenção de nanopartículas de óxido de ferro

A síntese desempenha um papel crucial na obtenção de partículas com características interessantes para aplicações específicas em diversas áreas tecnológicas. Dessa forma, é importante que o controle das condições de síntese seja feito rigorosamente a fim de obter como resultado partículas com tamanho, morfologia, distribuição granulométrica e propriedades magnéticas satisfatórias visando à aplicação de destino (Gupta e Gupta, 2005).

A obtenção de NPs de óxido de ferro pode ser feita através de diversos métodos físicos ou químicos. Os métodos químicos, no entanto, possibilitam um maior rigor do produto final quando comparados aos métodos físicos, sendo possível ter maior controle do tamanho, composição, distribuição granulométrica e forma das nanopartículas e são, portanto as rotas mais utilizadas na literatura (Kandasamy e Maity, 2015). Entretanto, o controle e uniformidade das NPs obtidas como produto da síntese ainda representam um grande desafio, principalmente no que se refere a áreas médicas, mobilizando diversas áreas de pesquisa a fim de produzir materiais mais eficientes (Mahmoudi *et al.*, 2011).

A síntese das NPs superparamagnéticas por rotas químicas, em especial, apresenta alguns desafios devido à natureza coloidal apresentada por esse tipo de material. O primeiro deles consiste na definição das condições experimentais adequadas para que o produto obtido resulte em partículas magnéticas monodispersas. Outro

obstáculo é eleger um processo reprodutível que possa ser industrializado sem que haja necessidade de recorrer a processos complexos de purificação que dificultam e elevam o custo da produção das partículas. Para tanto, diversos métodos são estudados atualmente visando transpor essas barreiras, dentre eles estão: microemulsão, síntese sol-gel, reações hidrotérmicas, além do coprecipitação de sais de ferro (Laurent *et al.*, 2008), que é o escopo desse trabalho e será discutido adiante.

2.3.2 Co-precipitação

A precipitação química de sais de ferro em meio aquoso representa o método mais rápido, prático, além de econômico para a obtenção de NPs de óxido de ferro com propriedades magnéticas adequadas a diversas aplicações, incluindo na biomedicina e certamente é o mais reportado em literatura. Para tanto, os sais de ferro devem ser misturados em solução aquosa e precipitados através da adição de um hidróxido a mistura, dando origem a partículas que podem abranger desde 5 até 180 nm de diâmetro (Sato *et al.*, 1987).

O crescimento dos cristais durante a síntese acontece em duas etapas: a nucleação e o crescimento das partículas que ocorre logo em seguida. Quando a concentração de íons na solução alcança um valor de saturação crítico acontece então o rápido processo de nucleação que dá origem a uma grande quantidade de cristalitos (núcleos). A agregação dos cristalitos formados promove o surgimento de cristais maiores e termodinamicamente mais estáveis, o que consiste na etapa de crescimento dos núcleos dos cristais. Devido à difusão, tanto as variações de concentração e temperatura nessa etapa tem um altíssimo fator de impacto na velocidade com a qual a reação ocorre (Zhang *et al.*, 2006).

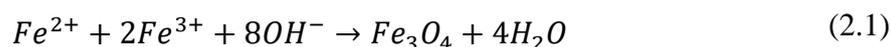
Tanto o tamanho, quanto a polidispersão das partículas são controladas diretamente pelas taxas de nucleação e de crescimento das partículas. Isso porque quando ocorre a predominância do processo de nucleação, as partículas resultantes são pequenas e em maior quantidade, já quando o crescimento das partículas é o processo predominante, o tamanho resultante das partículas aumenta enquanto sua quantidade diminui (Laurent *et al.*, 2008). Contudo, a produção de NPs de óxido de ferro monodispersas depende da separação desses dois estágios, ou seja, a nucleação deve ser evitada durante o período de crescimento.

O estreitamento no tamanho das NPs está intimamente ligado ao curto período de nucleação. Dessa forma, a taxa de nucleação deve ser suficientemente elevada evitando o aumento da concentração e favorecendo a criação de inúmeros núcleos em um curto período. Além disso, a taxa com a qual os núcleos são criados deve ser elevada o suficiente para que a concentração possa ser reduzida abaixo de ponto de nucleação de forma rápida dando origem a uma quantidade limitada de partículas enquanto a taxa de crescimento deve ser lenta o suficiente para que o tempo de crescimento seja longo quando comparado ao período de nucleação (Klabunde e Richards, 2009).

O rigoroso controle de parâmetros como pH final da solução, ordem de adição dos reagentes, força iônica no meio reacional, velocidade de agitação, temperatura, concentração e razão molar dos íons interfere diretamente nas propriedades físico-químicas do produto final (Gupta e Gupta, 2005; Laurent *et al.*, 2008), levando a obtenção de partículas com tamanho, homogeneidade e comportamento magnético controlados.

A obtenção de óxidos de ferro como a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) pode ser feita através da mistura de sais de ferro (Fe^{2+} e Fe^{3+}) em ambiente aquoso seguido da precipitação por hidróxido. Embora esse método seja simples, o produto obtido a partir dele pode apresentar uma ampla distribuição de tamanho (Tartaj *et al.*, 2003). No que tange a síntese de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) com elevado grau de pureza, existe uma forte dependência da razão estequiométrica dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} , que deve obedecer a uma razão de 2:1, bem como da atmosfera na qual a síntese é realizada e do pH da reação que deve estar entre 9 e 14 (Kim *et al.*, 2001; Gupta e Gupta, 2005).

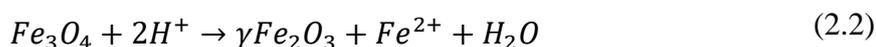
A precipitação da magnetita (Fe_3O_4) obedece à reação química descrita na equação 2.1, na qual é possível observar que são necessários 2 mols de íons Fe^{3+} para cada mol de íon Fe^{2+} .



A completa precipitação da magnetita acontece quando a razão molar entre os íons de ferro é $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+} = 0,5$ e o pH da reação atinge valores entre 9 e 14. Para que haja a formação da magnetita (Fe_3O_4) pura, o processo de síntese deve ser feito preferencialmente em ambiente não oxidante, visto que na presença de oxigênio, a

magnetita pode sofrer oxidação transformando-se em maghemita. Contudo, a oxidação em meio oxidante não é a única forma de obter-se nanopartículas de maghemita (γ - Fe_2O_3).

A maghemita (γ - Fe_2O_3), por sua vez, pode ser obtida obedecendo a seguinte reação química apresentada na equação 2.2:



Outra forma de obter-se maghemita (γ - Fe_2O_3) a partir da transformação da magnetita (Fe_3O_4) ocorre através de processos de transferência de íons ou mesmo elétrons dependentes do pH da suspensão. Em meios ácidos e anaeróbicos os íons Fe^{2+} da superfície das partículas são desorvidos, formando complexos hexaaqua em solução. Em meio básico a oxidação da magnetita (Fe_3O_4) envolve a oxidação-redução da superfície (Gupta e Gupta, 2005; Laurent *et al.*, 2008)

Segundo Jolivet e seus colaboradores (1992), a magnetita (Fe_3O_4) estequiométrica com tamanho e composição homogêneos são obtidas quando a razão $\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+}$ equivale a 0,5. Quando a síntese é feita sem obedecer à razão de 0,5 entre os íons de ferro, as partículas apresentam duas fases distintas, a saber: uma de oxihidróxido férrico (FeO.OH) e outra constituída de magnetita (Fe_3O_4) não estequiométrica. Enquanto a síntese utilizando uma razão menor do que 0,3 entre os íons de ferro levaram a formação de goethita (α - FeOOH) (Jolivet *et al.*, 1992). A importância que a razão molar de 1:2 entre os íons de ferro exerce na obtenção da magnetita pura foi investigada por Wei e colaboradores em 2007 (Wei *et al.*, 2007).

A utilização de atmosfera inerte durante o processo de síntese é reportada na literatura com o intuito prevenir a possível oxidação das nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) (Laurent *et al.*, 2011), entretanto, a maghemita (γ - Fe_2O_3), que corresponde a forma oxidada estável da magnetita (Fe_3O_4), também apresenta baixa toxicidade, possibilidade de funcionalização da sua superfície, além de propriedades magnéticas e comportamento superparamagnético desejáveis a aplicações biomédicas (Lu *et al.*, 2007).

Embora o método de coprecipitação seja o mais eficiente, simples e econômico para a obtenção de NPMs de óxido de ferro, ele já é investigado a mais de 30 anos,

porém continua apresentando algumas desvantagens (Lodhia *et al.*, 2010) que incluem a dificuldade no controle do tamanho das partículas, da sua distribuição granulométrica, bem como da fase resultante, além da alta agregação das partículas em função da existência de interações Van der Waals entre as mesmas (Kim *et al.*, 2008) e da interação magnetostática, como resultado da interação dipolo-dipolo (Maity e Agrawal, 2007). Dessa forma, o uso de algum agente estabilizante que diminua a atração entre elas é imprescindível.

2.4 Funcionalização da superfície das nanopartículas

De uma forma geral, são empregadas duas formas distintas de estabilização das NPMs em meio líquido, conferindo assim uma boa dispersão das NPs em solução, são elas: a repulsão eletrostática e o impedimento estérico. Enquanto na estabilização eletrostática, as NPMs se repelem ao adquirirem superfícies com a mesma carga (repulsão Coulombiana), ou seja, acontece uma repulsão mútua entre as partículas que causa um afastamento entre elas, na estabilização estérica, uma camada de revestimento é responsável por evitar o contato entre as nanopartículas, esse processo é comumente obtido por meio do uso de surfactantes, polímeros ou outras espécies orgânicas (Cushing *et al.*, 2004), como ilustra a Figura 2.1.

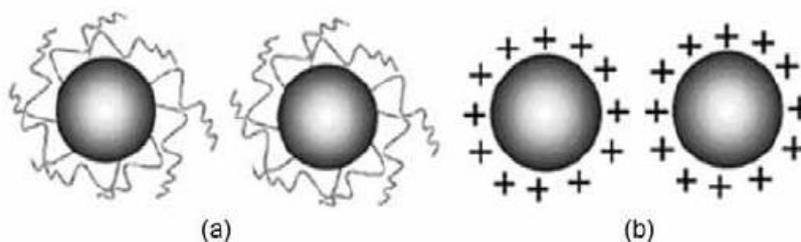


Figura 2.1. Mecanismos de estabilização de nanopartículas: (a) estabilização por efeito estérico e (b) estabilização eletrostática.

O sucesso da aplicação de NPMs em diversas aplicações biológicas incluindo a técnica de hipertermia magnética depende de importantes fatores, como as características de superfície das NPs, bem como seu tamanho. Para terem seu uso viável em aplicações *in vivo*, as NPMs devem apresentar tamanho menor do que 150 nm, além de um alto valor de magnetização de saturação (M_s) para que seja possível se

movimentarem livremente dentro dos vasos sanguíneos enquanto são guiadas através de campos magnéticos externos e para atravessarem as barreiras biológicas (Shinkail *et al.*, 1998) e se acumularem especificamente nas células-alvo, sem danos às células normais.

As NPs, em especial das NPMs de óxido de ferro, podem ser revestidas com moléculas orgânicas, surfactantes e também com polímeros, aumentando assim as forças repulsivas entre as NPs para balancear as forças de atração magnética e forças de Van der Waals que agem sobre as partículas (Shubayev *et al.*, 2009). O recobrimento de NPs utilizando polímeros acarreta em um grande aumento no potencial de aplicação dessas partículas em diversos campos biológicos e tecnológicos.

Os polímeros mais utilizados para revestimentir NPMs são a dextrana, a quitosana, o PVA (polivinil álcool), o PEG (polietilenoglicol), PAA (Ácido poliacrílico), entre muitos outros. Com relação às propriedades magnéticas de NPMs voltadas para aplicações *in vivo*, torna-se desejável que as NPs apresentem comportamento superparamagnético a temperatura ambiente, visto que esse tipo de material apresenta melhor resposta a aplicação de campos magnéticos, o que acarreta em uma redução das doses necessárias para garantir a eficácia do tratamento. Ademais, NPs superparamagnéticas, após a retirada do campo magnético aplicado, perdem magnetização rapidamente, o que contribui para a dispersão das partículas em solução ou até mesmo em órgãos (Laurent *et al.*, 2008).

NPMs que tem como objetivo aplicações clínicas devem apresentar baixos níveis de toxicidade, elevado momento de saturação magnética que permita minimizar as doses de material (nanofluido) inserido no organismo, bem como as doses eletromagnéticas exigidas quando outras técnicas são utilizadas em conjunto (radioterapia e quimioterapia), além de serem esféricas, com estreita distribuição granulométrica, cristalinas, com boa estabilidade, e com elevados valores de magnetização de saturação (Laurent *et al.*, 2008).

Os óxidos de ferro, como a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), são particularmente interessantes para os mais variados propósitos médicos porque apresentam comportamento superparamagnético quando dispostos em escala nanométrica, elevados valores de magnetização de saturação e susceptibilidade magnéticas, biocompatibilidade, além de apresentarem menor sensibilidade à oxidação que outros metais de transição como cobalto e níquel. Além disso, tanto a magnetita

(Fe₃O₄) quanto a maghemita (γ -Fe₂O₃) podem ainda sofrer modificações quando em contato com sistemas biológicos, culminando na utilização de seus metabólitos para a formação de hemoglobina, sem maiores preocupações quanto a sua permanência no organismo (Weissleder *et al.*, 1989).

No entanto, esse tipo de material apresenta uma forte tendência à agregação formando grandes “clusters” devido à atração anisotrópica dipolar, perdendo suas propriedades específicas associadas às estruturas de monodomínio magnético, além de poder sofrer um rápido processo de degradação quando inserido em ambientes biológicos devido a sua alta reatividade (Berry, 2003). Como as propriedades dos polímeros podem se diversificar de acordo com a sua estrutura, foram apresentadas apenas as propriedades do PEG e do Ágar que são os polímeros utilizados nessa pesquisa.

2.4.1 Polietileno glicol (PEG)

O Polietilenoglicol (PEG) é um composto com muitas aplicações médicas e industriais. A sua composição química pode ser observada na ilustração da Figura 2.2. Dependendo do peso molecular médio, o PEG também é conhecido como óxido de polietileno (PEO) ou polioxietileno (POE). O PEG é insolúvel em hexano e éter dietílico, no entanto, é solúvel em água, metanol, etanol, acetonitrila, benzeno e diclorometano.

PEG é um polímero hidrofílico, solúvel em água, biocompatível e resistente a proteínas, utilizado para estabilizar as nanopartículas (Brullot, 2012). Constitui um polímero de interesse na área de desenvolvimento de novos materiais porque é economicamente acessível, não tóxico, não inflamável, além de apresentar fácil manuseio.

É descrito na literatura que o PEG é capaz de aumentar atração entre as cadeias poliméricas mediante a coordenação e a agregação das nanopartículas de diâmetros maiores. Outra vantagem que pode ser mencionada sobre a utilização do PEG refere-se a uma fina camada polimérica que recobre o núcleo magnético prevenindo-o da oxidação, aumentando a cristalinidade das amostras e alterando a morfologia do produto, bem como suas propriedades magnéticas (Briceño *et al.*, 2012).

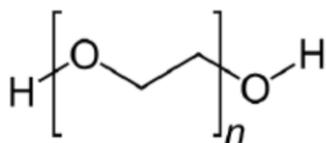


Figura 2.2. Cadeia química do PEG (Brullot, 2012).

A grande chave de se utilizar O PEG (Hung *et al.*, 2001) é porque ele permite uma depuração retardada da proteína carregada a partir do sangue devido a sua capacidade de adsorção. Isso contribui diretamente para um efeito medicinal prolongado e reduz a toxicidade possibilitando um maior intervalo entre as doses que serão administradas, visto que o medicamento terá seu efeito prolongado se administrado com o PEG.

2.4.2 Ágar

Encontradas nos oceanos Pacífico e Índico e no mar do Japão, o ágar é um polímero natural da classe dos poligalactanos extraído da parede celular de algas marinhas vermelhas chamadas agarófitas. Em função das suas propriedades, como baixa viscosidade (em solução), elevada transparência, temperaturas de fusão/gelificação bem definidas (Souza, 2008), o ágar é vastamente empregado em situações nas quais se faz necessária a utilização de um agente de suspensão, estabilização, espessamento ou gelificação, tornando-o extremamente útil na indústria de alimentos, farmácia, cosmética, microbiologia, entre outros (Yoshimura, 2006; Ouyang *et al.*, 2018).

Segundo Schiavi e colaboradores, o ágar é amplamente utilizado em vários campos da pesquisa de engenharia de tecidos, como por exemplo, substituição de tecidos, suporte de tecidos, imitação de tecidos, devido ao seu comportamento mecânico efetivamente representativo dos tecidos biológicos reais, além da sua biocompatibilidade (Schiavi *et al.*, 2016). A sua composição química pode ser observada na ilustração da Figura 2.3.

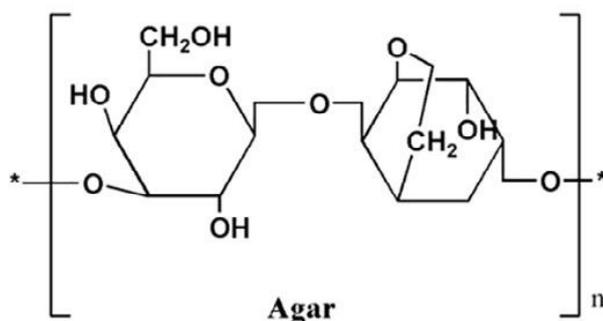


Figura 2.3. Cadeia química do ágar (Xiao *et al.*, 2017).

O ágar é um polissacarídeo composto principalmente por agarose e agarpectina. A agarose, componente gelificante do ágar, é um polissacarídeo neutro com uma estrutura linear de unidades repetitivas do dissacarídeo agarobiose e a agarpectina é um polissacarídeo sulfatado, composto por agarose com grupos éster sulfatos, ácido D-glucurônico e pequenas quantidades de ácido pirúvico (Xião *et al.*, 2017). A agarose é o principal componente do ágar, representando aproximadamente 70% do total de sua composição.

2.5 Propriedades magnéticas das nanopartículas

A estrutura eletrônica dos átomos que compõem um determinado material, bem como a interação dos momentos magnéticos (μ_B) entre si e com um campo magnético externo (H) é responsável por conferir a eles suas propriedades magnéticas. Cada elétron em um átomo tem duas orientações de seus momentos magnéticos: para cima (up) e para baixo (down). Os momentos magnéticos são devido ao movimento do elétron em torno do núcleo e a rotação do próprio elétron, também chamada de spin.

Os dipolos magnéticos atômicos são responsáveis por originar os fenômenos magnéticos da matéria. Esses dipolos surgem como resultado do movimento dos elétrons em torno do seu núcleo atômico. Na presença de um campo magnético externo H , os dipolos magnéticos podem se alinhar em uma determinada direção e esse grau de alinhamento é caracterizado pela magnetização (M).

Quando um material magnético é submetido à influência de uma força magnética, os momentos atômicos individuais do material contribuem para sua resposta global; a indução magnética é dada por:

$$B = \mu_0(H + \mu_B) \quad (2.3)$$

Onde μ_0 representa a permeabilidade magnética no vácuo, ou seja, capacidade de um material para ser magnetizado em resposta ao campo magnético aplicado, μ_B é o momento magnético por volume e H é o campo externo aplicado.

As propriedades magnéticas de um material não são apenas caracterizadas pela magnitude da magnetização M , a maneira como M varia com o campo magnético aplicado H também tem uma forte influência nessas propriedades. Dessa forma, visto que a magnetização de um material magnético é proporcional ao campo aplicado, este fator de proporcionalidade, designado como susceptibilidade magnética (χ), pode ser escrito conforme a equação 2.3:

$$\chi = \frac{M}{H} \quad (2.4)$$

Existem diferentes tipos de materiais magnéticos que podem ser classificados de acordo com suas propriedades magnéticas, momentos magnéticos e das interações entre os átomos. Os principais tipos de magnetismo são o diamagnetismo, o paramagnetismo, o ferromagnetismo, antiferromagnetismo e o ferrimagnetismo.

Grande parte dos materiais exibe magnetismo apenas quando se encontram na presença de um campo magnético externo. Materiais que possuem susceptibilidade χ na faixa de 10^{-6} - 10^{-1} são classificados como paramagnéticos, ou diamagnéticos quando apresentam valores negativos para a susceptibilidade χ . Contudo, determinados materiais exibem estados magnéticos ordenados permanecendo magnéticos mesmo na ausência de um campo magnético externo; esses materiais são classificados como ferromagnéticos e ferrimagnéticos. A interação de ligação entre os momentos magnéticos no interior do material pode dar origem a uma significativa magnetização espontânea.

Quando todos os momentos atômicos de um material ferromagnético se alinham na mesma direção devido à influência de um campo magnético aplicado H suficientemente elevado, a magnetização do material atinge um valor máximo, denominado magnetização de saturação (M_S). Quando a presença do campo é retirada, o material pode apresentar uma magnetização residual (M_R) denominada remanência, que

é comumente menor do que M_S . Dessa forma, surgem os domínios magnéticos que são formados por pequenas regiões nas quais a magnetização espontânea do material se distribui, em função da ocorrência da minimização da energia livre magnética em materiais ferromagnéticos.

Em cada um dos domínios magnéticos ocorre o alinhamento dos momentos magnéticos numa mesma direção e a magnetização em cada um é igual à magnetização de saturação M_S . Contudo, as direções de magnetização de diferentes domínios não são essencialmente paralelas, pois existe uma região de transição (limite) entre dois domínios situados lado a lado, conhecida como parede de domínio, na qual os campos magnéticos se aproximam gradualmente da orientação de outro domínio adjacente, conforme apresentado na Figura 2.4. Vale ressaltar que no interior de uma parede de domínio a magnetização gira de forma coerente de uma região para outra.

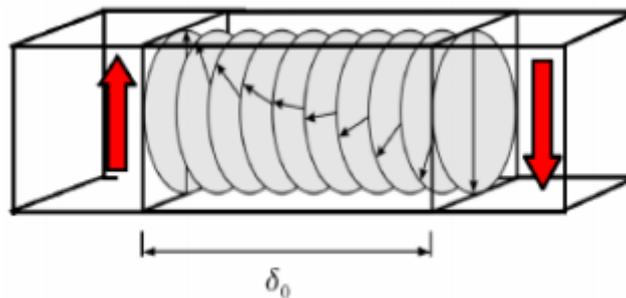


Figura 2.4. Parede de domínio, onde δ_0 corresponde a largura da parede de domínio (Ferreira, 2016).

NPMs com diâmetro crítico (D_c) menor do que 20 nm formam um único domínio magnético, enquanto que acima desse valor elas tendem a se dividir em múltiplos domínios na tentativa de minimizar a energia de desmagnetização (Gupta e Gupta, 2005), ou seja, com a diminuição das dimensões das NPMs, o tamanho dos domínios também diminui, alterando a estrutura e a largura das paredes que os dividem. Logo, NPMs com tamanho inferior ao seu diâmetro crítico se apresentam com todos os momentos magnéticos alinhados na mesma direção, ou seja, como se fossem um monodomínio magnético, constituindo a configuração mais favorável e com características de superparamagnetismo (Gupta e Gupta, 2005).

2.5.1 Ciclo de histerese das nanopartículas superparamagnéticas

A curva de histerese resume as propriedades magnéticas de materiais ferromagnéticos e ferrimagnéticos. Basicamente quando um material ferromagnético é submetido à saturação em ambos os sentidos do campo magnético H , obtemos a curva completa de histerese. Ao submeter um material ferromagnético a um ciclo de campo magnético H , um rearranjo da distribuição dos momentos magnéticos ocorre para tentar manter reduzida a energia do sistema. Dois mecanismos são cruciais para compensar o efeito causado pelo campo externo: o movimento das paredes que separam os domínios magnéticos e a rotação dos momentos.

O movimento das paredes acontece para aumentar as regiões nas quais as direções de magnetização estão mais alinhadas com o campo magnético, extinguindo as demais paredes do domínio. Quando este mecanismo chega a seu limite, ocorre a rotação dos momentos magnéticos que tendem ao alinhamento com o campo magnético externo (Camilo, 2006). Os spins dos materiais superparamagnéticos estão aleatoriamente orientados por todo o material e se cancelam, resultando em uma magnetização espontânea mínima ou nula.

Aplicando-se um campo magnético externo H suficientemente grande, os momentos magnéticos em cada domínio giram até se alinharem na direção do campo aplicado e a magnetização aumenta até atingir um valor máximo, conhecido como magnetização de saturação (M_S) (Cornell, 1996). Em materiais ferromagnéticos, a estrutura de múltiplos domínios e as interações entre eles fazem com que o valor da magnetização não seja nulo, mesmo após a retirada do campo.

Esse valor é denominado magnetização remanente ou remanência (M_R), para o qual o campo magnético H é nulo. Para que a magnetização M se anule, é necessária a aplicação de outro campo magnético em sentido contrário, conhecido como campo coercivo ou coercividade (H_C). Variando-se novamente o módulo do campo, chega a uma região de saturação e repetindo-se o ciclo no sentido inverso obtém-se a curva fechada, que é o ciclo de histerese, ilustrado na Figura 2.5 (Hausen, 1996).

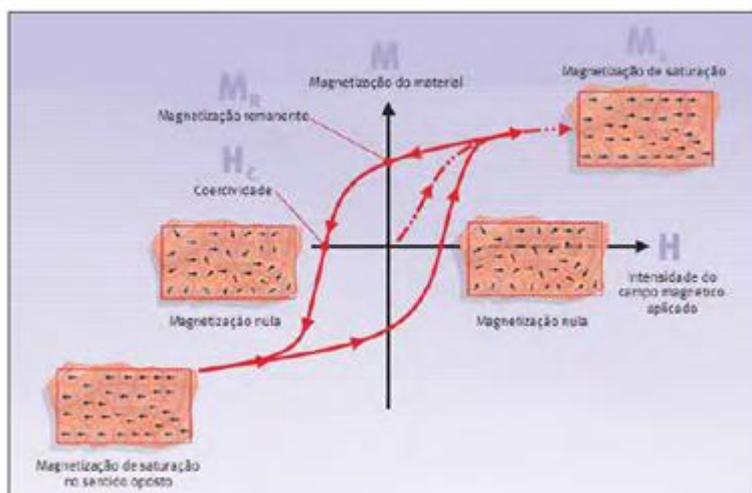


Figura 2.5. Ciclo de histerese de um material ferromagnético (Araújo, 2009).

Em linhas gerais, o ciclo de histerese mostra o quanto um material se magnetiza sob a influência de um campo magnético externo e o quanto de magnetização permanece nele após a retirada do mesmo (Knobe, 2006), como mostrado na Figura 2.5. Além disso, a área interna da curva de histerese representa a energia dissipada para completar esse ciclo, maneira usual de se calcular o valor das perdas magnéticas e da permeabilidade (B/H).

A área sob a curva $H \times M$ corresponde ao trabalho magnético (W_H) relacionado ao alinhamento/desalinhamento dos pólos magnéticos no material. Neste caso, através do cálculo de integração da área de histerese magnética, obtém-se a energia magnética (W_H) como mostra a Equação 2.5.

$$W_H = \oint H dB \quad (2.5)$$

Diferentemente dos materiais massivos, que apresentam magnetização remanente diferente de zero, em regime superparamagnético, por outro lado, há ausência de histerese e por isso materiais que apresentam esse tipo de comportamento exibem formato bastante estreito, indicando que o campo coercivo (grandeza que indica a dificuldade do material em desmagnetizar-se) e a remanência (magnetismo residual) tendem a zero, conforme ilustrado na Figura 2.6 (Zhao *et al.*, 2012):

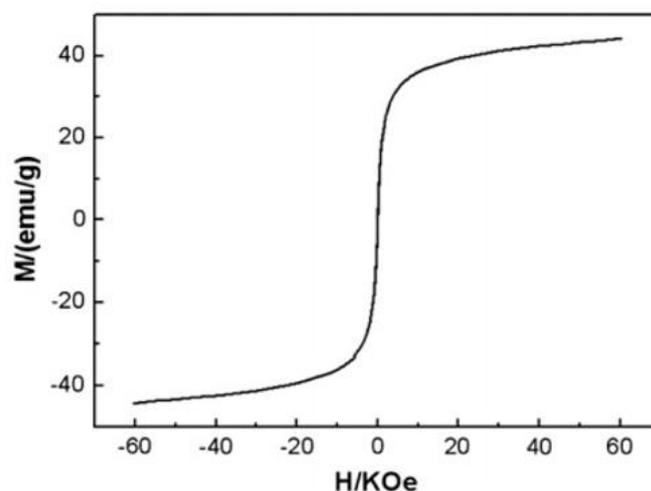


Figura 2.6. Curva de magnetização típica de material superparamagnético (Zhao *et al.*, 2012).

O valor de magnetização de saturação pode ser obtido através da curva de magnetização versus o inverso do campo, extrapolando o valor de magnetização para o valor de $1/H = 0$. A magnetização de saturação (M_S) depende da temperatura, das características da superfície e também do tamanho das NPMs. Em geral, devido ao ambiente assimétrico dos átomos da superfície, há um efeito de inclinação oblíqua ou desordem magnética nesses spins.

2.6 Mecanismos de geração de calor

Efeitos de relaxação e perdas por histerese são mecanismos físicos, provenientes de um aquecimento de partículas magnéticas quando sujeitas a um campo magnético alternado. A seguir foram descritos na íntegra esses mecanismos, a fim de consolidar a fundamentação teórica desta pesquisa.

2.6.1 Efeitos de relaxação

O processo de histerese magnética é um processo fora do equilíbrio, ou seja, quando o ciclo histerese estiver completo, a magnetização remanente tenderá a desaparecer com um tempo de relaxação específico τ , esse tempo pode variar desde milhões de anos (minerais magnéticos na forma *bulk*) até intervalos muito pequenos da ordem de segundos (nanopartículas magnéticas) (Hergt, 2015). A razão de reversão dos

momentos magnéticos após a retirada do campo magnético externo é a energia térmica $k_B T$ devido à agitação térmica, onde k_B é a constante de Boltzman e T é a temperatura.

Os efeitos de relaxação podem estar associados a dois fenômenos: relaxação de Néel e relaxação de Brown. A relaxação de Néel, para partículas que possuem anisotropia uniaxial, está relacionada à reversão da magnetização, devido ao movimento dos momentos magnéticos no interior da partícula que permanece imóvel, esses momentos podem oscilar em dois estados, o que promove o aquecimento. O tempo necessário para reverter o momento magnético de um estado de equilíbrio até outro é chamado de tempo de relaxação τ , e pode ser determinado pela lei de Arrhenius- Néel:

$$\tau = \tau_0 e^{(E/k_B T)} \quad (2.6)$$

onde k_B é a constante de Boltzman, T é a temperatura e τ_0 é uma constante empírica com valor entre $10^{-9} - 10^{-10}$ s em sistemas não interagentes, E é a energia de anisotropia dada pelo produto KV , onde K é a constante de anisotropia magnética e V é o volume da partícula. De acordo com essa equação, τ aumenta exponencialmente com o aumento do diâmetro da partícula (Knobel *et al.*, 2008; Garcia, 2017).

Em sistemas granulares, o comportamento magnético observado depende fortemente do valor do tempo de medição característico τ_m (janela de tempo) da técnica experimental empregada em relação ao tempo de relaxamento τ do sistema intrínseco, que é associado à barreira de energia. Esta janela temporal pode variar de grandes valores, como observados em medições de magnetização DC são da ordem de 100 s para valores muito pequenos, como os utilizados na espectroscopia de Mössbauer é da ordem de 10^{-8} s. Dessa forma, a relação entre o tempo de medição, τ_m , e o tempo de relaxação τ é que define o estado da partícula. Nesse caso, se $\tau_m \gg \tau$, as partículas se encontraram no estado superparamagnético, porém se $\tau_m \ll \tau$, as partículas se encontraram magneticamente bloqueadas. Os efeitos da relaxação de Néel são predominantes quando as partículas estão no estado superparamagnético (Knobel *et al.*, 2008).

A temperatura que divide ambos os regimes é chamado de temperatura de bloqueio (T_B), e depende do tempo de medição característico τ_m (definido por $\tau_m = \tau$).

Uma vez que T_B está associada à barreira energética, então o aumento no tamanho das partículas e interações magnéticas produz um aumento na temperatura de bloqueio.

Podemos então definir um diâmetro crítico em uma determinada temperatura constante T_0 fazendo a consideração $\tau_m = \tau$ na equação 2.6.

$$\ln \tau = \ln \tau_0 + \frac{KV_{crit}}{k_B T_0} = \begin{cases} \ln 10^2 \\ \dots \\ \ln 10^{-8} \end{cases} \quad (2.7)$$

Considerando τ_m como o tempo convencional de uma medida de magnetização que equivale a 100 segundos, obtemos a seguinte relação:

$$V_{crit} \approx \frac{25k_B T}{K} \quad (2.8)$$

Para um dado tempo de medida conhecido, também é possível definir a temperatura de bloqueio T_B fixando um volume $V = V_0$ e novamente considerando $\tau_m = \tau$. Dessa forma, obtemos:

$$\ln \tau = \ln \tau_0 + \frac{KV_0}{k_B T_B} = \begin{cases} \ln 10^2 \\ \dots \\ \ln 10^{-8} \end{cases} \quad (2.9)$$

Adotando mais uma vez $\tau_m = 100$ s, obtemos a seguinte relação que nos permite obter a temperatura de bloqueio para partículas em escala nanométricas:

$$T_B \approx \frac{KV_0}{25k_B} \quad (2.10)$$

Podemos então observar que o volume crítico para que NPs apresentem superparamagnetismo depende fortemente da temperatura de bloqueio, ou seja, quanto maior for a temperatura de bloqueio, maior será o tamanho crítico das NPs, portanto, todas as NPs que apresentarem tamanhos inferiores ao tamanho crítico se encontram dentro do regime superparamagnético. Uma vez que T_B é diretamente proporcional ao volume das partículas, bem como a sua constante de anisotropia magnética, partículas

maiores se tornam superparamagnéticas a temperaturas mais elevadas (Knobel *et al.*, 2008).

Outro efeito de relaxação que pode ocorrer para partículas que estejam imersas em algum fluido e em presença de um campo magnético alternado, é a rotação da partícula em relação ao meio circundante, esse efeito é conhecido como relaxação de Brown, e é o resultado da dissipação de calor por meio do atrito entre a partícula e o meio circundante. Este fenômeno possui um tempo de relaxação dado por:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{K_B T} \quad (2.11)$$

Durante a aplicação de um campo magnético num ferrofluido, esses dois mecanismos podem ocorrer simultaneamente, onde um pode prevalecer sobre o outro, isto vai depender do fluido onde as partículas se encontram e das características físicas e magnéticas das partículas (Garcia, 2017). Desse modo o tempo de relaxação efetivo deve ser uma combinação desses dois efeitos, portanto a expressão para uma combinação dos dois efeitos é dada por:

$$\tau_{eff} = \frac{\tau \tau_B}{\tau + \tau_B} \quad (2.12)$$

Entretanto, no processo de hipertermia magnética a contribuição da relaxação browniana pode ser desprezada, em virtude das partículas se encontrarem imobilizadas nos tecidos, fazendo com que a viscosidade (η) se torne muito grande, como a relaxação browniana é diretamente proporcional a $\eta, \tau_B \gg \tau N$, a relaxação efetiva se torna:

$$\frac{1}{\tau_{eff}} = \frac{1}{\tau_B} + \frac{1}{\tau} \approx \frac{1}{\tau} \quad (2.13)$$

2.6.2 Perdas por histerese

Partículas superparamagnéticas têm suas perdas magnéticas governadas pelos processos de relaxação, como descrito na seção anterior. Acima de um determinado diâmetro crítico essas partículas passam ao regime bloqueado em temperatura ambiente,

nessa configuração as perdas de energia estão relacionadas ao processo de histerese (Garcia, 2017).

Para amostras macroscópicas (partículas multidomínio) o movimento das paredes de domínio é o que promove a reversão da magnetização. As barreiras de energia a serem vencidas pelo movimento das paredes de domínio são pequenas em relação a completa inversão do momento magnético em partículas monodomínio, assim, partículas multidomínio possui menores perdas energéticas, devido aos processos de histerese.

Partículas monodomínio podem sofrer a inversão do seu momento magnético quando estão sob a influência de um campo magnético externo, através de três modos distintos, rotação coerente dos momentos magnéticos, *curling e buckling*. Essas partículas necessitam vencer a barreira da energia de anisotropia para inverterem seus momentos (Garcia, 2017).

Assim sendo, os diâmetros das nanopartículas exercem uma importante influência nas perdas por histerese, que aumentam à medida que o tamanho das partículas monodomínio também aumentam, até que essas atinjam a região multidomínio a partir daí o valor das perdas é minimizado.

2.7 SAR

A taxa de absorção específica (SAR) é um dos principais parâmetros utilizados para caracterizar o potencial de aquecimento dos materiais magnéticos quando submetidos a um campo magnético AC. Esse parâmetro mede a quantidade de energia magnética convertida em calor por unidade de tempo e massa. A unidade de medida do SAR é watts por grama (W/g).

Esses valores podem ser obtidos através dos parâmetros das partículas, tendo uma íntima relação com propriedades estruturais das partículas (tamanho, forma e estrutura cristalina), viscosidade do ferrofluido, assim como as propriedades magnéticas das nanopartículas (estado magnético, anisotropia magnética, a existência ou não de interações magnéticas) e também as condições da medida. Há também uma forte dependência com os parâmetros da medida como amplitude de campo e frequência de

oscilação (Garcia, 2017). Experimentalmente o SAR pode ser calculado através da expressão abaixo:

$$SAR = C \left(\frac{\Delta T}{\Delta t} \right) \frac{massa_{ferrofluido}}{massa_{nanopartículas}} \quad (2.14)$$

Onde C é a capacidade calorífica do ferrofluido e $\left(\frac{\Delta T}{\Delta t} \right)$ é a taxa de aquecimento.

2.8 Equação do calor em sistemas biológicos

A natureza do transporte de energia térmica em tecidos vivos é um processo complexo e de difícil modelagem visto que envolve múltiplos mecanismos fenomenológicos como a condução, convecção, radiação, metabolismo, evaporação, e mudanças de fase. Para que seja possível haver um entendimento dos mecanismos de transferência de calor em biomateriais torna-se necessário um conhecimento preciso das propriedades térmicas e de perfusão do tecido.

Em 1948, o fisiologista Harry Pennes (Pennes, 1948) desenvolveu o modelo de maior expressão para descrever a transferência de calor em tecidos biológicos que mais tarde ficou conhecido como “Bio-heat transfer equation” (BHT) e continua sendo amplamente aceito e considerado como a melhor abordagem para fins práticos. O modelo contínuo de Pennes foi inicialmente designado para prever a distribuição de temperatura do antebraço humano. Para tanto, Pennes assumiu em seu modelo que a principal região de equilíbrio térmico ocorre no leito capilar e cada volume do tecido possui um aporte de sangue arterial na temperatura basal do corpo (T_a).

A equação de bio-calor proposta por Pennes é normalmente descrita por:

$$\nabla \cdot k \nabla T_t + \epsilon \dot{\omega}_b \rho_b c_b (T_a - T_t) + \dot{q}''' + Q = \rho c \frac{\partial T_t}{\partial t} \quad (2.15)$$

Onde “ T_t ” representa a temperatura instantânea do tecido em ($^{\circ}\text{C}$), “ ρ ” e “ c ” representam a densidade de massa (kg/m^3) e o calor específico ($\text{J}/\text{kg}\cdot\text{K}$) do tecido, respectivamente; “ κ ” é a condutividade térmica ($\text{W}/\text{m}\cdot\text{K}$), “ $\dot{\omega}_b$ ” é a taxa volumétrica de

fluxo sanguíneo (kg/s.m^3), “ ρ_b ” é a densidade do sangue (kg/m^3), “ c_b ” representa o calor específico do sangue (J/kg.K), “ T_a ” é a temperatura arterial do sangue, nominalmente definida como 37°C , “ Q ” corresponde a densidade de fonte de calor (W/m^3) e “ \dot{q}''' ” representa a taxa metabólica de produção de calor.

Normalmente mede-se o fluxo sanguíneo através de uma superfície e incluindo sua direção e amplitude. Grande parte dos efeitos de transferência de calor ocorrem nas arteríolas terminais (pequenos vasos com diâmetros de aproximadamente $50\text{-}100\ \mu\text{m}$), no entanto, devido ao grande número de vasos e arteríolas terminais existentes no corpo humano e sua arquitetura complexa seria inviável analisar a contribuição da transferência de calor de cada vaso ou arteríolas que participam do processo, com exceção somente às grandes artérias e veias.

