

**MINISTÉRIO DA DEFESA  
EXÉRCITO BRASILEIRO  
SECRETARIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

**PEDRO MARINS BEDÊ**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICO-MAGNÉTICAS  
PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

**Rio de Janeiro  
2010**

**INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA**

**PEDRO MARINS BEDÊ**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS  
POLIMÉRICO-MAGNÉTICAS PARA UTILIZAÇÃO BIOMÉDICA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para Obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientadores: Prof. Marcelo H. Prado da Silva -D.C

Prof.<sup>a</sup> Priscilla Vanessa Finotelli -D.C

Rio de Janeiro

2010

c2010

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

Praça General Tibúrcio, 80 – Praia Vermelha

Rio de Janeiro - RJ CEP: 22290-270

Este exemplar é de propriedade do Instituto Militar de Engenharia, que poderá incluí-lo em base de dados, armazenar em computador, microfilmear ou adotar qualquer forma de arquivamento.

São permitidas a menção, reprodução parcial ou integral e a transmissão entre bibliotecas deste trabalho, sem modificação de seu texto, em qualquer meio que esteja ou venha a ser fixado, para pesquisa acadêmica, comentários e citações, desde que sem finalidade comercial e que seja feita à referência bibliográfica completa.

Os conceitos expressos neste trabalho são de responsabilidade do(s) autor(es) e do(s) orientador(es).

S767 Bedê, Pedro M.

Produção e Caracterização de Nanopartículas Polimérico-Magnéticas para Utilização Biomédica / Pedro Marins Bedê . - Rio de Janeiro : Instituto Militar de Engenharia, 2010.

61 f. : il., graf., tab. : - cm.

Dissertação (mestrado) - Instituto Militar de Engenharia, 2010.

1. Formação.

**INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA**

**PEDRO MARINS BEDÊ**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICO-  
MAGNÉTICAS PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientadores: Prof. Marcelo H. Prado da Silva -D.C - IME

Prof.<sup>a</sup> Priscilla Vanessa Finotelli -D.C - UFRJ

Aprovada em 24 de Junho de 2010 pela seguinte Banca Examinadora:

---

Marcelo H. Prado da Silva – D.C - IME

---

Priscilla Vanessa Finotelli – D.C - UFRJ

---

Frederico Caetano Jandre de Assis Tavares – D.C - UFRJ

---

Ronaldo Sérgio de Biasi – Ph. D - IME

---

Alexandre Malta Rossi – Ph. D - CBPF

Rio de Janeiro

2010

A toda população sofrida, batalhadora, e carente. Que um dia vocês possam se beneficiar com os frutos deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para que esse trabalho pudesse ser concluído, a começar por todas pessoas que de forma honesta pagam seus impostos, e que através deles meus estudos puderam ser custeados.

Gostaria de agradecer aos meus pais Edgard e Rosângela por tudo o que eles deixaram de fazer por eles para fazer pelos filhos, de forma trabalhadora, honesta, sacrificada e exemplar. Por minha formação ética e moral, pelo zelo à minha educação e de meus irmãos. Enfim, pelas nossas Vidas.

A minha Wanessa, por toda compreensão, força, carinho, incentivo, cumplicidade, amor, noites em claro me fazendo companhia, por fazer parte da minha vida e me deixar fazer parte da sua. Ah, pelo sorriso mais gostoso do mundo também!

A pequena Lis, pelo carinho e amor, por me fazer rir nos momentos mais inesperados, pelo sorriso gostoso que puxou da mãe, e por me acordar cedo todos os dias, até quando eu não queria acordar.

Aos meus avós, pelos exemplos de dedicação, bondade, amor ao próximo. Em especial ao meu avô Waldyr Bedê *in memoriam*, que foi o pilar principal da formação dos meus valores, companheiro para todas horas. Inesquecível.

Ao Sr. Sebastião e Sra. Fátima, por me estenderem as mãos e me darem uma ajuda, sem a qual eu não sei se conseguiria terminar o curso.

Ao meu orientador Prof.<sup>o</sup> Marcelo Prado, por me dar a oportunidade de trabalhar com ele.

A minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Priscilla Finotelli, pela paciência, insistência, ensinamentos, e por me colocar num mundo de conhecimentos completamente novos para mim.

A todos que me ajudaram com as análises, sempre me atendendo com boa vontade e prazer. Esse agradecimento é em especial para Gláucio, do CEPEL, Prof.<sup>o</sup> Geraldo, do CBPF, e Valéria, do CBPF.

Ao CNPQ, pelo financiamento através da bolsa de estudo.

Este Trabalho é uma conquista não só minha, mas de todos vocês. É uma prova de que o investimento de vocês não foi em vão.

A todos vocês uma única palavra: **Obrigado!**

“Um Homem é Grande quando ajuda a construir  
uma grandeza que não é dele”.

Waldyr Amaral Bedê

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	10
LISTA DE TABELAS .....	11
LISTA DE ABREVIATURAS .....	12
LISTA DE SIGLAS .....	12
RESUMO .....	14
ABSTRACT .....	15
1 INTRODUÇÃO .....	16
1.1 Considerações Gerais .....	16
1.2 Objetivo do Trabalho .....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	18
2.1 Nanotecnologia .....	18
2.2 Nanopartículas Magnéticas .....	19
2.2.1 Produção de Nanopartículas Magnéticas .....	23
2.3 Liberação Controlada de Fármacos .....	23
2.3.1 Mecanismos de Liberação Controlada .....	25
2.4 Hipertermia .....	26
2.5 Imagem por Ressonância Magnética .....	27
2.6 Biopolímeros .....	30
2.6.1 Alginato .....	31
2.6.2 Quitosana .....	33
2.7 Caracterização .....	35
2.7.1 Difração de Raios X .....	35
2.7.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão .....	38
2.7.3 Magnetometria: SQUID Magnético .....	40
2.7.4 Tamanho das Partículas .....	40
2.7.5 Potencial Zeta .....	41
3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	43
3.1 Materiais .....	43
3.1.2 Equipamentos .....	43
3.2 Métodos .....	44



3.2.1	Obtenção da Magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) .....	44
3.2.2	Encapsulamento da $\text{Fe}_3\text{O}_4$ em Matriz de Alginato/Quitossana .....	48
3.3	Preparação das Amostras para Análises .....	49
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	50
4.1	Difração de Raios X .....	50
4.2	Tamanho e Potencial Zeta .....	52
4.2.1	Tamanho .....	52
4.2.2	Potencial Zeta .....	53
4.3	Microscopia Eletrônica de Transmissão .....	54
4.3.1	Espectros de EDS .....	61
4.4	Medidas Magnéticas .....	62
5	CONCLUSÕES GERAIS E PROPOSIÇÕES FUTURAS .....	66
5.1	Conclusões .....	66
5.2	Proposições Futuras .....	66
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	68

## LISTA DE FIGURAS

FIG. 1	Estrutura da magnetita. (a) cristal natural, (b) estrutura cristalina da magnetita com O-oxigênio, A, o cátion tetraédrico de Fe <sup>3+</sup> , e B, o cátion octaédrico de Fe <sup>3+</sup> ..... 22
FIG. 2	Perfil de concentração plasmática do fármaco versus tempo, de um fármaco administrado convencionalmente, comparado com um sistema de liberação controlada ..... 25
FIG. 3	Equipamento utilizado para fazer IRM ..... 28
FIG. 4	Paciente iniciando o exame de IRM ..... 29
FIG. 5	IRM da cabeça de um paciente ..... 29
FIG. 6.1	Unidade monomérica do alginato: ácido B-D-manurônico (M) e ácido a-L-Gulurônico(G) 31
FIG. 6.2	Estrutura molecular das unidades monoméricas do alginato ..... 32
FIG. 7.1	Modelo de "egg-box" de gelificação do alginato de cálcio ..... 32
FIG. 7.2	Estrutura molecular do modelo de "egg-box" do alginato de cálcio ..... 33
FIG. 8	Estrutura da Quitosana ..... 33
FIG. 9	Sistema alginato/quitosana ..... 34
FIG. 10	Esquema de formação de dois tipos de gel de alginato. Alginato de cálcio, gel "ionotrópico", e complexo alginato/quitosana, poliânion ..... 35
FIG. 11.1	Se um feixe de raios-x monocromático é dirigido à um único cristal, então, poderão resultar apenas um ou dois feixes ..... 36
FIG. 11.2	Se a amostra é constituída por algumas dezenas de monocristais orientados ao acaso, os feixes difratados são vistos sobre a superfície de vários cones. Os cones podem surgir em todas as direções, para frente e para trás ..... 37
FIG. 11.3	Uma amostra em pó mostra que os feixes difratados formam cones contínuos. Um filme circular é utilizado para registrar o padrão de difração, como mostrado. Cada cone intercepta o filme dando as linhas de difração. As linhas são vistas como arcos sobre o filme..... 37
FIG. 12	Esquema da estrutura do MET ..... 39
FIG. 13	Faixa de estabilidade de pontecial zeta de uma solução ..... 42
FIG. 14.1	Purificação do Sulfato de Ferro II ..... 45
FIG. 14.2	Obtenção do Cloreto de Ferro II ..... 46
FIG. 14.3	Preparação da Solução de Cloreto de Ferro III ..... 47
FIG. 14.4	Síntese da magnetita (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ) ..... 48
FIG. 14.5	Encapsulamento da magnetita em matriz de alginato/quitosana ..... 49
FIG. 15.1	Difratograma das nanopartículas magnéticas. .... 51
FIG. 15.2	Difratograma de nanopartículas magnéticas encapsuladas em matriz polimérica ..... 51
FIG. 16.1	Micrografia a um aumento de 97000x, referente à fronteira da amostra de nanopartículas