Com a finalidade de solucionar esse problema, utiliza-se a definição de perfusão sanguínea, que representa a taxa de fluxo de massa de sangue por volume de tecido:

$$\dot{\omega}_b = \frac{\text{massa}_{\text{sangue}}}{\text{volume}_{\text{tecido}} \cdot \text{tempo}} \left(\frac{\text{kg}}{\text{s}} \cdot \text{m}^3 \right) \quad (2.16)$$

Para chegar a essa formulação Pennes adotou as quatro simplificações listadas a seguir (Reis, 2014):

1. Equilíbrio Local: A principal troca de calor entre o sangue e o tecido acontece entre os vasos capilares e arteríolas de fornecimento de sangue aos capilares e as vênulas de drenagem. Então, toda a transferência de calor entre as pré-arteríolas e pós-vênulas e os tecidos são desconsideradas.
2. Perfusão Sanguínea: O fluxo sanguíneo nos pequenos capilares é assumido como sendo isotrópico. Consequentemente isso desconsidera o efeito da direção do fluxo sanguíneo.
3. Arquitetura Vascular: As grandes veias sanguíneas na vizinhanças dos vasos capilares não desempenham nenhum papel de troca de energia entre tecido e sangue capilar. Consequentemente este modelo não considera a geometria vascular local.
4. Temperatura do Sangue: Assume-se que o sangue que alcança as arteríolas, suprindo os vasos capilares, está na temperatura interna do corpo T_a . A temperatura do sangue T_a entra pelas vênulas e arteríolas e, instantaneamente, equilibra com a temperatura T do

tecido local. Baseado nestas suposições, Pennes modela o efeito sanguíneo como sendo uma fonte ou sorvedouro isotrópico de calor, o qual é proporcional a taxa de fluxo sanguíneo e a diferença de temperatura entre a temperatura central do corpo T_a e o tecido local T . Neste modelo, o sangue originalmente submetido a uma temperatura T_a não perde ou ganha energia conforme circula nos vasos sanguíneos do corpo.

Embora muitos anos tenham se passado desde o modelo proposto por Pennes em 1948, esta equação clássica ainda continua sendo a mais utilizada para fins práticos e de estudos devido a sua simplicidade, visto que muitos outros modelos ainda necessitam de resultados experimentais ou são extremamente complexos para serem implementados na rotina clínica.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo foi realizada uma revisão bibliográfica dos principais trabalhos científicos dos últimos anos relacionados à confecção e utilização de nanopartículas magnéticas, em especial nanopartículas de óxido de ferro na biomedicina, principalmente no tratamento de câncer por hipertermia magnética.

Em 2010, Jiang e seus colaboradores sintetizaram colóides de magnetita monodispersos e superparamagnéticos com aproximadamente de 5 nm de tamanho. Basicamente a síntese foi realizada dissolvendo cloreto de ferro, hidróxido de sódio e oleato de sódio em tolueno e etanol. A fim de investigar o efeito das propriedades da superfície, as concentrações de NaOH e NaOL foram variadas sistematicamente. As amostras foram caracterizadas por DRX, FTIR, TGA, TEM, SAED, DLS e VSM, e os resultados indicaram que os revestimentos de superfície poderiam ser manipulados com oleato para grupos hidroxila, aumentando a relação molar de NaOH e Fe (II). A quantidade de NaOH não apresentou uma influência no tamanho e na magnetização de saturação de nanopartículas magnéticas. No entanto, NaOL mostrou-se o componente mais importante para sintetizar colóides de magnetite, pois o NaOL agiu como um reagente chave para manter as NPMs estáveis em meio solvente não polar.

No mesmo ano, Zhixia e seus colaboradores estudaram a eficiência do aquecimento num determinado campo magnético aplicado. Foram realizadas sintetizações de nanopartículas de magnetita usando os métodos da coprecipitação e o método de precipitação por oxidação, a fim de encontrar o tamanho ideal da partícula. A eficiência do aquecimento *in vitro* das partículas, em um ágar de 58 mg de Fe por ml, foi medida em um campo magnético aplicado. Foram utilizadas diversas variações de temperatura, através do aumento do campo magnético. Inicialmente em 120 Oe, chegou-se a uma temperatura 9,3°C em 30s, foram utilizadas nanopartículas de 8 nm. Na sequência, utilizando um campo de 300 Oe, a temperatura alcançou 55°C com nanopartículas de 24 nm. A eficiência de aquecimento é devido a uma combinação dos efeitos de relaxamento e perdas por histerese das partículas magnéticas. Os autores acreditam que as NPMs com um tamanho entre 8–24 nm serão úteis para o tratamento da hipertermia *in situ* do câncer.

Guardia e seus colaboradores em 2011 sintetizaram nanopartículas de óxido de ferro por decomposição térmica em meio orgânico. Foi estudada a influência de uma variedade de parâmetros na síntese das nanopartículas de magnetita e maghemita. Na sequência foi estudado o papel do surfactante na forma, na distribuição de tamanho e nas propriedades magnéticas. Foi utilizado ácido oleico como agente tensoativo, atingindo uma distribuição de (4-20 nm), com alta magnetização de saturação, 80-85 emu /g a uma temperatura de 5 K. Por outro lado, ao ser utilizado ácido decanóico, as partículas foram obtidas com valores superiores a 45 nm e com a magnetização de saturação (Ms) em 92 emu /g com a temperatura de 5 K, próximo ao valor esperado da magnetita em sua forma massiva. Além disso, o uso de uma variedade de agentes redutores monitora o comportamento magnético. No entanto, essas partículas preparadas sem o uso de qualquer agente redutor proporcionam uma oxidação uniforme com um valor ligeiramente menor do que a magnetização de saturação. Em contraste, a hidrazina parece promover um efeito não uniforme na oxidação que resulta no aparecimento do fenômeno de polarização de troca e em uma saturação de menor magnetização. Novas maneiras de ajustar a forma, o tamanho e as propriedades magnéticas foram realizadas, por meio de uma variedade de modificações da síntese de óxido de ferro baseado na decomposição térmica.

Ghosh e seus colaboradores em 2011, produziram nanopartículas magnéticas cobertas por ácido oleico e Polietilenoglicol através do método de co-precipitação. Foram obtidas partículas de 8-12 nm. Uma redução na aglomeração das partículas foi observada quando as nanopartículas magnéticas (NPMs) foram cobertas com ácido oleico (OA) e polietileno glicol (PEG), fato confirmado por análise de microscopia eletrônica de transmissão. A magnetização destas NPMs com temperatura ambiente, na ausência de um campo magnético aplicado, indicou um comportamento superparamagnético. Observa-se que a magnetização foi menor e a fração superparamagnética foi maior para os casos Fe_3O_4 -ácido oléico e Fe_3O_4 -Polietilenoglicol quando comparado ao caso estudado usando o método de Mossbauer.

Masoudi e seus colaboradores (2012) sintetizaram nanopartículas de Fe_3O_4 funcionalizadas com polietileno glicol com o intuito de avaliar seu efeito na estabilidade coloidal de soluções com diferentes valores de pH e valores de força iônica avaliando também dessa forma o comportamento das nanopartículas na fase aquosa para potencial utilização como agentes de contraste de Imagem em Ressonância Magnética (MRI). Os

resultados mostraram que em um meio ácido a camada de revestimento foi dissolvida deixando as nanopartículas desprotegidas. Por outro lado, o uso de soluções de força iônica mais elevada resultou numa sedimentação mais rápida. A absorção de nanopartículas administrada subcutaneamente pelos nós linfáticos foi detectada por ressonância magnética nas aplicações *in vivo* em ratos vivos para correlacionar os resultados de estabilidade de dados experimentais com o seu comportamento em meios biológicos reais. As amostras com a proporção de peso de 3/1 PEG/NPM apresentaram um melhor desempenho ao serem transportadas na corrente sanguínea e se dispersaram adequadamente nos gânglios linfáticos.

Ainda em 2012, Shariful Islam com o auxílio de seus colaboradores realizaram um estudo comparativo sobre a dissipação de calor, as propriedades morfológicas e magnéticas de hipertermia de nanopartículas de magnetita preparados através dos métodos de co-precipitação e hidrotérmico. As amostras foram caracterizadas por DRX, TEM, FE-SEM, SQUID, espectroscopia UV-Vis. As partículas sintetizadas pelo método hidrotérmico apresentaram um DRX com picos mais estreitos evidenciando um tamanho de 45-50 nm, enquanto o método de co-precipitação apresentou picos largos com partículas na faixa de 15-20 nm. A comparação entre os dois métodos indicaram que, em relação a capacidade de dissipação de calor, valores de magnetização de saturação e tamanho de partícula, o método de co-precipitação apresentou um melhor desempenho, sendo dessa forma preferível para aplicações relacionadas a hipertermia. No que se refere à forma das partículas e absorção (refletância), o método hidrotérmico foi mais eficaz.

Em 2013, Jadhav e seus colaboradores com o auxílio de seus colaboradores avaliaram a funcionalização de nanopartículas magnéticas de magnetita (Fe_3O_4) com ácido oleico (OA) em meio aquoso de carbonato de sódio, a fim de melhorar sua biocompatibilidade. Essa solução foi estudada por infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), TGA e em seguida utilizada na realização de testes de hipertermia em células de pele de ratos com fibrosarcoma obtida no Centro Nacional de Ciências Celulares em Pune, Índia, para avaliar sua eficácia na morte de células tumorais após aquecimento por indução. Nos testes realizados, o incremento de temperatura atingido foi de apenas 3°C , no entanto, embora a temperatura do meio não tenha atingido a temperatura hipertérmica (42°C), a temperatura experimentada pelo microambiente celular foi suficiente para desencadear uma indução de morte de células tumorais.

Entretanto, o mecanismo detalhado da transmissão de sinal induzido na superfície da célula para o núcleo, responsável pela ocorrência de morte por apoptose de células tumorais deve ser mais investigado.

Garcia-Jimeno e Estelrich (2013) desenvolveram um ferrofluido a base de magnetita estabilizada com polietileno glicol (PEG) em quatro pesos moleculares, a saber: 2000, 4000, 6000 e 10.000, com o objetivo de preparar dispersões estáveis de nanopartículas de óxido de ferro adequados para uso como ferrofluidos. Para isso, fatores como temperatura, tempo de reação e quantidade de base foram mantidos constantes, modificando apenas a relação polímero/ferro. Para os casos onde foram utilizados os PEG 2000 e 4000, a quantidade de polímero variou de 1,5 g a 6,0 g. Para os PEG 4000 e 10000, o intervalo foi de 1,5 a 4,5 g. Foi possível observar q valores poliméricos inferiores a 1,5 g não são capazes de resultar em partículas devidamente revestidas e para quantidades excessivas de revestimento, torna-se a viscosidade do liquido resultante bastante elevada. Na ausência de sal, a estabilidade física do ferrofluido foi extremamente elevada, mantendo as mesmas propriedades magnéticas e coloidais de quando foi originalmente preparado após um período de dois anos.

Em 2014, Patil e seus colaboradores estudaram as diversas aplicações das nanopartículas magnéticas de óxido de ferro, no entanto observaram que com a baixa estabilidade e a distribuição de tamanho heterogênea em meio aquoso representam grandes desvantagens para aplicação in vivo. Estas desvantagens podem ser minimizadas a partir da utilização de surfactantes biocompatíveis. Neste estudo, nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) foram revestidas com ácido oleico para reduzir sua aglomeração e aumentar a estabilidade coloidal, elas foram ainda funcionalizadas com betaína-HCl. No presente estudo, concluiu-se que a pureza e estabilidade que podem ser obtidas usando FeCl_2 como única fonte e sem utilizar qualquer outro antioxidante. O sucesso na sinterização das nanopartículas com ácido oleico e BTH foi alcançado. Os resultados mostraram que as NPM's formaram suspensões coloidais altamente estáveis e provaram ser muito eficientes no tratamento da hipertermia com base nos altos valores de SAR e a baixa citotoxicidade, o que é importante para usá-las em aplicações in vivo.

Yang e seus colaboradores (2014) produziram nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) através da técnica de co-precipitação de sais de ferro a uma temperatura de 60°C sob diferentes condições externas, tais como a pressão de vapor devido a abertura ou vedação do béquer durante a síntese, distintos pesos moleculares de PEG (PEG400,

PEG1000 e PEG2000) ou, no caso do PEG1000, também foram variadas as quantidades de PEG (4g, 8g e 10g), a fim de obter melhor distribuição de tamanho e propriedades magnéticas. Os autores observaram, com relação a abertura ou não abertura do béquer, que a síntese realizada com o béquer aberto apresentou nanopartículas com maior cristalinidade e conseqüentemente maior magnetização de saturação e menor aglomeração. Com relação ao revestimento com PEG, foi observado que tanto o aumento no peso molecular (PEG400, PEG1000 e PEG2000), quanto o aumento na quantidade de PEG utilizada no revestimento (4g, 8g e 10g), levaram a uma diminuição nas propriedades magnéticas das NPs, pois nesses casos, a massa de PEG supera a massa de NPs.

Guo e seus colaboradores (2015) realizaram a síntese de um ferrofluido de Fe_3O_4 estabilizado por uma tetra-camada de surfactantes composta por ácido oleico/PEG/ágar/ácido oleico. Os autores analisaram a microestrutura de nanopartículas magnéticas revestidas sob a ação de um campo magnético aplicado durante as análises feitas no MEV, observando que as nanopartículas magnéticas se organizam como estruturas em forma de cadeia (ou em forma de bastão) com várias nanopartículas magnéticas na direção da largura e centenas de nanopartículas na direção do comprimento. Também foi relatado pelos autores que a magnetização de saturação obtida para as nanopartículas magnéticas funcionalizadas através de uma tetra-camada foi maior do que a de nanopartículas revestidas com uma bi-camada de mesmo peso e que, além disso, a variação do peso magnético apresentado pelo ferrofluido sintetizado no estudo quando exposto a um campo magnético aplicado foi muito menor quando em comparação ao ferrofluido composto por nanopartículas com bi-camada, comprovando dessa forma uma alta capacidade de estabilização produzida pela tetra-camada.

Nesse mesmo ano, Paresque e seus colaboradores estudaram a influência do tempo do processo de revestimento no tamanho de nanopartículas de magnetita. Para isso, foram sintetizadas cinco amostras de magnetita que foram, então, revestidas com polietileno glicol variando o tempo de duração da etapa de revestimento de cada amostra em 10, 20, 30, 50 e 60 minutos. Análises dos tamanhos das partículas foram feitas no Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) mostrando que os tempos de revestimento crescentes promovem um aumento do tamanho até aproximadamente 30 nm e posteriormente decresce devido principalmente as interferências das camadas na emulsão. As condições de adsorção do revestimento ao núcleo foram avaliadas através

de análises realizadas no TGA/DSC que apontaram a perda de massa referente à camada superficial de revestimento que envolve o núcleo por volta dos 300°C-450°C, evidenciando a ocorrência de uma camada de mistura polimérica adsorvida na superfície do núcleo magnético responsável por conferir estabilidade ao material.

Alves e seus colaboradores (2016) sintetizaram nanopartículas de magnetita pelo método de coprecipitação explorando dois novos meios dispersivos, gelatina e ágar. Paralelamente, foram sintetizadas NPs com a adição de um surfactante (sodium dodecyl sulfate) e também utilizando o método de decomposição térmica. Embora os diferentes procedimentos de síntese tenham originado nanopartículas com tamanhos médios semelhantes, os produzidos em gelatina apresentaram a menor distribuição de tamanho, o menor grau de oxidação, um dos maiores valores de magnetização de saturação a 300 K e o melhor desempenho de hipertermia quando comparado até mesmo aos resultados da NPs recobertas por surfactante. A qualidade dos resultados obtidos foi atribuída pelos autores ao papel da gelatina durante a síntese (atuando como um surfactante) e também adsorvido na superfície das nanopartículas, impedindo a oxidação das nanopartículas e levando a uma boa combinação de tamanho e largura de distribuição de tamanho.

Ainda em 2016, Yazdani e Seddigh sintetizaram nanopartículas de magnetita através do método de co-precipitação. Para investigar o efeito de vários precursores em seu tamanho médio e na morfologia, seis grupos de precursores de magnetita foram arranjados. Os resultados mostraram que a razão para este comportamento foi explicado pela teoria da dupla camada e pelo tamanho do precursor. Portanto, para um tempo de reação constante, os tamanhos médios das nanopartículas sintetizadas mudam inversamente com a mudança da espessura da camada difusa. Conseqüentemente, outro parâmetro importante é controlar o tamanho das nanopartículas. Selecionando o precursor adequado com o tamanho do ânion adequado, é possível alterar e controlar o tamanho médio do produto final das nanopartículas.

Em 2017, Celis e seus colaboradores realizaram a síntese da magnetita pelo método reverso. Foram obtidos tamanhos de partículas que variam de 4 a 8,5 nm. Durante o processo de síntese, a concentração de sais de ferro de nitrato férrico e sulfato ferroso, foram variados em relação ao volume de reação química. Usando diferentes surfactantes tais como ácido oleico e brometo de hexadeciltrimetilamônio. As partículas

de magnetita foram caracterizadas por microscopia eletrônica de transmissão, espectroscopia, difração magnética e de raios X. Foram obtidas nanopartículas de maghemita, nas partículas menores produzidas, em vez de magnetita. Para as partículas intermediárias e maiores uma mistura de magnetita e maghemitas foram produzidos como a magnetização de saturação de aproximadamente 60 emu/g. Estes valores foram medidos para a maioria das amostras, independentemente da concentração do surfactante de revestimento, e de acordo com as curvas ZFC-FC as temperaturas de bloqueio foram 225K e 275K.

No mesmo ano, Malekzadeh e seus colaboradores sintetizaram nanopartículas de óxido de ferro pelo método da co-precipitação via estratégia de polimerização em massa. Para alcançar a propriedade de direcionamento das células tumorais, foi incorporado à superfície, o polietileno glicol e o grupo carboxílico do ácido fólico. As caracterizações foram realizadas por DRX, TEM, TGA, FT-IR, DLS e VSM. O objetivo desta pesquisa é projetar um novo sistema multifuncional de administração de fármacos baseado em nanopartículas superparamagnéticas para terapia de câncer. O direcionamento de drogas magnéticas é uma estratégia que pode ser usada para melhorar a eficiência terapêutica em células tumorais e reduzir os efeitos colaterais em células e tecidos normais.

Saragi e seus colaboradores (2018) verificaram a influência de diferentes temperaturas no meio reacional durante a síntese de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) em suas características morfológicas e no tamanho. Para isso, os autores realizaram a síntese das partículas utilizando o método de co-precipitação no qual os valores de temperatura foram variados numa faixa de 25°C a 80°C. Após análises UV-Vis, TEM e PSA das amostras sintetizadas a 25°C, 40°C, 60°C e 80°C, concluiu-se que a temperatura de síntese pode ser capaz de controlar o tamanho das nanopartículas de magnetita quando adotado o método de co-precipitação, sendo observado um aumento no tamanho médio das nanopartículas com o incremento da temperatura de síntese devido à aceleração da reação química dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} .

No mesmo ano, Arriortua e seus colaboradores sintetizaram Fe_3O_4 pelo método de síntese de decomposição térmica. Com o objetivo de melhorar a seletividade das nanopartículas magnéticas para o tratamento de tumores por hipertermia, as nanopartículas de Fe_3O_4 foram funcionalizadas com um peptídeo do tipo arginina-

glicina-aspartato seguindo uma abordagem química. O peptídeo foi ligado às nanopartículas previamente através de diferentes tipos de revestimento e foram analisados para melhorar a biocompatibilidade das nanopartículas magnéticas. Nanopartículas de magnetita monodispersas e homogêneas foram sintetizadas pelo método de crescimento de sementes e caracterizadas por DRX, análise termogravimétrica, espectroscopia na região do infravermelho, microscopia eletrônica de transmissão e medidas magnéticas. A eficiência da hipertermia magnética das nanopartículas também foi investigada e ensaios de citotoxicidade foram realizados para nanopartículas funcionalizadas. Altos valores de SAR foram obtidos para as nanopartículas, aumentando com o tamanho médio das NPs, quando as nanopartículas estão dispersas na água. Assim, essas nanopartículas de magnetita são excelentes candidatas para aplicações biomédicas demonstrando que o $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-B-PMAO-PEG/RGD}$ pode apresentar um grande potencial para o tratamento do câncer.

Em 2019, Nikitin e seus colaboradores pesquisaram a síntese de nanofios magnéticos de óxido de ferro e sua aplicação para hipertermia magnética aumentada, através de irradiação por micro-ondas. As medidas magnéticas mostraram que tais fios magnéticos possuem alto valor de coercividade (141 Oe). Além disso, experimentos de hipertermia com amostras sintetizadas foram realizadas. Na frequência e intensidade de campo de alternados foram obtidos, $f = 261 \text{ kHz}$ $H = 20 \text{ kAm}$. A taxa de absorção específica (SAR) e perda intrínseca potência foram iguais a $147/\text{Wg}$ e $1,4 \text{ nHm}^2/\text{kg}$ respectivamente, o que confirma a eficiência dos nanobastões sintetizados em aplicações de hipertermia.

Em 2019, finalmente, Li e seus colaboradores estudaram as aplicações biomédicas do Fe_3O_4 , especificamente para hipertermia magnética, através de uma abordagem multifacetada. As nanopartículas magnéticas foram preparadas com a promissora técnica de evaporação a laser, que permite a produção de grandes e uniformes escalas, enquanto a sua perda específica foi medida com três técnicas diferentes: medições térmicas em uma configuração de hipertermia personalizada, medições de calorímetro e histerese dinâmicas rotações. Com o objetivo de comparar os resultados obtidos pelos testes térmicos e calorimétricos, abrangendo campos magnéticos aplicados de intensidades muito diferentes, loops de histerese estática foram explorados; eles cobrem facilmente intervalos de intensidade de campos muito grandes e foi possível oferecer uma boa medição de potência de perdas específicas. Modelos

simples de campo médio foram exploradas para descrever as perdas de energia. A técnica de fabricação selecionada é crucialmente importante para a realização dos resultados desejados da análise comparativa, como uma grande quantidade de material é necessária para tal comparação, nos permitem reunir uma compreensão profunda e abrangente de suas propriedades funcionais para aplicações de hipertermia.

4. METODOLOGIA

Neste capítulo foi descrito todo processo experimental adotado para realização da síntese das nanopartículas magnéticas, em particular nanopartículas de óxido de ferro, além da instrumentação utilizada durante o trabalho. Deste modo, foram realizados experimentos de laboratório para sintetizar através da co-precipitação de sais de ferro nanopartículas de óxido de ferro como parte inicial desta pesquisa. Simulações computacionais em conjunto com a modelagem matemática foram realizadas para obter informações sobre processos e fenômenos envolvidos na aplicação e interação de nanopartículas magnéticas aplicadas a um caso tratamento de câncer de mama.

O método de co-precipitação de sais de ferro em solução aquosa será empregado para realizar a síntese das NPs, no entanto, para que essas partículas possam ser trabalhadas na forma de fluido e serem inseridas em um ambiente *in vivo* é essencial que seja feito o revestimento das mesmas para que o efeito de aglomeração das partículas seja minimizado e sua biocompatibilidade seja aumentada.

A estrutura cristalina do material foi caracterizada utilizando a difração de raios-x (DRX), enquanto o tamanho médio do cristalito e a espessura da camada polimérica que reveste as NPs foram determinados utilizando o refinamento Rietveld e ensaios no NTA. Análises no FTIR e ensaios térmicos foram empregados para verificar a presença e a eficácia do revestimento na proteção do núcleo magnético. A morfologia e o estado de agregação das NPs foram estudados por meio de análises de microscopia de transmissão, enquanto sua estabilidade coloidal foi avaliada por potencial zeta. No que diz respeito à aplicação das partículas, foram utilizadas técnicas de análise do comportamento magnético das NPs, bem como a quantificação da resposta de hipertermia.

Na sequência foi realizado o modelamento numérico dos processos e fenômenos envolvidos na hipertermia magnética. Estes fenômenos foram implementados em um modelo de Volumes Finitos, que considera o escoamento e a transferência de nanopartículas nas fases presentes. Os resultados obtidos experimentalmente foram utilizados para ajustes dos submodelos e validações das implementações numéricas. Desta forma, é possível controlar, quantificar e estudar a influência das propriedades magnéticas. Na Figura 4.1 apresenta-se o fluxograma com os experimentos a serem realizados nessa pesquisa.

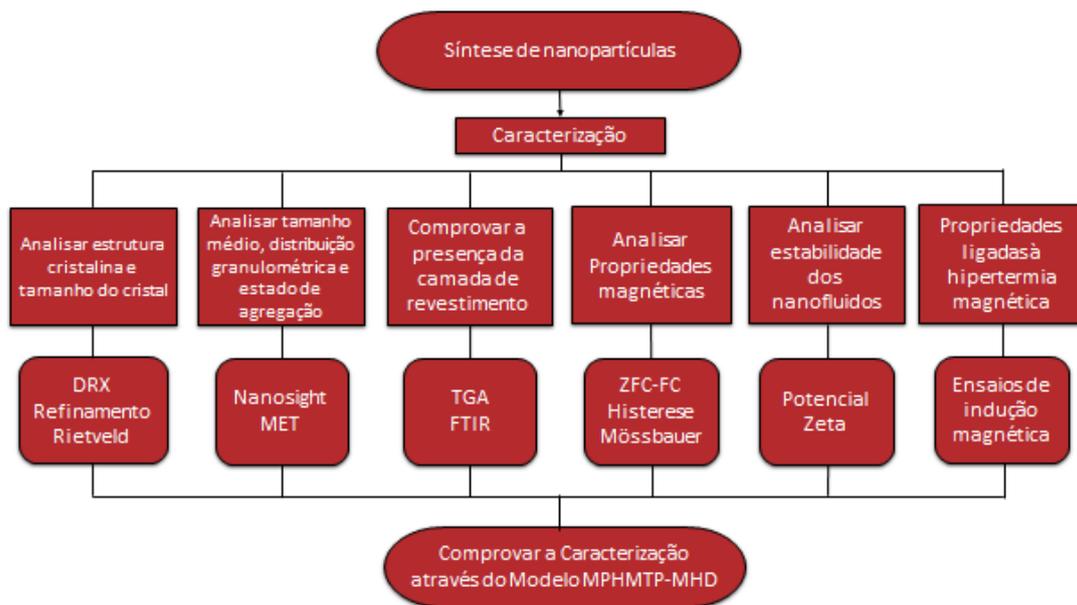


Figura 4.1. Experimentos realizados.

4.1 Síntese das NPMs

Inicialmente foram realizadas cinco sínteses variando o tempo de duração da etapa de revestimento das NPs, em 10, 20, 30, 50 e 60 minutos visando estabelecer uma condição padrão de processamento para a realização da síntese das NPs durante o restante desse estudo. Foram utilizados os dados empíricos (Silva, 2015) obedecendo ao protocolo apresentado na Figura 4.2. Inicialmente aqueceu-se 400 ml de água destilada a uma temperatura de 80°C, a fim de reduzir a quantidade de oxigênio dissolvido no meio de reação e minimizar a oxidação dos íons ferrosos.

Os reagentes, listados na Tabela 4.1, foram dissolvidos na seguinte ordem: primeiramente o sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) e em seguida o cloreto férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), dando origem a uma solução que foi mantida aquecida e sob agitação magnética durante cinco minutos, utilizando uma barra magnética de tamanho grande para agitar a solução em regime não turbulento. Na sequência, foi adicionada à solução uma mistura de 50 % de hidróxido de amônio (NH_4OH) com 50 % de água ultrapura com o intuito de agir como precipitante resultando em uma solução de coloração preta (precipitação do óxido de ferro). Após as nanopartículas serem precipitadas o processo de revestimento das mesmas foi realizado.

Tabela 4.1. Lista de reagentes utilizados, suas respectivas marcas e quantidades utilizadas.

Reagente	Marca	Quantidades
$\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	Dinâmica	2,025 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	Synth	1,18 g
NH_4OH	Synth	7 ml
Polietileno glicol (PEG)	Synth	4 g

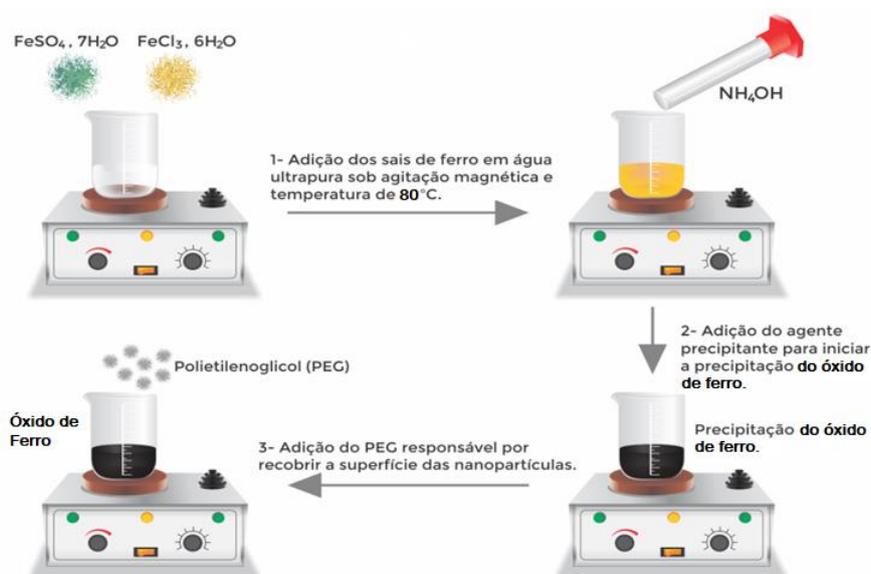


Figura 4.2. Esquema da síntese das NPMs de óxido de ferro.

O sólido presente na solução foi recuperado por decantação magnética e lavado com água destilada várias vezes para garantir a condição de neutralidade do produto final. As partículas recuperadas no processo de lavagem foram depositadas em placas de Petri para facilitar sua secagem em estufa e levadas à estufa a 40°C por um período de 24 horas. Após a secagem, as partículas retiradas da estufa foram maceradas em um almofariz de porcelana para que todos os cristais fossem desagregados. As amostras foram então nomeadas como MAG 10, MAG 20, MAG 30, MAG 50 e MAG 60, conforme a duração da etapa de revestimento, 10, 20, 30, 50 e 60 minutos respectivamente e foram enviadas para a caracterização por DRX e NTA.

Após estabelecer a melhor condição de revestimento das NPs, foram então realizadas novas sínteses visando avaliar a influência de duas temperaturas distintas, a saber: temperatura ambiente (25°C) e 80°C ; a influência do aumento na quantidade de

PEG utilizada para recobrir o núcleo magnético, a fim de avaliar a influência da espessura da camada polimérica na eficiência da proteção; bem como a influência da presença de ágar em diferentes concentrações no meio reacional como limitador de tamanho e distribuição granulométrica das NPs.

A nova bateria de sínteses obedeceu a uma metodologia semelhante à adotada para estabelecer a condição de processamento padrão de revestimento, no entanto, dessa vez, as amostras tiveram cargas de ágar, que variaram entre 0g, 0,16g e 0,32g, inseridas no meio reacional antes que a dissolução dos sais de ferro fosse feita. Dessa forma, após a adição do ágar ao meio reacional ter sido realizada, a síntese seguiu como já descrita anteriormente obedecendo ao esquema exemplificado na Figura 4.2. Depois de sintetizadas, as amostras de M1 a M12 obedeceram aos mesmos procedimentos de lavagem, secagem em estufa e maceração. As NPs tiveram suas sínteses realizadas as temperaturas de 25°C e 80°C, as quantidades de PEG utilizadas para revestir o núcleo variando entre 3,5g e 7,0g, além da quantidade de ágar variando entre 0g, 0,16g e 0,32g, conforme esquematizado na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Planejamento fatorial das sínteses.

Amostra	Concentração PEG	Temperatura	Carga
M1	3,5 g	25°C	0 g
M2	3,5 g	25°C	0,16 g
M3	3,5 g	25°C	0,32 g
M4	3,5 g	80°C	0 g
M5	3,5 g	80°C	0,16 g
M6	3,5 g	80°C	0,32 g
M7	7,0 g	25°C	0 g
M8	7,0 g	25°C	0,16 g
M9	7,0 g	25°C	0,32 g
M10	7,0 g	80°C	0 g
M11	7,0 g	80°C	0,16 g
M12	7,0 g	80°C	0,32 g

Após serem realizadas as sínteses das amostras M1 a M12, decidiu-se avaliar o efeito que uma quantidade extrapolada da carga de ágar poderia causar na síntese das NPs. Foram então sintetizadas novas amostras adotando o mesmo procedimento de síntese utilizado anteriormente, porém extrapolando a quantidade de ágar inserida no meio reacional para 1g, 2g e 3g. Depois de realizadas as sínteses, amostras foram nomeadas de ME13 até ME17 e também obedeceram às mesmas condições de lavagem,

secagem em estufa e maceração utilizados anteriormente. Além disso, também foi realizada a síntese de uma amostra contendo apenas a quantidade extrapolada de ágar, ou seja, sem a adição de PEG ao meio reacional em qualquer momento da síntese, que foi intitulada de M-Ag. Os parâmetros de síntese utilizados nesse caso foram mostrados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Planejamento fatorial das sínteses das amostras com carga de ágar extrapolado.

Amostra	Concentração PEG	Temperatura	Carga
ME13	3,5 g	80°C	1,0 g
ME14	3,5 g	25°C	1,0 g
ME15	3,5 g	25°C	1,0 g
ME16	3,5 g	25°C	2,0 g
ME17	3,5 g	25°C	3,0 g
M-Ag	-	25°C	1,0 g

4.2 Caracterização das nanopartículas

4.2.1 Difração de raios-x

A difração de raios-x (DRX) permite identificar a estrutura cristalina dos materiais, sendo então um método de caracterização comumente utilizado na caracterização de óxidos de ferro e também na identificação da fase, sendo então capaz de fornecer informações referentes ao tamanho do cristal e seu estado, dimensões da célula unitária e grau de substituição de Fe por outros cátions trivalentes (Schwertmann e Cornell, 2000). Essa técnica consiste basicamente na avaliação da interação entre o feixe de raios-X, que incide paralelamente sobre a superfície da amostra a ser analisada, e os átomos da estrutura cristalina da amostra.

A intensidade dos picos obtidos através da difração de raios-X pode ser utilizada para quantificar a proporção de nanopartículas magnéticas presentes na mistura, através da comparação da intensidade dos picos obtidos experimentalmente com os picos de referência encontrados na ficha padrão (ASTM) permitindo identificar a estrutura cristalina da nanopartícula (Faraji *et al.*, 2010).

Os ensaios de difração de raios-X foram realizados no Laboratório de Difractometria de Raios X (LDRX) no Instituto de Física da Universidade Federal Fluminense em Niterói, com o intuito de observar a estrutura cristalina das NPs obtidas na síntese por co-precipitação, permitindo avaliar a fase formada no produto final, bem

como determinar os tamanhos obtidos para os núcleos magnéticos. O equipamento utilizado foi um Bruker D8 Advanced para policristais e as análises foram conduzidas utilizando radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), 40 kV e 30mA, abrangendo um ângulo de varredura 2θ variando de 20 a 80°.

O conjunto de difratogramas obtidos compreende as amostras sintetizadas para estabelecer a condição padrão de revestimento: MAG-10, MAG-20, MAG-30, MAG-50 e MAG-60; as amostras sintetizadas sob condições de síntese variadas: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11 e M12; além também das amostras extrapoladas ME14, ME16, ME17 e M-Ag.

4.2.2 Análise Rietveld

O método de Rietveld representa uma consolidada ferramenta utilizada na caracterização de materiais policristalinos que se encontram em forma de pó. A técnica é comumente utilizada para refinar diversos tipos de estruturas cristalinas a partir de dados extraídos da difração de raios X do material. Para isso, é feito um ajuste com base no método de mínimos quadrados dos difratogramas fazendo com que o difratograma calculado se aproxime do difratograma experimental.

Isso é feito a partir de uma simulação teórica do espectro completo de DRX assumindo a estrutura cristalina do material assim como as espécies atômicas que ocupam os sítios de rede, dessa forma, são feitos vários ajustes entre os espectros simulado e experimental através do refinamento de diversos parâmetros estruturais e de parâmetros utilizados nas condições experimentais.

O processo de refinamento é feito de forma iterativa e os parâmetros são refinados a cada ciclo de iteração, até que o máximo possível de convergência seja atingido. O refinamento Rietveld representa um método bastante satisfatório e confiável na determinação do tamanho médio dos grãos de NPs, pois se baseia no espectro experimental completo e não apenas em um único pico de Bragg (König *et al.*, 2002).

A análise Rietveld foi realizada com o objetivo de confirmar a estrutura cristalina das NPs obtida através da técnica de DRX, além de obter o tamanho médio dos cristalitos que compõe as amostras, bem como seus parâmetros de rede a efeito de comparação com valores estipulados em literatura para o material estudado, ver Tabela

4.4. Para isso foi utilizado o programa Topas-Academic versão 4.1 e os parâmetros típicos de uma magnetita de Bragg para analisar os resultados mostrados nos difratogramas obtidos.

Tabela 4.4. Parâmetros utilizados na análise Rietveld.

Local	x	y	Z
Fe1	0	0	0
Fe2	0,625	0,625	0,625
O	0,385	0,385	0,385

O refinamento Rietveld foi realizado em todas as amostras para as quais foram obtidos os difratogramas experimentais de DRX. O conjunto de amostras refinadas compreende as amostras MAG-10, MAG-20, MAG-30, MAG-50 e MAG-60; M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11 e M12; ME14, ME16, ME17 e M-Ag.

4.2.3 Nanosight (NTA)

O visualizador de partículas NanoSight NTA 2.3 é um dispositivo de iluminação a laser, equipado com um microscópio capaz de analisar e visualizar amostras líquidas de partículas em escala nano; em particular, com tamanhos entre os 10 nm e os 2000 nm. Para isso, o dispositivo utiliza o método de análise e localização de partículas (NTA - Nanoparticle Tracking Analysis) que permite analisar e visualizar diretamente as NPs em tempo real, quando estas se encontram dispersas em meio líquido, baseando-se no seu movimento Browniano e nas suas propriedades de dispersão de luz. Isso é possível devido à utilização de uma câmera digital científica que permite a visualização individual de todas as partículas suspensas no fluido e seu monitoramento por um software de análise e monitorização de imagem que analisa partícula a partícula e faz a contagem e medição dos tamanhos apresentados e em seguida disponibiliza histogramas das distribuições de tamanho das partículas analisadas.

Com o objetivo de obter informações acerca do tamanho das partículas, da sua distribuição granulométrica, bem como do seu estado de agregação, as amostras foram dispersas em água ultrapura na proporção de 0,5 g de partículas em 100 ml de água ultrapura e agitadas manualmente. As soluções foram então analisadas no NTA a temperatura ambiente.

A caracterização por NTA foi realizada no laboratório de Sistemas Multifásicos da Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica da Universidade Federal Fluminense em Volta Redonda. As amostras analisadas visando estabelecer a condição padrão de revestimento compreendem as amostras MAG-10, MAG-20, MAG-30, MAG-50 e MAG-60; já as amostras sintetizadas sob condições de síntese variadas analisadas utilizando o NTA compreende o conjunto das amostras M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11 e M12; além também das amostras extrapoladas ME13, ME14, ME15, ME16, ME17 e M-Ag.

4.2.4 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) consiste em uma técnica de análise instrumental que permite medir a variação de massa de uma amostra enquanto essa é submetida a uma programação controlada de temperatura. As medidas de variação de massa podem ser feitas de duas maneiras distintas: em função de uma variação de temperatura a qual a amostra é submetida e/ou em função do tempo enquanto é submetida a uma temperatura constante. Através dessa análise é possível conhecer características importantes da amostra estudada como a faixa de temperatura de início e término do processo de decomposição da amostra, assim como o andamento das reações de desidratação, oxidação, combustão e decomposição, entre outros.

A técnica de TGA é amplamente utilizada para confirmar a presença da camada de revestimento em nanopartículas magnéticas (especialmente os surfactantes e polímeros), bem como estimar a eficiência da adsorção do revestimento sobre o núcleo metálico, desempenhando dessa forma um importante papel na análise da natureza da interação núcleo/revestimento das nanopartículas, isso porque a análise da perda ou do ganho de massa das NPs possibilita fornecer a informação sobre a estabilidade térmica e decomposição dos componentes das amostras (Idris *et al.*, 2010). Enquanto a perda de água ou de substâncias voláteis, como o oxigênio ou mesmo a decomposição de matéria orgânica, apresentam-se como perda de massa, a oxidação ou adsorção de gases apresentam-se como aumento de massa.

Para verificar a natureza das interações núcleo magnético/revestimento, além da estabilidade do material em diferentes temperaturas, foram realizadas análises termogravimétricas (TGA) das amostras estudadas. Durante o aquecimento, o sistema

foi mantido sob atmosfera controlada de ar comprimido, nitrogênio e argônio utilizando taxas de aquecimento de 10°C/min até que a temperatura de 600°C fosse atingida.

A análise térmica das NPs foi realizada utilizando um TGA/DSC Q-600 TA Instruments, localizado no laboratório de Sistemas Multifásicos da Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica da Universidade Federal Fluminense em Volta Redonda-RJ. Os termogramas realizados conforme descrito nas condições acima foram obtidos para as amostras M1, M3, M7, M9, ME14, ME16, ME17 e M-Ag.

4.2.5 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A Microscopia eletrônica a transmissão (MET) representa uma ferramenta importante no que se refere à caracterização de materiais em escala nanométrica devido à alta resolução e a capacidade de ampliação fornecida pelo microscópio que permite avaliar características morfológicas, distribuição de tamanho e homogeneidade de NPs. Isso é possível, pois quando uma amostra fina é irradiada por um feixe de elétrons com energia suficiente para transpassa-la é possível produzir uma imagem bidimensional da amostra.

A morfologia e o estado de agregação das nanopartículas foram observados a partir de imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão. Para isso, as amostras foram dispersas em um solvente em álcool etílico na proporção 1:1 (% v/v) e acondicionadas em grades de apoio. O solvente nas grades de apoio foi evaporado a pressão e temperatura ambiente e em seguida as amostras foram inseridas com auxílio de uma pinça no porta amostra apropriado que foi colocado na câmara de vácuo do microscópio de transmissão. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Microscopia de Alta Resolução (LaMAR) situado no Instituto de Física da Universidade Federal Fluminense em Niterói utilizando um Microscópio Eletrônico de Transmissão de alta resolução JEOL 2100 F, adotando 200 kV. As imagens obtidas compreenderam as amostras M1 e ME14.

4.2.6 Espectroscopia Mössbauer

A espectroscopia Mössbauer é uma técnica de grande importância para o estudo da estrutura de partículas magnéticas (Herójit *et al.*, 2016). Essa técnica torna possível

observar a distinção de diferentes parâmetros magnéticos hiperfinos, apresentando então uma enorme vantagem na caracterização de diferentes óxidos de ferro. Um exemplo disso é a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), que apresentam estrutura espinélio quando ambas se encontram a temperatura ambiente, impossibilitando assim sua distinção. Entretanto, a técnica de Mössbauer permite identificar os sítios de Fe (II) e Fe (III) na magnetita (Joos *et al.*, 2015). Apesar da sua importância, essa técnica apresenta algumas limitações, pois não pode ser aplicada para todos os elementos químicos e também não pode ser utilizada em líquidos e gases, sendo então utilizada principalmente para materiais como estanho e ferro.

A espectroscopia Mössbauer utiliza radiação gama para detectar espécies químicas, quando uma amostra sólida é então exposta à radiação, a intensidade da radiação emitida pela amostra é mensurada através de um detector. Enquanto essa técnica permite registrar o magnetismo interno do núcleo magnético das NPs, sem que haja necessariamente a necessidade de aplicação de um campo magnético externo, pois os momentos magnéticos locais do elemento ferro são detectados via interações hiperfinas dos núcleos dos átomos de ^{57}Fe com seus elétrons circundantes, as medidas magnéticas convencionais deduzem o momento magnético total do núcleo de ferro, por intermédio de suas interações com um campo magnético externo.

As interações que ocorrem entre os núcleos de ferro e a sua vizinhança, de natureza elétrica e magnética, são conhecidas como interações hiperfinas, por terem origem nuclear. Estas interações podem ocasionar três tipos de espectros Mössbauer, a saber: os singletos, que são espectros que apresentam apenas uma linha de absorção, e que ocorrem quando não há interação magnética e a distribuição de cargas em volta do núcleo tem simetria cúbica; os doubletos, que são espectros com duas linhas de absorção, e que ocorrem quando não há interação magnética, mas a distribuição de cargas não tem simetria cúbica; e, finalmente, os sextetos, que representam espectros com 6 linhas de absorção, ocorrendo apenas quando há interação magnética.

Os sextetos são simétricos relativamente ao seu canal central se a distribuição de cargas em volta do núcleo é cúbica, e assimétricos no caso contrário. Cada sítio cristalográfico de ferro dá origem a um espectro. Assim, se numa amostra existe mais do que um “tipo” de ferro, o espectro total será constituído por tantos subespectros quantos os diferentes sítios de ferro (Fultz, 2011).

A espectroscopia Mössbauer foi realizada no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF), no Rio de Janeiro, com o objetivo de identificar os sítios de Fe (II) e Fe (III) presentes nas amostras a fim de possibilitar a distinção entre a formação da magnetita (Fe_3O_4) ou da maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Para isso, foram realizadas medidas dos espectros a temperatura ambiente e a baixas temperaturas. O conjunto de amostras que tiveram suas propriedades magnéticas avaliadas por meio da espectroscopia Mössbauer compreende as amostras M1, M9, ME14 e M-Ag.

4.2.7 Espectroscopia por infravermelho (FTIR)

A espectroscopia por infravermelho permite obter informações sobre os tipos de ligações químicas presentes no material sendo uma técnica abrangente no sentido de poder ser feita em materiais sólidos, filmes finos ou líquidos. Essa técnica permite averiguar a presença de determinados grupos funcionais, através da análise das bandas de absorção dos espectros, que vão corresponder às frequências de vibração de determinadas ligações. Isso é feito determinando a intensidade do feixe de infravermelho em função do comprimento de onda ou frequência após a interação do feixe com a amostra.

Quando a radiação eletromagnética, com energia na região do infravermelho, incide sobre a amostra, ocorre uma interação entre essa radiação e as moléculas presentes na amostra que produz mudanças no comportamento vibracional e rotacional dessas moléculas, tornando possível obter informações relacionadas à geometria molecular. No caso de NPs de óxidos de ferro, a espectroscopia FTIR possibilita a rápida identificação de componentes, sendo que a ampliação das bandas de absorção reflete na diminuição da perfeição do cristal (Schwertmann e Cornell, 2000). Dessa forma, o método constitui uma potente ferramenta no que se refere à obtenção de informações importantes sobre a estrutura da molécula analisada. No caso da magnetita, são esperadas bandas referentes às posições tetraédrica e octaédrica da ligação Fe-O na faixa de valores compreendidos entre 590 e 450 cm^{-1} , respectivamente (Theofanides, 2012).

O objetivo do ensaio foi comprovar a existência dos grupos funcionais adsorvidos no núcleo magnético. Para isso, a análise das amostras foi realizada para uma região de infravermelho de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ num espectrofotômetro Nicolet 6700

FTIR, onde o programa de aquisição utilizado foi OMNIC Specta 2.0.302 localizado no laboratório de análises químicas da Universidade Federal Fluminense em Volta Redonda. Foi realizado um *background* antes de dar início às medidas. As amostras analisadas foram maceradas, juntamente com KBr, numa almofariz de ágata até se obter um pó fino, uniforme e de coloração marrom claro, sendo posteriormente prensadas de maneira a obter uma pastilha semi-transparente. O conjunto de amostras que tiveram seus grupos funcionais avaliadas por meio da observação do espectro de infra-vermelho compreende as amostras M1, M3, M7, M9, ME14 e M-Ag.

4.2.8 Potencial zeta

Quando ocorre o contato entre a superfície de um sólido, esteja ele em escala macroscópica ou nano, e algum líquido, surge uma carga elétrica na superfície do sólido. Em função disso, a distribuição de íons nos arredores das partículas é alterada, acarretando no aumento do agrupamento de contra-íons junto à superfície da partícula, fenômeno esse conhecido como dupla camada elétrica e surge na interface entre a partícula e o líquido. O potencial zeta é então o potencial eletrostático gerado pela acumulação de íons que ocorre na superfície da partícula e é comumente aplicado na determinação da carga de superfície de partículas, bem como da estabilidade de suspensões coloidais.

O potencial zeta fornece o nível de repulsão existente entre as partículas vizinhas carregadas presentes em uma dispersão. Segundo Honary e Zahir, o valor fornecido pelo potencial zeta está diretamente ligado à estabilidade das dispersões coloidais (Honary e Zahir, 2013). Quando consideramos partículas com tamanhos reduzidos, valores elevados de potencial zeta atestam se o meio analisado apresenta ou não estabilidade, indicando se a solução será capaz de resistir à tendência de sofrer agregação.

Para valores absolutos de potencial Zeta superiores a 25 mV, podemos considerar que as partículas são eletrostaticamente estáveis, ou seja, nesse caso, a atração será maior do que a repulsão propiciando a precipitação das partículas (Shete *et al.*, 2014). No que tange a estabilidade das soluções, a magnitude obtida para o potencial apresenta mais relevância do que o sinal positivo ou negativo observado. Portanto, suspensões com valores de potencial zeta maiores que 25 mV ou menores que -25 mV são geralmente consideradas estáveis (Alves *et al.*, 2016). As medidas de

potencial zeta podem ser influenciadas por diversos fatores como a superfície da partícula, o dispersante utilizado, valores de condutividade, além do pH ou força iônica do meio, entre outros.

Para determinar a influência que diferentes valores de pH exercem na estabilidade das NPs sintetizadas nesse estudo e avaliar se a estabilidade das partículas, quando dispersas em solução, apresenta valores satisfatórios que tornem sua utilização viável em aplicações biomédicas, o potencial zeta dessas soluções foi medido. Foram preparadas soluções com três valores distintos de pH a saber: pH 2 (ácido), pH 7 (neutro) e pH 11 (básico). As soluções foram feitas a partir de água ultra pura e tiveram seu pH ajustado com soluções aquosas de NaOH e HNO₃ 10⁻³ mol.L⁻¹.

Após prontas as soluções com diferentes pH, foram preparadas dispersões contendo as amostras M7, M9 e ME14 para cada um dos três pH, conforme o esquema apresentado na Figura 4.3. Para a realização das medidas de potencial zeta pipetou-se 1ml da amostra que foi em seguida inserida na cubeta que foi então devidamente lacrada e posicionada no equipamento. O ângulo de detecção de luz espalhada foi fixo em 90°, à temperatura de 25°C. Esperou-se um tempo de estabilização de 180 segundos antes da realização de cada medida.

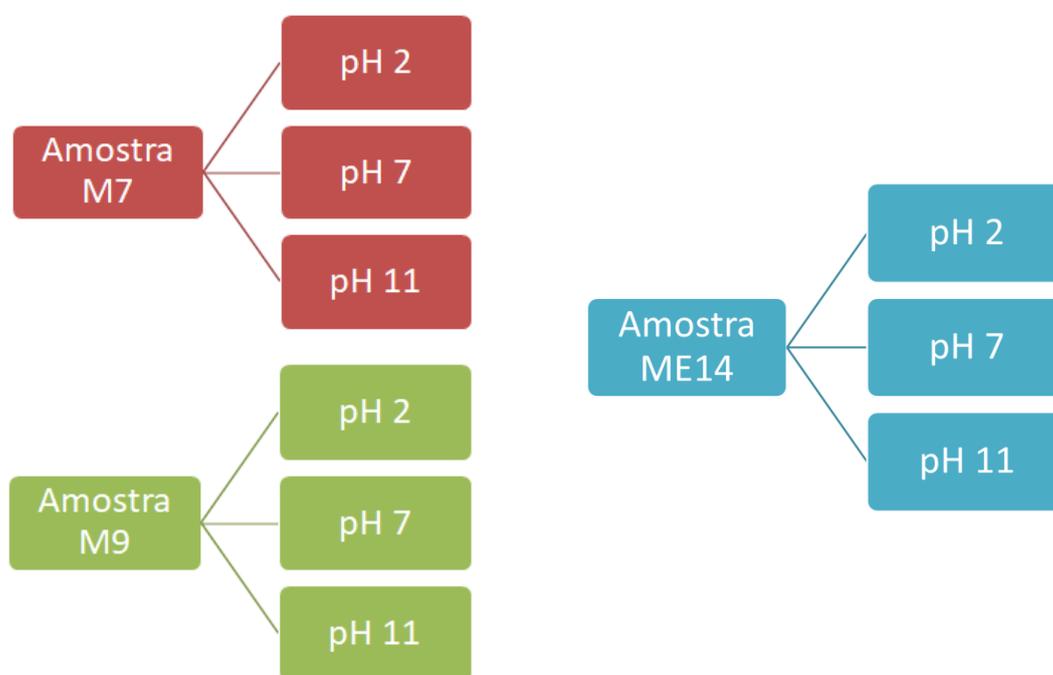


Figura 4.3. Dispersões preparadas com diferentes pH nas amostras M7, M9 e ME14.

Para a realização das medidas de potencial zeta foi utilizado o equipamento Zetasizer Nano ZS da Malvern Instrument. O equipamento encontra-se localizado no laboratório de Engenharia e Tecnologia Agroindustrial na escola de engenharia da Universidade Federal Fluminense em Volta Redonda-RJ.

4.3 Avaliação das propriedades magnéticas

4.3.1 Curva ZFC/FC

O comportamento magnético das NPs é de suma importância para que estas possam ser destinadas a aplicações relacionadas à hipertermia magnética. Esse comportamento depende fortemente da temperatura de bloqueio apresentada pelas NPs que é proporcional ao tamanho das NPs e se caracteriza por ser a temperatura na qual acontece a transição entre o ferromagnetismo e o superparamagnetismo. Segundo Gupta, as propriedades superparamagnéticas são pertinentes às partículas que exibem menores temperaturas de bloqueio, enquanto propriedades ferromagnéticas são observadas em partículas que apresentam temperaturas de bloqueio mais elevadas (Gupta e Gupta, 2005).

Uma importante técnica utilizada na caracterização de sistemas superparamagnéticos é a Zero Field Cooling (ZFC) e Field Cooling (FC), mais conhecida como ZFC-FC, que consiste em medir a magnetização do material em função da temperatura ($M \times T$) enquanto é aplicado um campo magnético externo pequeno e constante. Essa técnica é comumente utilizada para analisar transições magnéticas induzidas pela temperatura, porém uma das suas principais aplicações é evidenciar um sistema com comportamento superparamagnético, pois se obtém informações sobre a barreira de energia e a temperatura de bloqueio média (T_B). A Figura 4.4 apresenta comportamento típico de curvas ZFC/FC, onde se pode estimar a temperatura de bloqueio das NPs, ou seja, a temperatura a partir da qual o sistema se encontra no regime superparamagnético (Knobel *et al.*, 2008).

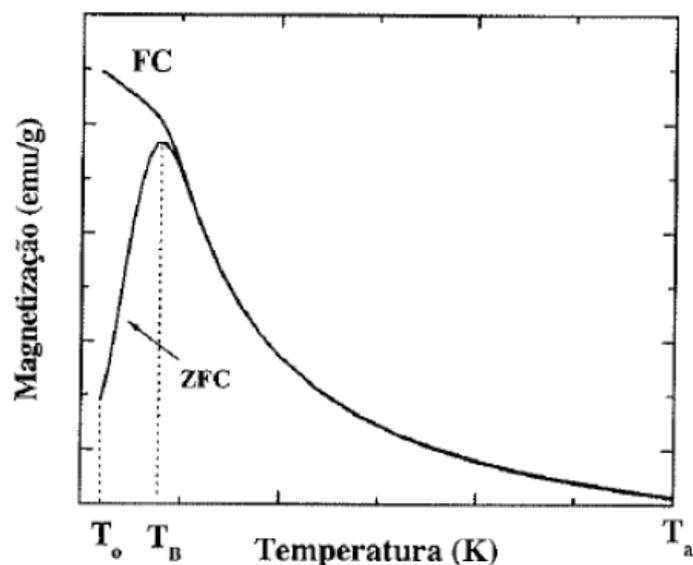


Figura 4.4. Aspecto típico das curvas ZFC/FC. (Duarte, 2005)

As medidas referentes às propriedades magnéticas da curva ZFC-FC foram realizadas em um equipamento PPMS (Physical Property Measurement System) que permite obter dados de propriedades físicas através de medidas de magnetização, calor específico e resistividade em função do campo magnético ou temperatura. Esse equipamento permite alcançar faixas de temperatura que vão de 4 a 300 K e de campo magnético que podem chegar até ± 9 K.

As medidas foram realizadas em um PPMS da *Quantum Design*, modelo Dynacool instalado no Laboratório de Magnetismo localizado no Instituto de Física da Universidade Federal Fluminense em Niterói. As curvas ZFC-FC realizados compreenderam as amostras M1 e ME14.

4.3.2 Histeresimetro

O traçador de curvas de histerese Global Mag TCH 2020 permite traçar curvas de histerese de amostras magnéticas a temperatura ambiente, permitindo avaliar a magnetização das nanopartículas magnéticas em função de um campo magnético externo (H) que pode atingir um valor máximo de 4T e fornece o ciclo de histerese do material magnético analisado.

Materiais nanoestruturados apresentam valores de magnetização (M_s), em geral, menores aos valores apresentados pelos materiais fora da escala nanométrica (Gupta e

Gupta, 2005). Pesquisas reportam que a origem dessa redução no valor da magnetização de saturação está no tamanho das partículas. Quando a remanência exibida é nula (ou seja, H é zero) e a curva de magnetização mostra-se sem histerese pronunciada, é um indicativo de que as nanopartículas apresentam um comportamento superparamagnético.

Para estudar as propriedades magnéticas apresentadas pelas NPs que foram sintetizadas e recobertas utilizando o método de precipitação se sais de ferro, é interessante observar tanto o valor de magnetização de saturação (M_s), quanto os valores da coercividade e da remanência apresentados pelas partículas visto que, a obtenção de valores nulos para essas duas propriedades resulta na ausência de histerese que caracteriza o comportamento superparamagnético das NPs, imprescindível para partículas a serem aplicadas em áreas biomédicas.

No que se refere às NPs de óxido de ferro, a funcionalização da superfície das partículas com diferentes tipos de materiais, sejam eles orgânicos, poliméricos ou surfactantes, forma uma camada não magnética que recobre todo o núcleo magnético e reduz seu valor de magnetização. Uma vez que essa é uma propriedade imprescindível aos materiais destinados a essa aplicação, sua caracterização magnética torna-se imprescindível para garantir um bom funcionamento das NPs. Dessa forma, a obtenção da curva de histerese das amostras, que consiste em medir a magnetização do material em função do campo magnético aplicado ($M \times H$), é pertinente no sentido de observar a existência do comportamento superparamagnético evidenciado pela sua curva característica, além de determinar o valor da magnetização de saturação das NPs.

Dessa forma, com o intuito de avaliar a viabilidade das propriedades magnéticas das NPs sintetizadas no presente estudo em possíveis tratamentos oncológicos, optou-se por caracterizar as propriedades magnéticas das amostras avaliando a magnetização de saturação, permitindo assim observar se os processos de sínteses realizados foram ou não capazes de gerar partículas superparamagnéticas. As amostras foram submetidas a ensaios magnéticos no histeresímetro TCH 2020 no laboratório de Sistemas Multifásicos localizado na Universidade Federal Fluminense em Volta Redonda-RJ. Para isso as amostras na forma de pó foram depositadas em um porta amostra cilíndrico medindo 30 mm de altura por 9,7 mm de diâmetro e levemente compactadas para evitar a possível movimentação das NPMs durante a análise.

O conjunto de amostras que tiveram suas propriedades magnéticas avaliadas por meio da observação da sua curva de histerese compreende as amostras M1, M3, M7, M9, ME14 e M-Ag.

4.4 Avaliação de propriedades para hipertermia

4.4.1 Ensaio de hipertermia magnética

A hipertermia magnética consiste no aquecimento por indução de uma região através da aplicação de um campo magnético externo de corrente alternada. Essa técnica pode ser empregada para promover a elevação da temperatura de regiões doentes do organismo para a faixa de temperatura compreendida entre 41 °C e 45°C auxiliando então técnicas convencionais já utilizadas no tratamento de câncer ao promover o enfraquecimento das células doentes que são mais susceptíveis ao aumento de temperatura do que as células normais, resultando na sua morte por apoptose.

Dito isso, é imprescindível realizar o estudo e avaliação da capacidade das NPs de promover aquecimento quando submetidas a um campo magnético variável. Para essa finalidade, faz-se necessário o uso de um equipamento de indução magnética que é responsável por gerar um campo magnético de intensidade e frequência variáveis capaz de promover o aquecimento das NPs devido às relaxações de Néel e Brown a que as partículas estão sujeitas quando tentam se alinhar a direção do campo magnético que varia com a corrente e então medir o aquecimento produzido pelo material magnético.

Visando aplicações *in vitro* ou *in vivo*, muitas vezes as NPs são dispostas na forma de ferro fluido, no qual as NPs são dispersas em um fluido carreador que irá permitir sua internalização em sistemas biológicos. A eficácia desse nanofluido com propriedades magnéticas em promover aquecimento é quantificada pela taxa de absorção específica conhecida como SAR (Specific Absorption Rate). O SAR representa a potência térmica dissipada por unidade de massa do material quando está sob ação de campo magnético AC.

O indutor magnético foi empregado para obter a curva de temperatura versus tempo para cada amostra cujo coeficiente angular foi utilizado para calcular do SAR de cada amostra. Para isso, 10 mg de amostra foi colocado em um porta amostra de vidro e

disperso em 1 ml de água destilada que foram em seguida sonicadas por cinco minutos. Cada amostra foi então submetida a um campo magnético que variou até 200 Gauss e uma frequência de 307 KHz durante 20 minutos nos quais sua variação de temperatura foi mensurada por um termopar. O equipamento aqui utilizado foi o modelo DM2 da NanoScale Biomagnetics localizado no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas-CBPF, no Rio de Janeiro.

4.5 Solução Numérica

A solução das equações propostas no presente trabalho foi obtida por meio do método numérico Volumes Finitos. O método dos Volumes Finitos baseia-se na integração das equações diferenciais de conservação de massa e conservação de quantidade de movimento sobre um conjunto de volumes de controle, gerando valores discretos da função. As propriedades massa, a fração mássica das espécies de nanopartículas e quantidade de movimento são conservadas, tendo em vista que as equações diferenciais são obtidas por meio de balanços integrais sobre volumes de controle.

Com base nesse conceito a conservação estará garantida para todo tipo de malha. Uma abordagem conveniente para a solução das equações diferenciais consiste na formulação por volumes finitos em coordenadas generalizadas, onde a mesma é integrada em um volume de controle arbitrário, conforme ilustrado na Figura 4.5. A discretização temporal utiliza o método implícito enquanto a discretização espacial utiliza o esquema “power law”, conforme (Patankar, 1985; Melaaen, 1992).

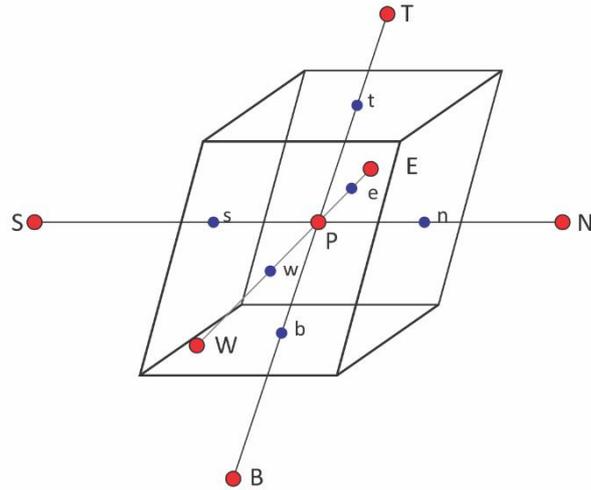


Figura 4.5. Molécula computacional e volume de controle finito para integração das equações de transporte (Castro, 2000).

O presente trabalho utilizou o algoritmo Simple para a solução acoplada dos campos de temperatura, velocidade, pressão, potencial magnético, potencial elétrico e concentração de nanopartículas e o esquema Power Law para o cálculo dos coeficientes, maiores detalhes em (Patankar, 1985). Na Figura 4.6 tem-se um exemplo de uma malha computacional bidimensional para o método de Volumes Finitos, onde as letras minúsculas representam a interface do volume de controle e as letras maiúsculas representam o centro do volume de controle.

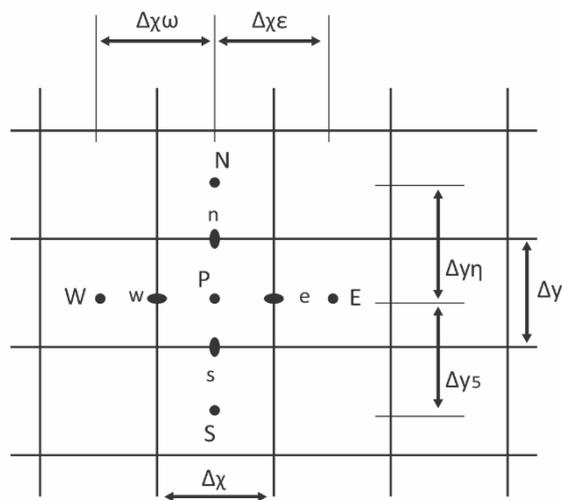


Figura 4.6. Malha para o método de Volumes Finitos (Patankar, 1985).

4.5.1 Solver SDI

A solução de sistemas de equações em uma simulação computacional para transferência de nanopartículas magnéticas e escoamento de fluidos num processo de hipertermia magnética consome maioria do tempo durante o processamento do código. Para a solução de sistemas de equações gerados, são apresentados dois métodos de solução: Métodos Diretos e Métodos Iterativos. Os métodos classificados como diretos são caracterizados por realizarem um grande esforço computacional na hora do cálculo do sistema de equações.

O grande esforço computacional é ocasionado porque o método direto trata a matriz inteira, necessitando desta forma de um processo de inversão da matriz para a solução: portanto, os métodos diretos não são aconselhados para resolver problemas de hipertermia magnética. Por outro lado os métodos classificados como iterativos são caracterizados por realizarem menor esforço computacional durante o cálculo do sistema de equações.

O menor esforço computacional é alcançado através de soluções ponto a ponto ou linha a linha, não considerando a matriz inteira para o cálculo. Os métodos iterativos precisam de uma estimativa inicial para o cálculo. Portanto, os métodos iterativos apresentam bom desempenho para solução de problemas de transferência de calor e escoamento de fluido. Como exemplos de métodos iterativos podem ser citados o método de Gauss Seidel e o método “*line by line*”.

O presente trabalho adota o método iterativo “*line by line*” por meio do algoritmo TDMA (Tridiagonal matrix algorithm). O método “*line by line*” adota a solução de uma linha do domínio de cada vez (não importando se o problema é 2D ou 3D). Esta abordagem induz a uma solução de problema unidimensional, no qual a aplicação do algoritmo TDMA se torna eficiente quanto ao desempenho. O algoritmo de Thomas (TDMA) transmite de forma rápida e eficiente as informações do contorno para o interior do domínio.

Para que essa informação chegue mais rápida e com maior precisão ao interior do domínio é adotado o método de solução ADI (“Alternate Direction Implicit”). A solução pelo método ADI consiste em alternar seguidamente a direção da solução, ora

linha a linha ora coluna a coluna, para que seja alcançada a convergência da solução mais rapidamente (Patankar, 1980). A Figura 4.7 ilustra o método de solução ADI para o conceito linha a linha, onde o solver percorrerá linha por linha o domínio computacional, gerando a cada linha percorrida uma matriz tridiagonal.



Figura 4.7. Solução linha a linha.

A Figura 4.8 ilustra o método de solução ADI para o conceito coluna a coluna, onde o solver percorrerá coluna a coluna o domínio computacional. Gerando a cada coluna percorrida uma matriz tri-diagonal. A Figura 4.9 mostra a matriz tri-diagonal gerada para resolver o sistema de equação, resultante da solução linha a linha do “grid” computacional.

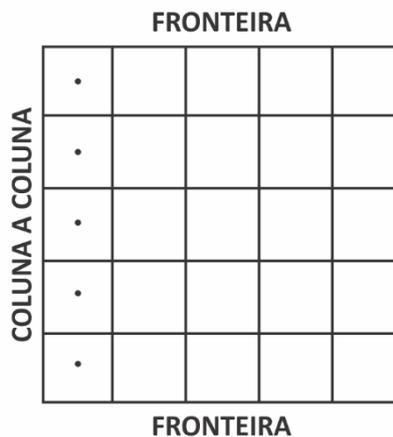


Figura 4.8. Solução coluna a coluna.

$$\begin{pmatrix} A_p & A_e & 0 & 0 & 0 \\ A_w & A_p & A_e & 0 & 0 \\ 0 & A_w & A_p & A_e & 0 \\ 0 & 0 & A_w & A_p & A_e \\ 0 & 0 & 0 & A_w & A_p \end{pmatrix}$$

Figura 4.9. Matriz tri-diagonal.

4.5.2 Formulação matemática

Campos eletromagnéticos são classicamente descritos pelas equações de Maxwell. Especialmente, no caso de equações magneto-estáticas que são apropriadas para campos magnéticos estacionários ou que apresentem variações pequenas. As equações abaixo representam o vetor potencial magnético e potencial elétrico. A partir dessas variáveis é possível determinar as componentes do campo magnético e da densidade de corrente, além das componentes do campo elétrico.

$$\begin{cases} \nabla \cdot \left(\sigma \nabla V + \sigma \frac{\partial \vec{A}}{\partial t} \right) = 0 & (4.1) \\ \sigma \frac{\partial \vec{A}}{\partial t} + \nabla \times \left(\frac{1}{\mu_0} \nabla \times \vec{A} \right) + \sigma \nabla V = \vec{0} & (4.2) \\ \vec{E} = -\nabla V - \frac{\partial \vec{A}}{\partial t} & (4.3) \end{cases}$$

As funções apresentadas nas equações (4.1) e (4.2), relacionam o potencial elétrico V e o potencial magnético \vec{A} , onde σ representa a condutividade elétrica, μ_0 representa a permeabilidade no vácuo e t é o tempo. A equação (4.3) apresenta o campo elétrico a partir dos potenciais elétrico e magnético. A densidade de corrente e o campo magnético poder ser obtidos a partir das seguintes equações constitutivas:

$$\vec{j} = \sigma \vec{E} \quad (4.4)$$

$$\vec{B} = \nabla \times \vec{A} \quad (4.5)$$

As equações de conservação de massa, quantidade de movimento e energia podem ser utilizadas para descrever o escoamento do fluido e a temperatura em todo o domínio, podendo ser expressas nas formas a seguir:

Equação da continuidade:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \vec{v}) = 0 \quad (4.6)$$

Equação do momento:

$$\begin{aligned} \rho \left(\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla \vec{v} \right) = & -\nabla p + \mu \nabla \cdot (\nabla \vec{v} + {}^t \nabla \vec{v}) + \vec{j} \times \vec{B} \\ & + \rho_0 \vec{g} + \rho_0 \beta (T - T_{ref}) \vec{g} - \frac{\varepsilon \mu}{K} \mathbf{v} \end{aligned} \quad (4.7)$$

Equação da conservação de Energia:

$$\rho C_p^{eq} \left(\frac{\partial T}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla T \right) = \nabla \cdot (\lambda \nabla T) + \vec{j} \cdot \vec{E} + \frac{5k_B}{2e} \vec{j} \cdot \nabla T + \dot{Q} \quad (4.8)$$

Onde, \vec{v} é o vetor velocidade do campo, t é o tempo, ρ é a densidade, μ é a viscosidade dinâmica, p é campo de pressão, g é aceleração da gravidade e T_{ref} é a temperatura referência. O último termo da equação (4.8) nos fornece a parcela que corresponde a pressão exercida sobre um tecido poroso, onde adotamos ε como a porosidade do tecido, \mathbf{v} como vetor velocidade do fluido intersticial, μ como a viscosidade do fluido, K como sendo a permeabilidade no tecido, T representa a temperatura, λ a difusividade térmica, k_B é a constante de Boltzman, e é a carga elementar do elétron, o termo $\vec{j} \cdot \vec{E}$ é devido ao transporte de carga elétrica pela partícula e \dot{Q} corresponde ao SAR e depende do material a ser analisado.

Os nanomateriais usados em magneto-hipertermia, em geral, são baseados em sistemas superparamagnéticos de óxidos de ferro por conta da sua biocompatibilidade e da elevada magnetização (Mhamoudi *et al.*, 2011). Segundo Andreu (2015), a habilidade de gerar calor é medida pela taxa específica de absorção de calor ou SAR (Specific Absorption Rate), a qual depende da característica do solvente utilizado

(viscosidade, calor específico) e também das características do material magnético utilizado (diâmetro, distribuição de tamanho, raio hidrodinâmico, aglomeração, magnetização e anisotropia efetiva), de acordo com a equação abaixo:

$$SAR = \left(c \left(\frac{m_p}{m_l} \right) \left(\frac{\Delta T}{\Delta t} \right) \right) \quad (4.9)$$

Onde c é o calor específico do fluido utilizado, m_p/m_l é a concentração em massa das nanopartículas no fluido, ΔT é a variação de temperatura e Δt é o intervalo do tempo da medida. A unidade de SAR é Watts por grama, Wg^{-1} .

4.5.2.1 Condições de contorno

As condições de contorno utilizadas para especificar como o modelo interage com o ambiente externo foram propostas por Rao em 2004. Para isso, serão utilizadas as condições de contorno de Dirichlet, que afirmam que a temperatura é estabelecida no contorno.

$$T(x = 0, t) = T_a \quad (4.10)$$

Utilizando um modelo unidirecional de comprimento L na direção x , a segunda condição de contorno apresenta a seguinte forma,

$$T(x = L, t) = T_a \quad (4.11)$$

Assumimos uma condição inicial que determina que a temperatura em todos os pontos do modelo deve ser igual a zero até o tempo igual a zero, depois disso ela retorna a condição inicial.

$$T(x, t = 0) = T_a \quad (4.12)$$

Nas condições de contorno de Dirichlet escolhidas, o domínio computacional da temperatura na fronteira é fixado em até $37^\circ C$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo foram apresentados e discutidos os resultados obtidos nos ensaios experimentais de natureza química e física, e nas simulações numéricas por meio da implementação de submodelos através da Técnica de Volumes Finitos. Pretende-se avaliar a influência de parâmetros como temperatura, quantidade de revestimento e viabilidade da utilização de ágar como um limitador na distribuição granulométrica das partículas, bem como a aplicabilidade das NPMs através da simulação de um cenário de tratamento de câncer de mama.

Na produção das nanopartículas seguiram-se duas etapas. Na primeira etapa abordou-se o estudo da variação do tempo de duração da etapa de revestimento das NPs visando estabelecer uma condição padrão de síntese a ser utilizada durante o período de estudo. Na segunda etapa, visou realizar a síntese de NPMs seguindo as mesmas condições de síntese adotadas na primeira etapa, variando, no entanto, os parâmetros: temperatura do meio reacional, quantidade utilizada do polímero no recobrimento das partículas e quantidade de ágar presente no meio reacional durante a síntese como limitador da distribuição granulométrica. Desta forma, nesta tese são avaliadas as variáveis de processamento na síntese do núcleo magnético, no revestimento e propriedades das nanopartículas produzidas. Os principais parâmetros avaliados correspondem ao tempo de revestimento, o polímero utilizado no revestimento e a temperatura de processamento.

5.1 Caracterização das nanopartículas

5.1.1 DRX

As amostras sintetizadas nesse estudo através do método de co-precipitação foram caracterizadas utilizando a técnica de difração de raios-X, visando obter informações acerca da sua estrutura cristalina, das fases presentes, bem como determinar o tamanho médio do cristalito.

A seguir estão apresentados os difratogramas das amostras MAG-10 a MAG-60, que tiveram o tempo de duração da etapa de revestimento variado de 10 a 60 minutos durante o processo de síntese visando estabelecer uma condição padrão de processamento para futuras sínteses. Todas as amostras foram sintetizadas obedecendo

ao mesmo procedimento experimental e quantidades utilizadas de reagentes. Na Figura 5.1 apresenta-se a comparação entre os difratogramas das amostras MAG-10, MAG-20 e MAG-30, respectivamente, objetivando-se avaliar o efeito do tempo de revestimento na estrutura cristalina do núcleo magnético. Na Figura 5.2 apresentam-se os difratogramas para as amostras MAG-50 e MAG-60, respectivamente.

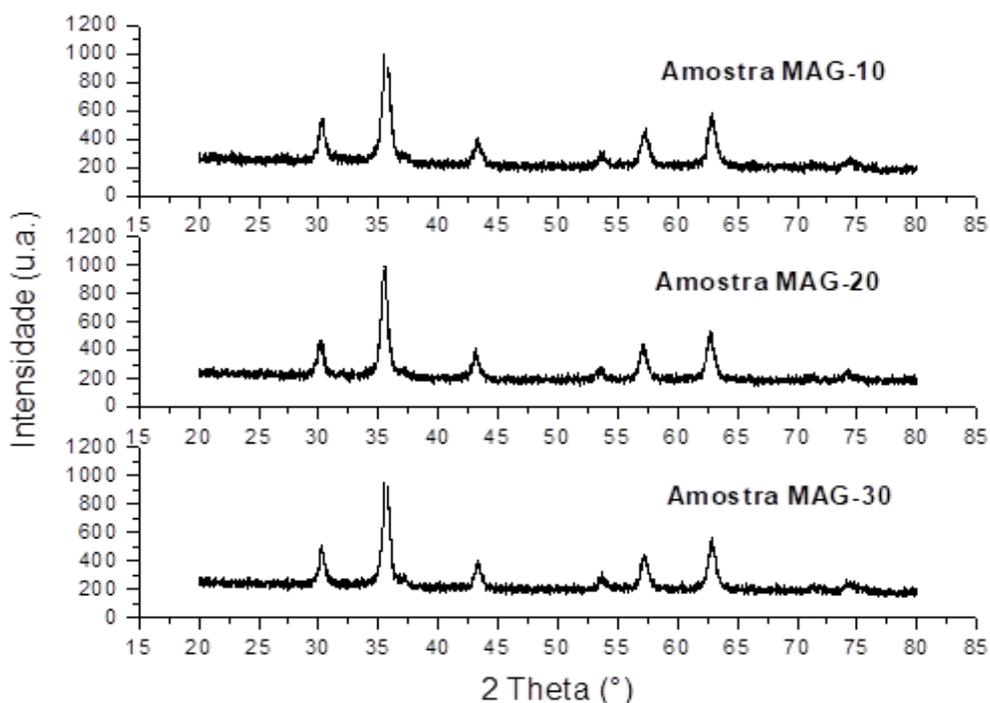


Figura 5.1. Difratogramas das amostras MAG-10, MAG-20 e MAG-30.

Conforme pode ser observado nas Figuras 5.1 e 5.2, apesar das variações de tempo a que as amostras foram submetidas enquanto eram revestidas, os difratogramas obtidos não mostraram qualquer alteração nas suas estruturas cristalinas, o que seria esperado e desejado para este tipo de revestimento. Os difratogramas confirmam a formação dos picos característicos da fase dos óxidos de ferro que podem ser magnetita (Fe_3O_4) ou maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Fica evidente ao observar os difratogramas que a presença do polietileno glicol (PEG) não é capaz de modificar a estrutura do núcleo magnético formado durante a síntese, garantindo que a condição estabelecida para as próximas sínteses é bastante satisfatória para a aplicação em hipertermia magnética.