	magnéticas.....	54
FIG. 16.2	Micrografia referente à mesma região de fronteira da amostra de nanopartículas magnéticas, mas a um aumento de 195000x.....	55
FIG. 16.3	Micrografia da mesma região da amostra, porém a um aumento de 285000x.....	56
FIG. 17.1	Micrografia das nanopartículas magnéticas recobertas a um aumento de 38000x.....	57
FIG. 17.2	Micrografia das amostra de NP-PM a um aumento de 71000x.....	58
FIG. 17.3	Micrografia das NP-PM a um aumento de 145000x. A região destacada é referente a duas nanopartículas isoladas. ....	59
FIG. 17.4	Micrografia da mesma região a um aumento de 285000x. Os locais destacados são as regiões onde a EDS será realizada. ....	60
FIG. 18.1	Espectro de EDS da região 286 especificada na FIG.17.4.....	61
FIG. 18.2	Espectro de EDS da região 287 especificada também na FIG.17.4.....	61
FIG. 18.3	Espectro de EDS da região 288, referente ao aglomerado destacado na FIG.17.4.....	62
FIG. 19.1	Curva MxH a 20k das nanopartículas de magnetita.....	63
FIG. 19.2	Curva MxH a 20k das nanopartículas de magnetita encapsuladas.....	64
FIG. 19.3	Curva MxH a 300k das nanopartículas de magnetita.....	64
FIG. 19.4	Curva MxH a 300k das nanopartículas de magnetita encapsuladas.....	65

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1	Tamanho das NP magnéticas .....	52
TABELA 1.2	Tamanho das NP polimérico-magnéticas .....	53
TABELA 2	Potencial zeta das nanopartículas .....	53

## LISTA DE SIGLAS

IME-	Instituto Militar de Engenharia
UFRJ-	Universidade Federal do Rio de Janeiro
CNPq-	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CBPF-	Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas
CEPEL-	Centro de Pesquisas de Energia Elétrica

## LISTA DE ABRAVIATURAS E SÍMBOLOS

$T_N$ : tempo médio que leva para a magnetização das nanopartículas mudar em função de variações térmicas.

$T_0$ : medida de tempo, característica do material, chamado de tempo de tentativa, ou período de tentativa. Seu valor normalmente é de  $10^{-9}$  ~  $10^{-10}$  segundos.

K: anisotropia magnética da nanopartícula

V: volume.

$k_b$ : constante de Boltzman.

T: temperatura

N: nº de nanopartículas.

$\mu$ : momento magnético de uma nanopartícula.

H: campo magnético aplicado.

L: função de Langevin

n: nº inteiro determinado pela ordem dada;

$\lambda$ : comprimento de onda dos raios X

d: espaçamento entre os planos

$\theta$ : ângulo entre o raio incidente e os planos de espalhamento.

t: tamanho do cristal (nm)

K: Fator de Scherrer

$\beta$ : largura a meia altura do pico de difração

B: largura a meia altura do pico difratado da amostra

b: largura a meia altura de um pico do padrão difratométrico numa região próxima ao pico do difratograma

JCPDS: *Joint Committee on Powder Diffraction Standards*

DP: Desvio Padrão

IRM: Imagem por Ressonância Magnética  
Gd-DTPA : Gadolínio ácido dietileno triamino penta acético  
MET: Microscopia Eletrônica de Transmissão  
MPMS: *Magnetic Property Measurement System*  
SQUID: *Superconducting Quantum Interference Devices*  
NP: Nanopartículas  
NP-PM: Nanopartículas Polimérico-Magnéticas  
NP Magnéticas: Nanopartículas Magnéticas  
DRX: Difração de Raios X  
EDS: *Energy Dispersive Spectroscopy*

## RESUMO

Foram estudadas a preparação e caracterização de nanopartículas polimérico-magnéticas para possível utilização biomédica. As nanopartículas utilizadas foram de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) e os polímeros escolhidos foram o alginato e a quitosana. As possíveis aplicações biomédicas são a liberação controlada de fármacos, a imagem por ressonância magnética, e tratamento do câncer por hipertermia. Foram preparados dois tipos de amostras: nanopartículas magnéticas puras e encapsuladas em matriz polimérica. As amostras foram analisadas por difração de raios X, técnicas de espalhamento de luz (para tamanho e potencial zeta), microscopia eletrônica de transmissão, e SQUID magnético. Os picos identificados por difração de raios X conferem com os da ficha JCPDS da magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). O tamanho médio encontrado através do método de Debye-Scherrer foi 10 nm. No caso da microscopia eletrônica de transmissão, os diâmetros ficaram entre 10 e 20 nm para a magnetita pura, e 15 e 30nm para a magnetita encapsulada em matriz de alginato e quitosana. Os valores de magnetização variaram de 75 a 100 emu/g para as nanopartículas de magnetita pura e 8 a 12emu/g para as recobertas por alginato e quitosana. O campo de saturação de ambas as amostras ficou na faixa de 49 a 50 kOe. Verificaram-se variações nos resultados entre as duas amostras em todas as análises. Essas variações foram atribuídas ao encapsulamento das nanopartículas magnéticas pelo polímero. As nanopartículas polimérico-magnéticas atenderam aos requisitos básicos para sua aplicação biomédica.

## ABSTRACT

The preparation and characterization of polymeric-magnetic nanoparticles for possible biomedical use were studied. The nanoparticles used were magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) and the polymers chosen were alginate and chitosan. The possible biomedical applications are the controlled release of drugs, magnetic resonance imaging, and treatment of cancer by hyperthermia. Two types of samples were prepared: magnetic nanoparticles pure and encapsulated in polymeric matrix. The samples were analyzed by X-ray diffraction, light scattering (for size and zeta potential), transmission electron microscopy, and magnetic SQUID. The peaks identified by X-ray diffraction are in agreement with the JCDPS file of magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). The average size calculated using the Debye-Scherrer technique was 10 nm. In the case of transmission electron microscopy, the measured diameters were between 10 and 20 nm for pure magnetite, and between 15 and 30 nm for the magnetite encapsulated in alginate and chitosan. The values of magnetization ranged from 75 to 100 emu/g for nanoparticles of pure magnetite and 8 to 12 emu/g for alginate and chitosan coating, at different temperatures. The saturation of both samples was in the range of 49 to 50 kOe. There were variations in results between the two samples in all tests. These variations were attributed to the encapsulation of magnetic nanoparticles by the polymer. Polymeric-magnetic nanoparticles met the basic requirements for biomedical application

## **1-INTRODUÇÃO:**

### **1.1- CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Devido ao advento da nanotecnologia, grandes avanços na ciência agora são possíveis. Na medicina, a nanotecnologia também possibilitou uma série de avanços, abrindo um enorme leque de aplicações. Hoje a medicina desponta como maior e mais promissora área de aplicação nanotecnológica. E é nessa área que este trabalho concentra seus esforços, buscando a produção e caracterização de um material que possa ser aplicado em pesquisas que visem uma melhora na expectativa e qualidade de vida da população, principalmente da grande parcela que não têm acesso a serviços de saúde essenciais e de qualidade devido aos enormes encargos financeiros que são cobrados por esses serviços. Neste trabalho é dada ênfase ao transporte e liberação de fármacos, à obtenção de imagem por ressonância magnética e ao tratamento do câncer. Para tal, são aplicadas nanopartículas polimérico-magnéticas, e aqui se buscou um método de síntese e a caracterização dessas partículas. É importante ressaltar que este trabalho se trata de uma pesquisa de base, e como tal, fornece substrato com o qual a pesquisa aplicada pode trabalhar, e mais que isso, nos ajuda a entender melhor os elementos e processos que nos rodeiam. Aqui se procura conhecer bem as propriedades do material sintetizado, pois tal conhecimento é fundamental para suas aplicações. Uma maior descrição das nanopartículas magnéticas e suas aplicações será dada nos capítulos a seguir.



## 1.2- OBJETIVOS DO TRABALHO

Este trabalho tem como finalidade a produção e caracterização de nanopartículas polimérico-magnéticas com possível utilização biomédica, em especial no transporte e liberação de fármacos no corpo, como contraste para exames de imagem por ressonância magnética, e para o tratamento do câncer por hipertermia.

## 2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1- NANOTECNOLOGIA:

O conceito original de nanotecnologia envolve a construção de estruturas em escala molecular e a manipulação de materiais em uma escala atômica (cerca de dois décimos de um nanômetro). A nanotecnologia também pode ser definida como o estudo e uso de estruturas com tamanho entre 1 e 100 nanômetros. Um nanômetro é definido como um bilionésimo de metro. Para se ter ideia de como é pequeno, ter-se-ia que colocar 800 partículas com tamanho de 100 nanômetros lado a lado para se conseguir alcançar a largura de um fio de cabelo (BOYSEN, 2007).

Por séculos cientistas vem estudando e trabalhando com nanopartículas, porém a eficiência dos seus trabalhos tem sido prejudicada pela incapacidade de ver a estrutura das nanopartículas. Nas últimas décadas, o desenvolvimento de microscópios e outros equipamentos capazes de mostrar e caracterizar partículas tão pequenas quanto átomos permitiu aos cientistas verem e entenderem, de fato, com o que eles estão trabalhando (BOYSEN, 2007).

A capacidade de detectar materiais nanométricos gerou um mundo de possibilidades em inúmeros setores, isso porque a nanotecnologia é essencialmente um conjunto de técnicas que permitem a manipulação das propriedades dos materiais em uma escala muito pequena, e pode ter inúmeras aplicações, tais como:

#### MEDICINA:

- Direcionamento e controle de fármacos;
- Técnicas terapêuticas;
- Técnicas de diagnóstico e imagem;
- Técnicas anti-bacterianas;
- Reparação celular.
- Biomateriais.