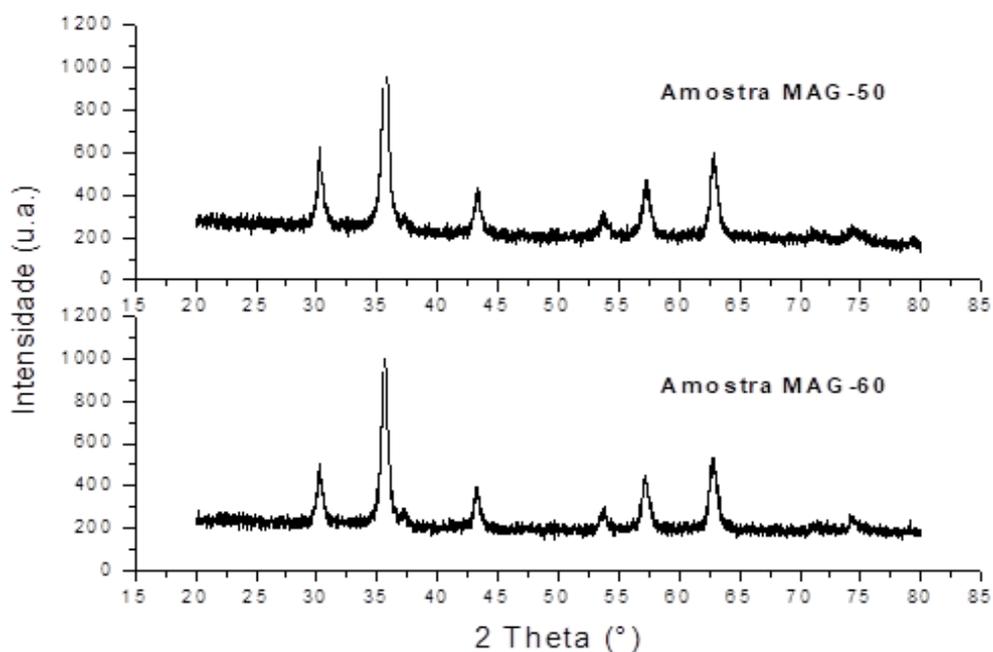


Figura 5.2. Difratogramas das amostras MAG-50 e MAG-60.

Abaixo são apresentados os difratogramas das amostras M1 a M12, que tem suas temperaturas de síntese de 25 °C (M1, M2, M3, M7, M8, M9) e 80°C (M4, M5, M6, M10, M11, M12), a quantidade de revestimento de 3,5 g (M1, M2, M3, M4, M5, M6) e 7,0 g (M7, M8, M9, M10, M11, M12), e a quantidade de ágar de 0,16 g (M2, M5, M8, M11) e 0,32g (M3, M6, M9, M12), conforme apresentados na Tabela 4.2. Além disso, são também apresentados os difratogramas correspondentes às amostras ME14, ME16 e ME17, que obedeceram ao mesmo procedimento experimental, porém na temperatura de 25 °C e quantidade de revestimento de PEG 3,5g e uma extrapolação na carga de ágar para 1g (ME14), 2g (ME16) e 3g (ME17), respectivamente.

Os difratogramas obtidos experimentalmente foram comparados com o padrão da estrutura espinélio da magnetita obtido através da sua ficha catalográfica (JCPDS 19-0629) presente na literatura, conforme apresentada na Figura 5.3. Os resultados evidenciaram a formação dos picos característicos da fase magnetita (Fe_3O_4) ou maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) em todas as amostras para o ângulo 2θ , cujos planos de difração correspondentes são (220), (311), (222), (400), (422), (511), (440) e (531), apresentados nas Figuras de 5.4 a 5.8.

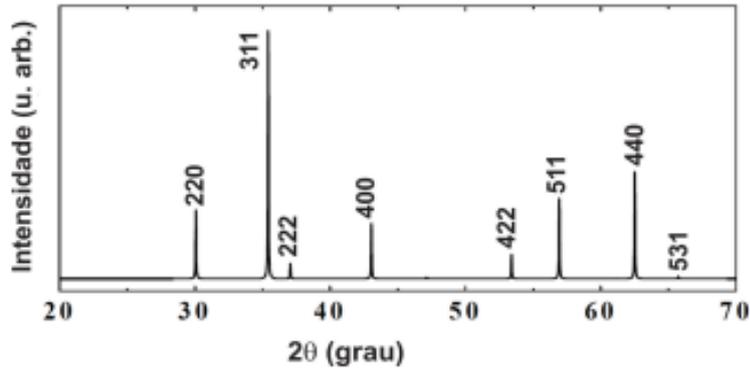


Figura 5.3. Difratograma padrão da magnetita.

Na Figura 5.4 apresentam-se os difratogramas para as amostras M1, M2 e M3, com objetivo de analisar a influência da quantidade de ágar no núcleo magnético, mantendo-se a quantidade de PEG 3,5g e temperatura de 25 °C. Como a largura do pico é inversamente proporcional ao tamanho do cristalito, picos amplos no padrão XRD indicam que os cristalitos são pequenos (Linh *et al.*, 2018).

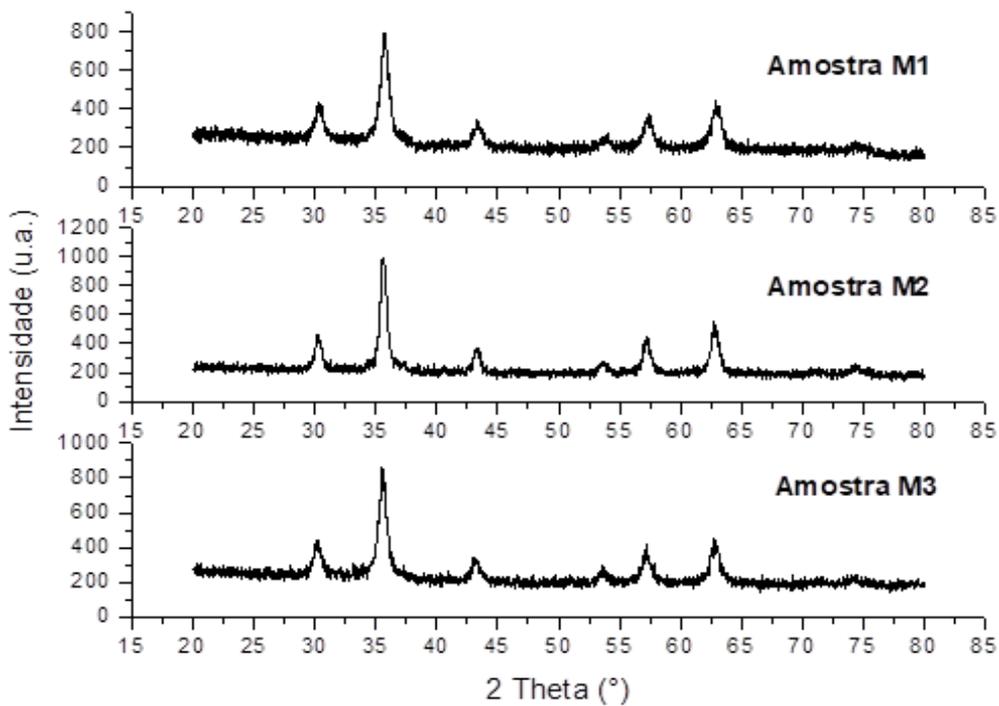


Figura 5.4. Difratogramas das amostras M1, M2 e M3: efeito da adição de ágar (PEG 3,5 g e 25 °C).

Na Figura 5.5 apresentam-se os difratogramas para as amostras M4, M5 e M6, com objetivo de analisar a influência da quantidade de ágar no núcleo magnético, mantendo-se a quantidade de PEG 7,0g e temperatura de 80 °C.

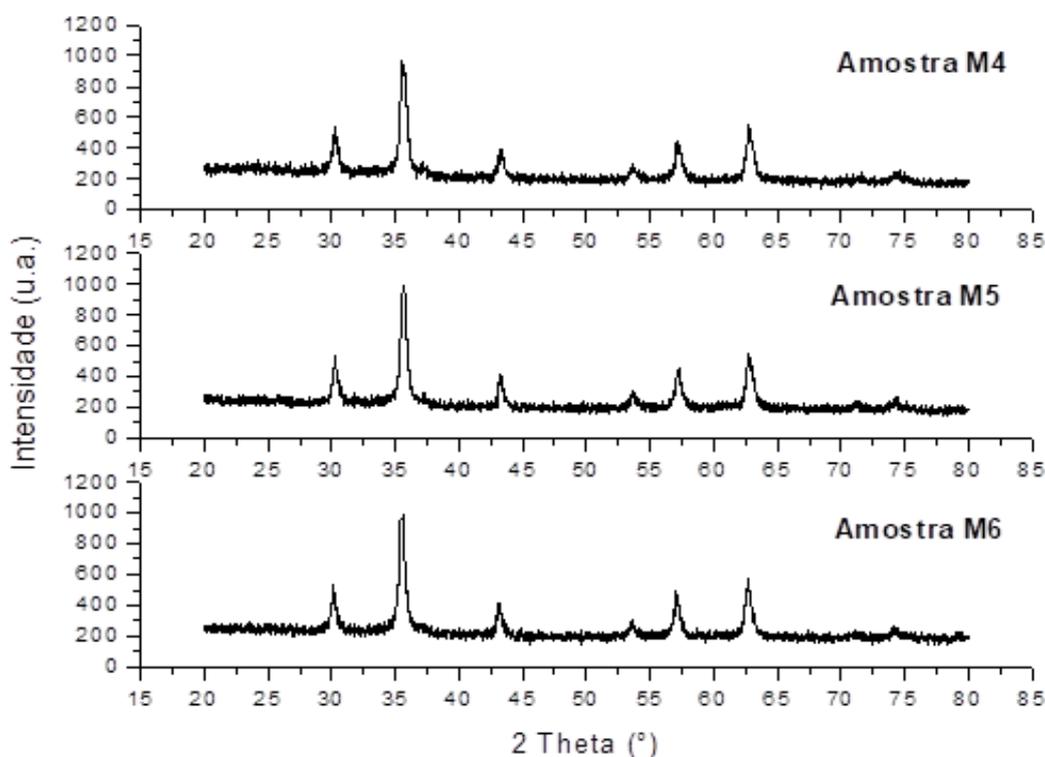


Figura 5.5. Difratogramas das amostras M4, M5 e M6: efeito da adição de ágar (PEG 3,5 g e 80 °C)

Na Figura 5.5 apresentam-se os difratogramas para as amostras M4, M5 e M6, com objetivo de analisar a influência da quantidade de ágar no núcleo magnético, mantendo-se a quantidade de PEG 3,5g e temperatura de 80 °C. Comparando-se as Figuras 5.4 e 5.5, observa-se que nesta faixa de temperatura os difratogramas não apresentam mudanças significativas, o que seria esperado devido ao tratamento ocorrer em temperaturas inferiores às temperaturas de transformação do núcleo magnético. Estes resultados indicam que nestas condições a etapa de revestimento pode ser executada com segurança, sem que haja deterioração de propriedades magnéticas.

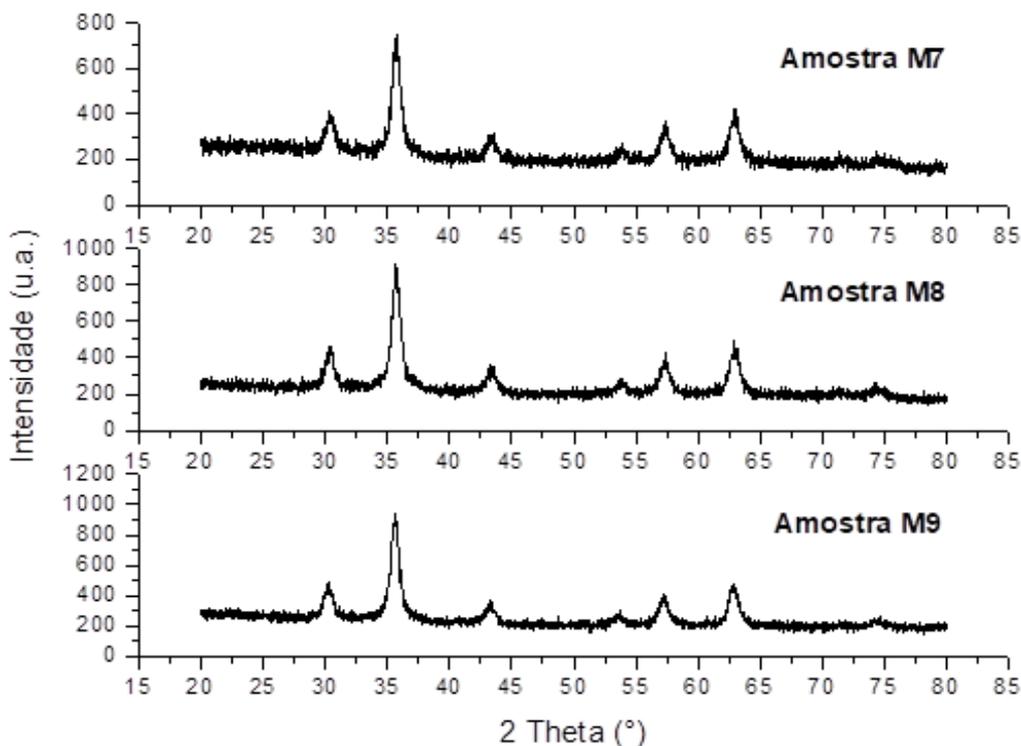


Figura 5.6. Difratomogramas das amostras M7, M8 e M9: efeito da adição de ágar (PEG 7,0 g e 25 °C).

Na Figura 5.6 apresentam-se os difratogramas para as amostras M7, M8 e M9, com objetivo de analisar a influência da quantidade de ágar no núcleo magnético, mantendo-se a quantidade de PEG 7,0g e temperatura de 25 °C, enquanto na Figura 5.7 mostra-se condições de processamento semelhante, diferindo-se apenas a temperatura de 80°C. Novamente, não se observa alterações significativas nos difratogramas. Estes resultados, portanto, confirmam a adequabilidade do processamento nesta faixa de temperaturas para as diferentes adições de PEG e ágar simultaneamente.

A variação na temperatura de síntese das NPs (temperatura ambiente e 80 °C) e o aumento na quantidade de PEG (3,5g e 7,0g) utilizado para revestir o núcleo magnético não causaram quaisquer tipos de desordem estrutural durante a formação do óxido de ferro, comprovando a eficácia do PEG em adsorver-se na superfície das NPs sem, no entanto, comprometer a integridade da estrutura cristalina das partículas. Segundo Saregi e seus colaboradores, o tamanho médio das nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) aumenta conforme a temperatura durante a síntese aumenta devido à aceleração na reação química entre os íons de Fe^{2+} e de Fe^{3+} (Saregi *et al.*, 2018).

Apesar de o ágar ter sido inserido no meio reacional antes da adição dos sais de ferro II e III, segundo a análise feita a partir dos difratogramas apresentados, a presença do ágar durante a síntese também não causou nenhuma forte interferência capaz de comprometer a formação de nanopartículas com a estrutura cristalina da magnetita (Fe_3O_4). Entretanto, a distinção entre as fases da magnetita (Fe_3O_4) e da maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) torna-se difícil em escala nanométrica, sendo necessário recorrer à espectroscopia Mössbauer para confirmar a real fase presente nas NPs.

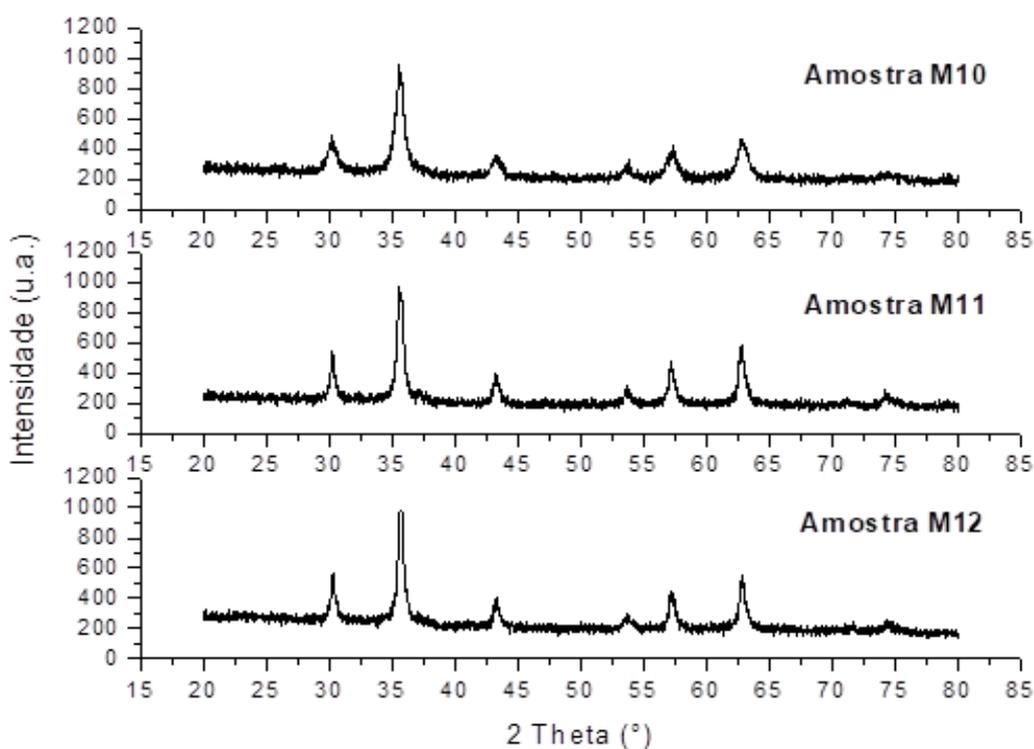


Figura 5.7. Difratogramas das amostras M10, M11 e M12: efeito da adição de ágar (PEG 7,0 g e 80 °C).

Finalmente, analisa-se a condição em que as quantidades de ágar são extrapoladas para altas quantidades (1g, 2g e 3g). Na Figura 5.8 apresentam-se os difratogramas correspondentes às amostras ME14, ME16 e ME17, que representam estas condições de processamento. Estes experimentos obedeceram ao mesmo procedimento experimental, porém na temperatura de 25 °C e quantidade de revestimento de PEG 3,5g. Novamente, não se observa o aparecimento de nenhuma nova fase ou composto formado com o núcleo magnético, o que indica que estes revestimentos podem ser utilizados em condições de processamento amplas, sem

maiores consequências para o núcleo magnético. Estes resultados permitem a utilização destas nanopartículas com quantidades variadas de revestimento, permitindo-se o planejamento adequado da dosagem e do controle da cinética de liberação de substâncias durante o tratamento. Portanto, poderíamos recomendar estas nanopartículas para uma ampla gama de aplicações simultâneas de hipertermia e carreamento de fármacos.

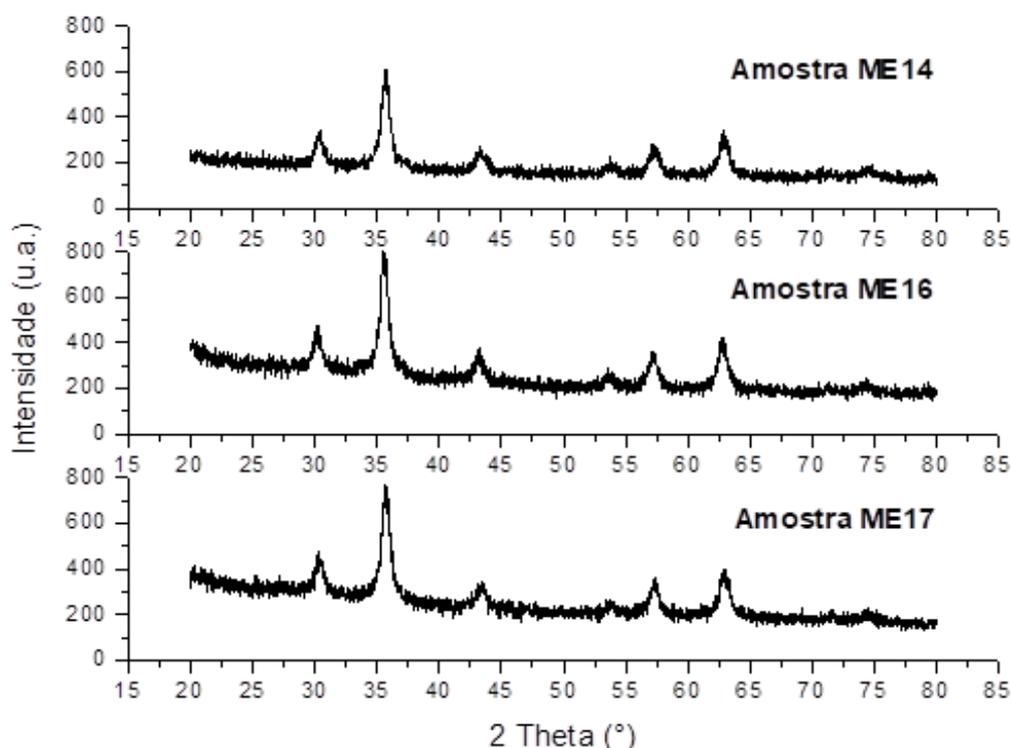


Figura 5.8. Difrátogramas das amostras ME14 (1g), ME16 (2g) e ME17 (3g): PPEG 3,5g e temperatura de 25 °C.

5.1.2 Análise Rietveld

A análise Rietveld corrobora os resultados obtidos através do DRX evidenciando a formação da estrutura cristalina do óxido de ferro magnetita (Fe₃O₄) ou maghemita (γ-Fe₂O₃) em todas as sínteses realizadas, permitindo-se obter a informação adicional dos diâmetros médios das NPs, além da obtenção do parâmetro de rede das NPs obtidas em cada síntese, conforme apresentado nas Tabelas 5.1 e 5.2. As larguras dos picos presentes indicam a formação de cristais com tamanhos reduzidos durante o processo de síntese (Ristić *et.al.*, 2013).

As Figuras 5.9 e 5.10 mostram os resultados obtidos a partir dos difratogramas para as amostras MAG-10 a MAG-60 utilizadas para estabelecer a condição padrão de síntese ao realizar o recobrimento das NPs durante tempos variados.

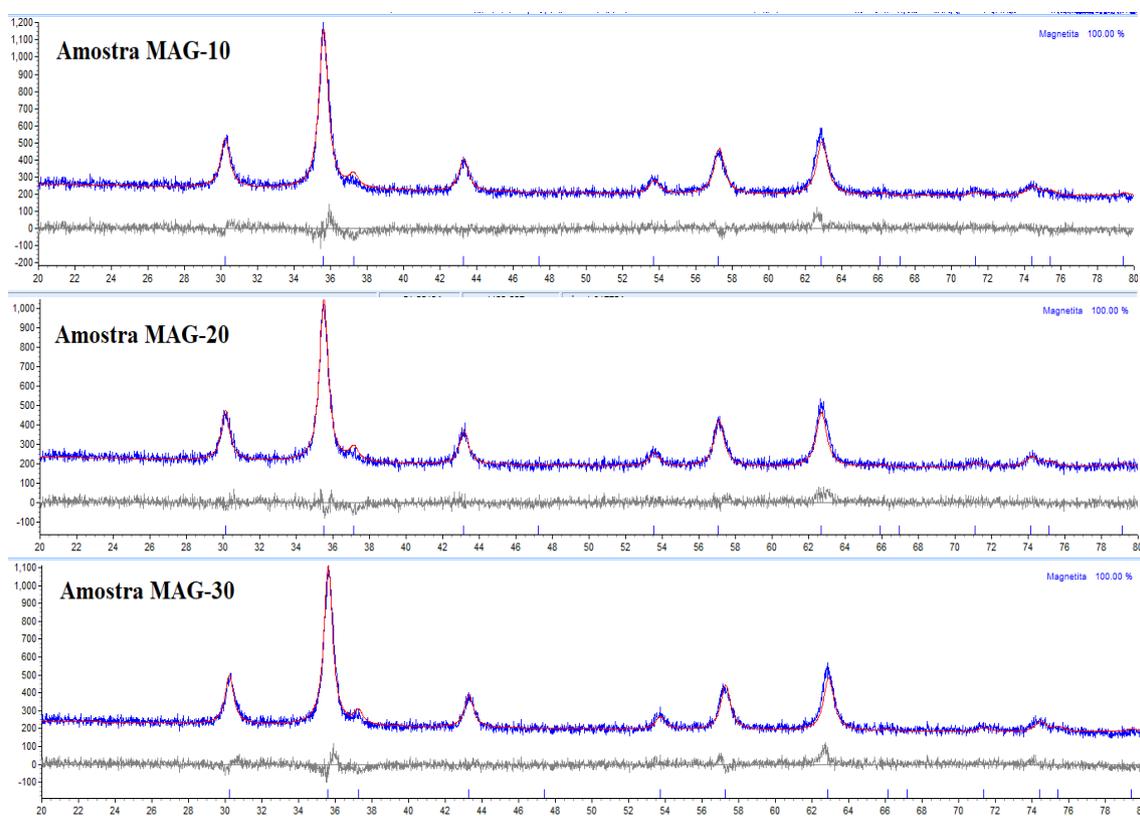


Figura 5.9. Refinamento Rietveld das amostras MAG-10, MAG-20 e MAG-30.

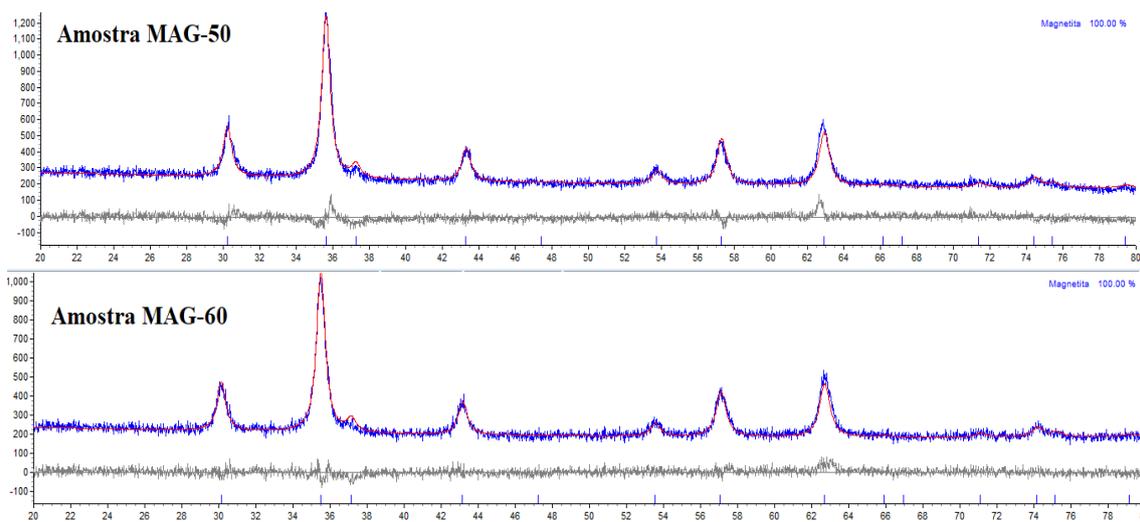


Figura 5.10. Refinamento Rietveld das amostras MAG-50 e MAG-60.

As Figuras 5.11 a 5.14 mostram o resultado do refinamento para as amostras M1 a M12, que tiveram suas condições de sínteses variadas entre temperatura, quantidade de revestimento utilizado e quantidade de ágar no meio reacional.

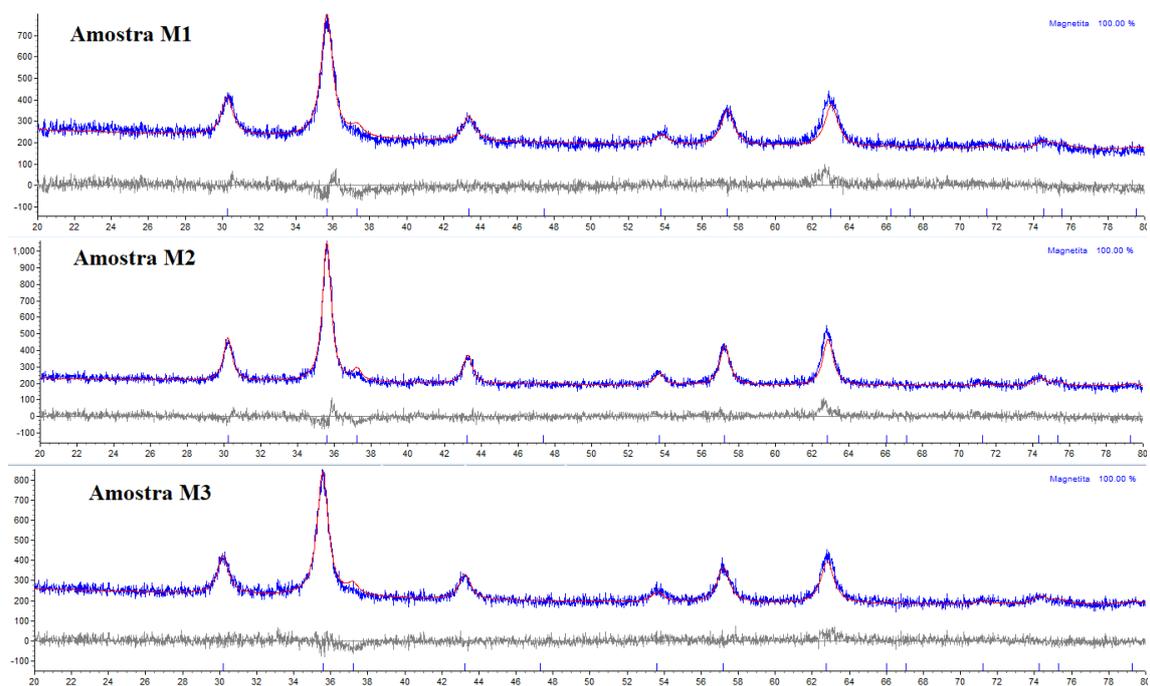


Figura 5.11. Refinamento Rietveld das amostras M1, M2 e M3.

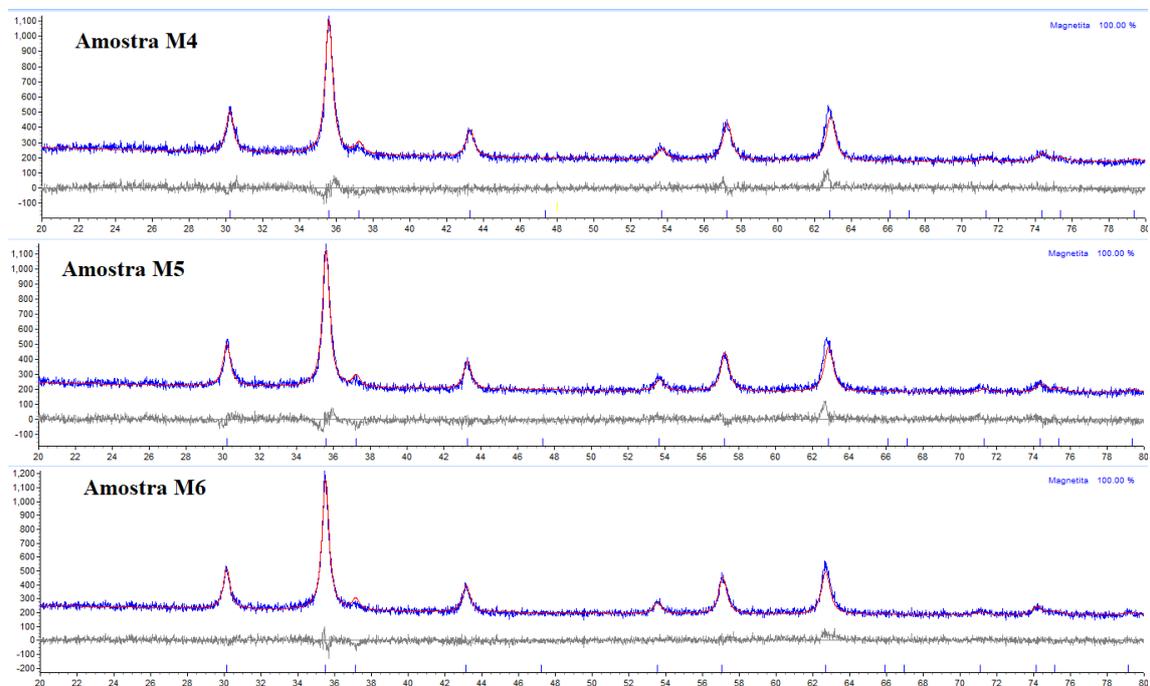


Figura 5.12. Refinamento Rietveld das amostras M4, M5 e M6.

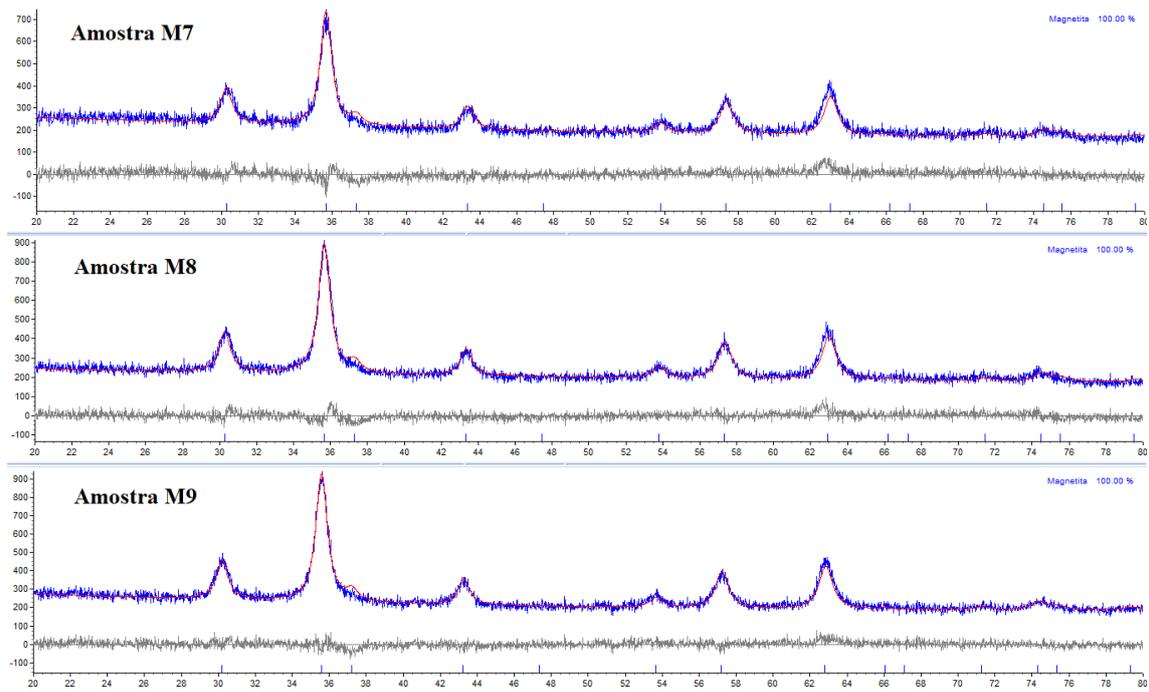


Figura 5.13. Refinamento Rietveld das amostras M7, M8 e M9.

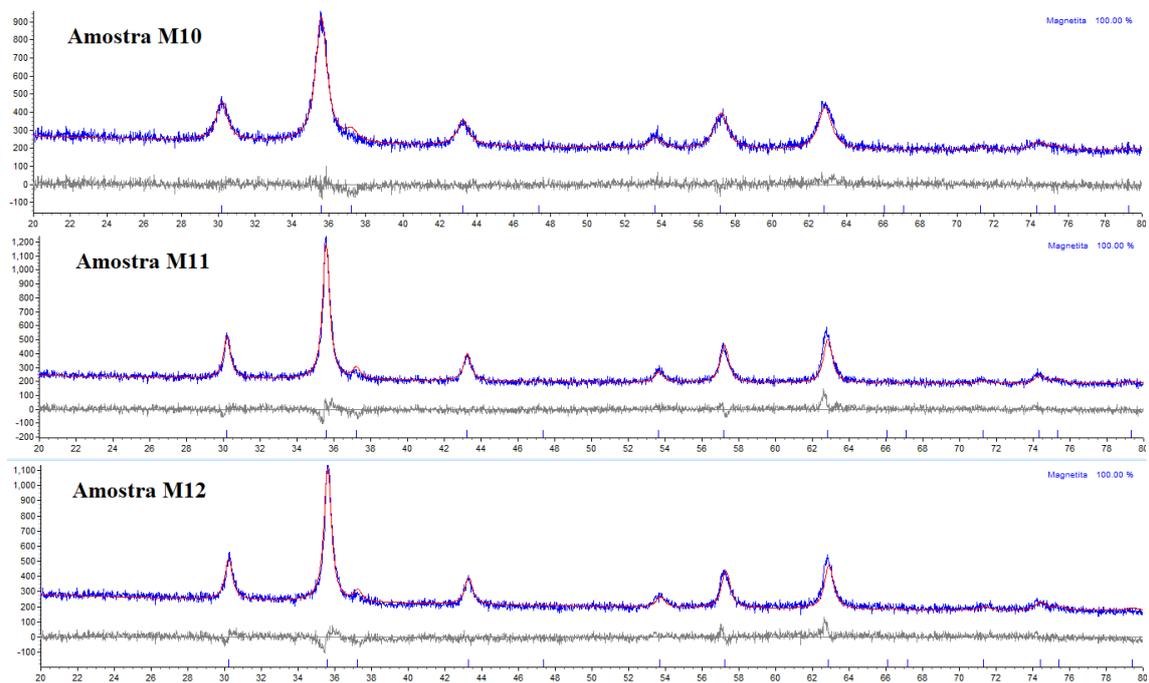


Figura 5.14. Refinamento Rietveld das amostras M10, M11 e M12.

A Figura 5.15 apresenta os resultados obtidos a partir do refinamento para as amostras ME14, ME16 e ME17 que tiveram sua carga de ágar extrapolada para 1g, 2g e 3g respectivamente.

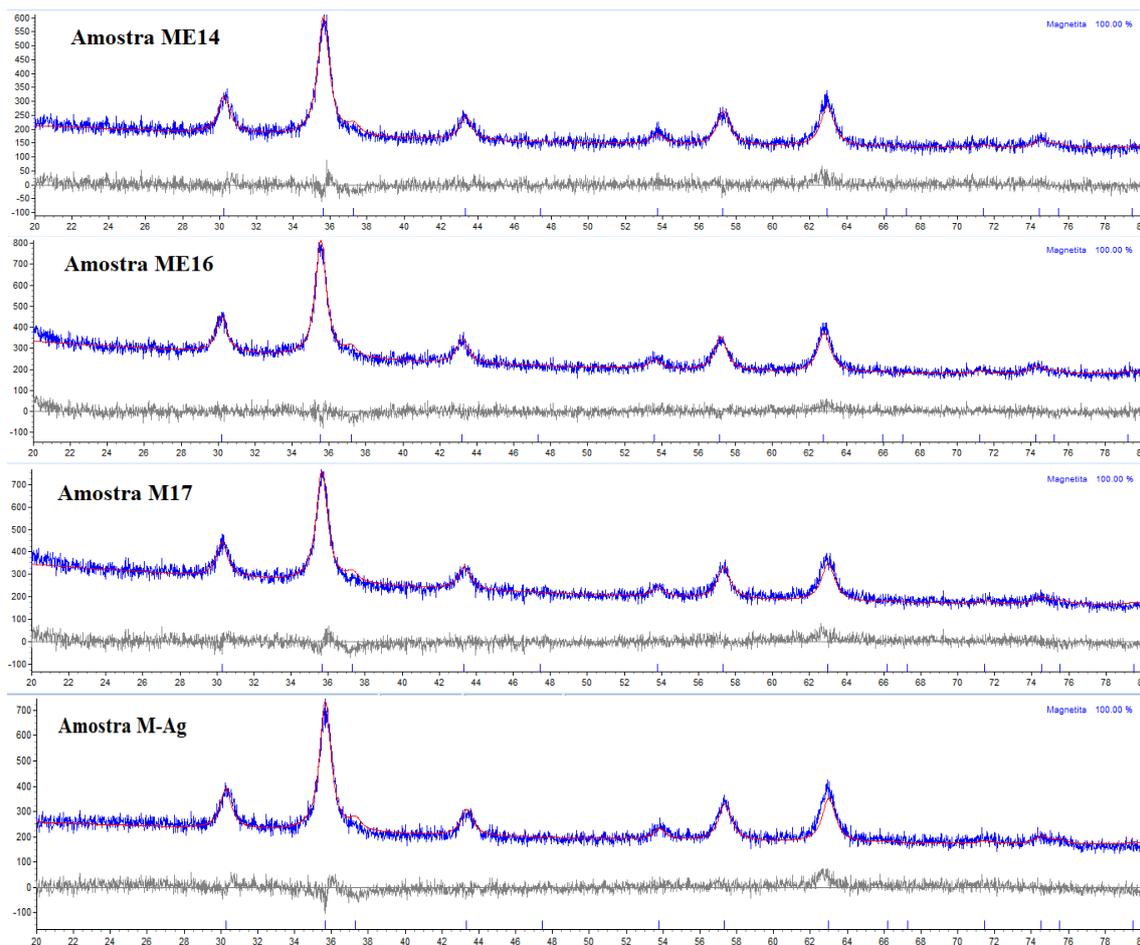


Figura 5.15. Refinamento Rietveld das amostras extrapoladas ME14, ME16, ME17 e M-Ag.

Pode-se observar uma concordância satisfatória entre os picos experimentais quando sobrepostos aos picos tidos como parâmetro para a magnetita de Bragg. Isso evidenciou a formação do núcleo magnético em escala nanométrica obtido como produto da síntese independente das condições utilizadas nas condições de revestimento.

Os diâmetros médios obtidos pelo refinamento variam entre 12 a 22 nm, comprovando a eficácia do método de síntese utilizado na produção de partículas com núcleos em escala nanométrica. Segundo Gupta e Gupta (2005), para aplicações destinadas a áreas biomédicas, em especial aplicações *in vivo*, partículas na faixa entre 5-20 nm são candidatas mais promissoras, pois tem um maior tempo de circulação no organismo, além de poderem penetrar mais facilmente em diversos tecidos. Dessa forma, os nanocompósitos sintetizados no presente trabalho encontram-se dentro da

faixa esperada para o tratamento alvo segundo os resultados obtidos com a técnica de DRX e refinamento Rietveld.

Tabela 5.1. Valores de diâmetros médios e parâmetros de rede obtidos a partir do refinamento Rietveld para amostras com tempos de revestimento variados.

Amostra	Diâmetro (nm)	Parâmetro de rede (Å)
MAG-10	16,66	8,3547
MAG-20	17,90	8,3793
MAG-30	18,11	8,3541
MAG-50	18,27	8,3526
MAG-60	18,55	8,3610

Parâmetro de rede: magnetita (8,396 Å); maghemita (8,346 Å).

Os valores dos parâmetros de rede obtidos encontram-se entre 8,34-8,37 Å que correspondem a valores entre os parâmetros de rede da magnetita (8,396 Å) e da maghemita (8,346 Å), indicando a formação de uma fase intermediária entre a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) em algumas amostras e a formação predominante da fase maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) nas amostras M1, M7, M8 e M17 (Alves *et al.*, 2016) que pode ser explicada pela presença de oxigênio no meio reacional durante o processo de síntese.

Tabela 5.2. Valores de diâmetros médios e parâmetros de rede obtidos a partir do refinamento Rietveld.

Amostra	Diâmetro (nm)	Parâmetro de rede (Å)
M1	13,21	8,3428
M2	18,20	8,3606
M3	13,61	8,3670
M4	21,66	8,3588
M5	22,57	8,3582
M6	23,23	8,3797
M7	13,18	8,3445
M8	12,90	8,3456
M9	12,95	8,3628
M10	19,96	8,3637
M11	22,69	8,3627
M12	21,34	8,3557
M14	12,96	8,3503
M16	13,61	8,3688
M17	13,23	8,3448
M-Ag	13,01	8,3565

5.1.3 Análise Nanosight

Para determinar o diâmetro hidrodinâmico e o perfil hidrodinâmico distribuição de tamanho de NPs de óxido de ferro foi utilizada a análise de rastreamento de nanopartículas (NTA), que também permite avaliar o comportamento de agregação das NPs em suspensão (Dadfar, 2019). Esta técnica é bastante útil, pois indica as condições do comportamento das nanopartículas em coloides que são fortemente influenciadas pelo revestimento e fluido base. Desta forma, esta técnica permite análise detalhada da condição de aplicação das nanopartículas no meio.

5.1.3.1 Influência do tempo de revestimento na espessura e tamanho da camada polimérica das NPs

A fim de avaliar o efeito do tempo de duração da etapa de revestimento no tamanho final das nanopartículas e estabelecendo assim uma condição padrão processamento para as futuras sínteses a serem realizadas ao longo do período de doutoramento. Foram inicialmente realizadas cinco sínteses obedecendo às mesmas condições, quantidades dos precursores e metodologia, variando apenas o tempo de duração em que as NPs foram revestidas com PEG em 10, 20, 30, 50 e 60 minutos.

A análise da distribuição granulométrica apresentada por uma partícula vai além do valor do diâmetro médio. Outros valores devem ser levados em consideração a fim de assegurar uma análise e conclusão mais adequada acerca da granulometria obtida, visto que, a distribuição de tamanho das partículas se refere ao número de partículas que se enquadram em cada uma das diversas faixas de tamanhos na amostra de interesse. A Tabela 5.3 fornece informações importantes acerca da distribuição granulométrica das NPs quando estas se encontram em suspensão em água ultrapura.

A distribuição granulométrica é comumente composta por partículas que apresentam diversos valores diferentes de diâmetro. Assim sendo, existem poucas aplicações onde um único valor de partícula é capaz de representar adequadamente a amostra analisada como um todo. Dessa forma, muitas vezes é mais útil descrever toda a distribuição de tamanho ao invés de apenas um único ponto sobre ela. Para tanto, deve-se analisar não só o diâmetro médio das NPs, como também os diâmetros D_{10} , D_{50} e D_{90} .

O diâmetro D_{10} indica a porcentagem de partículas ditas finas, ou seja, indica que 10% das partículas presentes na amostra apresentam um tamanho inferior ao valor desse diâmetro. De forma semelhante, o diâmetro D_{90} indica a porcentagem de partículas ditas grosseiras, ou seja, indica que 90% das partículas possuem tamanho inferior a esse diâmetro. O diâmetro D_{50} por sua vez, é um dos valores mais importantes a ser analisado representando o valor médio da distribuição de tamanho de partícula. Isso significa que esse valor representa um valor mediano da distribuição de partículas, em outras palavras, metade das partículas presentes na solução possui um diâmetro menor do que esse valor, enquanto a outra metade das partículas possui um diâmetro superior.

Tabela 5.3. Dados Nanosight para variados tempos de revestimento.

Tempos de Revestimento	Tamanho Médio (nm)	D10 (nm)	D50 (nm)	D90 (nm)
10 minutos	31	14	24	53
20 minutos	33	19	28	50
30 minutos	40	22	34	63
50 minutos	40	22	34	63
60 minutos	38	21	32	59

A Figura 5.16 mostra a relação entre os tempos de revestimento ao quais as partículas foram submetidas durante a síntese e os diâmetros $D_{médio}$, D_{10} , D_{50} e D_{90} , que correspondem respectivamente à média dos diâmetros das partículas presentes nas soluções e aos percentuais de partículas que apresentam tamanhos inferiores aos diâmetros determinados por D_{10} , D_{50} e D_{90} .

O tamanho médio das partículas se encontra dentro da faixa esperada para aplicações biomédicas que está entre 10-50 nm, possibilitando dessa forma uma capacidade de resposta satisfatória quando expostas a um campo magnético externo, geração de calor para técnica de hipertermia, além de um bom equilíbrio dos tempos de circulação no organismo, devido também à presença do revestimento adequado. Ainda segundo Medeiros (2011), partículas menores do que 10 nm apresentam uma resposta inferior aos campos magnéticos externamente aplicados em função da sua magnetização de saturação reduzida, sendo a faixa de tamanho ideal para aplicação em hipertermia entre 10 e 20 nm.

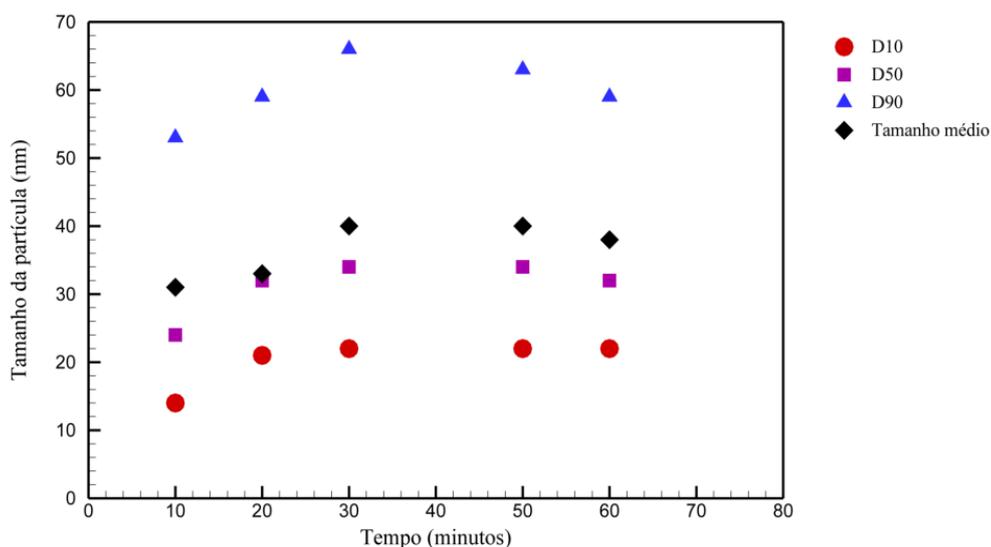


Figura 5.16. Comparação entre os valores de D_{10} , D_{50} , D_{90} e diâmetro médio para as amostras com variados tempos de revestimento.

Como observado na Figura 5.16, com o incremento no tempo de duração do processo de revestimento das nanopartículas houve um ligeiro aumento no diâmetro médio. As partículas apresentaram um crescimento até o tempo de 30 minutos, após o qual houve um período de estabilização, seguido pelo decréscimo do seu tamanho indicando a ocorrência de uma saturação na camada polimérica que reveste as partículas.

Os valores de D_{10} , D_{50} e D_{90} , que descrevem a distribuição granulométrica das partículas, apresentam curvas semelhantes. A parte fina da distribuição, representada por D_{10} , apresenta tamanhos dentro da faixa ideal para a aplicação desejada. No caso dos valores D_{50} , embora os valores encontrados para todas as amostras sejam superiores ao esperado, ainda se encontram dentro da faixa desejada para aplicações biomédicas. Com exceção da amostra revestida por 20 minutos, as demais amostras apresentaram um D_{90} , que representa a medida da parte mais grosseira da distribuição, acima dos valores desejados. Isso pode ser devido à ocorrência de uma pequena aglomeração das nanopartículas apesar do seu revestimento.

5.1.3.2 Influência da variação de temperatura, concentração de PEG e de ágar na espessura e tamanho da camada polimérica das NPs

A influência provocada variação nas condições de síntese das NPs de óxido de ferro também foi avaliada, para isso, foram feitas sínteses variando a temperatura, as

concentrações de revestimento e de ágar. A distribuição granulométrica dessas amostras é apresentada na Tabela 5.4.

A análise Rietveld feita a partir do difratograma obtido por DRX representa uma técnica indireta capaz de mensurar o tamanho do núcleo magnético e estimar o diâmetro médio da partícula, no entanto, para isso a camada de revestimento é desprezada. A análise por Nanosight[®], por sua vez, inclui a camada polimérica que reveste as nanopartículas em suas medições. Isso ocasiona influência de possíveis efeitos de aglomeração, entretanto, os resultados relacionados a essa técnica são obtidos por observação direta das partículas em suspensão.

Tabela 5.4. Dados Nanosight para variadas temperaturas, concentrações de revestimento e quantidade de ágar.

Amostra	D₁₀ (nm)	D₅₀ (nm)	D₉₀ (nm)	D_{médio} (nm)	Concentração (x10⁸ partículas/ml)
M1	24,75	41,63	89,75	51,88	41,21
M2	39,38	66,75	134,75	79,25	36,23
M3	26,25	44,25	93,50	54,50	55,14
M4	28,80	50,60	113,00	63,60	41,93
M5	35,86	60,86	127,43	73,57	44,31
M6	26,57	45,43	101,43	57,14	42,41
M7	28,25	47,63	106,38	60,25	32,98
M8	29,25	50,63	112,88	63,25	37,02
M9	23,13	39,88	86,75	50,00	41,21
M10	36,00	62,00	131,71	75,43	31,31
M11	32,71	57,29	124,57	70,86	32,49
M12	33,83	59,50	132,00	74,17	37,39
ME13	39,20	66,20	135,00	79,20	34,72
ME14	22,00	30,60	49,00	33,30	26,08
ME15	21,50	30,30	48,80	34,20	30,65
ME16	24,10	35,20	60,20	40,30	33,60
ME17	21,50	30,10	49,10	34,10	35,69
M-Ag	25,38	41,38	84,63	50,63	45,38

As amostras foram sintetizadas utilizando duas quantidades distintas de PEG para formar a camada polimérica. Enquanto o conjunto de amostras que vai de M1 a M6 e de M13 a M17 utilizaram apenas 3,5 g de PEG em cada síntese, o conjunto de amostras que vai de M7 a M12 utilizou 7,0 g de PEG. Através da análise dos dados apresentados na Tabela 5.4, com relação à espessura da camada polimérica adsorvida na

superfície das NPs, não é possível concluir que a quantidade isolada de PEG utilizada para revestir o núcleo das partículas seja um fator determinante na espessura final, pois embora a amostra M2 tenha sido sintetizada com uma quantidade menor de PEG, a mesma apresenta um dos maiores tamanhos finais de partícula.

Contudo, Jimeno e Estelrich (2013) descreveram que quantidades de PEG 4000 entre 1,5 g a 6,0 g são eficientes para revestir nanopartículas, enquanto quantidades abaixo 1,5 g são consideradas insuficientes no processo de estabilização das partículas magnéticas. Dessa forma, é possível presumir que apesar da diferença de tamanho obtida pela caracterização por NTA, todas as partículas receberam uma quantidade suficiente de revestimento capaz de proteger o núcleo magnético e que no caso da amostra M2, o seu elevado tamanho médio provavelmente se deve ao efeito da aglomeração das partículas durante a análise.

No que diz respeito à temperatura do meio reacional durante a síntese, foram utilizadas duas temperaturas distintas durante a síntese, as amostras M4 a M6, M10 a M12 e ME13 tiveram suas sínteses realizadas a temperatura de 80°C, enquanto as amostras M1 a M3, M7 a M9, ME14 a ME17 e M-Ag foram sintetizadas a temperatura ambiente de 25°C. A temperatura de reação é reportada como um fator determinante durante a síntese para que sejam obtidas NPs com tamanho reduzido e granulometria estreita. Segundo Liu e seus colaboradores, nas sínteses por co-precipitação, temperatura de reação interfere diretamente na morfologia das partículas, sendo observada a obtenção de partículas maiores a temperaturas mais elevadas (Liu *et al.*, 2002).

Embora seja possível observar que as partículas sintetizadas a 80°C apresentaram uma maior tendência a desenvolver tamanhos ligeiramente maiores quando comparadas NPs sintetizadas a temperatura ambiente, algumas amostras não apresentaram esse comportamento. A amostra M2, embora tenha tido sua síntese realizada a 25°C pode ter apresentado a formação de regiões de aglomerados visto que nenhum tipo de dispersante foi utilizado durante a medida.

O ágar foi utilizado em diferentes quantidades em diferentes sínteses, combinado com a variação na temperatura e na quantidade de PEG, visando avaliar sua capacidade de controlar a distribuição granulométrica das NPs limitando seu tamanho. No conjunto de amostras que vai de M1 a M12, as sínteses foram feitas através da variação de três

quantidades de ágar, 0g, 0,16g e 0,32g. Enquanto que as amostras M1 e M7 não foram sintetizadas na presença de ágar, as amostras M2, M5, M8 e M11 foram sintetizadas utilizando 0,16g de ágar e as amostras M3, M6, M9 e M12 utilizando 0,32g de ágar no meio reacional. Não é possível concluir a partir da análise dos dados obtidos para as sínteses de M1 a M12 que a presença do ágar tenha influenciado isoladamente o produto da síntese formando partículas menores. Entretanto, para o conjunto de amostras compreendido entre ME13 e ME17 e M-Ag, que tiveram sua síntese realizada em meio de ágar extrapolado, no qual foram adicionadas quantidades superiores a 1g de ágar, foi possível observar mais diretamente a interferência que este provocou nas características das NPs.

As amostras ME14, ME16 e ME17, utilizaram concentrações de ágar iguais a 1g, 2g e 3g respectivamente, uma quantidade fixa de 3,5g de PEG e temperatura ambiente no meio reacional. Nesses casos, observou-se a drástica redução do tamanho médio das NPs obtidas através da co-precipitação, além também do forte estreitamento na sua distribuição granulométrica. Embora a quantidade de ágar utilizada na síntese das amostras extrapoladas designadas pela sigla ME tenha sofrido um acréscimo de 100% na amostra ME16 e de 150% na amostra ME17 em comparação com a amostra ME14, não observou-se variações tão acentuadas na sua granulometria, indicando a ocorrência de um limite de saturação no que tange a extrapolação de ágar, o que sugere que quantidades de ágar superiores a 1g não se tornam mais eficazes no recobrimento das NPs. A amostra ME13 representa uma exceção, pois embora também tenha sido sintetizada em meio extrapolado de ágar (1g) e revestida com 3,5g de PEG, foi feita com a temperatura reacional mais elevada de 80°C, o que possivelmente levou a formação de partículas maiores (Liu *et al.*, 2002).

As amostras com ágar extrapolado apresentaram uma camada de revestimento mais fina, possivelmente devido ao tamanho da molécula de ágar dificultar o empilhamento das camadas de revestimento. Uma camada mais fina revestindo o núcleo magnético é desejável no sentido de não causar um grande aumento no tamanho das partículas a ponto de inviabilizar sua utilização em aplicações biológicas, como a hipertermia magnética. O aumento excessivo no tamanho das NPs também acarreta na necessidade de um aumento na quantidade de NPs a serem utilizadas durante o tratamento para produzir o aquecimento necessário para o sucesso da aplicação.

A amostra M-Ag foi sintetizada apenas em meio saturado de ágar sem a presença de PEG na camada que reveste o núcleo. Embora seu tamanho médio não seja elevado, as partículas se encontram distribuídas em faixa granulométrica mais ampla evidenciando que embora uma alta quantidade de ágar durante a síntese propicie um estreitamento da distribuição, é a combinação de ágar e PEG adsorvidos na superfície das NPs a responsável por conferir uma distribuição estreita e uniforme.

As Figuras 5.17 a 5.19 mostram a distribuição granulométrica das amostras M1 a M12, que tiveram suas condições de sínteses variadas entre temperatura, quantidade de revestimento utilizado e quantidade de ágar no meio reacional.

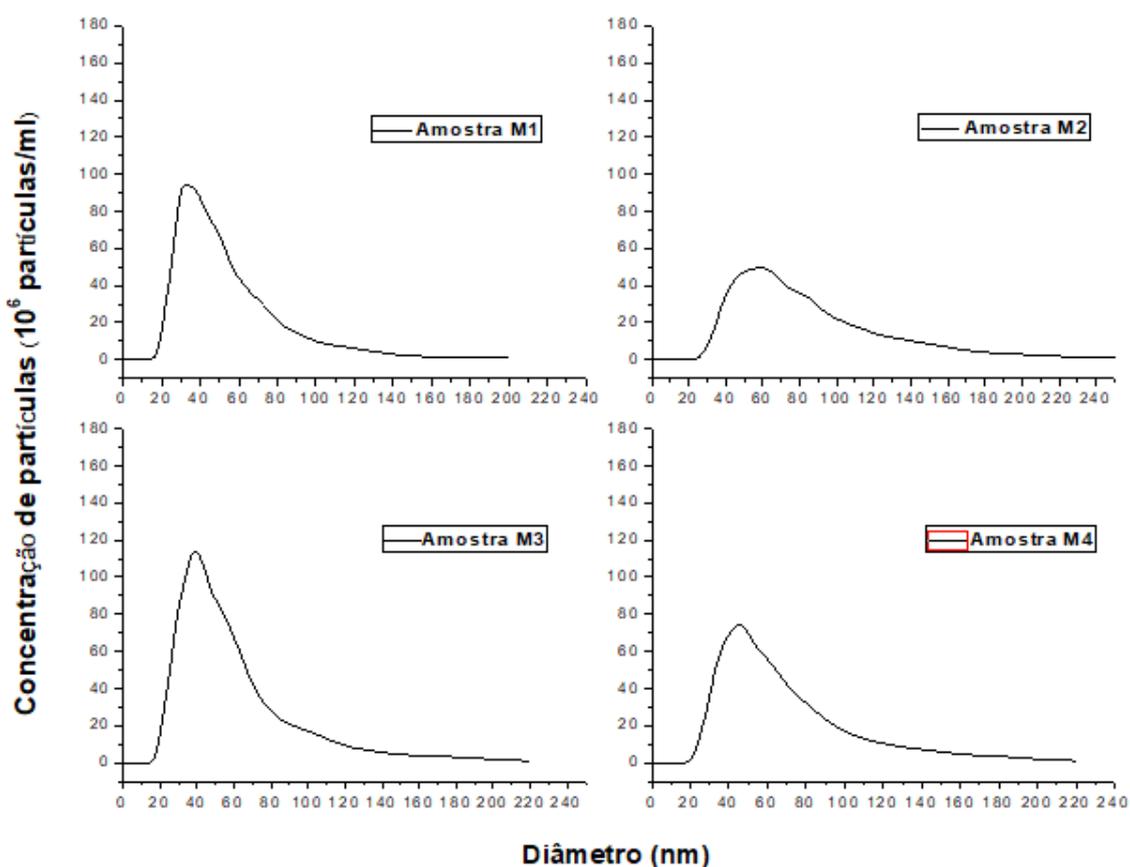


Figura 5.17. Distribuição granulométrica das amostras M1, M2, M3 e M4.

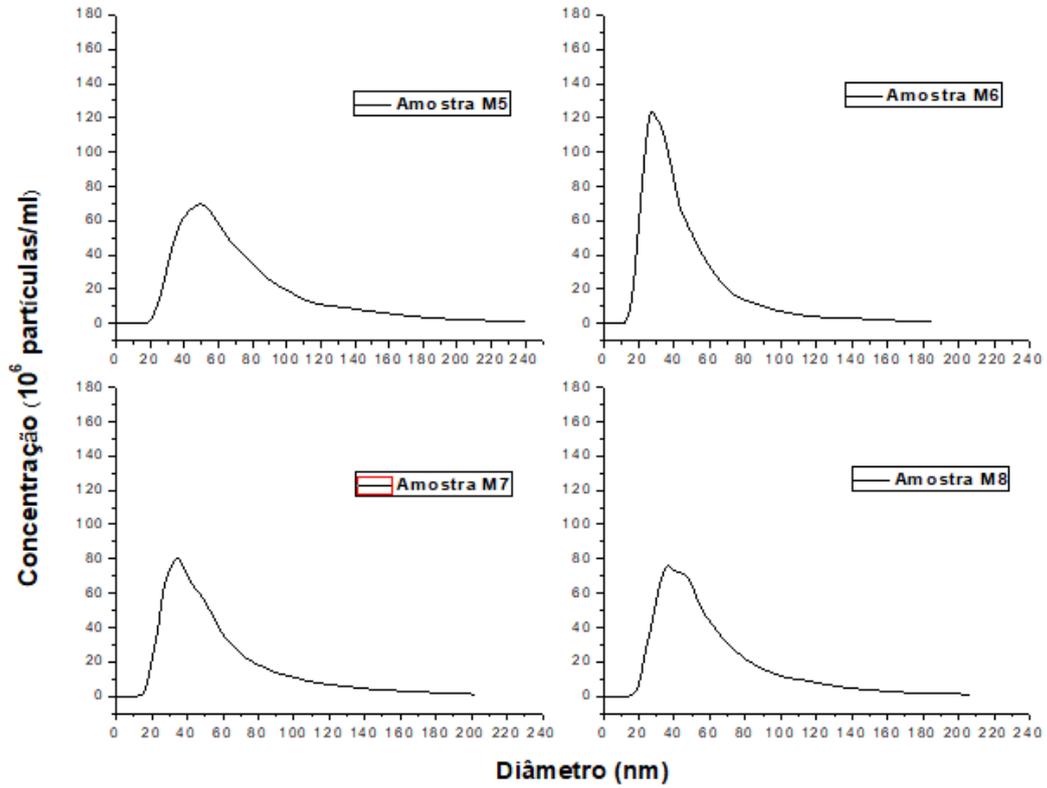


Figura 5.18 Distribuição granulométrica das amostras M5, M6, M7 e M8.

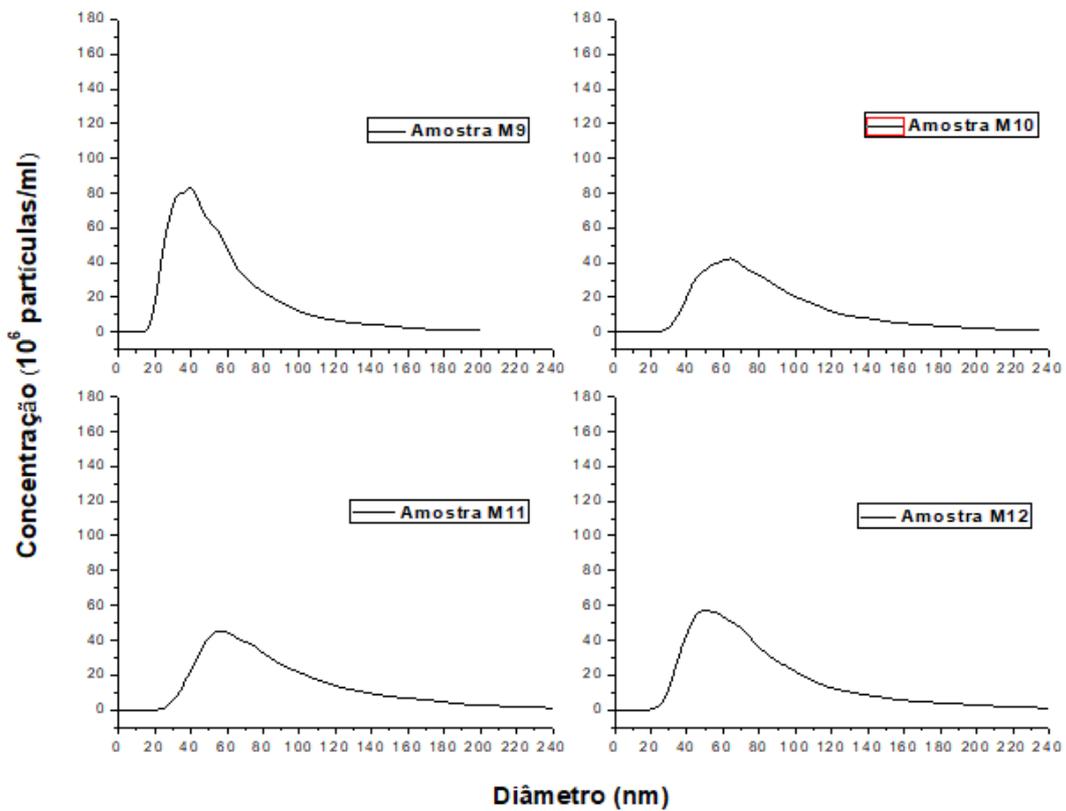


Figura 5.19. Distribuição granulométrica das amostras M9, M10, M11 e M12.

As Figuras 5.20 e 5.21 mostram a distribuição granulométrica das amostras ME14, ME16 e ME17 que tiveram sua carga de ágar extrapolada para 1g, 2g e 3g respectivamente.

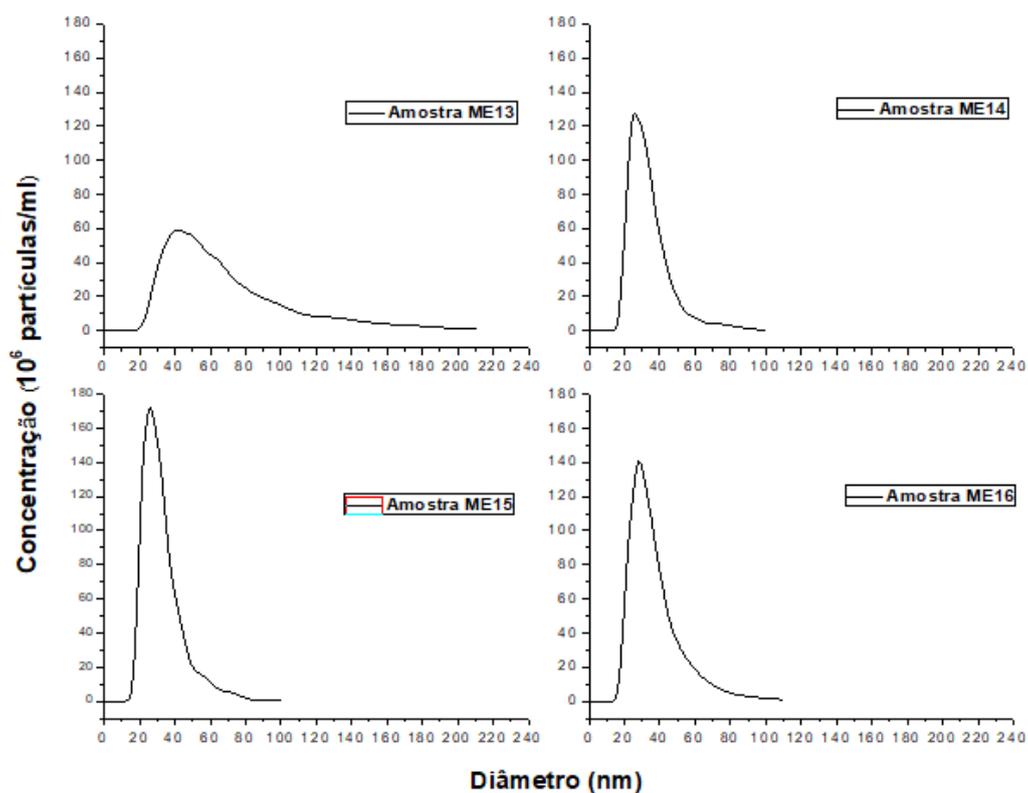


Figura 5.20. Distribuição granulométrica das amostras ME13, ME14, ME15 e ME16.

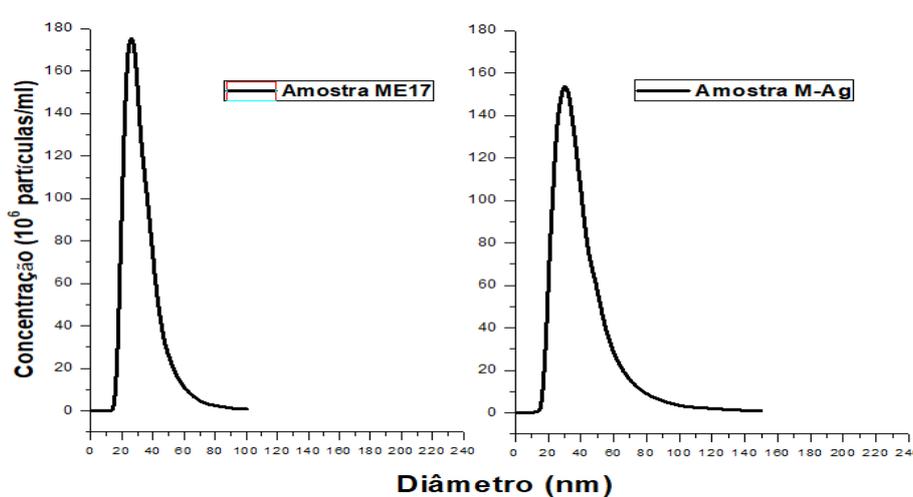


Figura 5.21. Distribuição granulométrica das amostras ME17 e M-Ag.

Os gráficos de distribuição granulométrica das amostras, que mostram a relação entre os tamanhos presentes na distribuição e a concentração de NPs suspensas em fluido (nesse caso em água ultra pura), apresentam um perfil de curva uniforme. É possível observar que de forma geral, as amostras cujas sínteses foram realizadas em temperatura ambiente apresentam uma distribuição um pouco mais estreita. As amostras feitas em meio extrapolado de ágar, ME14 a ME17, apresentaram uma distribuição ainda mais uniforme quando comparadas com as demais. Contudo, a concentração de partículas em suspensão para essas amostras é menor, indicando que houve uma estabilização do tamanho das NPs que promoveu a estabilidade na concentração de partículas suspensas.

5.1.4 Análises TGA-DSC

Em função da grande área superficial a que as NPs estão sujeitas, a sua utilização em áreas biomédicas depende fortemente da realização adequada de revestimento dessas NPs. O revestimento é responsável não só por proteger o núcleo magnético de possíveis oxidações, como também tem como função minimizar o estado de agregação a que as NPs estão sujeitas, aumentar seu tempo de internalização no organismo, aumentar sua estabilidade, bem como possibilitar sua dispersão em líquidos que muitas vezes são os responsáveis por realizar o transporte das partículas para o interior do organismo.

Visando a obtenção dessas importantes propriedades, é imprescindível que o revestimento escolhido esteja fortemente ligado à superfície das NPs. Isso deve acontecer preferencialmente por adsorção química (quimissorção), pois moléculas ligadas por adsorção física (fisissorção) podem se desorver mais facilmente, comprometendo a estabilidade das NPs, acarretando então na sua ineficácia durante a aplicação específica.

Para avaliar a qualidade da camada de revestimento, bem como sua capacidade de adsorver-se no núcleo magnético foram realizados ensaios térmicos que permitiram observar a variação de massa sofrida pelas amostras, conforme mostrado nas Figuras 5.22 a 5.29. Para isso, foram realizados ensaios utilizando atmosfera de ar, nitrogênio e argônio com o intuito de avaliar o efeito de diferentes atmosferas na oxidação das amostras.

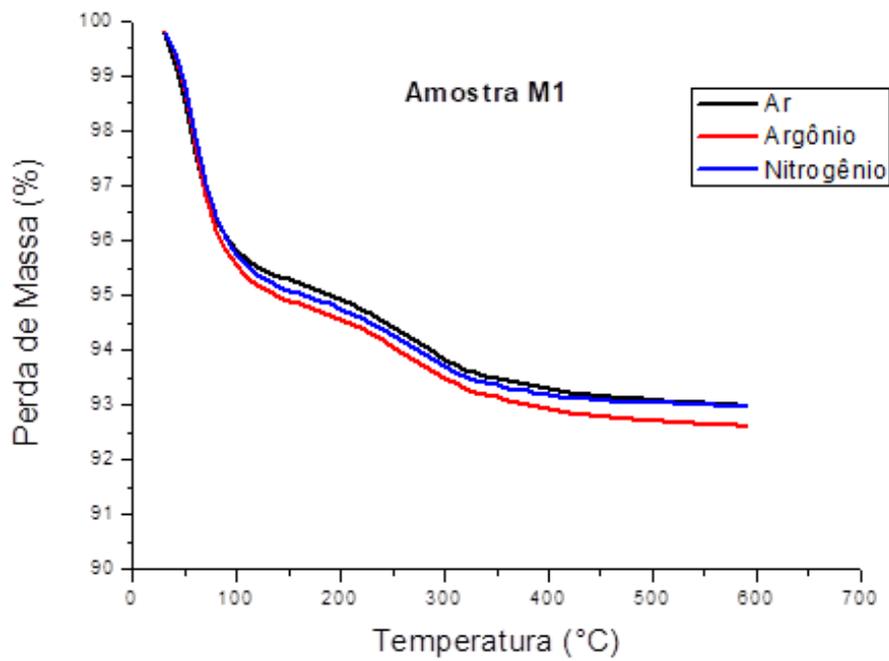


Figura 5.22. Variação de massa em relação à temperatura da amostra M1 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.

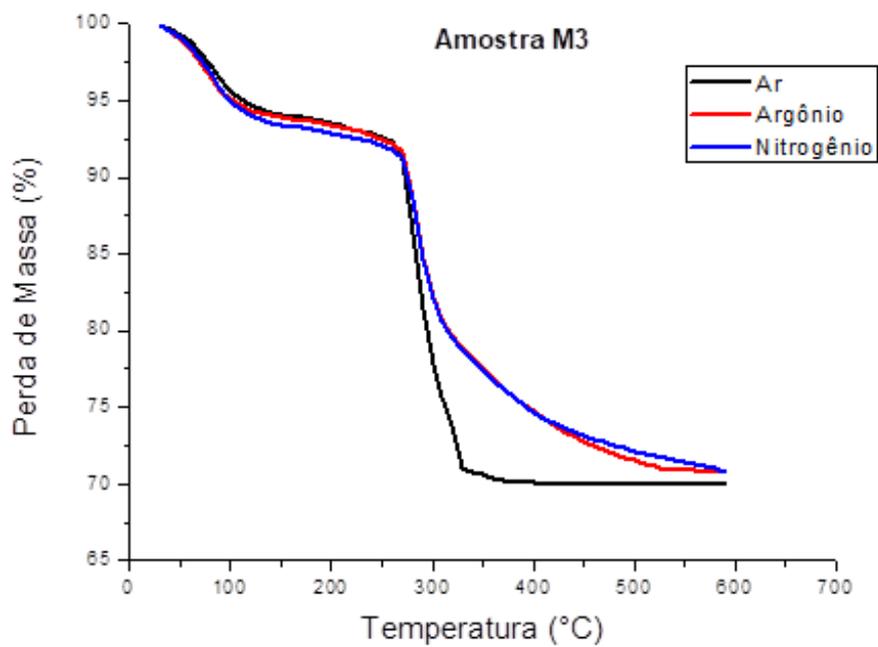


Figura 5.23. Variação de massa em relação à temperatura da amostra M3 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.

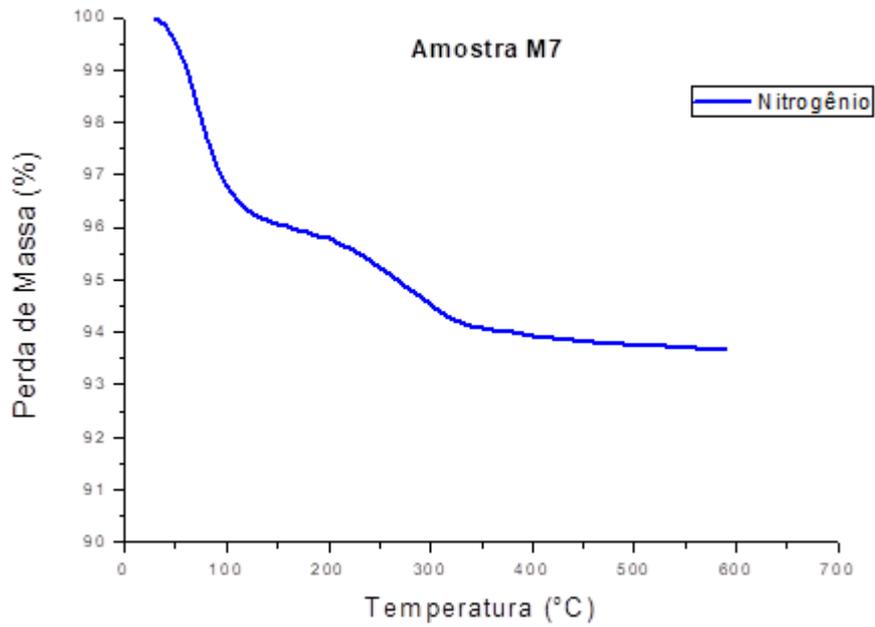


Figura 5.24. Variação de massa em relação à temperatura da amostra M7 utilizando nitrogênio como atmosfera ambiente.

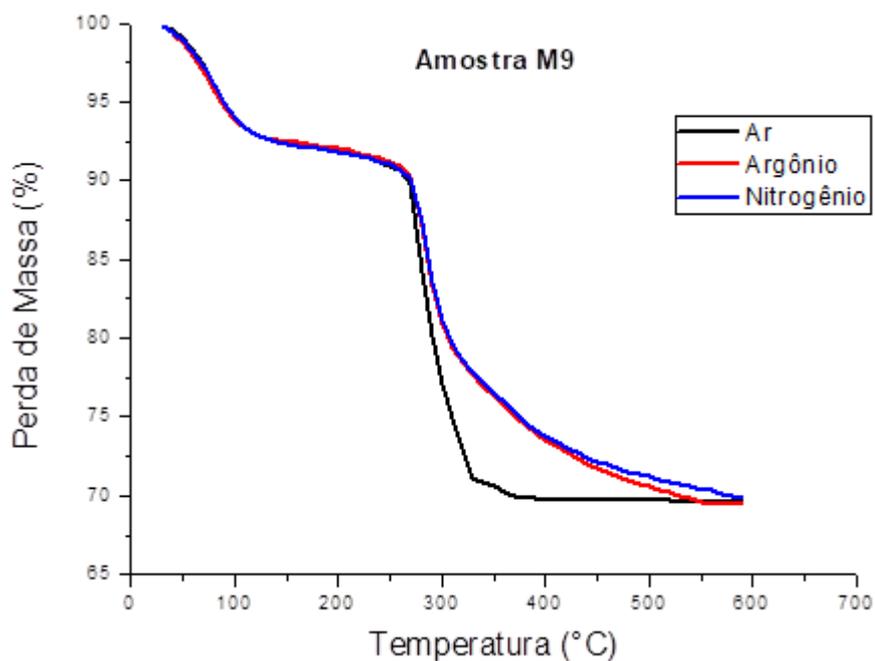


Figura 5.25. Variação de massa em relação à temperatura da amostra M9 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.