#### ENERGIA:

- Células combustíveis;
- Células solares;
- Baterias;

- Combustíveis;

#### ELETRÔNICA:

- Armazenamento de dados;
- Telas planas;

#### MEIO AMBIENTE:

- Membranas seletivas para remover contaminantes ou sal da água;
- Novas possibilidades de reciclagem;

#### INDÚSTRIA AUTOMOBILÍSTICA / AERONÁUTICA:

- Detectores de agentes químicos e orgânicos;
- Sistemas miniaturizados de observação;
- Tecidos mais leves.

## 2.2- NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS:

Até recentemente, os esforços na área de nanotecnologia se concentravam quase totalmente na eletrônica, nos computadores, nas telecomunicações ou na manufatura de materiais. Porém, hoje podemos afirmar que a nanotecnologia biomédica vem assumindo a liderança nas pesquisas, e que vem produzindo avanços significativos em diagnósticos, terapias, biologia molecular e bioengenharia (ZULMIRA, 2004), tendo talvez como principal responsável por esse avanço, uso de nanopartículas magnéticas.

As nanopartículas magnéticas podem ser definidas como a classe de nanopartículas que podem ser manipuladas usando um campo magnético, e que normalmente são constituídas de elementos magnéticos, como ferro, níquel, cobalto e seus compostos. As propriedades físicas e químicas dessas nanopartículas dependem fortemente do método de síntese e da sua estrutura química. Seus tamanhos geralmente estão entre um e 100 nm, e podem apresentar superparamagnetismo quando o diâmetro estiver nessa faixa (AN-HUI LU et al, 2006). Esse magnetismo, que aparece em pequenas partículas ferromagnéticas ou ferrimagnéticas, que são aquelas que mesmo na ausência de campo magnético externo apresentam magnetização não-nula, é caracterizado principalmente pela alta susceptibilidade magnética e a ausência de histerese nesses materiais (SCHULZ, 2009). O superparamagnetismo ocorre em nanopartículas que

possuem um único domínio magnético, e a magnetização da nanopartícula é considerada como um único enorme momento magnético, soma de todos os momentos magnéticos individuais carregados pelos átomos das nanopartículas. As transições de materiais ferrimagnéticos ou ferromagnéticos em superparamagnéticos ocorrem abaixo da temperatura de Curie, que é a temperatura na qual esses materiais se tornam paramagnéticos (PIROTA, 2009). Nesse estado superparamagnético, existe uma probabilidade finita para que a magnetização da nanopartícula mude e reverta sua direção. O tempo médio entre duas mudanças de direção é chamado de tempo de relaxação de Néel  $T_N$ , e é dado pela equação de Néel-Arrhenius (NÉEL, 1949):

$$\tau_N = \tau_0 \exp(KV/(k_B T))$$

Onde:

$T_N$  : é o tempo médio que leva para a magnetização das nanopartículas mudar em função de variações térmicas.

$T_0$  : é uma medida de tempo, característica do material, chamado de tempo de tentativa, ou período de tentativa. Seu valor normalmente é de  $10^{-9} \sim 10^{-10}$  segundos.

$K$  : é a anisotropia magnética da nanopartícula, e  $V$  é o volume.

$k_b$  : é a constante de Boltzman.

$T$  : é a temperatura.

É interessante que esse tempo  $T_N$  pode ser de alguns nanosegundos a até anos ou mais tempo. Nota-se que  $T_N$  é uma função exponencial do volume das partículas (ou grãos). Isso evidencia o fato de que em alguns materiais muito granulados ou em nanopartículas grandes, essa probabilidade de mudança na direção da magnetização torna-se insignificante (SCHULZ, 2009).

É importante destacar a dependência do tempo de medida da magnetização. Se esse tempo for muito maior que  $T_N$ , a magnetização das nanopartículas irá mudar várias vezes durante a medição, resultando numa magnetização medida igual a zero. Se o tempo de medida for muito menor que  $t_N$ , a magnetização não irá mudar durante a medida, logo a magnetização medida será o próprio momento magnético das nanopartículas (MORUP and TRONC, 1994).

No primeiro caso, as nanopartículas parecerão estar no estado superparamagnético, enquanto que no segundo caso elas parecerão estar no estado

ferromagnético. A transição entre os estados superparamagnéticos e ferromagnéticos se dá quando o tempo de medida for igual ao tempo de Néel. É possível em experimentos fixar o tempo de medida e variar a temperatura, de modo que a transição de estado magnético se dê em função dessa mesma. A temperatura para a qual o tempo de medida é igual ao tempo de Néel é chamada de temperatura de bloqueio, na qual abaixo dela, a magnetização parece estar “bloqueada” na escala de tempo de medição (MORUP and TRONC, 1994).

Na presença de um campo magnético externo aplicado às nanopartículas superparamagnéticas, elas tendem a se alinhar ao longo do campo magnético, levando à uma magnetização líquida. Caso essas nanopartículas sejam idênticas e estejam aleatoriamente orientadas, o ciclo de histerese será uma função de Langevin, dada por:

$$M(H) = N\mu L(\xi)$$

$$\xi = \frac{\mu_0 H \mu}{k_B T}$$

Com  $\xi$  dado por:

Onde:

N: é o n° de nanopartículas.

$\mu$ : é o momento magnético de uma nanopartícula.

H: é o campo magnético aplicado.

L: é a função de Langevin

A inclinação inicial da curva MxH é a função da susceptibilidade magnética  $\chi$  das nanopartículas magnéticas, de modo que:

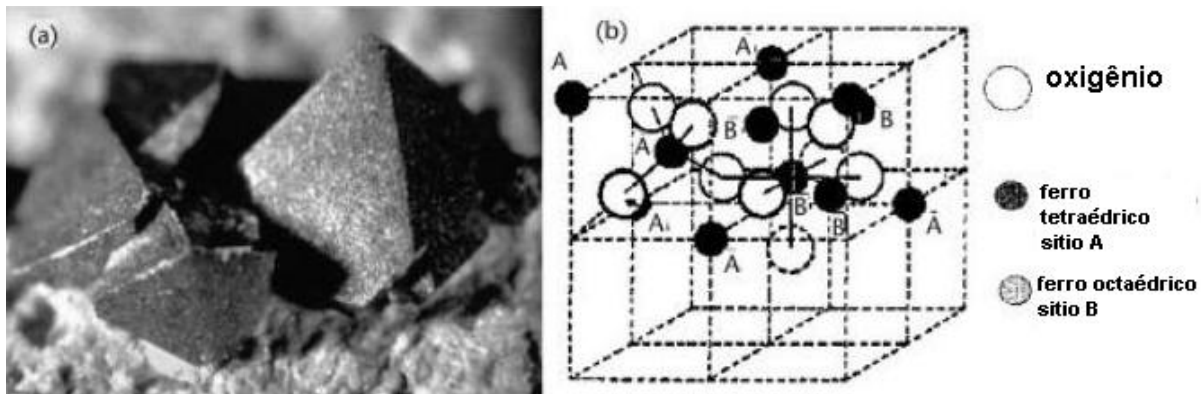
$$\chi = \frac{N\mu_0\mu^2}{3k_B T}$$

Essa equação mostra que nanopartículas grandes têm momento magnético grande e, como consequência, uma grande susceptibilidade magnética. A partir daí, é possível concluir que nanopartículas superparamagnéticas se comportam como paramagnéticas

com uma susceptibilidade muito grande, tendo a saturação da magnetização ocorrendo a campos magnéticos muito fortes, devido ao fato que para mudá-la, é necessário mudar a magnetização como um todo. Isso é consequência direta de que essas nanopartículas apresentam monodomínio magnético (SCHULZ, 2009).

O campo magnético necessário para reverter a direção da magnetização de uma nanopartícula de monodomínio é chamado coercividade. Em outras palavras, é o campo magnético necessário para reduzir a magnetização do material à zero, após essa magnetização alcançar a saturação (BERTOTTI, 1998).

Dentre as nanopartículas magnéticas, as que mais vêm se destacando em aplicações biomédicas são as nanopartículas de óxido de ferro, mais precisamente a magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) e a maghemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ). A magnetita é um dos minérios mais empregados para a obtenção do ferro. Esse minério é um óxido de ferro misto com  $\text{FeO}$  e  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  apresentando estrutura de espinélio invertida, com íons  $\text{O}_2^-$  de empacotamento cúbico, os íons maiores  $\text{Fe}^{2+}$  nos interstícios octaédricos, a metade dos íons  $\text{Fe}^{3+}$  em sítios octaédricos e a metade restante em posições tetraédricas. A magnetização do  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ocorrerá com a presença de campo magnético externo, desaparecendo quando o campo for retirado. Esse efeito é devido a não conservação da orientação magnética dos átomos individuais (SIDHU, 1978 apud FINOTELLI, 2006).



**FIG.1** Estrutura da magnetita. (a) cristal natural, (b) estrutura cristalina da magnetita com O- oxigênio, A, o cátion tetraédrico de  $\text{Fe}^{3+}$ , e B, o cátion octaédrico de  $\text{Fe}^{3+}$  (SCHULZ, 2009).

A maghemita também é um óxido de ferro, conhecida como  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ . Ela possui a estrutura cristalina (e natureza fortemente magnética) da magnetita, porém a composição

é a mesma da hematita. A estrutura da maghemita é de espinélio defeituoso, deficiente em ferro, ou seja, não existem  $\text{Fe}^{3+}$  suficientes para o preenchimento de todos os sítios tetraédricos e octaédricos (SCHULZ, 2009).

### 2.2.1- PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS:

Existem diversos métodos de se produzir nanopartículas magnéticas como o método Cerâmico Convencional, o método de Reação de Combustão, Microemulsão, método Sol-Gel. Neste trabalho foi utilizado o método de Coprecipitação de  $\text{Fe}^{+2}$  e  $\text{Fe}^{+3}$  em solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , que será descrito, em detalhes, posteriormente. Em seu trabalho, Montagne, et. al., 2002, produziu nanopartículas de maghemita a partir da coprecipitação de  $\text{Fe}^{+2}$  e  $\text{Fe}^{+3}$  com a utilização de hidróxido de amônio e posterior adição de ácido oléico. Já Igartua, et. al., 2001, preparou nanopartículas de magnetita a partir da coprecipitação de  $\text{FeCl}_2$  e  $\text{FeCl}_3$  em solução de  $\text{HCl}$  (10%) na presença de hidróxido de amônio e subsequente recobrimento com ácido oléico. Caiser, et. al., 2002, utilizou o método sol-gel para produzir nanopartículas de óxido de ferro.

Dentre as aplicações biomédicas dessas nanopartículas magnéticas, vamos destacar três:

- Liberação Controlada de Fármacos;
- Hipertermia;
- Imagem por Ressonância Magnética.

### 2.3- LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS:

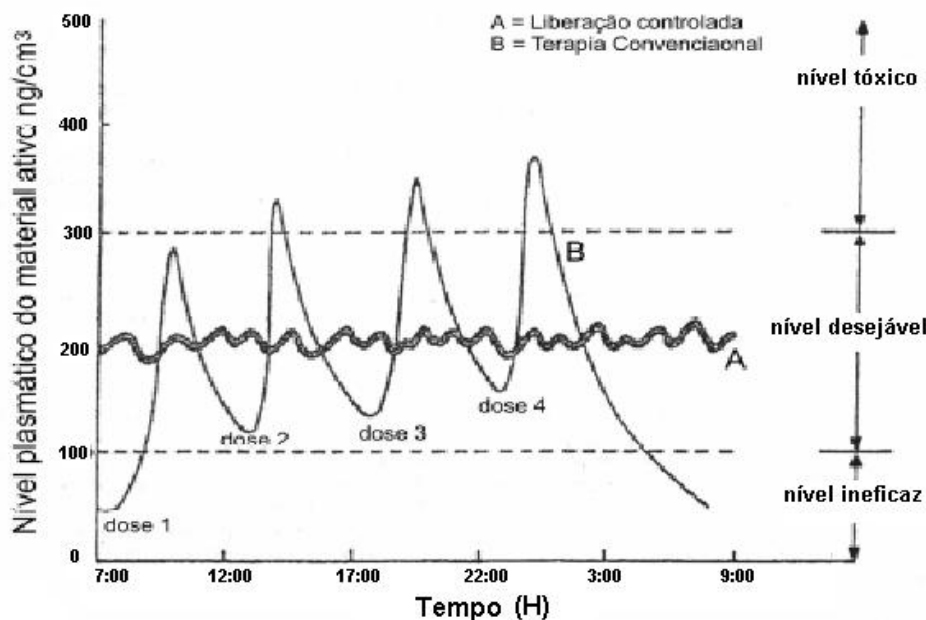
Podemos definir como sistemas de liberação controlada aqueles nos quais o agente ativo é liberado independentemente de fatores externos e com uma cinética bem estabelecida. Esses sistemas de liberação oferecem inúmeras vantagens quando comparados a outros de dosagem convencional (KUMAR, 2000). Dentre essas vantagens, podemos destacar (FINOTELLI, 2006):

- i) Maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco, a partir da degradação da matriz ou controlada externamente, por difusão.

- ii) Diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação;
- iii) Natureza e composição dos veículos variada e, ao contrário do que se poderia esperar, não há predomínio de mecanismos de instabilidade e decomposição do fármaco (bio-inativação prematura);
- iv) Administração segura (sem reações inflamatórias locais) e conveniente (menor número de doses);
- v) Direcionamento a alvos específicos, sem imobilização significativa das espécies bioativas;
- vi) Tanto substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas podem ser incorporadas.

Para mostrar a importância desses mecanismos de liberação, serão ilustradas duas situações de administração de um medicamento, mostradas na FIG.1: A situação A, em que um determinado medicamento é liberado de forma controlada e a situação B, em que é liberado de forma convencional. Na situação B, após a ingestão ou injeção de formas de dosagem padrão, o nível sanguíneo da droga aumenta, vai até um máximo e então decai exponencialmente quando o fármaco é excretado e/ou metabolizado, requerendo a administração de várias doses ao dia (DASH & CUDWORTH II, 1998 E LANGER, 1990). Já que tais fármacos têm uma faixa terapêutica acima da qual é tóxica e abaixo da qual é ineficaz, as oscilações dos níveis da droga podem causar períodos alternantes de ineficiência e toxicidade (LANGER, 1990). Por essa razão, o desenvolvimento de dispositivos de liberação controlada que podem manter um nível desejado no plasma por um longo período sem alcançar o nível tóxico ou ir além de um nível efetivo mínimo, fato que é ilustrado na situação A, é de grande interesse.





**FIG. 2** Perfil de concentração plasmática do fármaco versus tempo, de um fármaco administrado convencionalmente (B), comparado com um sistema de liberação controlada (A) (DASH & CUDWORTH II - adaptada)

### 2.3.1- MECANISMOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA:

Os sistemas que se assemelham aos processos biológicos nos quais a quantidade de fármaco liberada é função das necessidades fisiológicas, são conhecidos como sistemas “open loop”, em contraposição aos “closed loop” (SERSHEN et al, 2002). Os mecanismos externos de ação estimulante à liberação do núcleo das cápsulas nos sistemas “open loop” são baseados em suas propriedades magnéticas, elétricas, e térmicas, e na ação do ultra-som e da radiação quando aplicados à nanocápsulas (FINOTELLI, 2006). No caso particular, quando nanopartículas magnéticas estão uniformemente dispersas em uma matriz polimérica, e esta entra em contato com o sistema biológico, ocorre a difusão normal do fármaco devido ao gradiente de concentração. Porém, se aplicarmos um campo magnético externo oscilante, uma maior quantidade de fármaco poderá ser liberada mais rapidamente (DASH & CUDWORTH II, 1998). Os parâmetros considerados críticos para a regulação da liberação incluem a posição, orientação, e força magnética das partículas embutidas no polímero, e ainda a amplitude e frequência do campo magnético aplicado. Além dos parâmetros ligados às

partículas magnéticas e ao campo magnético, a natureza do polímero também deve ser levada em consideração. Caso a matriz polimérica não seja biodegradável no corpo humano, ela terá que ser removida, caso se trate de um implante, através de uma cirurgia, implicando em um alto custo e risco para o paciente (FINOTELLI, 2006). Daí a necessidade da utilização de polímeros biodegradáveis, que se fragmentem em pedaços menores, não tóxicos, e que possam ser excretados facilmente pelo corpo.

#### 2.4- HIPERTERMIA:

A hipertermia é uma terapia promissora para a cura e tratamento do câncer (YANG et al, 2006, ZHAO et al, 2006). Os componentes envolvidos nessa terapia são materiais magnéticos como óxidos de ferro (ferrofluidos) e técnicas como aplicação de campo magnético oscilante. A aplicação deste campo em fluidos magnéticos é capaz de gerar calor pela transformação de energia magnética em térmica, elevando a temperatura local a uma faixa de 41 a 46°C, na qual se mata a célula tumoral sem matar a célula normal (ZHAO et al, 2006). Segundo Zhao, *et al* (2006), as partículas transformam a energia do campo magnético oscilante em calor por mecanismos físicos (agitação das nanopartículas magnéticas devido à presença do campo magnético oscilante) e a eficiência dessa transformação depende fortemente da frequência do campo externo e da natureza das partículas. Esse aquecimento varia em função do tamanho e da microestrutura das partículas, pois essas características irão influenciar profundamente em suas propriedades magnéticas (ATSUMI et al, 2007). As células tumorais são sensíveis a variações de temperatura. Assim, em presença de ferrofluidos e com a aplicação de um campo magnético, pode-se eliminar células tumorais *in vivo* e *in vitro* por hipertermia (JORDAM et al., 1999).

Os fluidos magnéticos são colóides de partículas magnéticas constituídos de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), maghemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), dióxido de cromo ( $\text{CrO}_2$ ) e outros, que são facilmente sintetizados em escala laboratorial. Segundo D.H. Kim, *et al* (2005), esta aplicação de hipertermia exige que as nanopartículas magnéticas possuam altos valores de magnetização para altos valores de energia térmica, e tamanho menor que 50nm, com estreita distribuição de tamanho de partículas. Além disso, para aplicação em hipertermia, essas nanopartículas magnéticas necessitam de um revestimento superficial especial,

que deve ser, não só não-tóxico e biocompatível, mas que também permita o direcionamento das partículas a uma área específica. Por causa de suas superfícies hidrofóbicas e a grande área superficial em relação ao volume, na utilização *in vivo* de nanopartículas magnéticas, estas tendem a se aglomerar e serem liberadas rapidamente pela circulação. Evitar esses obstáculos é possível se a superfície das nanopartículas for modificada por um polímero biocompatível.

A primeira aplicação clínica de hipertermia utilizando nanopartículas magnéticas em seres humanos foi realizada por johannsen et. al (2005) em pacientes com câncer de próstata. Os resultados mostraram que o método foi bem tolerado, sendo que as nanopartículas magnéticas permaneceram na próstata por algumas semanas, permitindo assim tratamentos seqüenciais de hipertermia, dispensando repetidas aplicações do fluido magnético. As nanopartículas magnéticas podem ser associadas ainda a anticorpos monoclonais específicos para membranas de células tumorais. Quando administrado, este conjugado potencializa o contraste de imagem na ressonância magnética, possibilitando que metástases sejam localizadas de forma mais eficiente e precoce, para posteriormente eliminar as células tumorais por hipertermia (SCHUTT, et. al, 1995).