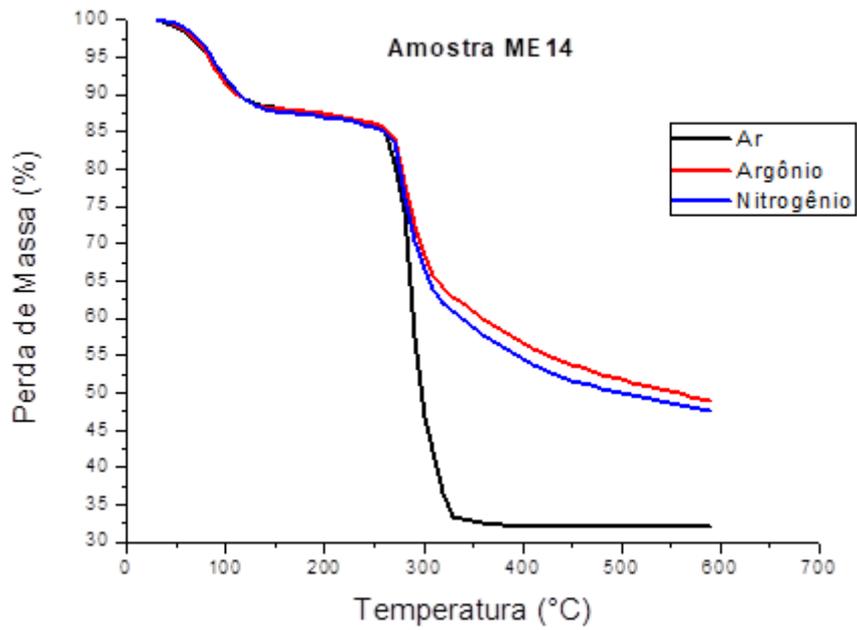


Figura 5.26. Variação de massa em relação à temperatura da amostra ME14 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.

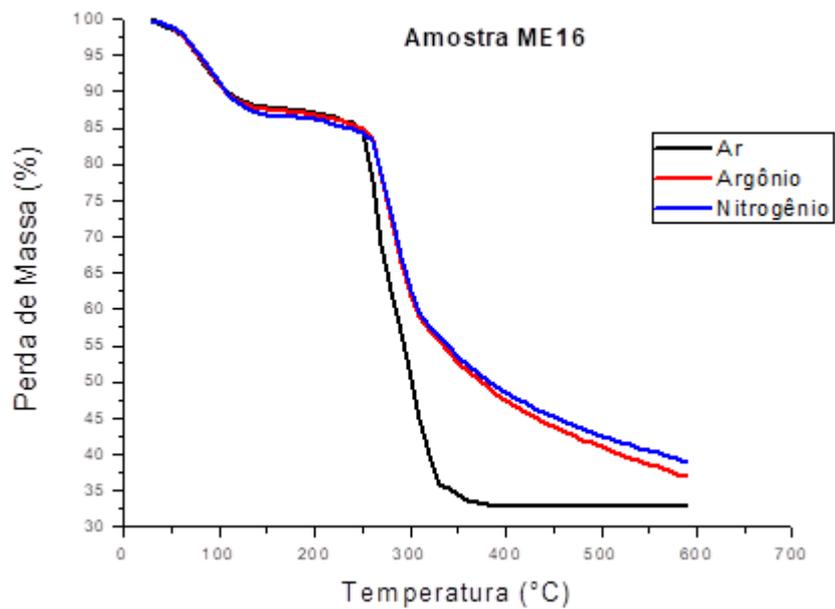


Figura 5.27. Variação de massa em relação à temperatura da amostra ME16 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.

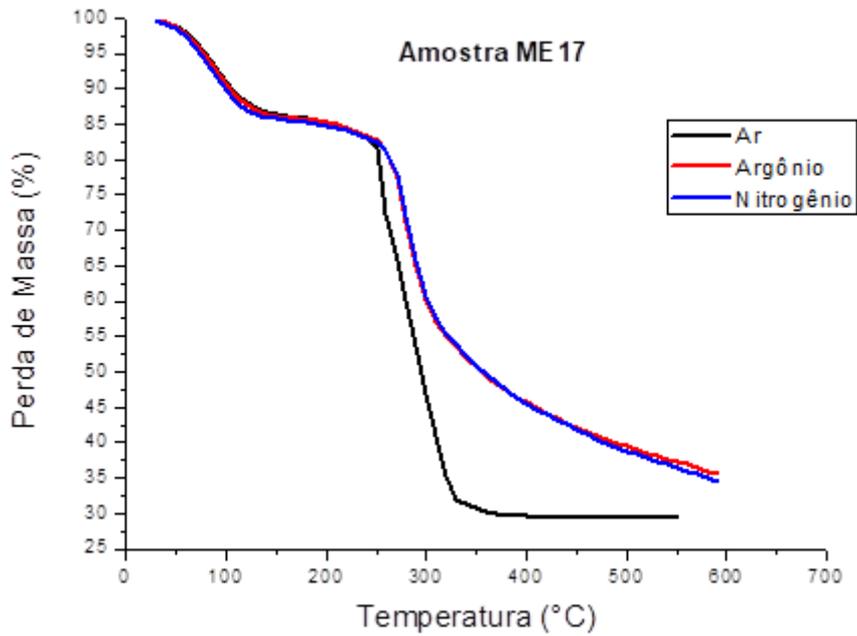


Figura 5.28. Variação de massa em relação à temperatura da amostra ME17 utilizando ar, nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.

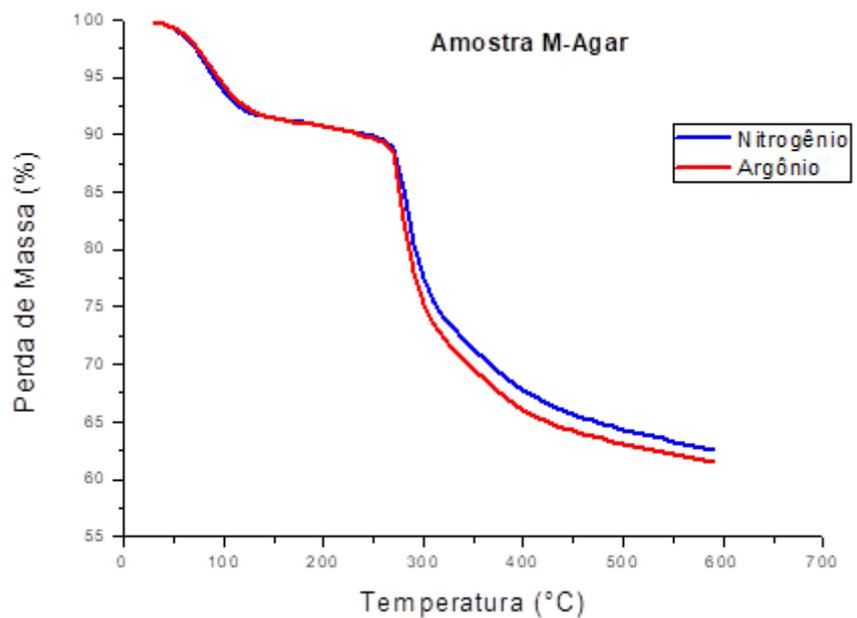


Figura 5.29. Variação de massa em relação à temperatura da amostra M-Agar utilizando nitrogênio e argônio como atmosfera ambiente.

Para todas as curvas apresentadas, é possível observar dois estágios nos quais a ocorrência de perda de massa se mostra mais significativa. O primeiro estágio, que ocorre entre as temperaturas de 25°C e 100°C refere-se à evaporação dos resíduos de

água que estão adsorvidos na superfície das NPs (Abboud *et al.*, 2015). Enquanto o segundo estágio que ocorre a partir de 300°C, no qual ocorre uma perda de massa substancial, deve-se à deterioração da camada superficial de revestimento que envolve o núcleo magnético (Dutta *et al.*, 2018), uma vez que a estabilidade térmica do óxido de ferro que compõe o núcleo é elevada e, em contra partida, o material utilizado para recobrir esse núcleo possui natureza orgânica.

Para aplicações *in vivo* a estabilidade das NPs é de extrema importância para evitar a formação de regiões de aglomerados no interior do organismo e permitir que o máximo desempenho das propriedades magnéticas seja alcançado. A análise termogravimétrica mostrou a existência de uma camada de mistura polimérica adsorvida na superfície do núcleo magnético responsável por garantir a estabilidade ao material.

As amostras M1 e M7 perderam a menor quantidade de massa independente da atmosfera a que foram expostas. Embora a amostra M7 tenha sido exposta ao dobro da quantidade de PEG durante a formação da camada de revestimento do que a amostra M1, não é possível observar uma diferença significativa na massa perdida pelas duas amostras. Comparando ambas as amostras a atmosfera de nitrogênio, notamos que a perda total de massa da amostra M1 chegou a 6,84%, enquanto na amostra M7 chegou a 6,33%, indicando que o PEG, para essas quantidades, não exerce grande influência sobre a espessura do revestimento devido a uma possível ocorrência de saturação na camada polimérica formada pelo PEG e adsorvida no núcleo magnético, conforme mostrado na Tabela 5.5.

Tabela 5.5. Porcentagem de perda de massa.

Amostra	% perda em Ar	% perda em Nitrogênio	% perda em Argônio
M1	6,80	6,84	7,21
M3	30,05	29,14	28,84
M7	-	6,33	-
M9	30,27	30,04	30,04
ME14	67,94	52,42	51,09
ME16	67,21	60,96	63,07
ME17	70,52	63,45	62,66
M-Ag	-	37,37	38,34

As perdas de massa apresentadas nos termogramas obtidos para a amostra M1 em diferentes atmosferas mostra pouca variação, 6,80% para a atmosfera de ar

comprimido, 6,84% para a atmosfera de nitrogênio e 7,21% para a atmosfera de argônio (Tabela 5.5). Uma vez que a presença da atmosfera tanto de nitrogênio quanto de argônio protege a camada polimérica da degradação, as perdas na presença do oxigênio existente na atmosfera de ar comprimido deveriam ser maiores, no entanto não o são. Isso provavelmente ocorreu em função de um possível ganho de massa referente à oxidação do núcleo magnético diante da sua exposição a uma atmosfera rica em oxigênio depois de ocorrida a queima da camada responsável por sua proteção (Tai *et al.*, 2016).

A amostra sintetizada apenas, M-Ag, em meio extrapolado de ágar (1g), tem sua perda de massa separada em duas etapas, a primeira (menor) ocorre a cerca de 100 °C indicando a evaporação de um pouco de água presente na superfície da amostra, e segunda etapa (maior) aparece entre 250 e 350 °C, com um pico de temperatura de 300°C, indicando a degradação dos principais constituintes do ágar, sugerindo que a degradação térmica do ágar é uma reação de etapa única. Esse resultado está em concordância com os resultados obtidos por Ouyang e colaboradores (2018), segundo os quais, a degradação térmica do ágar em atmosfera de nitrogênio ocorre em uma etapa única de reação exotérmica. A estabilidade térmica do ágar está diretamente relacionada com a sua força de gel, dessa forma, quanto maior a força de gel do ágar, melhor será sua estabilidade térmica. Ainda segundo os autores, quando aquecido a altas temperaturas, o ágar sofre uma forte decomposição térmica. A reação de degradação térmica do ágar ocorre principalmente através da quebra de ligações glicosídicas e desidratação.

No que diz respeito às amostras sintetizadas na presença de ágar e revestidas com PEG, ficou evidente o aumento substancial na porcentagem de massa perdida nas amostras à medida que a quantidade de ágar em sua composição também foi aumentada, conforme apresentado na Tabela 5.5. As amostras M3 e M9, que foram sintetizadas com quantidade intermediária de ágar, apresentaram valores parecidos para a perda de massa total independente da atmosfera utilizada, entretanto, apesar da pouca diferença entre os valores finais obtidos, é possível observar que a perda de massa aconteceu de forma menos acentuada nas atmosferas inertes, que minimizaram os efeitos da degradação na camada de revestimento.

Enquanto a perda de massa das amostras M3 e M9 ocorreram na faixa dos 30%, as amostras ME14, ME16 e ME17, que tiveram sua síntese realizada em meio

extrapolado de ágar, com quantidades de 1g, 2g e 3g respectivamente, a quantidade de massa perdida ficou na faixa de 50-70%. A porcentagem de massa perdida aumentou com o incremento de ágar incorporado ao meio reacional durante a síntese, indicando a facilidade apresentada pelo ágar em se ligar ao núcleo magnético e ao PEG formando uma camada protetora. A grande porcentagem de perda de massa observada nas amostras contendo ágar concorda com resultados obtidos por Xiao e colaboradores (2019) que observaram em ágares obtidos de diversas formas uma perda de peso inicial de aproximadamente 16% na faixa de temperatura de 30°C a 245°C, seguida por uma acentuada perda de massa de cerca de 50% na faixa de temperatura de 280-350 °C, indicando o início da decomposição em ágar e por fim, observaram uma lenta decomposição quando a temperatura foi aumentada até 800°C, onde foram perdidos mais 7% da massa.

Diferente do que ocorreu com as amostras sintetizadas apenas com PEG, as maiores perdas de massa nas amostras com ágar ocorreram sob atmosfera de ar, indicando que a combinação de ágar e PEG foi capaz de proteger o núcleo das NPs da oxidação mesmo em altas temperaturas tanto para a adição de quantidades intermediárias de ágar, quanto para as extrapoladas.

5.1.5 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As imagens obtidas pela microscopia eletrônica de transmissão - MET fornecem informações importantes sobre as partículas obtidas e seu processo de síntese. Essa técnica permite avaliar a morfologia das NPs que é um parâmetro que interfere diretamente nas propriedades magnéticas apresentadas pelas NPs (Claine *et al.*, 2010), além de permitir também a análise da distribuição de tamanhos e da monodispersividade das partículas que são parâmetros cruciais para que haja uma estabilização eficiente dos ferrofluidos que serão utilizados em aplicações biomédicas. Nas Figuras 5.30 e 5.31 apresentam-se as imagens obtidas por microscopia de transmissão para as amostras M1 e M14.

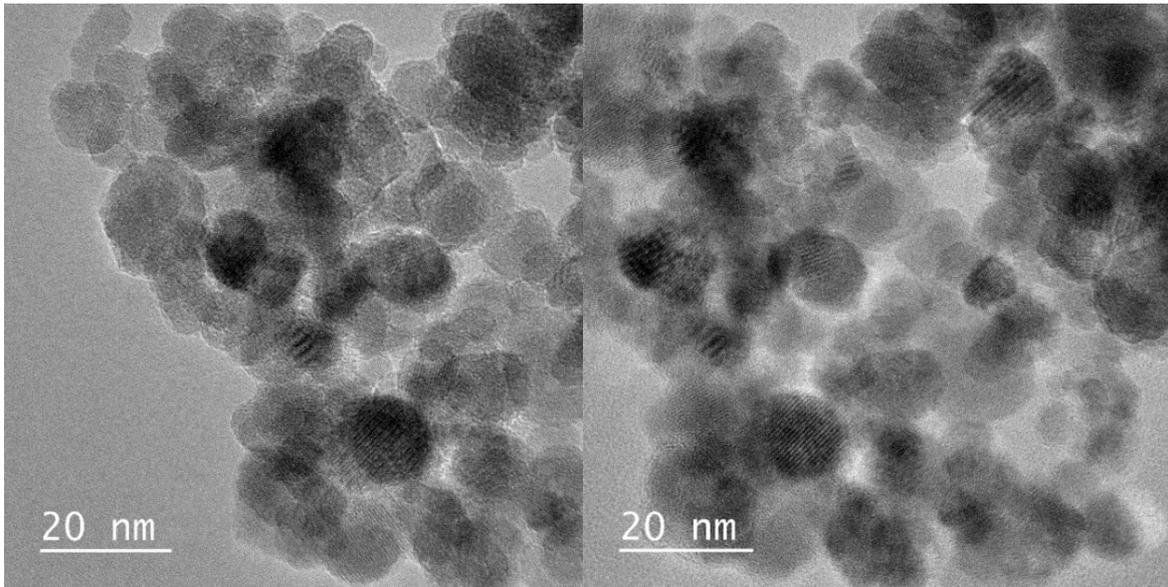


Figura 5.30. Microscopia eletrônica de transmissão da amostra M1 em escala de 20 nm.

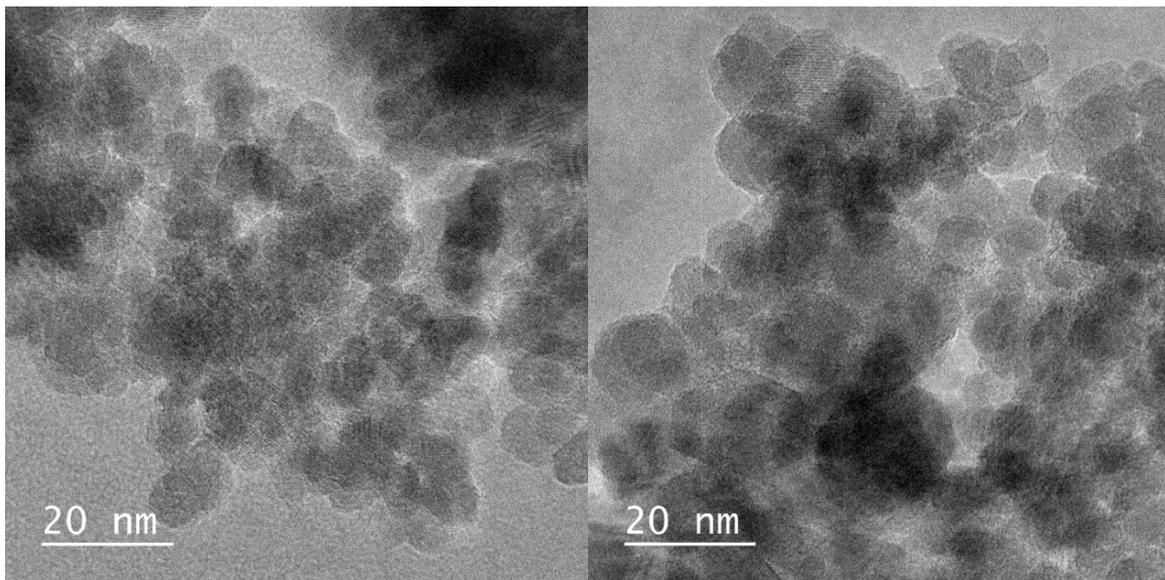


Figura 5.31. Microscopia eletrônica de transmissão da amostra ME14 em escala de 20 nm.

A morfologia observada nas imagens obtidas por MET para ambas as amostras analisadas mostraram-se aproximadamente esférica com a presença de algumas partículas irregulares. As imagens confirmam a obtenção de partículas com diâmetros em escala nanométrica em concordância com demais análises feitas para avaliar o tamanho médio das partículas. Embora as amostras apresentem uma dispersão satisfatória, as partículas apresentam alguma aglomeração em função da sua elevada

área de superfície, bem como das interações magnéticas dipolo-dipolo que ocorrem entre partículas em escala nanométrica.

A Figura 5.30 apresenta as imagens referentes à amostra M1 que foi revestida com PEG, porém sem a presença de ágar durante a síntese, e apresenta uma distribuição granulométrica com tamanhos de NPs mais uniformes e contornos de superfícies mais nítidos. Embora o PEG tenha formado uma camada protetora que recobriu o núcleo magnético protegendo e estabilizando-o, ainda é possível observar além de partículas menores, também a existência de partículas maiores que são produtos da formação de regiões de aglomerados. A amostra M1 apresenta uma ampla distribuição granulométrica em concordância com a análise obtida no NTA, que é característico de partículas obtidas através do método de co-precipitação de sais de ferro em meio aquoso (Lodhia *et al.*, 2010).

A amostra ME14, cujas imagens são mostradas na Figura 5.31, também foi revestidas com PEG, porém teve seu processo de síntese feito em meio de ágar. Também é observada para essa amostra a presença de partículas em escala nanométrica. Embora sua distribuição granulométrica seja uma das mais estreitas nos resultados fornecidos pelo NTA, as imagens fornecidas pela microscopia eletrônica de transmissão mostram partículas polidispersas, contornos pouco nítidos, além da formação de grandes regiões de aglomerados que podem ser explicados pela saturação da camada polimérica adsorvida no núcleo das NPs que contribuiu para a ocorrência do empilhamento de camadas em virtude da espessa camada de revestimento que se formou e que influenciou no estado de agregação das partículas.

5.1.6 Espectroscopia Mössbauer

Devido à semelhança entre os padrões de raios-X da magnetita e da maghemita, a análise das NPMs através da espectroscopia Mössbauer é recomendada para que seja possível obter uma identificação mais precisa das fases presentes nas amostras. Esta técnica é comumente empregada na investigação das formas químicas do ferro presente nas NPMs, o percentual de cada fase, a cristalização das fases, o comportamento magnético (superparamagnetismo, ferro ou ferrimagnetismo, antiferromagnetismo), e o estado de oxidação do ferro.

As amostras foram submetidas a duas análises por espectroscopia Mössbauer, a primeira à temperatura ambiente (300K) e a segunda à baixa temperatura (4,2K). Os espectros de Mössbauer obtidos à temperatura ambiente para as amostras M1, M9, ME14 e M-Ag são mostrados na Figura 5.32.

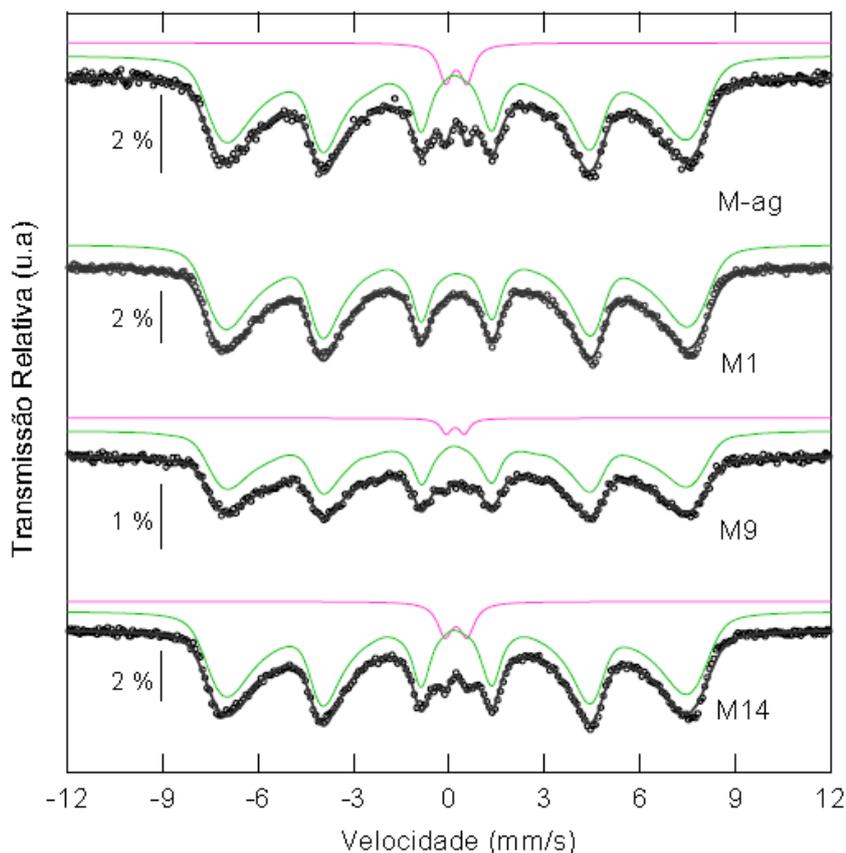


Figura 5.32. Espectro Mössbauer à temperatura ambiente das amostras M1, M9, ME14 e M-Ag.

É possível observar nos espectros obtidos a 300K a formação de um sexteto indicando a existência de uma contribuição magnética nas amostras analisadas. Observa-se também a presença do duplete no ajuste das amostras M-Ag, M9 e ME14 indicando a presença de nanopartículas muito pequenas na distribuição que podem apresentar comportamento superparamagnético dificultando a medida. Isso acontece, pois para NPs com diâmetros inferiores a 10 nm, o alinhamento dessas partículas na presença do campo magnético oscila tão rapidamente que, embora o tempo de medida utilizado para análises em técnicas nucleares sejam extremamente baixos (10^{-9} - 10^{-10} s), ainda não é o suficiente para observar o exato momento do alinhamento, pois a média temporal da magnetização durante a medida acaba sendo nula.

É importante ressaltar a formação de um padrão nos resultados obtidos por espectroscopia Mössbauer das amostras estudadas, indicando a formação do mesmo material em nível atômico para todas as amostras, independente do revestimento ser adicionado antes ou depois da precipitação do óxido de ferro, indicando que não houve mudanças na estrutura das NPs.

Os valores obtidos para os parâmetros hiperfinos apresentados na Tabela 5.6 para a distribuição e para o dubleto não indicam a formação da fase magnetita (Fe_3O_4) para nenhuma das quatro amostras analisadas. É possível observar, fazendo uma comparação entre a tabela 5.6, que contém os dados experimentais, e tabela 5.7, que resume os valores obtidos na literatura para diferentes óxidos de ferro, que embora o valor do deslocamento quadrupolar (QS) seja próximo de zero, indicando a formação de uma estrutura cúbica, os baixos valores de deslocamento isomérico (IS) das amostras não correspondem ao reportado para a magnetita (Fe_3O_4). A ausência do ponto isomérico que corresponde à presença de Fe^{2+} (IS $\sim 0,67\text{mm/s}$) contido no sítio octaédrico da magnetita sugerem a oxidação do material formando maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$).

Tabela 5.6. Parâmetros de todos os espectros a temperatura ambiente (RT).

	Distribuição			Dubleto		
	I.S (δ)	Q.S (Δ)	B_{HF}	I.S (δ)	Q.S (Δ)	L.W.
M-Ag	0.32	0	39.1	0.34	0.67	0.51
M1	0.33	0	38.9	-	-	-
M9	0.31	0	38.1	0.30	0.55	0.40
ME14	0.32	0	39.5	0.33	0.63	0.55

Deslocamento isomérico em relação ao Fe.

onde: I.S. = Deslocamento Isomérico (mm/s).

Q.S. = Deslocamento Quadrupolar (mm/s).

L.W. = Largura da linha (mm/s).

B_{HF} = Campo hiperfino (T).

Tabela 5.7. Dados dos parâmetros de espectroscopia Mössbauer para Magnetita e Maghemita a temperatura ambiente e 4,2K. (Adaptado de Murad, 2010).

Mineral	Composição	Temperatura ambiente			4.2 K	
		B_{hf}	δ/Fe	Δ	B_{hf}	Δ
Magnetita	Fe_3O_4	49.2	0.26	$\leq 0,02 $	50.6	0.00
		46.1	0.67	$\leq 0,02 $	36-52	1.18-(-0.79)
Maghemita	$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	50.0	0.23	$\leq 0,02 $	52.0	$\leq 0,02 $
		50.0	0.35	$\leq 0,02 $	53.0	$\leq 0,02 $

Dessa forma, fez-se necessário examinar mais profundamente as amostras, visando obter uma interpretação mais detalhada acerca da pureza de fase das NPs. Para isso, foi realizado um espectro das amostras M1 e ME14 a 4,2K, como observado na Figura 5.33. A redução da temperatura promove o ordenamento magnético do material ao minimizar o efeito de relaxação (Cornell e Schwertmann, 2003), ou seja, nesse estado, os spins encontram-se congelados tornando mais fácil medir sua magnetização uma vez que dessa forma eles não podem oscilar na presença do campo. Assim, no espectro obtido a 4,2K observa-se a melhor definição do sexteto devido ao alcance da temperatura de bloqueio das nanopartículas.

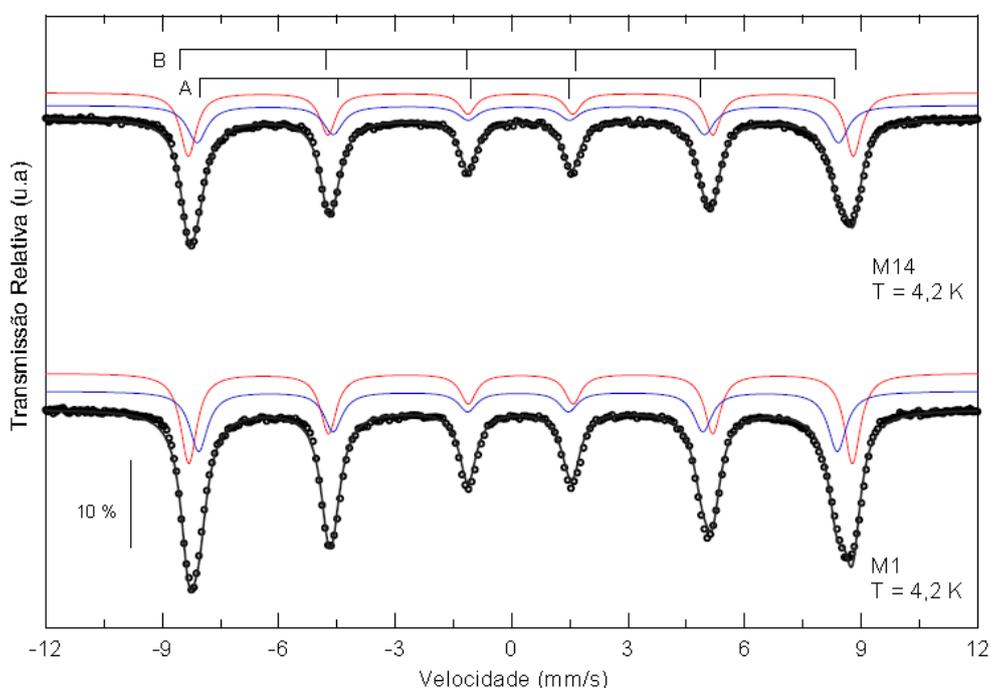


Figura 5.33. Espectro Mössbauer à baixa temperatura das amostras M1 e ME14.

As curvas obtidas a baixas temperaturas para as amostras M1 e ME14 mostram a presença de seis picos bem definidos característicos (sextetos) que confirma as propriedades magnéticas apresentadas pelas NPs. Os espectros puderam ser ajustados com dois sextetos que correspondem aos sítios tetraédrico e octaédrico comprovando a formação de um óxido de ferro e indicando a formação de maghemita pura, sem ocorrência de outra fase concorrente.

Como pode ser observado na Tabela 5.8, os valores de deslocamento de isomérico a 4,2K são consistentes com a presença de espécies de alta rotação de Fe^{3+} , o que confirma que as nanopartículas são maghemita pura. Segundo Cellis e

colaboradores, valores praticamente iguais de deslocamento isomérico, 0,39 mm/s e 0,38 mm/s, foram observados para os sítios A e B respectivamente, o que segundo os autores sugere a presença de Fe^{3+} em ambos os sítios indicando que a amostra analisada era formada apenas por maghemita (Celis *et al.*, 2017).

Tabela 5.8: Parâmetros dos espectros adquiridos a 4,2 K.

	S1 (sítio A)				S2 (sítio B)			
	I.S (δ)	Q.S (Δ)	B_{HF}	L. W.	I.S (δ)	Q.S (Δ)	B_{HF}	L. W.
M1	0.27	0.0	51.0	0.56	0.34	0.0	53.0	0.50
ME14	0.28	0.02	51.2	0.61	0.34	0.01	53.1	0.49

Isomérico em relação ao Fe metálico.

Os valores observados para o deslocamento isomérico, tanto para a amostra M1 quanto para a mostra ME14, são menores para o sítio A do que para o sítio B, contudo, todos os valores estão de acordo com os valores relativos à presença de Fe^{3+} . O valor de deslocamento quadrupolar (QS) relatado para amostras massivas ou altamente cristalinas é quase zero (isto é, $\text{QS} \approx 0$), entretanto, a amostra ME14 apresentou um valor diferente de zero de deslocamento quadrupolar ($\text{QS} = 0,02$ para o sítio A e $\text{QS} = 0,01$ mm/s para o sítio B) que pode ser devido a uma distorção na simetria da superfície das NPs de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$).

5.1.7 Análises FTIR

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) consiste em uma técnica comumente utilizada para complementar outras análises possibilitando um melhor controle da qualidade de amostras e identificação dos grupos funcionais nelas presente. A técnica foi empregada para confirmar a adsorção da matéria orgânica na superfície do núcleo magnético das NPMs. Os espectros obtidos podem ser observados nas Figuras 5.34 e 5.35.

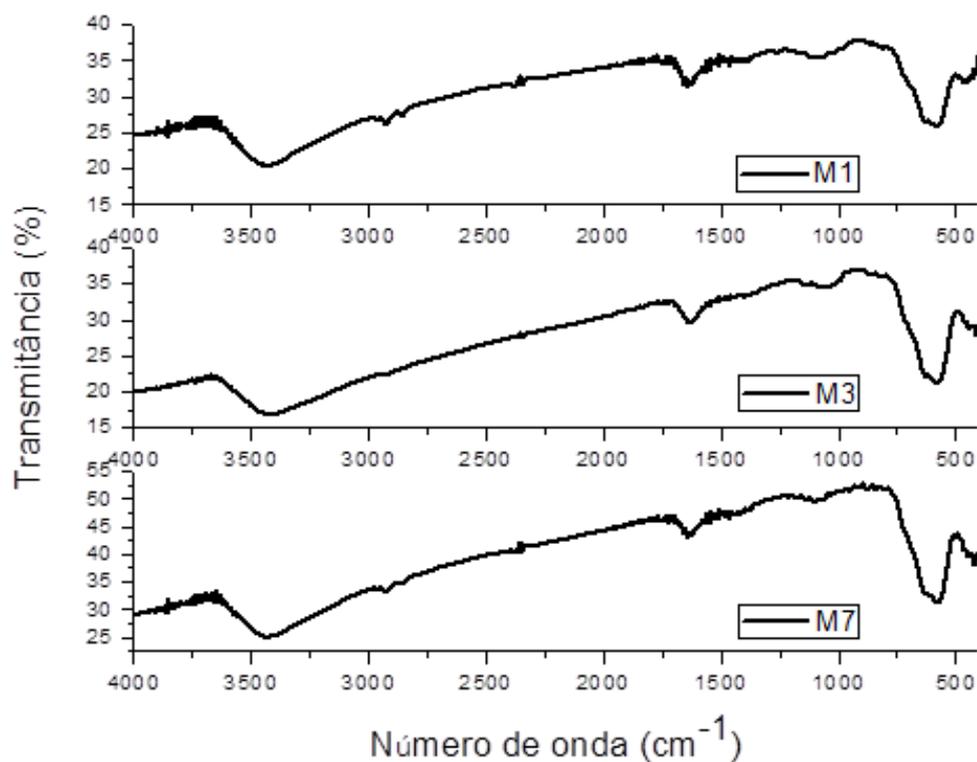


Figura 5.34. Espectro de infravermelho das amostras M1, M3 e M7.

O espectro de FTIR foi utilizado para caracterizar os tipos de ligações presentes nas amostras M1, M3, M7, M9, ME14 e M-Ag. É possível observar em todos os seis espectros a formação de picos característicos nas posições 590 e 450 cm^{-1} que correspondem à vibração da ligação Fe-O das posições tetraédrica e octaédrica, respectivamente, que são características da estrutura de espinélio (Theofanides, 2012; Abboud *et al.*, 2015), o que confirma a presença de um óxido de ferro em todas as amostras sintetizadas (Tai *et al.*, 2016). Como observado nos resultados obtidos através da espectroscopia Mössbauer, o óxido de ferro obtido corresponde a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_3\text{O}_2$).

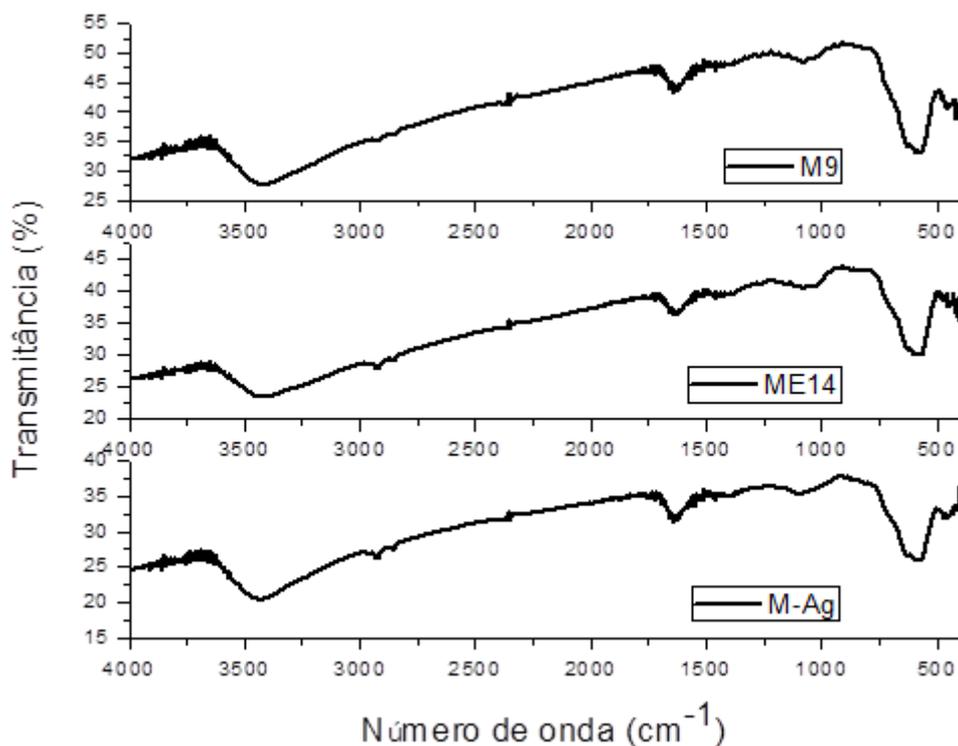


Figura 5.35. Espectro de infravermelho da amostra M9, ME14 e M-Ag.

A banda de 3450 cm^{-1} corresponde à frequência da ligação O-H indicando à presença de água (humidade) e pode ser também observada em todas as amostras (Tai *et al.*, 2016). Nesse caso, a presença de uma banda forte e larga pode resultar também de uma associação polimérica. Segundo Masoudi (2012), o grande pico próximo a 3450 cm^{-1} pertence a grupos hidroxila anexados tanto ao PEG, quanto ao óxido de ferro.

Em trabalho publicado por Xião e colaboradores em 2019, os autores, que analisaram o ágar obtido através de diferentes métodos, atribuíram a presença de uma banda forte na faixa de 1650 cm^{-1} às vibrações da amida I, revelando a presença de proteínas da *Gracilaria*. Ainda segundo os autores, as bandas fortes em 3430 e 2920 cm^{-1} indicaram a presença de grupos OH e CH_2 de ágar, respectivamente, como pode ser observado na Figura 5.36 (Xião *et al.*, 2019).

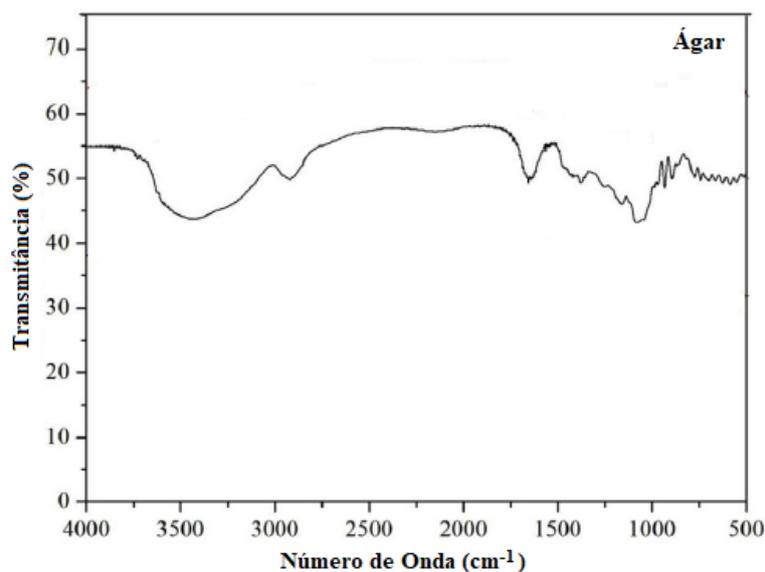


Figura 5.36. Espectro de FTIR de uma amostra de ágar (Adaptado de Xião *et al.*, 2019).

Já segundo Murside e Güven, as bandas referentes às ligações dos componentes que constituem o ágar (subunidades de galactose) são detectadas nos intervalos de 1500 a 800 cm^{-1} e 3000 a 2800 cm^{-1} (Murside e Güven, 2002).

O espectro de nanopartículas que tiveram suas superfícies modificadas por PEG apresentam uma banda de estiramento C-O-C referente ao álcool na faixa vibracional de 1100 cm^{-1} , além de uma banda de vibração (estiramento antisimétrico) referente à CH_2 a 1420 cm^{-1} (Masoudi *et al.*, 2012). Dessa forma, através dos espectros observados é possível verificar que tanto o PEG, quanto o ágar podem ser encontrados na superfície das nanopartículas sintetizadas.

5.1.8 Potencial zeta

A capacidade de manterem-se estáveis quando dispersas em fluido é essencial para NPs que tem como destino a aplicação em áreas biomédicas principalmente em aplicações *in vivo*, uma vez que uma baixa estabilidade é responsável por gerar regiões de grande aglomeração de NPs dentro do organismo podendo levar a formação de coágulos. Daí a importância de determinar a estabilidade de NPs proporcionada pelo revestimento adotado para proteger o núcleo magnético e minimizar os efeitos relacionados a grande área superficial a que materiais em escala nanométrica estão sujeitos.

A análise do potencial zeta mostra o grau de repulsão que existe entre as partículas carregadas em algum tipo de dispersão coloidal. Essa técnica é comumente utilizada para avaliar a estabilidade de nanopartículas dispersas em um fluido. Para partículas com tamanho reduzido, um valor elevado de potencial zeta caracteriza a estabilidade do meio indicando a capacidade da dispersão resistir ou não ao processo de agregação e de sedimentação.

Pode-se afirmar que dispersões que apresentam valores de potencial zeta que superam o valor absoluto de 25 mV estarão menos propensas aos efeitos da aglomeração, enquanto as que apresentarem valores de potencial zeta inferiores (próximos de zero), estarão mais sujeitas aos efeitos da aglomeração, pois as forças atrativas entre as NPs excederão as forças repulsivas, causando assim a aglomeração das NPs. Sendo assim, partículas com alto potencial zeta, seja ele negativo ou positivo, são consideradas eletricamente estabilizadas enquanto partículas com potencial zeta próximo de zero tendem a coagular ou flocular.

As amostras M7, M9 e ME14 tiveram suas estabilidades avaliadas em três diferentes valores de pH, um ácido (pH 2), um neutro (pH 7) e por fim um alcalino (pH 11) a temperatura ambiente de 25°C. Não foram observados valores de potencial zeta próximos de zero para nenhuma das amostras analisadas independente do pH utilizado, conforme observado na Tabela 5.9.

Tabela 5.9. Potencial zeta amostras M7, M9 e ME14 para diferentes pH.

Amostras	Potencial Zeta (mV)		
	pH 2	pH 7	pH 11
M7	30,63	-28,03	-31,70
M9	25,60	-28,50	-33,03
ME14	23,87	-25,63	-34,50

Os valores obtidos estão, em sua maioria, fora da faixa de ± 25 mV indicando que as amostras sintetizadas podem ser consideradas eletricamente estáveis, pois quando as partículas têm valores elevados de potencial zeta, sejam eles positivos ou negativos, elas tendem a repelir umas às outras, o que conseqüentemente diminui a tendência natural à aglomeração.

Avaliando os resultados, é possível comparar os valores do potencial zeta das amostras do mais eletricamente estável para o menos estável. A mostra M7, que possui

em sua superfície apenas PEG, apresentou elevados valores de potencial zeta para todos os pH avaliados, o que pode ser entendido como maior estabilidade das nanopartículas em solução. A amostra M9, cuja síntese foi realizada em meio de ágar e a superfície revestida com PEG, também apresentou valores fora da faixa estipulada podendo ser considerada estável. Contudo, apesar de a amostra ME14, que foi sintetizada em meio extrapolado de ágar, ter apresentado alta estabilidade em pH 11 e uma estabilidade satisfatória em pH 7, o mesmo não aconteceu em pH 2 e portanto, nesse caso as forças de atração que existem entre as NPs é superior a força de repulsão causada pelo revestimento propiciando a instabilidade da amostra ME14 em pH básico.

Embora o PEG já seja um polímero hidrófilo amplamente estudado devido ao impedimento estérico que este produz em nanopartículas em sistemas coloidais, além de aumentar a interação com moléculas sanguíneas, proteção da carga de superfície, e solubilidade (Torchilin *et al.*, 2012), observa-se que as amostras que possuem ágar em sua composição apresentaram valores reduzidos de potencial zeta em pH 2, indicando que embora o ágar seja estável em pHs neutros ou alcalinos, pHs baixos podem afetar a sua estabilidade. Vale ressaltar, entretanto, que todas as amostras podem ser consideradas estáveis para aplicações biológicas, visto que o sangue possui pH próximo a 7,4, no qual, todas as amostras apresentaram estabilidade.

5.2 Avaliação das propriedades magnéticas

Considerando a importância da resposta que as NPMs apresentam quando se encontram na presença de um campo magnético para o sucesso da técnica de hipertermia magnética, é imprescindível caracterizar as propriedades magnéticas das NPMs para determinar se estas são aptas para uma possível aplicação *in vitro* ou *in vivo*.

5.2.1 Curva ZFC-FC

As Figuras 5.37 e 5.38 apresentam as medidas de magnetização em função da temperatura $M \times T$ realizadas no modo zero-field-cooling/field-cooling (ZFC/FC) com campo magnético de 100 Oe para as amostras M1, M3 e ME14, que permitiram avaliar a temperatura de bloqueio das NPMs produzidas, bem como seu tamanho médio.

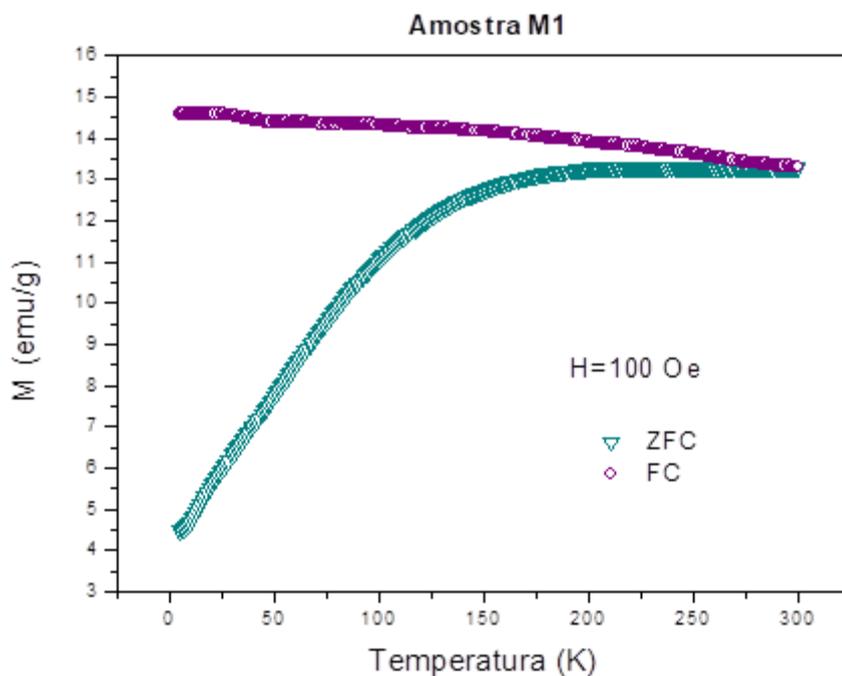


Figura 5.37. Curvas FC (superior) e ZFC (inferior) da amostra M1.

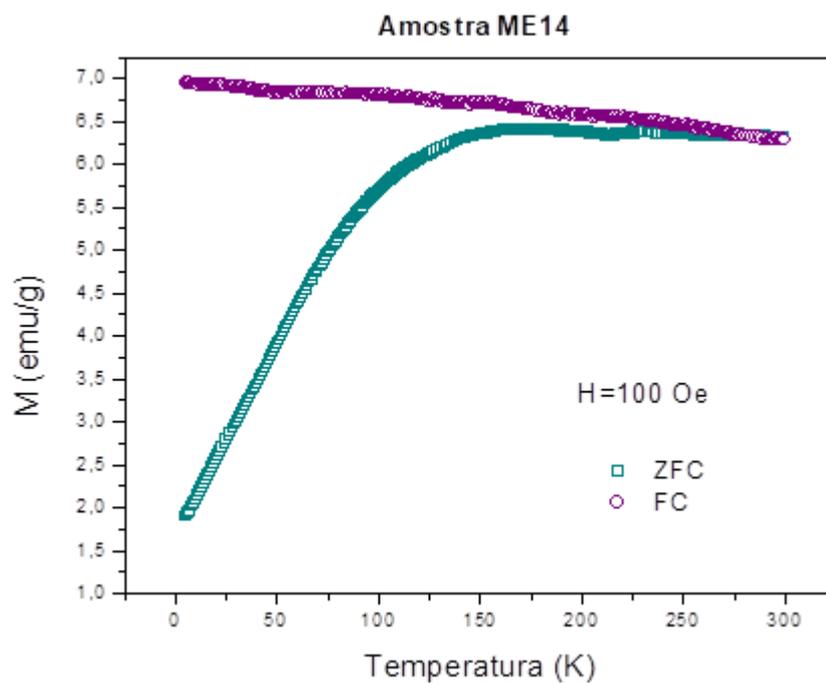


Figura 5.38. Curvas FC (superior) e ZFC (inferior) da amostra ME14.

A temperatura de bloqueio (T_B) indica a temperatura a partir da qual o sistema analisado torna-se superparamagnético. Dessa forma, para temperaturas abaixo de T_B , considera-se que o sistema se apresenta em um estado bloqueado, ou seja, fora das condições necessárias para que o superparamagnetismo das NPMs seja alcançado.

A obtenção da curva de magnetização ZFC/FC para as amostras analisadas foi feita em duas etapas. Na primeira etapa a curva de magnetização ZFC foi obtida enquanto a amostra foi resfriada sem um campo magnético aplicado desde a temperatura ambiente (300 K) até baixas temperaturas, 5 K para esse estudo em particular e em seguida, aplicou-se um campo magnético de 100 Oe e começou-se a medir a magnetização durante o aquecimento até que a temperatura ambiente fosse atingida. Na segunda etapa, a curva de magnetização FC foi obtida enquanto a amostra foi resfriada da temperatura ambiente até atingir a temperatura de 5 K mantendo o campo magnético de 100 Oe. Uma vez atingida a temperatura de 5 K, começou-se a medir a magnetização durante o aquecimento da amostra até atingir a temperatura de 300 K.

Para situações nas quais são avaliadas as NPMs é comum que ocorram interações magnéticas entre as partículas, levando muitas vezes a aglomeração das partículas. Esses aglomerados se comportam como uma única partícula de tamanho maior, o que acaba produzindo um aumento de T_B (Si, 2004).

A magnetização ZFC/FC das amostras M1 e ME14 foi medida em uma faixa de temperatura compreendida entre 5 K e 300 K, possibilitando estimar a temperatura de bloqueio para ambas às amostras visto que esta é proporcional à temperatura máxima $T_{máx}$ observada na curva ZFC ($T_B \approx T_{máx}$) (Cannas *et al.*, 2006; Fantechi *et al.*, 2012). Portanto, para a amostra M1 foi observada uma temperatura de bloqueio por volta de 240 K. Entretanto, foi observado um pequeno desnível na curva ZFC da amostra ME14 indicando a existência de duas temperaturas de bloqueio distintas para essa amostra, uma por volta de 170 K e outra por volta de 230 K. Isso sugere a ocorrência de dois tamanhos de partículas concorrentes, ou seja, existe um grupo de partículas que apresentam um tamanho menor e, portanto, um menor valor de T_B , enquanto outro grupo de partículas possui tamanho maior, acarretando num aumento de T_B .

O diâmetro médio estimado para as amostras pôde ser estimado a partir da lei de Arrhenius-Néel, conforme mostrado na Equação 5.1. Para isso, foi considerado que as partículas apresentavam forma esférica e, portanto:

$$d = \left(\frac{6V}{\pi} \right)^{1/3} \quad (5.1)$$

onde V , como descrito no capítulo 2, corresponde a: $V = \frac{25k_B T_B}{K}$.

Foi obtido um diâmetro magnético de aproximadamente 23 nm para a amostra M1, enquanto os valores estimados para a amostra ME14 correspondem a 20,5 nm e 22,7 nm para as temperaturas de 170 K e 230 K respectivamente. Os diâmetros observados para ambas as amostras apresentaram valores maiores quando comparados aos obtidos através do DRX, indicando a formação de aglomerados que se comportam como partículas únicas de tamanho maior levando a uma temperatura de bloqueio mais elevada.

5.2.2 Curvas de histerese

Os perfis magnéticos das amostras de óxido de ferro foram avaliados ao submetê-las a um campo magnético externo de magnitude variada (campo H). As curvas obtidas estão apresentadas na Figura 5.39, As curvas de histerese obtidas por intermédio do histeresímetro foram analisadas tendo em vista que a área apresentada no gráfico é diretamente proporcional à quantidade de energia gerada no processo de magnetização/desmagnetização.

O estudo das curvas de magnetização em função do campo magnético permite analisar parâmetros vitais para compreender o comportamento magnético das NPMs como campo coercitivo (H_c), magnetização remanescente (M_r) e magnetização de saturação (M_s). Materiais superparamagnéticos, normalmente, devem apresentar ausência de campo coercitivo e magnetização remanente praticamente nula.

Dessa forma, o formato estreito observado nas curvas de histerese é característico de materiais com comportamento superparamagnético. Esse tipo de comportamento é de extrema importância para NPMs que se destinam as aplicações *in vivo*, visto que a área dessa curva se relaciona diretamente com a quantidade de calor liberada pelas partículas. O campo coercivo e a magnetização remanente nestas curvas tendem a zero (curvas estreitas), indicando que as NPMs são aptas para aplicações biológicas nas quais não é desejável que algum magnetismo residual seja exibido após remoção do campo magnético externo.

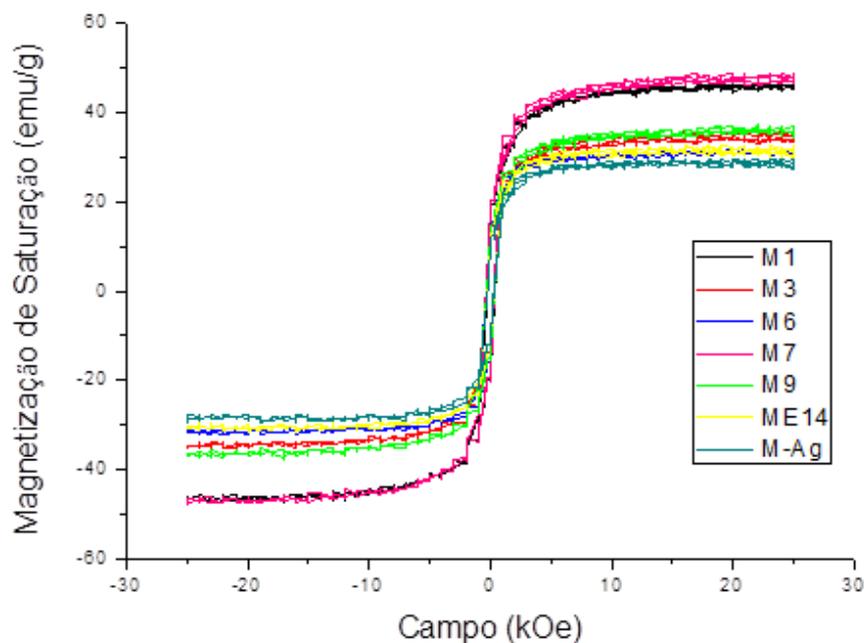


Figura 5.39. Medidas de magnetização M (emu/g) versus campo magnético H (kOe), a temperatura ambiente.

A magnetização das nanopartículas cresce rapidamente com o aumento da magnitude do campo H , até estabilizar na chamada magnetização de saturação da amostra (M_s). Uma vez que o valor de saturação magnética apresentado pelas NPMs é diretamente proporcional à resposta magnética exibida na presença de um campo magnético aplicado, quanto maior for a magnetização de saturação, menores serão as doses de nanopartículas ministradas durante o tratamento. Segundo Yoo e colaboradores, o valor de M_s é um parâmetro primordial para o sucesso da técnica de hipertermia magnética, visto que o SAR, que representa um dos indicativos que atesta a qualidade das nanopartículas destinadas a esse tipo de aplicação, melhora conforme o valor de M_s aumenta (Yoo et al., 2011; Lee et al., 2011).

Em função da grande área superficial exposta nos materiais de dimensões nanométricas (que contribui para aumento da desordem magnética da superfície), bem como da presença de uma camada não magnética adsorvida na superfície dos mesmos (Mahmoudi *et al.*, 2011), é observado um valor de saturação magnética inferior aos valores reportados na literatura para os óxidos de ferro na sua forma massiva, que correspondem a 92-100 emu/g para a magnetita (Rebodos e Vikesland, 2010; Yang *et al.*, 2014) e 60-80 emu/g para a maghemita (Rebodos e Vikesland, 2010; Hirt *et al.*, 2014).

Como observado na espectroscopia Mössbauer, não houve a formação da fase magnetita (Fe_3O_4) nas amostras sintetizadas nesse estudo, provavelmente em função da presença de oxigênio no meio reacional durante a síntese das mesmas. Dessa forma, as NPMs de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) obtidas apresentaram valores de magnetização muito inferiores aos reportados em literatura para seu valor de *bulk*. Esta diferença pode ser explicada como um efeito do aumento da relação entre a superfície e o volume observado em partículas em escala nanométrica, bem como a possível presença de defeitos na superfície das NPs (Malekzadeh *et al.*, 2017). Os valores de magnetização de saturação obtidos são apresentados na Tabela 5.10.

Tabela 5.10. Resultados de saturação magnética.

Amostra	Saturação magnética (emu/g)
M1	46
M3	35
M6	32
M7	47
M9	37
ME14	31
M-Ag	28

As amostras M1 e M7, que foram sintetizadas apenas com PEG, apresentaram maiores valores de saturação magnética, enquanto as amostras ME14 e M-Ag, que foram sintetizadas com quantidades elevadas de ágar, apresentaram os menores valores. Embora a amostra M7 tenha sido recoberta com o dobro da quantidade de PEG utilizada na amostra M1, ambas apresentaram uma saturação magnética similar indicando que quantidades superiores de PEG do que a utilizada em M1 não aumentou a espessura da camada que recobre o núcleo magnético.

À medida que a quantidade de ágar incorporada nas NPs aumenta, os valores de magnetização (M_s) obtidos diminuem. Observa-se que a saturação das amostras M3 e M9, feitas com 0,32g de ágar diminuiu quando comparadas com M1 e M7 que não possuem ágar em sua composição. As amostras ME14 e M-Ag, sintetizadas em meio extrapolado de ágar apresentaram valores de saturação ainda mais reduzidos. Isso acontece, pois o aumento na quantidade de ágar produz um incremento na camada de revestimento. Esse aumento na camada de recobrimento causa uma diminuição

significativa na quantidade de óxido de ferro utilizada durante as medidas de magnetização causando uma redução efetiva nas curvas de magnetização de saturação.

Em trabalho realizado por Xiao em 2017 junto a seus colaboradores, nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) foram funcionalizadas com carboxyl e agarase. Os autores observaram que, enquanto a magnetização de saturação exibida pelas NPMs recobertas apenas com carboxyl foi de 44 emu/g, a presença de agarase nas NPMs acarretou na diminuição da magnetização de saturação para 29 emu/g (Xiao et al., 2017). Segundo Yang, a magnetização de saturação (M_s) diminuiu à medida que o peso molecular (400, 1000, 2000) de PEG aumenta (Yang *et al.*, 2014). Contudo, Ren e colaboradores avaliaram a influência de diferentes pesos moleculares de PEG no recobrimento de NPs de magnetita com uma camada copolimérica (PLA-PEG), observando que as NPs que possuíam PEG-4000 em sua composição apresentaram maior saturação do que as demais (Ren *et al.*, 2005). Já Guo e colaboradores produziram nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) revestidas com ácido oleico, PEG-4000, ágar e novamente ácido oleico que apresentaram magnetização de saturação de 46,37 emu/g (Guo *et al.*, 2015).

5.3 Avaliação de propriedades para hipertermia

A capacidade que as NPs superparamagnéticas têm de gerar calor quando se encontram na presença de um campo magnético alternado, além de possuírem uma superfície passível de modificação que pode ser ligada a, desde substâncias estabilizadoras até drogas para tratamentos específicos, representa a qualidade mais desejável desse tipo de material quando se trata de aplicações biomédicas.

Nesse sentido, as NPs de óxido de ferro são interessantes por gerarem uma quantidade de calor médio eficiente, que representa uma propriedade imprescindível para que essas NPs possam ser destinadas para fins clínicos, uma vez que a quantidade da dose injetada durante o tratamento é reduzida conforme a capacidade das nanopartículas em gerar calor aumenta. Dessa forma, a evolução da temperatura para as amostras M1, M7, M9 e ME14 em relação ao tempo foi avaliada através de ensaios de hipertermia, que são mostrados na Figura 5.40, nos quais as amostras ficaram expostas a um campo magnético externo em média 20 minutos.

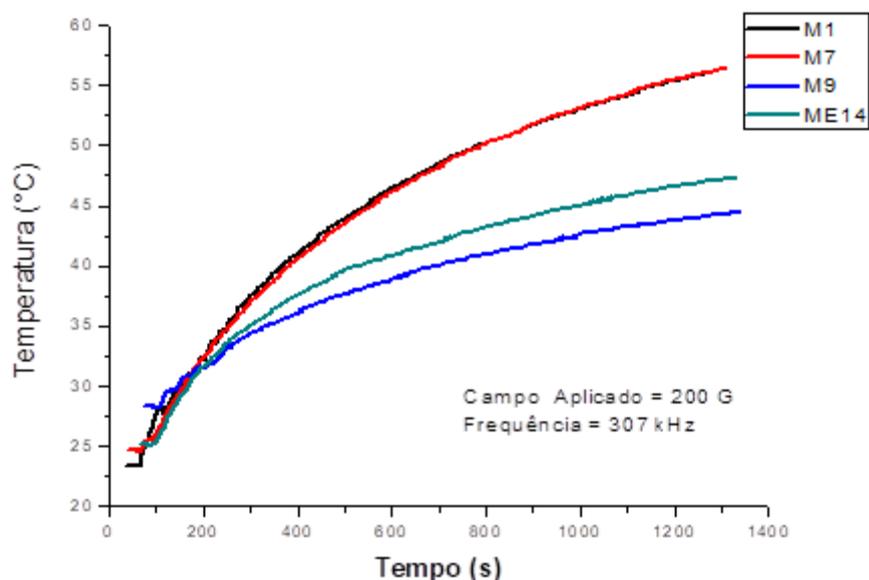


Figura 5.40. Evolução de temperatura das amostras, dispersas em água, em relação ao tempo, sob influência de campo magnético externo ($H = 200$ G e $f = 307$ kHz).

Constata-se ao avaliar a Figura 5.40 que a temperatura do meio aumentou à medida que o tempo da medida transcorreu. Além disso, foi possível observar, em alguns perfis, inflexões irregulares, que podem estar relacionadas à decantação das partículas promovida pela ação do campo magnético.

Averiguou-se dessa forma a eficiência de todas as partículas produzidas em gerar aquecimento quando são estimuladas por um campo magnético de corrente alternada. O processo de geração de calor por NPs se deve comumente a um conjunto de fatores como, por exemplo, os processos de perda por histerese e por relaxação de Néel e Brown que acontece durante a reorientação dos domínios magnéticos.

Entretanto, como partículas que apresentam o diâmetro do seu núcleo magnético inferior aos 30 nm são consideradas mono domínio, elas não participam do mecanismo de perda por histerese. As perdas responsáveis pela geração de calor em NPs são oriundas do processo de relaxação que acontece em decorrência da rotação física das partículas no fluido e da rotação dos momentos magnéticos atômicos de cada partícula. A rotação das partículas é a chamada relaxação Browniana e a rotação do momento magnético é a relaxação de Néel (Pankhurst *et al.*, 2003). Enquanto NPMs que se encontram bloqueadas sofrem perdas por relaxação Browniana, as NPs acima da temperatura de bloqueio, ou seja, em regime superparamagnético, sofrem perdas preferencialmente pelo mecanismo de relaxação de Néel.

As amostras M1 e M7 apresentaram maior elevação de temperatura, quando comparadas as amostras M9 e ME14 e, portanto, maior geração de calor. Embora todas as amostras tenham apresentado um valor de diâmetro do núcleo magnético parecido conforme resultados obtidos através do refinamento Rietveld, pois todas as sínteses foram realizadas a temperatura ambiente, segundo resultados obtidos através do NTA, as amostras M1, M7 e M9 apresentaram diâmetro médio superior ao da amostra ME14.

Contudo, tanto M1, quanto M7 foram recobertas apenas com PEG, enquanto M9 e ME14 tiveram suas sínteses feitas em meio de ágar. Provavelmente, a presença de ágar na superfície das NPs promoveu seu confinamento pela encapsulação, diminuindo a liberação de energia por efeito browniano, visto que a área de contato das partículas com o meio aquoso foi reduzida. Já as amostras M1 e M7, apesar de também possuírem uma camada que reveste o núcleo, apresentaram maior capacidade de geração de calor, pois a quantidade de PEG adsorvida sob o núcleo foi capaz de protegê-lo segundo resultados do TGA, porém não prejudicou sua capacidade de dissipar calor.

Os valores de variação de temperatura obtidos no ensaio de hipertermia são apresentados na tabela 5.11.

Tabela 5.11. Variação de temperatura em ensaio de hipertermia magnética.

Amostra	ΔT (°C)
M1	32,5
M7	31,7
M9	15,7
ME14	21,8

Embora a capacidade de gerar calor pelas NPs tenha sido comprovada, fatores como tamanho da região alvo e perfusão sanguínea local devem ser considerados e minuciosamente avaliados a fim de calcular a quantidade ideal de NPs a ser aplicada para determinado tipo de tratamento e garantir a segurança do paciente durante aplicações *in vivo*, visto que a temperatura de tratamento não deve exceder a temperatura de 45 °C, na qual as células cancerígenas sofrem danos irreversíveis, garantindo o processo de lise, sem que, no entanto as células sadias sejam afetadas.

Portanto, a avaliação experimental puramente da susceptibilidade das nanopartículas somente pode ser utilizada em uma condição de diluição adequada e programada conforme a perfusão apresentada pelo paciente. Na correta e adequada

tarefa de planejar e executar o tratamento individual da medicina de precisão, modelos capazes de simular de forma acoplada os fenômenos de escoamento, campos elétricos, magnéticos e correntes induzidas na região do tecido são de fundamental importância, um dos objetivos estabelecidos para esta pesquisa.

5.4 SAR

A eficiência do tratamento por magnetohipertermia depende da capacidade do material magnético gerar calor suficiente para destruir as células cancerígenas. Um indicador utilizado para avaliar esse potencial quando um material magnético é submetido a um campo AC é a taxa de absorção específica (SAR – termo inglês para specific absorption rate). Esse valor depende de condições da medida (amplitude do campo e frequência de oscilação), como também da concentração, o tamanho das partículas e a presença de interações dipolares. Valores típicos de SAR entre 10 - 100 W/g são comumente obtidos para ferrofluidos com baixa concentração de partículas e de tamanho pequeno, como 12 nm (Hergt *et al.*, 2006; Laurent *et al.*, 2011).

A taxa de aquecimento fornecida pelas NPMs, que reflete sua eficácia em possíveis situações de hipertermia, pode ser representada pela inclinação do início da curva de aquecimento e permite calcular o SAR das NPs. Para isso, os intervalos iniciais das curvas apresentadas na Figura 5.40 foram linearizados visando obter o melhor valor de R^2 para cada uma das amostras. Dessa forma, o coeficiente angular de cada uma das retas e os parâmetros das substâncias envolvidas, foi utilizado para calcular os valores do SAR apresentados na Tabela 5.12.

A linearização das curvas de hipertermia foi realizada no intervalo entre 100 s e 300 s, resultando em retas com coeficiente de correlação (R^2) superior a 0,97. Os coeficientes angulares obtidos foram aplicados na Equação 5.2, a qual foi manipulada, para o cálculo do SAR considerando a água como meio de suspensão das NPMs. Para isso, também foram levados em consideração valores de calor específico da maghemita ($c_p = 0,16$ cal/g.°C), calor específico da água ($c_{H_2O} = 1$ cal/g.°C), massa específica da água ($\rho_{H_2O} = 1000$ mg/mL) e concentração mássica das partículas ($\rho_p = 10$ mg/mL).

$$SAR = \left(c_p + \frac{\rho_{H_2O} \cdot c_{H_2O}}{\rho_p} \right) \cdot \frac{\Delta T}{\Delta t} \quad (5.2)$$

Tabela 5.12. Avaliação dos parâmetros do ensaio de hipertermia magnética.

Amostra	$\Delta T/\Delta t$ ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{s}^{-1}$)	SAR ($\text{W}\cdot\text{g}^{-1}$)	ILP ($\text{H}\cdot\text{m}^2\cdot\text{kg}^{-1}$)	ILP ($\text{nH}\cdot\text{m}^2\cdot\text{kg}^{-1}$)
M1	0,05205	21,81256435	$2,77542\text{E}^{-10}$	0,28
M7	0,05370	22,50402893	$2,8634\text{E}^{-10}$	0,29
M9	0,02830	11,85966515	$1,50902\text{E}^{-10}$	0,15
ME14	0,04501	18,86231549	$2,40003\text{E}^{-10}$	0,24

Pode-se observar que os valores de SAR estão intimamente relacionados aos resultados obtidos para a magnetização de saturação (M_s) (Tabela 5.10), ou seja, quanto maior for a magnetização de saturação, maior será o valor da SAR observado, resultando em melhores propriedades de hipertermia das NPs como também observado por Dias e seus colaboradores (Dias *et al.*, 2017). Entretanto, como todas as amostras analisadas são compostas pelo mesmo material conforme ensaios realizados por espectroscopia Mössbauer e seus núcleos magnéticos, responsáveis por produzir aquecimento, não apresentam valores discrepantes de tamanho conforme observado em análise de DRX, é importante ressaltar que a redução no aquecimento das NPMs é devido a menor quantidade de óxido de ferro nas amostras que possuem ágar em sua composição, pois, nessas amostras a camada de revestimento é mais espessa ocasionando uma diminuição na proporção de núcleos magnéticos presentes durante a análise.

Contudo, embora o SAR seja amplamente utilizado quando se trata de aferir a eficácia de materiais para hipertermia magnética, essa eficácia depende também de parâmetros como o campo magnético aplicado (H) e da frequência (f), o que dificulta sua comparação com a de outros trabalhos. Portanto, a perda intrínseca de potência (ILP - Intrinsic loss power) é relatada por diversos autores como um parâmetro intrínseco, empregado para avaliar a capacidade de aquecimento de um material magnético (Wildeboer *et al.*, 2014). O ILP representa a razão entre o SAR e o produto $H^2 \cdot f$ e pode ser calculado conforme a Equação 5.3.

$$ILP = \frac{SAR}{H^2 f} \quad (5.3)$$

Valores de ILP na faixa entre de 2,00 a 3,25 $\text{nH}\cdot\text{m}^2/\text{kg}$ foram reportados na literatura em 2009 por Kallumadil e seus colaboradores para NPs comerciais de óxido

de ferro com diâmetros entre 10 e 12 nm. Os valores de ILP mostrados na Tabela 5.12 para as amostras sintetizadas apresentaram valores inferiores aos observados pelos autores, contudo, compatíveis aos observados por Fortin e colaboradores em 2007. A redução nos valores de ILP pode ser atribuída a dependência que o comportamento magnético de NPs mantém com a variação no tamanho e morfologia das nanopartículas (Wildeboer *et al.*, 2014), acarretando dessa forma em mudanças também no ILP.

5.5 Resultados de simulação computacional

Com o objetivo de se demonstrar a capacidade de análise e aplicabilidade do modelo magneto hidrodinâmico (MHD) acoplado ao modelo tradicional de conservação de energia (equação bio calor), definiu-se um cenário de tratamento tumoral de um tratamento na região mamária e aplicando dosagens de emulsões coloidais de nanopartículas de magnetita com campo externo alternado.

Numa primeira etapa, foi aplicado o modelo na condição experimental de realização dos ensaios de hipertermia. Os resultados obtidos para os valores de temperatura do nanofluido correspondente à condição experimental (campo magnético externo de 200 G e frequência de 307 kHz) foram comparados com os valores calculados e através de um processo iterativo de previsões e correções visando ajustar a variável de susceptibilidade magnética do nanofluido foi estimado o valor experimental para o parâmetro do SAR (Specific Absorption Rate).

Este procedimento de cálculo permitiu obter os ajustes necessários para utilização do modelo em cenários de aplicação da técnica de hipertermia magnética em condições variáveis de campo, frequência e infusão sanguínea. Para isso, o método de volumes finitos foi empregado utilizando um método de segunda ordem com uma malha variável de 0,1 mm a 2 mm e com um critério de parada para convergência no tempo com um erro máximo de 0,1 % para toas as variáveis analisadas.

Na Figura 5.41 apresenta-se a comparação da evolução da temperatura para as amostras M7 e ME14 dos experimentos de hipertermia. Conforme pode-se observar, os resultados previstos pelo modelo estão em conformidade com os valores experimentais. Estes resultados confirmam a aplicabilidade da utilização do modelo de geração de calor para a equação de conservação de energia. Estes parâmetros foram, então, utilizados no

modelo magneto hidrodinâmico (MHD) acoplado ao modelo térmico (MHD-T) desenvolvido.

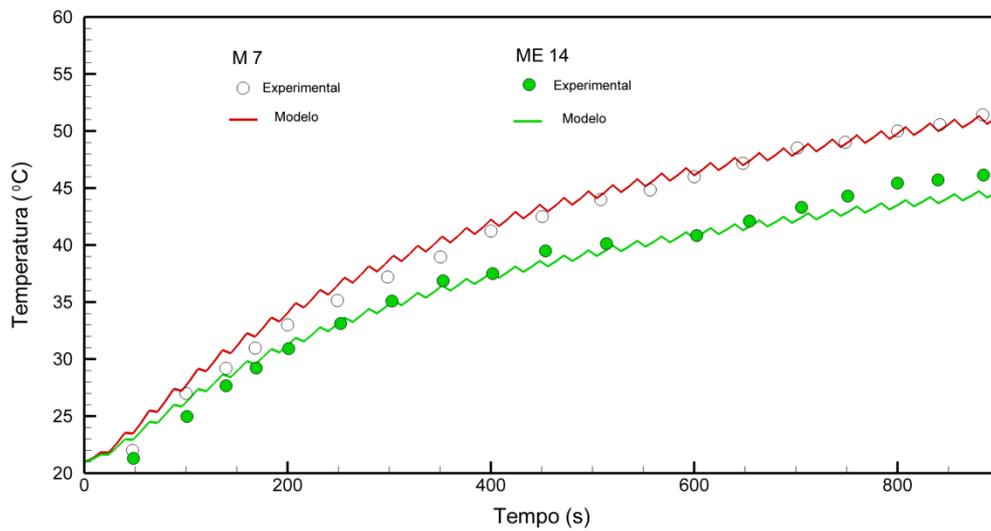


Figura 5.41. Comparação da evolução de temperaturas durante o experimento para determinação do SAR – Ajuste e validação do modelo magneto hidrodinâmico acoplado à equação de conservação de energia ($H_0 = 200$ G e $f = 307$ kHz).

Na Figura 5.42 apresentam-se os vetores de velocidade da infusão com a respectiva distribuição de temperatura nos instantes iniciais do procedimento de hipertermia magnética. Observa-se que nos instantes iniciais a perfusão sanguínea não permite a elevação de temperatura de forma significativa.

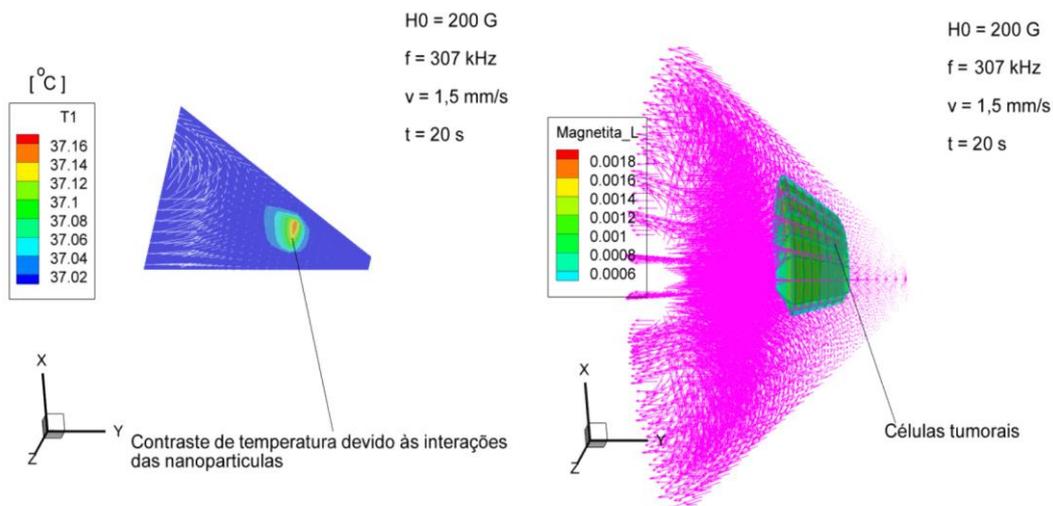


Figura 5.42. Distribuição de temperatura e vetores de velocidade da corrente sanguínea no interior do tecido submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (20 s): a) detalhe da região de contraste de temperatura; b) Perfusão e identificação das células tumorais.

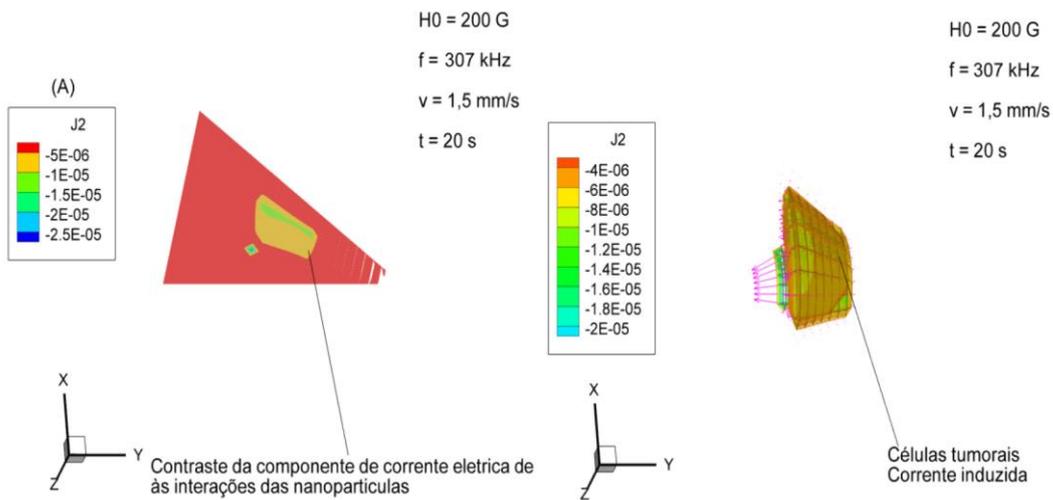


Figura 5.43. Distribuição de corrente induzida no interior do tecido submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (20 s).

Na Figura 5.43 apresentam-se os vetores de corrente induzida devido à injeção de nanofluido com partículas magnéticas. Nos instantes iniciais, a intensidade de corrente ainda é pequena devido à baixa diluição do fluido magnético, embora já seja possível observar o contraste devido à aderência das nanopartículas nas células tumorais. Este fenômeno é importante para permitir o aquecimento local devido aos efeitos do campo magnético. Na Figura 5.44 apresentam-se as distribuições espaciais da corrente induzida e potencial elétrico no interior dos tecidos.