## 2.5- IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA:

A ressonância magnética é uma técnica cujos primeiros trabalhos datam da década de 70. Ela foi desenvolvida a partir de conhecimentos adquiridos no estudo da ressonância magnética nuclear. Apesar de nos primeiros anos a técnica ficar conhecida pelo nome de “imagem por ressonância magnética nuclear”, a palavra nuclear era associada pelo público à exposição a radiação ionizante. Então se optou apenas por “imagem por ressonância magnética (IRM)”.

Ela é essencialmente uma técnica de imagem médica, talvez a mais comumente utilizada em radiologia, para visualizar a estrutura detalhada e função limitada do corpo. A IRM fornece contraste muito maior entre diferentes tecidos moles do corpo do que a tomografia computadorizada, tornado-se especialmente útil nas imagens neurológicas, músculo-esqueléticas, cardiovasculares e oncológicas.

Ao contrário da tomografia computadorizada, a IRM não utiliza radiação ionizante, e sim um poderoso campo magnético para alinhar a magnetização de, mais comumente, átomos de hidrogênio e carbono presentes na água do corpo. Frequências de radio são

usadas para sistematicamente alterar o alinhamento dessa magnetização, fazendo com que os átomos de hidrogênio produzam um campo magnético rotativo que pode ser detectado por um *scanner*. Este sinal pode ser manipulado por campos magnéticos adicionais para acumular informações suficientes para construir uma imagem do corpo. Na FIG.3 é possível visualizar um equipamento de IRM.



**FIG. 3** Equipamento utilizado para fazer IRM (GOULD, 2000)

O corpo é composto em grande parte de moléculas de água, cada uma contendo dois átomos ou prótons de hidrogênio. Quando uma pessoa é colocada dentro do forte campo magnético do *scanner*, os momentos magnéticos desses prótons se alinham na direção do campo. Um campo eletromagnético de frequência de rádio é então brevemente ativado, fazendo com que os prótons alterem seu alinhamento em relação ao campo. Ao se desligar esse campo, os prótons tendem a retornar para o alinhamento da magnetização original. São justamente essas mudanças no alinhamento que criam um sinal que pode ser detectado pelo *scanner*. A frequência na qual os prótons irão ressoar depende da intensidade do campo magnético. A posição dos prótons no corpo pode ser determinada com a aplicação de campos magnéticos adicionais durante a varredura, que permitem que uma imagem do corpo seja criada. Isto é feito ligando e desligando as bobinas gradientes que compõem o equipamento, e como consequência, tem-se a geração dos sons de batidas durante a varredura.

Tecidos doentes, como tumores, podem ser detectados porque os prótons de diferentes tecidos retornam ao seu estado de equilíbrio à taxas diferentes. Ao se alterar os parâmetros do *scanner*, esse efeito é usado para criar um contraste entre diferentes tipos

de tecido do corpo. As FIG.3 e 4 mostram o interior de um aparelho de IRM e uma imagem gerada por ressonância magnética, respectivamente.



**FIG. 4** Paciente iniciando o exame de IRM (GOULD, 2000)



**FIG. 5** IRM da cabeça de um paciente (GOULD, 2000)

Para melhorar esse contraste, pode-se utilizar agentes de contraste, que melhoram a aparência dos vasos sanguíneos, tumores ou inflamações. Esses agentes podem ser injetados via intravenosa, ou no caso de imagem das articulações, podem ser injetados direto na articulação. O contraste mais utilizado é o Gd-DTPA (Gadolíneo ácido dietileno triamino penta acético). Esses agentes são considerados paramagnéticos e atuam diminuindo o tempo de relaxação dos prótons da água, ou seja, eles aumentam a velocidade com que os prótons da água se alinham ao campo magnético principal. Isso resulta em um maior sinal de RM e maior contraste.

Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro podem aumentar a capacidade de contraste em exames de IRM, devido as suas propriedades magnéticas. As grandes vantagens na utilização dessas nanopartículas são as modificações químicas que podem ser feitas para torná-las não-tóxicas, injetáveis, compatíveis com o corpo, e capazes de se concentrar em um alto nível no tecido ou órgão de destino, e também a natureza fortemente magnética dessas nanopartículas, as tornando excelentes agentes de contraste (POOJA, 2006). Segundo Pooja, com algum desenvolvimento avançado destes agentes, uma quantidade muito pequena de material será eficiente para produzir bastante contraste entre tecidos tumorais e bons.

(texto baseado em GOULD, 2000).

É possível observar que nas três aplicações citadas das nanopartículas superparamagnéticas, existe uma extrema necessidade de que essas nanopartículas tenham sua superfície recoberta, ou seja, que elas estejam de certa maneira encapsuladas por algum material que melhore sua interação com o corpo, e que no caso do sistema de liberação controlada de fármaco, é essencial para o aprisionamento do mesmo. Em geral, os materiais mais indicados para essas funções são os biopolímeros.

## 2.6- BIOPOLÍMEROS:

Os biopolímeros são produzidos por organismos vivos, como plantas e micro organismos. Celulose e amido, proteínas e peptídeos e DNA e RNA, são exemplos de biopolímeros, no qual as unidades monoméricas são, respectivamente, açúcares, aminoácidos e nucleotídeos.

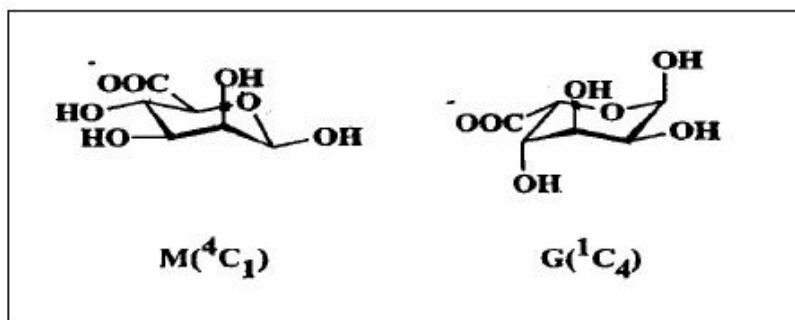
Biopolímeros estão presentes em qualquer organismo, e na maioria desses organismos eles contribuem para a maior fração da matéria seca celular. Eles possuem uma ampla gama de funções essenciais ou benéficas para os organismos: Conservação e

expressão de informação genética, catálises de reações, armazenamento de carbono, nitrogênio, fósforo e outros nutrientes, armazenamento de energia, defesa e proteção contra ataques de outras células, mediadores de aderência a superfícies de outros organismos ou de matéria não-viva, e muito mais. Além disso, muitos biopolímeros são componentes estruturais de células, tecidos ou organismos inteiros. Para cumprir todas essas funções, os biopolímeros precisam apresentar propriedades bastante diversificadas.

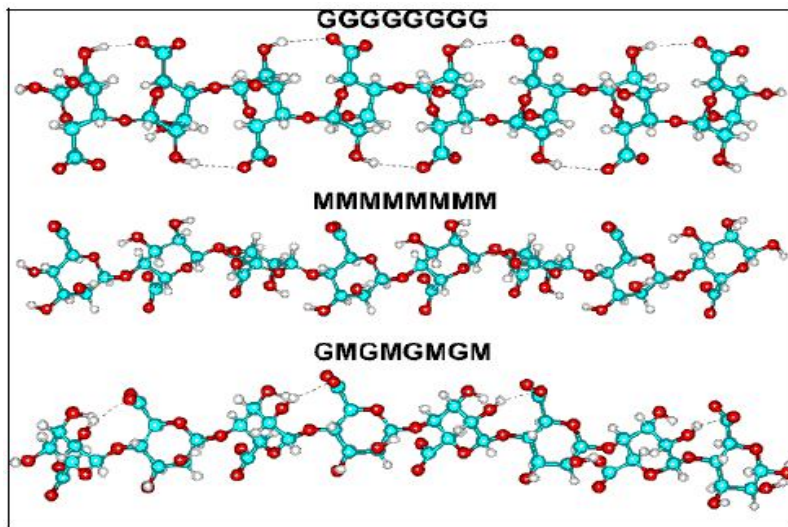
Para a realização deste trabalho, foram utilizados dois biopolímeros: o Alginato e a Quitosana.

### 2.6.1- ALGINATO:

O alginato é um polissacarídeo versátil produzido comercialmente a partir de algas marinhas. Ele afeta as propriedades de escoamento de uma solução – sua reologia. Essas propriedades são importantes na preparação de alimentos, formulações farmacêuticas e aplicações médicas especializadas, como encapsulamento celular (LEIMONE et al, 1998). O alginato é um copolímero linear composto de ácido  $\beta$ -D-Manurônico (M) e ácido  $\alpha$ -L-Gulurônico (G) (Fig. 5.1). Esses monômeros são arranjados em estrutura de blocos, sendo que sua composição e distribuição variam com a fonte do alginato (CHAN et al, 2002). Essa estrutura de blocos determina as propriedades físicas do polissacarídeo e particularmente no tipo de gel formado (FINOTELLI, 2006). As FIG. 5.1 e 5.2 ilustram a estrutura molecular do alginato.