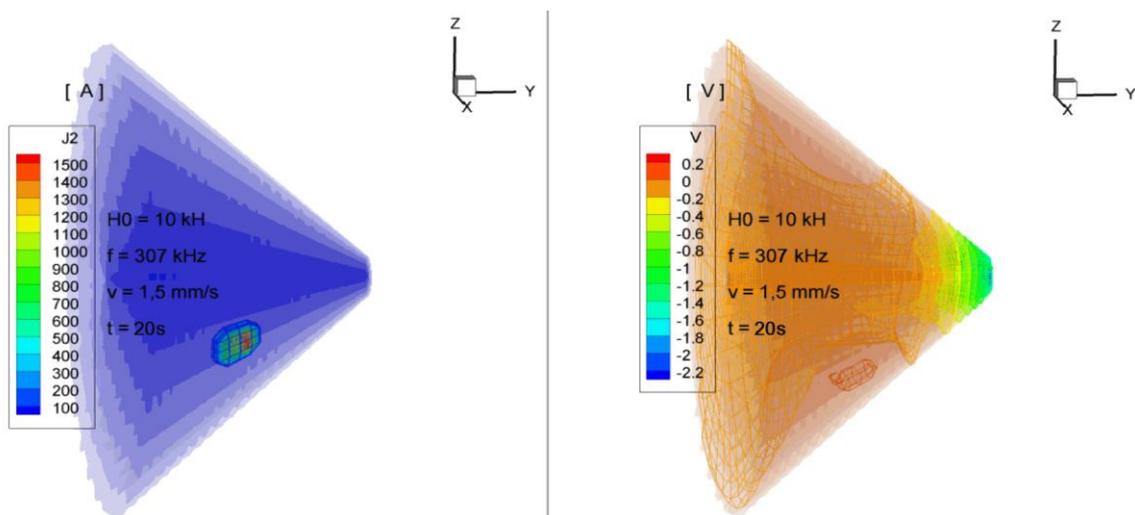


Figura 5.44. Distribuição de corrente e potencial elétrico induzidos no interior do tecido submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (20 s).

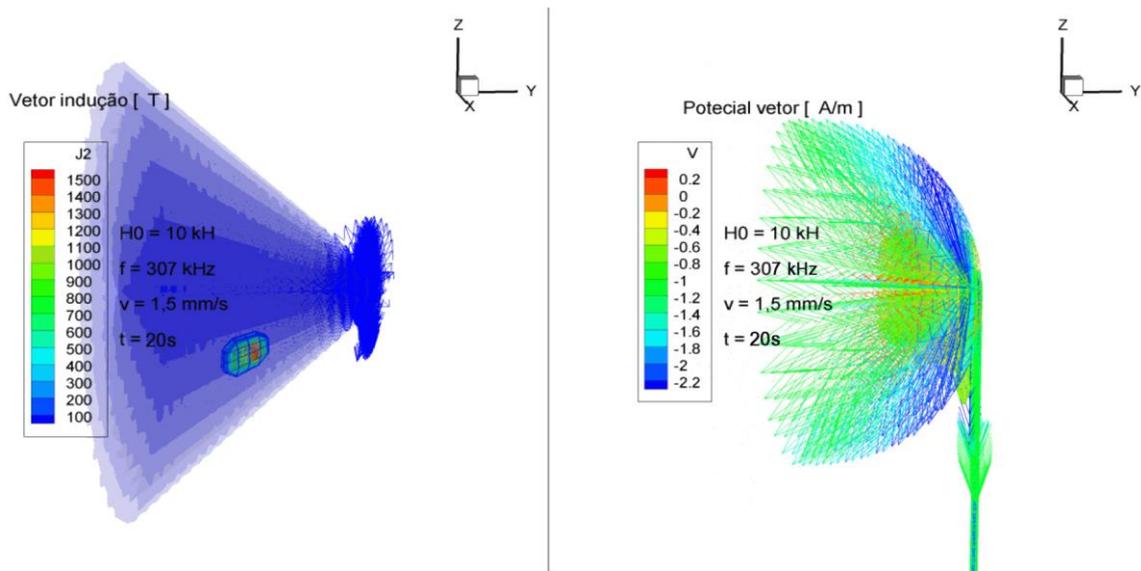


Figura 5.45. Componente horizontal dos vetores de indução magnética e potencial magnético no interior do tecido tumoral submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (20 s).

Na Figura 5.45 apresentam-se as distribuições espaciais dos vetores de indução magnética e potencial elétrico sobrepostos aos vetores de potencial magnético no interior dos tecidos. Este vetores são campos auxiliares para se obter o acoplamento do modelo MHD resolvendo-se de forma completa as equações de Maxwell para o domínio encampando a região das células tumorais.

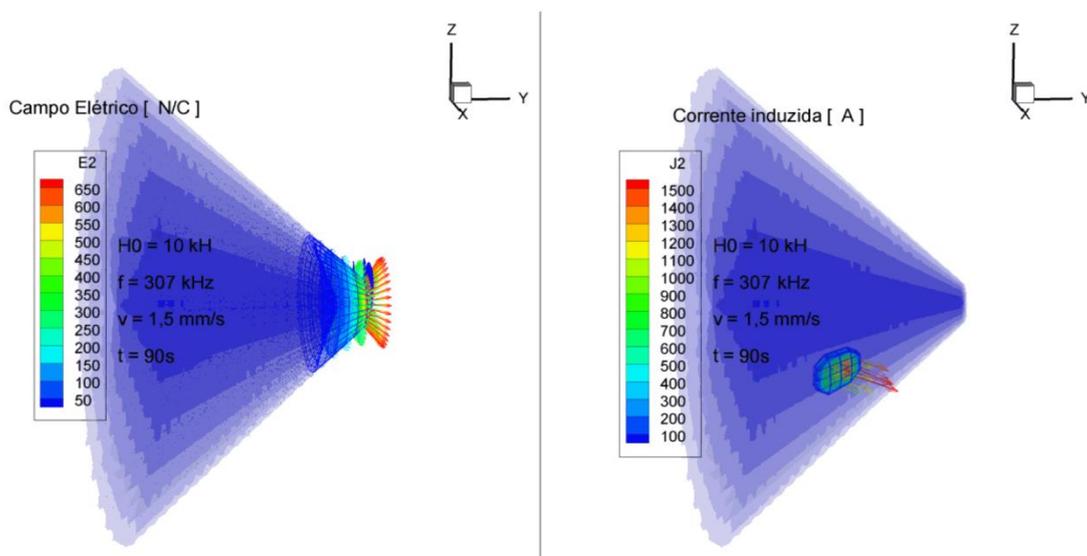


Figura 5.46. Componente horizontal dos vetores de campo elétrico e corrente no interior do tecido tumoral submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (90 s).

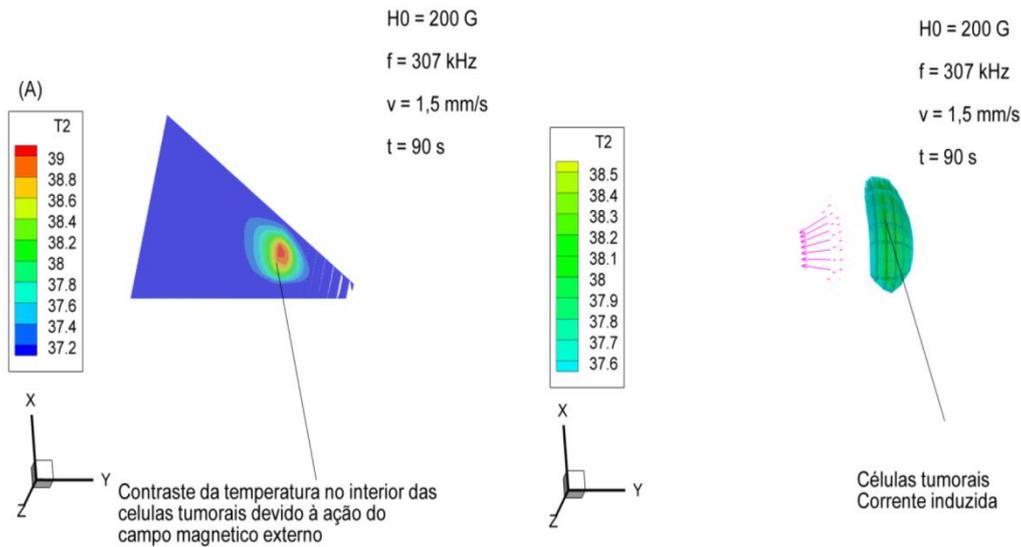


Figura 5.47. Distribuição de temperaturas no interior do tecido tumoral submetido ao campo magnético externo alternado com frequência de 307 kHz no início da exposição (90 s).

Na Figura 5.46 apresentam-se as distribuições espaciais das componentes dos vetores campo elétrico e corrente elétrica induzidas no interior dos tecidos. De maneira geral pode-se observar que as linhas de campo são bem distribuídas no início da exposição ao campo. A Figura 5.47 apresenta a evolução do campo de temperaturas para tempos de exposição ao campo externo em tempos longos (90 s). Inferem-se, portanto que a elevação de temperaturas é obtida em tempos relativamente curtos (ordem de minutos) e que a perfusão sanguínea desempenha papel importante no controle da temperatura na região das células tumorais.

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi proposto produzir nanopartículas com núcleo magnético de óxido de ferro recobertas com polietileno glicol (PEG) e ágar visando potencial aplicação para o tratamento de câncer por hipertermia magnética. As NPMs sintetizadas pelo método de coprecipitação por via úmida apresentaram boas propriedades físicas e magnéticas, confirmando a funcionalidade do método. Por intermédio da coprecipitação de íons Fe^{2+} e Fe^{3+} foi possível a obtenção de um núcleo magnético de óxido de ferro, conforme desejado. Além disso, a coprecipitação de sais metálicos mostrou-se como uma técnica relativamente fácil e simples com possibilidades de ajuste dos parâmetros do meio reacional para melhor funcionalização do núcleo magnético.

As técnicas de caracterização propostas nesse estudo foram adequadas para avaliar as propriedades mais relevantes para a aplicação da técnica de hipertermia magnética. Pôde-se sintetizar NPs com características superparamagnéticas com tamanho entre 30 – 80 nm, com núcleos magnéticos entre 12 e 24 nm compostos por maghemita ($\gamma\text{-Fe}_3\text{O}_2$). O revestimento das NPMS de óxido de ferro com Polietilenoglicol foi realizado com sucesso. Tal recobrimento foi comprovado através ensaios no TGA e análises dos grupos funcionais através do FTIR.

A eficácia da inserção do ágar no meio reacional visando um maior estreitamento da distribuição granulométrica foi comprovada, sendo possível observar uma maior uniformidade na distribuição das NPs que tiveram uma maior quantidade de ágar adicionada ao meio durante a síntese. Além disso, foram observados valores satisfatórios de magnetização de saturação indicando uma boa atividade do núcleo magnético, além de boa estabilidade em suspensão, comprovando a eficácia do revestimento na estabilização do núcleo.

As propriedades de hipertermia das NPMs, avaliadas durante a aplicação de um campo magnético, apresentaram-se bastante satisfatórias, além de produzirem valores de SAR dentro da faixa reportada na literatura para NPMs de óxido de ferro, sendo confirmado então o potencial das amostras para aplicação da técnica. Contudo, Para definir qual amostra está mais adequada a um procedimento de hipertermia é necessário que se realize estudos sobre internalização e hemodinâmica das nanopartículas no interior do organismo para que sejam avaliadas as reais condições de distribuição de calor no tecido, considerando o sangue como um possível fluido de resfriamento.

Os resultados obtidos para os valores de temperatura do nanofluido correspondente à condição experimental do ensaio de hipertermia foram utilizados no ajuste do modelo magneto hidrodinâmico (MHD) acoplado ao modelo térmico (MHD-T) desenvolvido, onde pôde-se observar que a elevação de temperaturas é obtida em tempos relativamente curtos (ordem de minutos) e que a perfusão sanguínea desempenha papel importante no controle da temperatura na região das células tumorais.

A utilização do modelo em complementariedade às análises clínicas mostra-se um potencial a ser explorado no sentido de se realizar uma análise individualizada do paciente a partir da aquisição de dados de tomografia da região tumoral e a planejamento da dinâmica da dosagem, localização e distribuição de temperaturas e fluxo sanguíneo durante o procedimento. Podendo-se fazer uma simulação prévia da dinâmica do procedimento de hipertermia magnética.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abboud, M., et al. Superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles, synthesis and surface modification. *Materials Science in Semiconductor Processing* 39 (2015) 641–648.
- Aleksey Nikitin., et al. Synthesis of iron oxide nanorods for enhanced magnetic hyperthermia. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 469 (2019) 443–449.
- Aliste, A. J. Uso de substâncias antioxidantes na resposta a radiação dos hidrocolóides carragenanas, agaranas e alginatos utilizados na indústria alimentícia. 90 p. Tese (Doutorado em Ciências). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2006.
- Alves, A. F. et al. Gelatine-assisted synthesis of magnetite nanoparticles for magnetic hyperthermia. *Journal Nanoparticle Research*, 18(1) 2016.
- Andreu, I.; Natividad, E.; Solozábal, L.; Roubeau, O. Same magnetic nanoparticles, different heating behavior: Influence of the arrangement and dispersive medium. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 380, pp. 341–346, 2015.
- Ann M. Hirt, Georgios A. Sotiriou, Piran R. Kidambi, and Alexandra Teleki. Effect of size, composition, and morphology on magnetic performance: First-order reversal curves evaluation of iron oxide nanoparticles. *Journal of applied physics* 115, 044314 (2014).
- Aphesteguy, J.C., Kurlyandskaya, G.V., de Celis, J.P., Safronov, A.P., Schegoleva, N.N. Magnetite nanoparticles prepared by co-precipitation method in different conditions. *Materials Chemistry and Physics*, n. 161, p. 243-249, 2015.
- Araújo, J. F. D. F. 2009. Construção de um magnetômetro Hall para caracterização de partículas magnéticas utilizadas em ensaios imunológicos. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Física. PUC-Rio. Rio de Janeiro. 110 p.
- Arriortua O. K., et al. RGD-Functionalized Fe₃O₄nanoparticles for magnetic hyperthermia. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 165 (2018) 315–324.
- Bijaideep Dutta, Neena G. Shetake, Santosh L. Gawali, B.K. Barick, K.C. Barick, P.D. Babu, B.N. Pandey, K.I. Priyadarsini, P.A. Hassan. PEG mediated shape-selective synthesis of cubic Fe₃O₄ nanoparticles for cancer therapeutics. *Journal of Alloys and Compounds*, 737 (2018) 347-355.
- Bizerra, A; Silva, V. Sistemas de liberação controlada: Mecanismos e aplicações. *Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas*, v, 3, n.2, p. 1-12, 2016.
- Bordelon, D. E. et al. Magnetic nanoparticle heating efficiency reveals magneto-structural differences when characterized with wide ranging and high amplitude alternating magnetic fields. *Journal of Applied Physics*. Vol. 109, 124904, (2011).
- Brullot, W. Versatile ferrofluids based on polyethylene glycol coated iron oxide nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* V. 324, p. 1919–1925, 2012.

- C P Bean and U D Livingston. Superparamagnetism. *Journal of Applied Physics*, 30(4):S120–S129, 1959.
- C. L. Dennis e R. Ivkov, —Physics of heat generation using magnetic nanoparticles for hyperthermia, *Int. J. Hyperthermia*, vol. 29, no 8, p. 715–729, dez. 2013.
- Camilo R. L., Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas de ferrita de cobalto recobertas por 3-aminopropiltriétoxissilano para uso como material híbrido em Nanotecnologia, Tese, IPEN, USP, 2006.
- Cannas, C., et al. Magnetic properties of cobalt ferrite–silica nanocomposites prepared by a sol-gel autocombustion technique. *The journal of chemical physics* 125, 164714 (2006).
- Carvalho, A., et al., Enhanced contrast efficiency in MRI by PEGylated magnetoliposomes loaded with PEGylated SPION: effect of SPION coating and microenvironment. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, (2014). 43: p. 521-6.
- Celis, J. A. et al. Synthesis and characterization of nanometric magnetite coated by oleic acid and the surfactant CTAB - Surfactant coated nanometric magnetite/maghemite. *Hyperfine Interact* (2017) 238:43.
- Chaugule R.S., Purushotham S., Ramanujan R. V. (2012) Magnetic Nanoparticles as Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging, *Proceedings of the National Academy of Sciences, India. Section A. Physical Sciences*. 82(3):257–268.
- Claine L. Snow, Quan Shi, Juliana Boerio-Goates, and Brian F. Woodfield. Heat Capacity Studies of Nanocrystalline Magnetite (Fe₃O₄). *J. Phys. Chem. C* 114, 21100–21108, 2010.
- Cornell, R. M., *The Iron Oxides*, U. Schwertmann, *VCH Publishers*, 1996.
- Cornell, R. M.; Schwertmann, U.: *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*; WILEY-VCH GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2003. pp. 172-177.
- Cushing, B. L., Kolesnichenko, V. L., and O'Connor, C. J., Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles. *Chem. Rev.*, 104, 3893–3946, 2004.
- Dadfar, S. M. et al. Iron oxide nanoparticles: Diagnostic, therapeutic and theranostic Applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 138 (2019) 302–325.
- Dias, A. M. G. C.; Hussain, A.; Marcos, A. S.; Roque, A. C. a.; A biotechnological perspective on the application of iron oxide magnetic colloids modified with polysaccharides. *Biotechnology Advances*, v. 29: pp. 142-145, 2011.
- Dias, C. S. B. et al. "Shape tailored magnetic nanorings for intracellular hyperthermia cancer therapy". *Scientific Reports*, v. 7, p. 1–8, 2017.
- Elias Jr J, Santos AC, Koenigkam-Santos M, Nogueira-Barbosa MH, Muglia VF. Complicações do uso intravenoso de agentes de contraste à base de gadolínio para ressonância magnética. *Radiol Bras*. 2008; 41 (4): 263–267.

- Fantechi, F., et al. Exploring the Effect of Co Doping in Fine Maghemite Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* 2012, 116, 8261–8270.
- Faraji M., Yamini Y., Rezaee M. (2010) Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Functionalization, Characterization and Applications, *Journal of the Iranian Chemical Society*, 7(1):1-37.
- Ferreira, A. 2016. Simulações por monte carlo e recozimento simulado de paredes de domínio em ferromagnetos e vidros de SPIN Tese de Doutorado – Programa de Pós Graduação em Engenharia Metalurgica. Universidade Federal Fluminense. Volta Redonda. 138 p.
- Ferreira, H. S., Rangel, M. C. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 7, 1860-1870, 2009.
- Fultz, B. “Mössbauer Spectrometry”, em *Characterization of Materials*. Wiley, 2011.
- Gaoa, J., Xu B., Applications of nanomaterials inside cells. *Nano Today*, 4, 37-51, 2009.
- Gonçalves, M. A; Ramalho, C. T. Agentes de Contraste para Imagem por Ressonância Magnética: Uma Revisão. *Rev. Virtual Quim.*, 2017, 9 (4).
- Gubin, S. P.; Introduction – Magnetic Oxides, in: Gubin, S. P., eds, *Magnetic Nanoparticles*, WILEY-VCH Verlag GmbH&Co, Federal Republic of Germany, 2009.
- Guo, T., Bian, X., Yang, C. A new method to prepare water based Fe₃O₄ ferrofluid with high stabilization. *Physica A* 438 (2015) 560–567.
- Gupta, A. K.; Gupta, M.; Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, v. 26, p. 3995-4021, 2005.
- Hausen, H. zur, Papillomavirus infections - a major cause of human cancers. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1288, 55-78, 1996.
- Hergt R, Dutz S and Roeder. Effets of size distribution on hysteresis losses of magnetic nanoparticles for hyperthermia. *J. Phys.: Condens. Matter*, 2018, Vol. 20. 385214.
- HEROJIT SINGH, L. et al. Stability and magnetic interactions between magnetite nanoparticles dispersed in zeolite as studied using Mössbauer spectroscopy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 418, p. 248–252, 2016.
- Hervault, A., Thanh N. T. K. Magnetic nanoparticle-based therapeutic agentes for thermo-chemotherapy treatment of cancer. *Nanoscale*, v. 6, 11553-11573, 2014.
- Honary, Soheyla; Zahir, Foruhe. Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano - Drug Delivery Systems - A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutic al Research* v. 12, n. 2, p. 265–273, 2013.
- Hofer, K. G. “Hyperthermia and cancer”, *Eur. Cells Mater.*, vol. 3, pp. 67–69, 2002.
- Idris, S. S.; Rahman, N. A.; Ismail, K.; Alias, A. B.; Rashid, Z. A.; Aris, M. J. Investigation on thermochemical behaviour of low rank Malaysian coal, oil palm

biomass and their blends during pyrolysis via thermogravimetric analysis (TGA). *Bioresource technology*, v. 101, n. 12, p. 4584-4592, 2010.

Indira, T.K.; Lakshmi, P. K. Magnetic Nanoparticle – A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*. Vol. 3 (2010), p. 1035-1042.

Ito, A.; Shinkai, M.; Honda, H.; Kobayashi, T.; Medical Application of Functionalized Magnetic Nanoparticles. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 100, p. 1-11, 2005.

Jadhav, N.V., Prasad, A.I., Kumar, A., Mishra, R., Dhara, S., Babu, K.R., Prajapat, C.L., Misra, N.L., Ningthoujam, R.S., Pandey, B.N., Vatsa, R.K. Synthesis of oleic acid functionalized Fe₃O₄ magnetic nanoparticles and studying their interaction with tumor cells for potential hyperthermia applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, n. 108, p. 158-168, 2013.

Jimeno, S.G.; Estelrich, J. Ferrofluid based on polyethylene glycol-coated iron oxide nanoparticles: Characterization and properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 420 (2013), p. 74– 81.

Jinghai Yang., et al. A comprehensive study on the synthesis and paramagnetic properties of PEG-coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Applied Surface Science* 303 (2014) 425–432.

Jolivet, J.P., et al., Influence of Fe(II) on the formation of the spinel iron oxide in alkaline medium. *Clays and Clay Minerals*, 40, 5, 531-539, 1992.

Jordan, A., R. Scholz, K. Maier-hau, M. Johannsen, P. Wust, J. Nadobny, H. Schirra, H. Schmidt, S. Deger, S. Loening, W. Lanksch and R. Felix, “Presentation of a new magnetic field therapy system for the treatment of human solid tumors with magnetic fluid hyperthermia”, vol. 225, no. 1-2, pp.118-126, 2001.

Jordan, A., R. Scholz, P. Wust, H. Föhling and R. Felix, “Magnetic fluid hyperthermia (mfh): cancer treatment with ac magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles”, vol. 201, pp. 413–419, 1999.

K. Maier-Hauff, R. Rothe, R. Scholz, U. Gneveckow, P. Wust, B. Thiesen, A. Feussner, A. von Deimling, N. Waldoefner, R. Felix and A. Jordan, “Intracranial thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external beam radiotherapy: results of a feasibility study on patients with glioblastoma multiforme”, *J. Neurooncol.*, vol. 81, no. 1, pp. 53–60, 2007.

Kallumadil, M. et al. Suitability of commercial colloids for magnetic hyperthermia. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 321, n. 10, p. 1509–1513, 2009.

Kandasamy, G.; Maity, D. Recent advances in superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) for in vitro and in vivo cancer nanotheranostics. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 496, n. 2, p. 191–218, 2015.

Kim, D. K. et al., Synthesis and characterization of surfactant-coated superparamagnetic monodispersed iron oxide nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater*, 225, 30-35, 2001.

Kim, K. C.; Kim, E. K.; Lee, J. W.; Maeng, S. L.; Kim, Y. S.; Synthesis and characterization of magnetite nanopowders. *Current Applied Physics*, 8, 758-760, 2008.

Kim, S.; Kim, J. H.; Jeon, O.; Kwon, I.C.; Park, K.. “Engineered Polymers for Advanced Drug Delivery”. NIH Public Access Author Manuscript. *Eur J Pharm Biopharm*. Março, 2009.

Kita, E., Oda, T., Kayano, T., Sato, S., Minagawa, M., Yanagihara, H., Kishimoto, M., Mitsumata, C., Hashimoto, S., Yamada, K., Ohkohchi, N. Ferromagnetic nanoparticles for magnetic hyperthermia and thermoablation therapy. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, n. 43, p. 474011, 2010.

Klabunde, K.J.; Richards, R.M. *Nanoscale Materials in Chemistry*. Segunda Edição. Wiley, p. 149, 2009.

Knobe, M., Aplicações do magnetismo, *Ciência Hoje*, 36, 215, 18-26, 2006.

König, U.; Pöllmann, H.; Angélica, R. S. O Refinamento de Rietveld como um método para o controle de qualidade de minérios de ferro. *Ver. Esc. Minas*, v. 55, n. 2, p. 111-114, 2002.

Langer, R. *Science*, v.249, p.1527, 1990.

Laurent, S. et al., Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chem. Rev.*, 108, 2064–2110, 2008.

Laurent, S.; Dutz, S.; Häfali, U. O.; Mahmoudi, M.; Magnetic fluid hyperthermia: Focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 166, p. 8-23, 2011.

Lee, S. H. et al. Nano spray drying: A novel method for preparing protein nanoparticles for protein therapy. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 403, n. 1-2, p. 192-200, 2011.

Lee, S.H., et al., Paramagnetic inorganic nanoparticles as T1 MRI contrast agents. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, (2014). 6(2): p. 196-209.

Linh, P. H. et al. Dextran coated magnetite high susceptibility nanoparticles for Hyperthermia applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 460, p. 128–136, 2018.

Lodhia, J.; Mandarano, G.; Ferris, N. J.; Eu, P.; Cowell, S. F.; Development and use of iron oxide nanoparticles (part 1): Synthesis of iron oxide nanoparticles for MRI. *Biomedical Imaging and Intervention Journal*, v. 6, p. 1-11, 2010.

Lu, A. H.; Salabas, E. L.; Schüth, F. Magnetic nanoparticles: Synthesis, protection, functionalization, and application. *Angewandte Chemie - International Edition*, v. 46, n. 8, p. 1222–1244, 2007.

Lübbe, A.; Alexiou, C.; Bergemann, C.; Clinical Applications of Magnetic Drug Targeting. *Journal of Surgical Research*, 95, 200-206, 2001.

- M. Knobel, W. C. Nunes, L. M. Socolovsky, E. De Biasi, J. M. Vargas, and J. C. Denardin. Superparamagnetism and Other Magnetic Features in Granular Materials: A Review on Ideal and Real Systems. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* Vol.8, 2836–2857, 2008.
- M. S. A. Darwish. Effect of carriers on heating efficiency of oleic acid-stabilized magnetite nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids* 231 (2017) 80–85.
- Maher Abboud, Sami Youssef, Jean Podlecki, Roland Habchi, Georges Germanos, Alain Foucaran. Superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles, synthesis and surface modification. *Materials Science in Semiconductor Processing* 39 (2015) 641–648.
- Mahmoudi, M. et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Development, surface modification and applications in chemotherapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 63, n. 1–2, p. 24–46, 2011.
- Mahmoudi, M.; Sant, S.; Wang, B.; Laurent, S.; Sen, T.; Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Development, surface modification and applications in chemotherapy. *Advances Drug Delivery Reviews*, v. 63, p. 24-46, 2011.
- Maity, D. A.; Agrawal, D. C.; Synthesis of iron oxide nanoparticles under oxidizing environment and their stabilization in aqueous and non-aqueous media. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 308 (2007) 46-55.
- Malekzadeh, A. M., Ramazani, A., Rezaei, S. J. T., Niknejad, H. Design and construction of multifunctional hyperbranched polymers coated magnetite nanoparticles for both targeting magnetic resonance imaging and cancer therapy. *Journal of Colloid and Interface Science*, 490 (2017) 64–73.
- Masoudi, A., et al. The effect of poly(ethylene glycol) coating on colloidal stability of superparamagnetic iron oxide nanoparticles as potential MRI contrast agents. *International Journal of Pharmaceutics*, 433 (2012) 129–141.
- Medeiros, S.F., Santos, A.M., Fessi, H., Elaissari, A. Stimuli-responsive magnetic particles for biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 403 (2011) 139–161.
- Mun Foong Tai, ChinWei Lai, and Sharifah Bee Abdul Hamid. Facile Synthesis Polyethylene Glycol Coated Magnetite Nanoparticles for High Colloidal Stability. *Journal of Nanomaterials* Volume 2016, Article ID 8612505, 7 pages.
- Murad, E. Mössbauer spectrometry of clays: soils and their mineral constituents. *Clays Minerals*, 45 (2010), 413-430.
- P. Ostroverkhov et al. Human serum albumin as an effective coating for hydrophobic photosensitizers immobilization on magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 475 (2019) 108–114.
- P. S. Yarmolenko *et al.*, —Thresholds for thermal damage to normal tissues: An update, *Int. J. Hyperthermia*, vol. 27, no 4, p. 320–343, jun. 2011.
- Pablo Guardia., et al. Tuning the Size, the Shape, and the Magnetic Properties of Iron Oxide Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* 2011, 115, 390–396.

- Pankhurst, Q. et al. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal Of Physics D-Applied Physics*, Bristol, v. 36, n. 13, p. R167-R181, Julho 2003.
- Petcharoen, K.; Sirivat, A. Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles via the chemical co-precipitation method. *Materials Science and Engineering B*, v. 177, p. 421– 427, 2012.
- Plathe, K. L.; Von Der Kammer, F.; Hassellöv, M.; Moore, J. N.; Murayama, M.; Hofmann, T.; Hochella, M. F. The role of nanominerals and mineral nanoparticles in the transport of toxic trace metals: Field-flow fractionation and analytical TEM analyses after nanoparticle isolation and density separation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 102, p. 213-225, 2013.
- Qian-Qian Ouyang, Zhang Hu, Si-Dong Li, Wei-Yan Quan, Li-Li Wen, Zi-Ming Yang, Pu-Wang Li. Thermal degradation of agar: Mechanism and toxicity of products. *Food Chemistry*, 264 (2018) 277–283.
- Qiong Xiao, Huifeng Weng, Hui Ni, Qinglin Hong, Kunhui Lin, Anfeng Xiao. Physicochemical and gel properties of agar extracted by enzyme and enzyme-assisted methods. *Food Hydrocolloids*, 87 (2019) 530–540.
- Roca, A. G. et al. Design strategies for shape-controlled magnetic iron oxide nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews* 138 (2019) 68–104.
- R. Hergt, S. Dutz, R. Müller, M. Zeisberger. Magnetic particle hyperthermia: nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy. *J. Phys.: Condens. Matter*, 2006, Vol. 18. S2919.
- R. M. Patil., et al. Non-aqueous to aqueous phase transfer of oleic acid coated iron oxide nanoparticles for hyperthermia application. *RSC Adv.*, 2014, 4, 4515.
- Rao, K. S. *Introducton Partial Differential Equations*. Prentice-Hall of India Pvt.Ltd, 2004.
- Rebodos, R. L and Vikesland, P. J. Effects of Oxidation on the Magnetization of Nanoparticulate Magnetite. *Langmuir* 2010, 26(22), 16745–16753.
- Reis, R. F. *Simulações Numéricas 3D em Ambiente Paralelo de Hipertermia com Nanopartículas Magnéticas*. Dissertação de mestrado apresentada a Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, 2014.
- Ren, J., Hong, H. Y., Ren, T. B., Teng, X. R. Preparation and characterization of magnetic PLA–PEG composite particles. *Materials Letters* 59 (2005) 2655 – 2658.
- Ristić, M. et.al. A novel route in the synthesis of magnetite nanoparticles. *Materials Letters*, v. 100, p. 93–97, 2013.
- Rolf, D. Issels, Hyperthermia adds to chemotherapy. *European Journal of Cancer*, 44, 2546 – 2554, 2008.
- Runa Ghosh., et al., Induction heating studies of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles capped with oleic acid and polyethylene glycol for hyperthermia. *J. Mater. Chem.*, 2011, 21, 13388.

S. Murside and K. Cemal Güven, "Infrared studies on phyllophora nervosa agar and comparison with various agars and carradeenans", *Turkish J. Mar. Sci.*, vol. 8, pp. 143–156, 2002.

Salem, A.K., Searson P.C., e Leong K.W. Multifunctional nanorods for gene delivery. *Nature Mater.*, 2:668–671, 2003.

Sampaio, F. A. S. 2015. Síntese e caracterização de nanopartículas de Fe₃O₄ revestidas com PEG/PVP visando a aplicação nas áreas médicas. Tese de Doutorado – Programa de Pós Graduação em Engenharia Metalúrgica. Universidade Federal Fluminense. Volta Redonda. 178 p.

Sato T., Iijima, T., Sekin, M. Inagaki, N., Magnetic properties of ultrafine ferrite particles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 65, 252-256, 1987.

Schwertmann, U. Cornell, R. M. Iron Oxides in the Laboratory: Preparation and Characterization. Wiley-VCH, Alemanha, segunda edição (2000).

Shariful MD. I, et al. A comparative study on heat dissipation, morphological and magnetic properties of hyperthermia suitable nanoparticles prepared by co-precipitation and hydrothermal methods. *Bull. Mater. Sci.*, v. 35, n. 7, p. 1047-1053, 2012.

Shete, P. B. et al. Studies On Functionalization Of Oleic Acid Coated Fe₃O₄ MNPs With Chitosan. V. 58, P. 55–58, 2014.

Shinkai I, M. et al. Development of anticancer drugs-encapsulated magnetoliposome and its combination effect of hyperthermia and chemotherapy. *Jnp. J. Oncol.*, 14, 14-21, 1998.

Si, S. Size-Controlled Synthesis of Magnetite Nanoparticles in the Presence of Polyelectrolytes. *Chem. Mater.* V. 16, p. 3489-3496, 2004.

Soares, P.; Ferreira, I.; Igreja, R.; Novo, C.; Borges, J.; Application of Hyperthermia for Cancer Treatment: recent patents review. *Recent patents on anti-cancer drug discovery*, 7, 64-73, 2012.

Soares, P.I.P., Alves, A.M.R., Pereira, L.C.J., Coutinho, J.T., Ferreira, I.M.M., Novo, C.M., Borges, J.P.M.R. Effects of surfactants on the magnetic properties of iron oxide colloids. *Journal of Colloid and Interface Science*, n. 419, p. 46-51, 2014.

Souza, A. M. M. Aplicação de biopolímeros extraídos de algas na produção de embalagens biodegradáveis. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 2008.

Souza, K.C.; Mohallem, N.D.S.; Sousa, E.; Nanocompósitos magnéticos: potencialidades de aplicações em biomedicina. *Quim. Nova*, 34 (10): 1692-1703, 2011.

Stephen, Z. R., F.M. Kievit, and M. Zhang, Magnetite nanoparticles for medical MR imaging. *Materials Today*, (2011). 14(7-8): p. 330-338.

Sun, C; Lee, J. H.; Zhang, M.; Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, 1252-1265, 2008.

- T Saragi, B L Depi, S Butarbutar, B Permana and Risdiana. The impact of synthesis temperature on magnetite nanoparticles size synthesized by co-precipitation method. *Journal of Physics: Conference Series*, 1013 012190, 2018.
- T. M. Theofanides, "Infrared spectroscopy of functionalized magnetic nanoparticles", em *Infrared Spectroscopy of Functionalized Magnetic Nanoparticles*, InTech, 2012.
- T.V. Lyutyy, O.M. Hryshko, M.Yu. Yakovenko. Uniform and nonuniform precession of a nanoparticle with finite anisotropy in a liquid: Opportunities and limitations for magnetic fluid hyperthermia. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 473 (2019) 198–204.
- Tai, M. F., Lai, C. W., Hamid, S. B. A. Facile Synthesis Polyethylene Glycol Coated Magnetite Nanoparticles for High Colloidal Stability. *Journal of Nanomaterials*, Volume 2016, Article ID 8612505.
- Tartaj, P. et al., The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 36, 182–197, 2003.
- Teja, A. S., Koh Pei-Yoong, Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 55, 22-45, 2009.
- Thomas, R., I.K. Park, and Y.Y. Jeong, Magnetic iron oxide nanoparticles for multimodal imaging and therapy of cancer. *Int J Mol Sci*, (2013). 14(8): p. 15910-30.
- Torchilin V.P. (2012) Multifunctional nanocarriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, pp. 302-315.
- Wang, J. J.; Zeng, Z.W.; Xiao, R. Z.; Xie, T.; Zhou, G. L.; Zhan, X. R.; Wang, S. L. Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers, *Int J Nanomedicine*. 2011; 6: 765–774.
- Wei, X.; Viadero, R. C.; Synthesis of magnetic nanoparticles with ferric iron recovered from acid mine drainage: implications for environmental engineering. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 294, 280-286, 2007.
- Weissleder, R. et al., Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity. *Am. J. Roentgenol.*, 152, 167, 1989.
- Wen Jiang., et al. Effect of sodium oleate as a buffer on the synthesis of superparamagnetic magnetite colloids. *Journal of Colloid and Interface Science* 347 (2010) 1–7.
- Wildeboer, R. R.; Southern, P.; Pankhurst, Q. A. "On the reliable measurement of specific absorption rates and intrinsic loss parameters in magnetic hyperthermia materials". *Journal of Physics D: Applied Physics*, v. 47, p. 1–14, 2014.
- Willard, M. A., Kurihara, L. K.; Carpenter, E. E.; Calvin, S.; Harris, V. G.; Chemically prepared magnetic nanoparticles. *International Materials Reviews*, 49, 125-170, 2004.
- Wu W., He Q., Jiang C. (2008) Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Surface Functionalization Strategies. *Nanoscale Research Letters* 3:397-415.

Wu, W. et al. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Science and Technology of Advanced Materials*, v. 16, n. 2, 2015.

Xiao, A., Xiao, Q., Lin, Y., Ni, H., Zhu, Y., Cai, H. Efficient immobilization of agarase using carboxyl-functionalized magnetic nanoparticles as support. *Electronic Journal of Biotechnology* 25 (2017) 13–20.

Xie, S., et al., Superparamagnetic iron oxide nanoparticles coated with different polymers and their MRI contrast effects in the mouse brains. *Applied Surface Science*, (2015). 326: p. 32-38.

Yanase, M. et al., Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes: ex vivo study. *Jpn. J. Cancer Res.*, 88, (1997) 630-632.

Yang, J. et al. A comprehensive study on the synthesis and paramagnetic properties of PEG-coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Applied Surface Science* 303 (2014) 425–432.

Yazdani. F., Seddigh. M. Magnetite nanoparticles synthesized by co-precipitation method: The effects of various iron anions on specifications. *Materials Chemistry and Physics* 184 (2016) 318e323.

Yoo, D. et al. Theranostic Magnetic Nanoparticles. *Accounts of Chemical Research*, v. 44,(2011) p. 863–874.

Yoshimura, C. Y. Avaliação do potencial de cultivo e produção de ágar de *Gracilaria domingensis* e de *Gracilaria caudata* na Enseada de Armação do Itapocoroy (Penha, Santa Catarina). 163 p. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

Z. L. Liu, Y. J. Liu, K. L. Yao, Z. H. Ding, J. Tão, X. Wang, *J. Mater. Synth. Process.* 10, (2002) 83.

Zagar, T. M. et al. Hyperthermia combined with radiation therapy for superficial breast cancer and chest wall recurrence: a review of the randomised data. *International journal of hyperthermia : the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group*, v. 26, p. 612–617, 2010a.

ZAGAR, T. M. et al. Hyperthermia for locally advanced breast cancer. *Int.J.Hyperthermia*, v. 26, p. 612–617, 2010b.

Zhang, X. et al., Influence of precipitator agents NaOH and NH₄OH on the preparation of Fe₃O₄ nano-particles synthesized by electron beam irradiation, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 270, 2, (2012) 285–289.

Zhao, D.; Eng, X.; Xia, Q.; Tang, J. Inductive heat property of Fe₃O₄ nanoparticles in AC magnetic field for local hyperthermia. *Rare Metals*. V. 25, Spec. Issue, p .621, 2006.

Zhao, F.; Zhang, B.; Feng. L. Preparation and magnetic properties of magnetite nanoparticles. *Materials Letters* 68, (2012) p.112-114.

Zhila Shaterabadi, Gholamreza Nabiyouni, Meysam Soleymani. Physics responsible for heating efficiency and self-controlled temperature rise of magnetic nanoparticles in

magnetic hyperthermia therapy. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 133 (2018) 9-19.

Zhixia Li., et al. Magnetite nanoparticles with high heating efficiencies for application in the hyperthermia of cancer. *Materials Science and Engineering C* 30 (2010) 990–996.