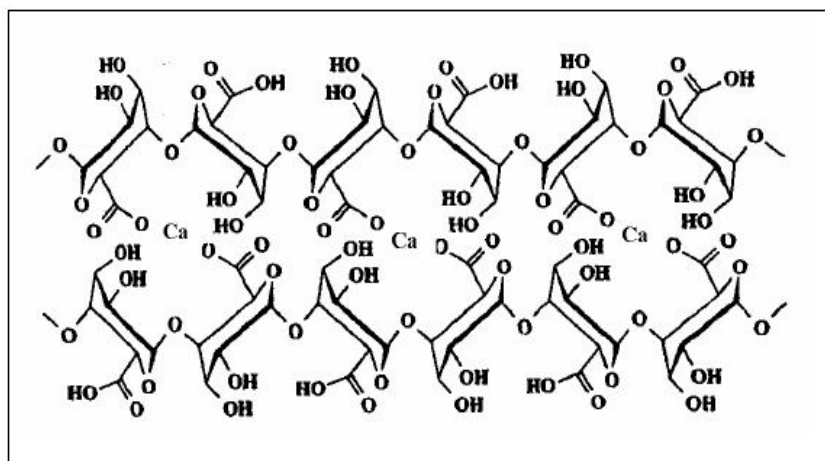


**FIG. 6.1** Unidade monomérica do alginato: ácido  $\beta$ -D-manurônico (M) e ácido  $\alpha$ -L-Gulurônico(G) (FINOTELLI, 2006)



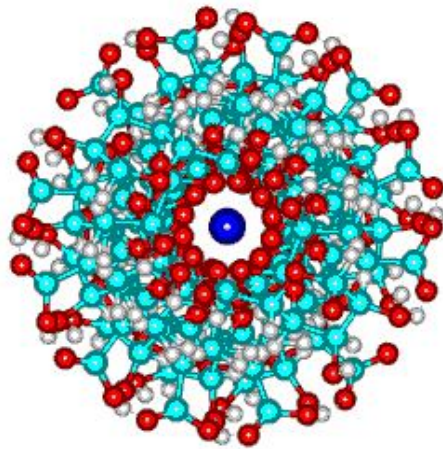
**FIG. 6.2** Estrutura molecular das unidades monoméricas do alginato (FINOTELLI, 2006)

O alginato forma um forte gel na presença de cátions divalentes, principalmente o cálcio, por meio de ligações iônicas cruzadas entre as cadeias poliônicas do alginato (BOISSESON et al, 2004). Essa gelificação do alginato é convencionalmente descrita em termos do modelo de “egg box”, onde cátions divalentes são ligados coordenadamente aos carboxilatos dos ácidos gulurônicos (ISKAKOV et al, 2002), como mostrado nas FIG. 6.1 e 6.2. A conformação do ácido gulurônico dá a distância adequada dos grupos carboxilas e hidroxilas dando um alto grau de coordenação com os íons de cálcio (FINOTELLI, 2006). O alginato também apresenta uma ótima biocompatibilidade.



**FIG. 7.1** Modelo de “egg-box” de gelificação do alginato de cálcio (FINOTELLI, 2006)

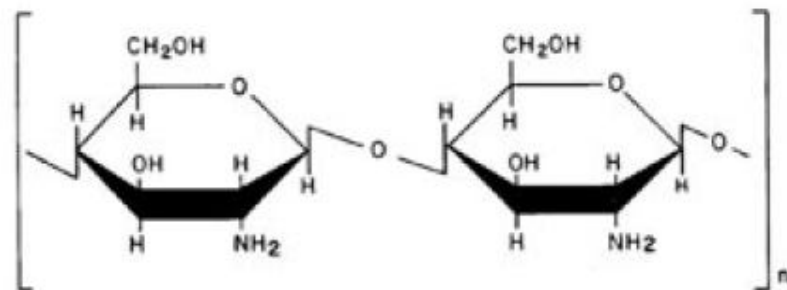




**FIG. 7.2** Estrutura molecular do modelo de "egg-box" do alginato de cálcio (FINOTELLI, 2006)

### 2.6.2- QUITOSANA:

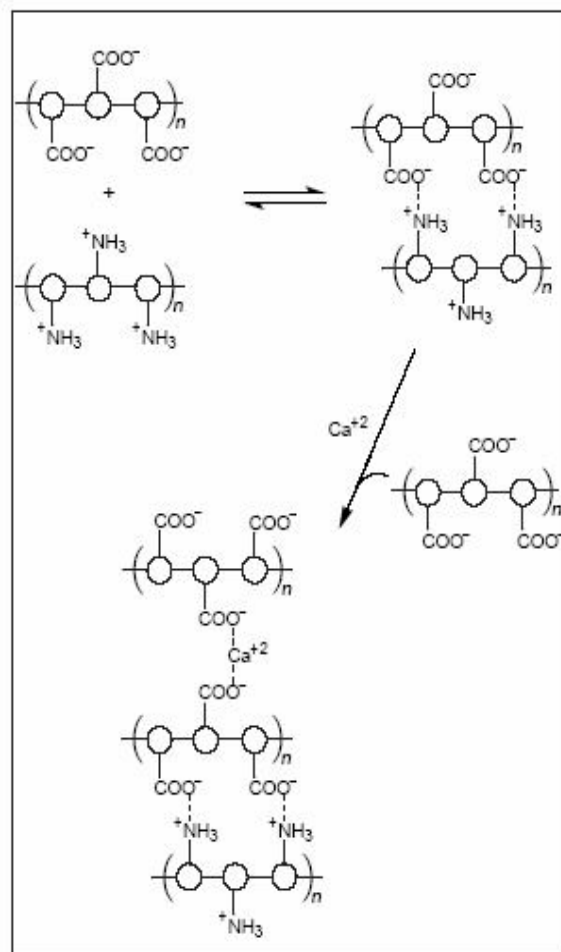
A quitosana é um polissacarídeo com muitas propriedades biológicas e químicas relevantes, como biodegradabilidade, biocompatibilidade, é policatiónico, hidrogel, contém grupos reativos OH e NH<sub>2</sub>, entre outras. A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina, que é o elemento estrutural do exoesqueleto de crustáceos (caranguejos, camarões, etc) (CANELLA et al, 2001). É constituída de copolímeros de glicosamina e N-acetilglicosamina. A FIG. 7 ilustra a estrutura da quitosana.



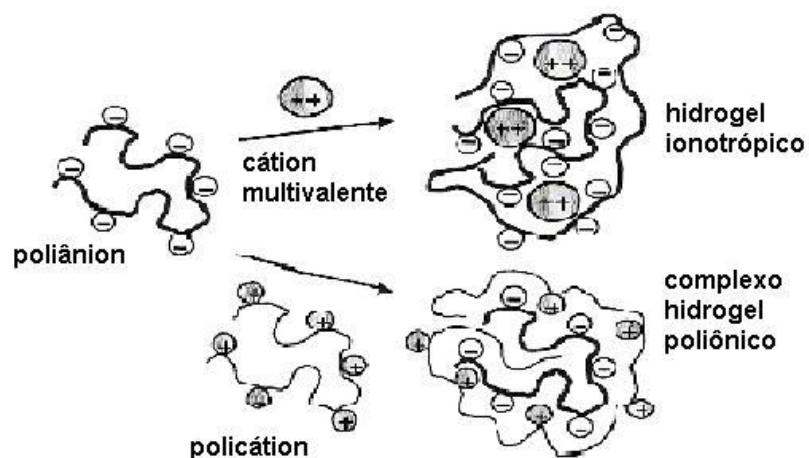
**FIG. 8** Estrutura da Quitosana (FINOTELLI, 2006).

A quitosana pode ser usada para a preparação de vários complexos polieletrólitos

com poliânions naturais, que estão sendo investigados para aplicações em liberação de fármacos e proteínas, transplante de células, imobilização de enzimas, entre outras (FINOTELLI, 2006). O complexo quitosana/alginato pode ser o mais importante para as aplicações objetivadas nesse trabalho. Esses complexos são formados a partir da forte interação eletrostática dos grupos amino da quitosana com os grupos carboxilas do alginato (MURATA et al, 1999), como mostrado nas FIG. 8 e 9. A estabilidade do complexo quitosana/alginato pode ser influenciada por parâmetros como o pH e força iônica, devido a protonação do grupo amino da quitosana e a ionização do grupo ácido carboxílico do alginato (FINOTELLI, 2006).



**FIG. 9** Sistema alginato/quitosana (FINOTELLI, 2006)



**FIG. 10** Esquema de formação de dois tipos de gel de alginato. Alginato de cálcio, gel "ionotrópico", e complexo alginato/quitosana, poliânion (HOFFMAN, 2002).

## 2.7- CARACTERIZAÇÃO:

### 2.7.1- DIFRAÇÃO DE RAIOS X:

A difração de raios X é uma técnica versátil e não-destrutiva que revela informações sobre a estrutura cristalográfica de materiais naturais e sintéticos.

A estrutura cristalina é uma distribuição regular tridimensional de átomos no espaço. Estes estão organizados de modo a formar uma série de planos paralelos separados entre si por uma distância  $d$ , que varia conforme a natureza do material. Para qualquer cristal, os planos existem em uma série de orientações diferentes – cada uma com seus próprios espaçamentos  $d$  específicos.

Quando um feixe de raios X monocromático com comprimento de onda  $\lambda$  incide sobre um material cristalino em um ângulo  $\theta$ , a difração ocorre somente quando a distância percorrida pelos raios refletidos de planos sucessivos difere por um número  $n$  inteiro de comprimento de onda.

Variando o ângulo  $\theta$ , as condições da Lei de Bragg são satisfeitas pelos diferentes espaçamentos  $d$  em materiais policristalinos. A relação das posições angulares e intensidades dos picos difratados resultantes da radiação produzem um padrão, que é característico da amostra. Onde houver a mistura de diferentes fases, o difratograma

resultante será formado pela adição dos padrões individuais.

A lei de Bragg é dada pela seguinte expressão:

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

onde:

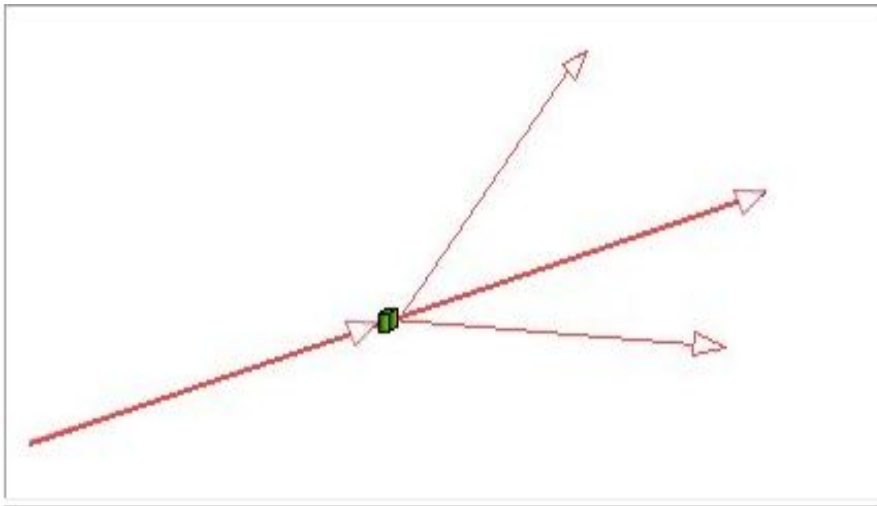
$n = n^\circ$  inteiro determinado pela ordem dada;

$\lambda$  = comprimento de onda dos raios X;

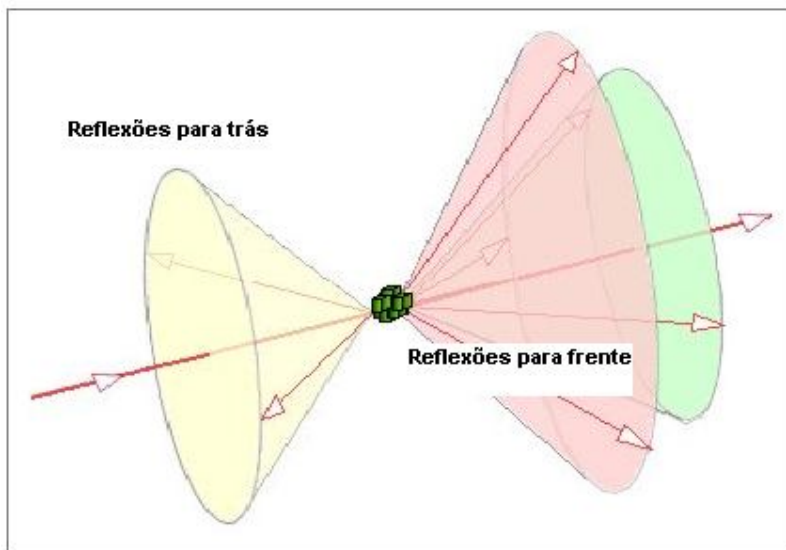
$d$  = espaçamento entre os planos;

$\theta$  = é o ângulo entre o raio incidente e os planos de espalhamento.

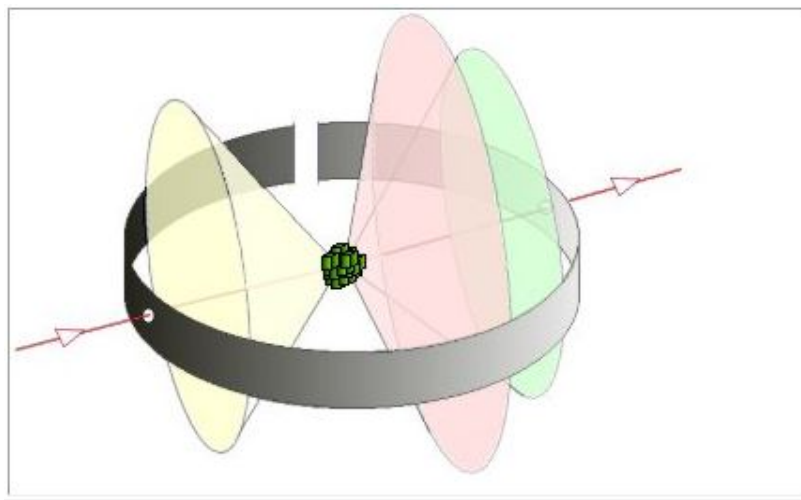
As FIG. 11.1 a 11.3 ilustram o chamado método de pó ou Lauie, de difração de raios X.



**FIG. 11.1** Se um feixe de raios-x monocromático é dirigido à um único cristal, então, poderão resultar apenas um ou dois feixes (MATTER, 2000).



**FIG. 11.2** Se a amostra é constituída por algumas dezenas de monocristais orientados ao acaso, os feixes difratados são vistos sobre a superfície de vários cones. Os cones podem surgir em todas as direções, para frente e para trás (MATTER, 2000).



**FIG. 11.3** Uma amostra em pó mostra que os feixes difratados formam cones contínuos. Um filme circular é utilizado para registrar o padrão de difração, como mostrado. Cada cone intercepta o filme dando as linhas de difração. As linhas são vistas como arcos sobre o filme (MATTER, 2000).

A difração de raios X é um método poderoso para o estudo de nanomateriais. Estes materiais têm um tamanho de estrutura característico, comparável com as escalas de

comprimento crítico de fenômenos físicos, dando-lhes propriedades mecânicas, óticas e eletrônicas únicas. Difractogramas de nanomateriais fornecem uma riqueza de informações – de composição de fase a tamanho de cristalito, da distorção da “malha” à orientação cristalográfica.

O tamanho médio de cristalito pode ser obtido através da fórmula de Scherrer, que é dada por:

$$t = K \lambda / \beta \cos \theta$$

$$\beta = (B^2 - b^2)^{1/2}$$

onde: onde t = tamanho do cristal (nm); K = Fator de Scherrer;  $\lambda$  = comprimento de onda do raio X (nm);  $\beta$  = largura a meia altura do pico de difração (radianos);  $\theta$  = ângulo de Bragg (radianos); B = largura a meia altura do pico difratado da amostra; e b = a largura a meia altura de um pico do padrão difratométrico numa região próxima ao pico do difratograma. Para as medidas efetuadas, K = 0,89. (CULLITY, B.D., 1978, e MATTER, 2000).

#### 2.7.2- MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO:

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) é talvez a técnica mais adequada quando se deseja obter imagens diretas de nanopartículas. No MET, uma amostra é irradiada com um feixe de elétrons de densidade de corrente uniforme; a energia dos elétrons está na faixa de 60~150 KeV. O feixe de elétrons pode ser gerado por fontes termo-iônicas, na qual há o aquecimento de um filamento de tungstênio ou hexaboreto de lantânio, ou por fontes de emissão de campo, onde há a geração de campos elétricos intensos em formas pontiagudas, como por exemplo, uma ponta de tungstênio, que com raio menor que 0,1 mm, pode gerar sob um potencial de 1 KeV, um campo elétrico de  $10^{10}$  V/m, baixando significativamente a barreira de potencial e permitindo assim o tunelamento dos elétrons para fora do tungstênio.

Um microscópio eletrônico de transmissão consiste de uma fonte emissora de elétrons e um conjunto de lentes eletromagnéticas que controlam o feixe emitido, encerrados em uma coluna evacuada com uma pressão cerca de  $10^{-5}$  mmHg. A FIG. 11 ilustra a estrutura do MET.

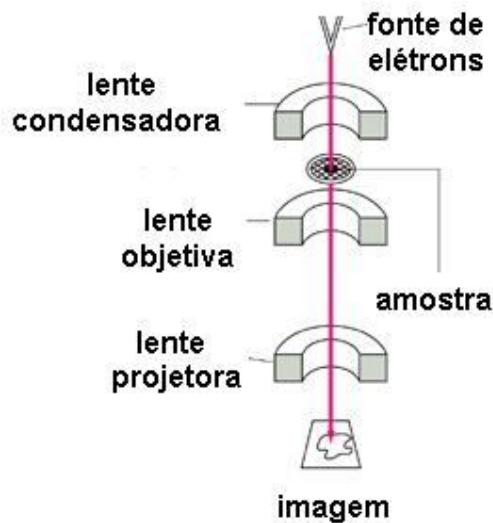


FIG. 12 Esquema da estrutura do MET (ALBERTS, 2002)

Um equipamento moderno possui cinco ou seis lentes magnéticas, além de várias bobinas eletromagnéticas de deflexão e aberturas localizadas ao longo do caminho do feixe eletrônico. Entre estes componentes, destacam-se os três seguintes pela sua importância com respeito aos fenômenos de difração eletrônica: lente objetiva, abertura objetiva e abertura seletiva de difração. A função das lentes projetoras é apenas a produção de um feixe paralelo e intenso suficiente na incidência sobre a superfície da amostra.

Os elétrons saem da amostra pela superfície inferior com uma distribuição de intensidade e direção controladas principalmente pelas leis de difração impostas pelo arranjo cristalino dos átomos da amostra. Em seguida, a lente objetiva é acionada, formando a primeira imagem desta distribuição angular dos feixes eletrônicos difratados. Após esse processo da lente objetiva, as lentes restantes servem apenas para aumentar a imagem ou diagrama de difração para futura observação na tela ou na chapa fotográfica.

A imagem observada é a projeção de uma determinada espessura do material, havendo diferença com relação ao observado numa superfície. Há uma projeção de linhas, áreas e volumes de interesse, podendo ocorrer superposição.

O contraste nas imagens formadas em MET tem diversas origens, tais como diferença de espessura, diferença de densidade ou de coeficiente de absorção de elétrons (contraste de massa), difração e campos elásticos de tensão. (WILLIAMS, D. B. e CARTER, C. B.).

### 2.7.3- MAGNETOMETRIA: SQUID MAGNÉTICO.

SQUID é a sigla para “Superconducting Quantum Interference Devices”, que são magnetômetros muito sensíveis utilizados para medir campos magnéticos extremamente fracos.

O dispositivo de SQUID é composto basicamente de um anel supercondutor interrompido por uma junção Josephson, pois o princípio de funcionamento é baseado no efeito Josephson e na quantização do fluxo magnético em um circuito supercondutor fechado. O MPMS (“Magnetic Property Measurement System”) é configurado para trabalhar em um amplo intervalo de temperatura e campos magnéticos. Se equipado com um forno especial, pode atingir até 800k como temperatura máxima.

O processo normal de medida consiste basicamente em posicionar a amostra no interior das bobinas detectoras, fazendo-a atravessar todo percurso enquanto o sinal de saída do detector SQUID é medido.

A vantagem de se utilizar o SQUID é que se pode medir a magnetização em amostras muito pequenas e ainda assim obter resultados muito satisfatórios.

(Informações retiradas do manual do equipamento MPMS XL da Quantum Design Inc).

A caracterização das propriedades magnéticas das nanopartículas é extremamente importante, uma vez que todas as aplicações citadas neste trabalho dependem diretamente dessas propriedades.

### 2.7.4- TAMANHO DAS PARTÍCULAS:

O tamanho das nanopartículas magnéticas e das NP-PM pode ser determinado por equipamentos que empregam a técnica de espalhamento de luz. Por essa técnica, quando um raio luminoso atravessa uma dispersão coloidal e atinge uma nanopartícula em movimento browniano, ocorre o espalhamento da luz. O equipamento relaciona o tamanho das partículas com a quantidade de luz espalhada. É possível determinar um diâmetro hidrodinâmico médio, porcentagem de distribuição de tamanho e índice de polidispersividade (XU, 2007). É uma medida importante, pois o tamanho das nanopartículas precisa estar em um intervalo bem definido para que apresentem o superparamagnetismo e para que possam ser utilizados em aplicações biomédicas.



### 2.7.5- POTENCIAL ZETA:

Potencial Zeta é uma abreviação de potencial eletrocinético em sistemas coloidais. Do ponto de vista teórico, todos os materiais macroscópicos ou particulados em contato com um líquido, adquirem uma carga elétrica em sua superfície. A carga líquida na superfície da partícula afeta a distribuição de íons na sua vizinhança, aumentando a concentração de contra-íons junto à superfície. Assim, forma-se uma dupla camada elétrica na interface da partícula com o líquido.

Essa dupla camada divide-se em duas regiões: uma região interna que inclui íons fortemente ligados à superfície e uma região exterior onde a distribuição dos íons é determinada pelo equilíbrio entre forças eletrostáticas e movimento térmico. Dessa forma, o potencial nessa região decai com o aumento da distância da superfície até, a uma distância suficientemente segura, atingir o potencial da solução. Esse potencial é convencionalmente chamado de Potencial Zero.

Em um campo elétrico, como em microeletroforese, cada partícula e os íons mais fortemente ligados à mesma se movem como uma unidade, e o potencial no plano de cisalhamento entre essa unidade e o meio circundante é chamado Potencial Zeta. Esse potencial é função da carga superficial da partícula, de qualquer camada adsorvida na interface com o meio, e da natureza e composição do meio que a circunda. Como esse potencial reflete a carga efetiva nas partículas, ele se relaciona com a repulsão eletrostática entre elas e com a estabilidade da suspensão. O Potencial Zeta também varia em função do pH da solução que se deseja analisar, conforme é ilustrado na figura 12.

A regra geral para a estabilidade eletrostática da solução é a faixa de Potencial Zeta de  $\pm 30$  mV (ANDRADE, et. al, 2008). Se o potencial da solução estiver fora dessa faixa, então a solução pode ser considerada estável. A FIG. 13 ilustra esta regra.

(Informações obtidas em Zeta Potential Overview, da empresa Brookhaven Instruments)

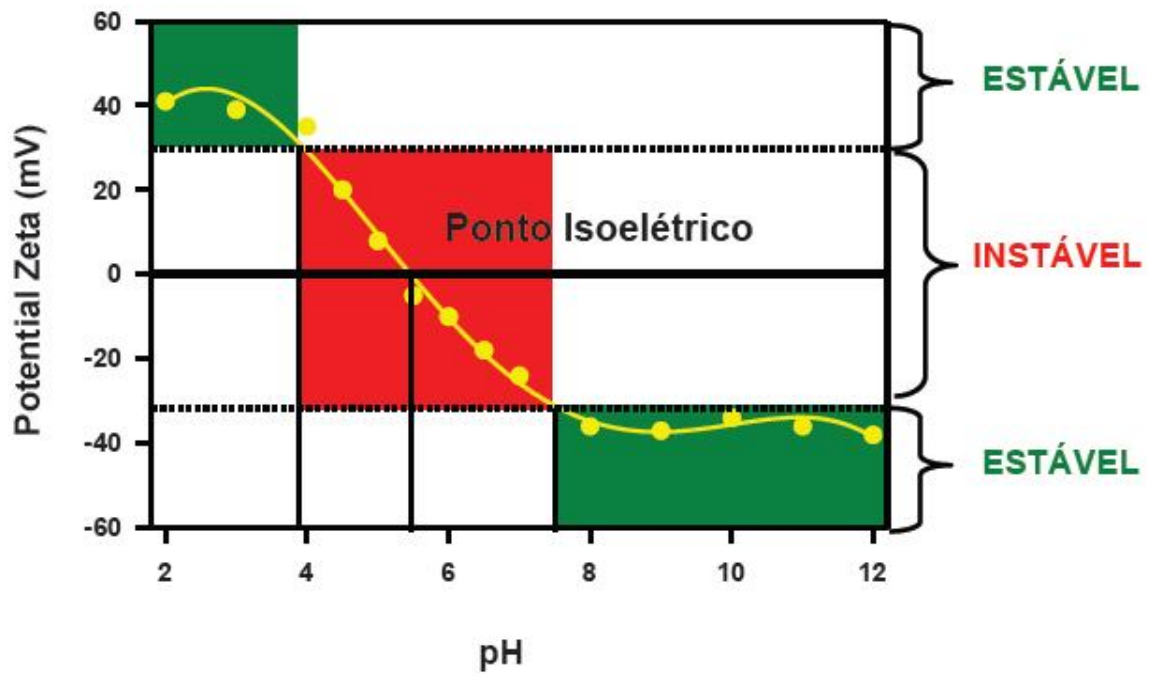


FIG. 13 Variação do Potencial Zeta de uma solução em função do pH (ANDRADE, 2008)

### 3- MATERIAIS E MÉTODOS:

#### 3.1- MATERIAIS:

Os materiais utilizados em todas as etapas do processo de produção das nanopartículas polimérico-magnéticas estão listados abaixo:

- Alginato de Sódio – Fluka – Biochemika
- Quitosana – Aldrich
- Cloreto de cálcio – VETEC
- Hidróxido de Amônio – VETEC
- Todos os reagentes utilizados na síntese da magnetita são da marca VETEC.

#### 3.1.2- EQUIPAMENTOS:

A seguir, foi feita uma descrição dos equipamentos utilizados para a caracterização das nanopartículas polimérico-magnéticas:

##### a) DIFRAÇÃO DE RAIOS X:

A difração de raios X foi realizada num equipamento X'Pert PRO (Panalytical). O método utilizado foi o método do pó, utilizando radiação  $K\alpha_1$  do cobre, com comprimento de onda ( $\lambda$ ) igual a 1,54056 Å. As medidas foram realizadas com corrente de 40mA e tensão de 40 kV. Foram realizadas duas medidas:  $Fe_3O_4$  pura e  $Fe_3O_4$  encapsulada em matriz polimérica. Os picos foram identificados seguindo o arquivo do JCPDS n° 19-0629 referente à magnetita ( $Fe_3O_4$ ).

##### b) TAMANHO E POTENCIAL ZETA:

As medidas de tamanho e potencial zeta foram realizadas em um aparelho ZETA PLUS ANALYZER, da empresa BROOKHAVEN INSTRUMENTS CORPORATION. Foram feitas medidas de partículas magnéticas de  $Fe_3O_4$  encapsuladas e não encapsuladas. Os parâmetros do ZETA PLUS utilizados para as medidas foram: cinco corridas de 30 segundos cada, em água ultrapurificada Milli-Q, com índice de refração igual a 1,340. Foi

utilizado um aparelho de ultrassom para desaglomerar as amostras antes das análises.

#### c) MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO:

A microscopia eletrônica de transmissão foi realizada num equipamento FEI Tecnai G20, com fonte de 200 kV. Foram realizadas medidas das nanopartículas magnéticas encapsuladas e não-encapsuladas em matriz polimérica em diversos aumentos. Também foi realizada EDS das partículas encapsuladas.

#### d) MEDIDAS MAGNÉTICAS (SQUID):

A caracterização magnética foi feita usando um magnetômetro Quantum Design MPMS-5S SQUID. Foram realizadas medidas a 20K e 300K das amostras de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  pura e  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  encapsulada.

### 3.2- MÉTODOS:

O processo de obtenção das nanopartículas de magnetita foi dividido em quatro etapas, descrita a seguir, assim como o encapsulamento dessas nanopartículas em matriz de alginato/quitosana.

#### 3.2.1- OBTENÇÃO DA MAGNETITA ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ):

-É dividida em quatro etapas:

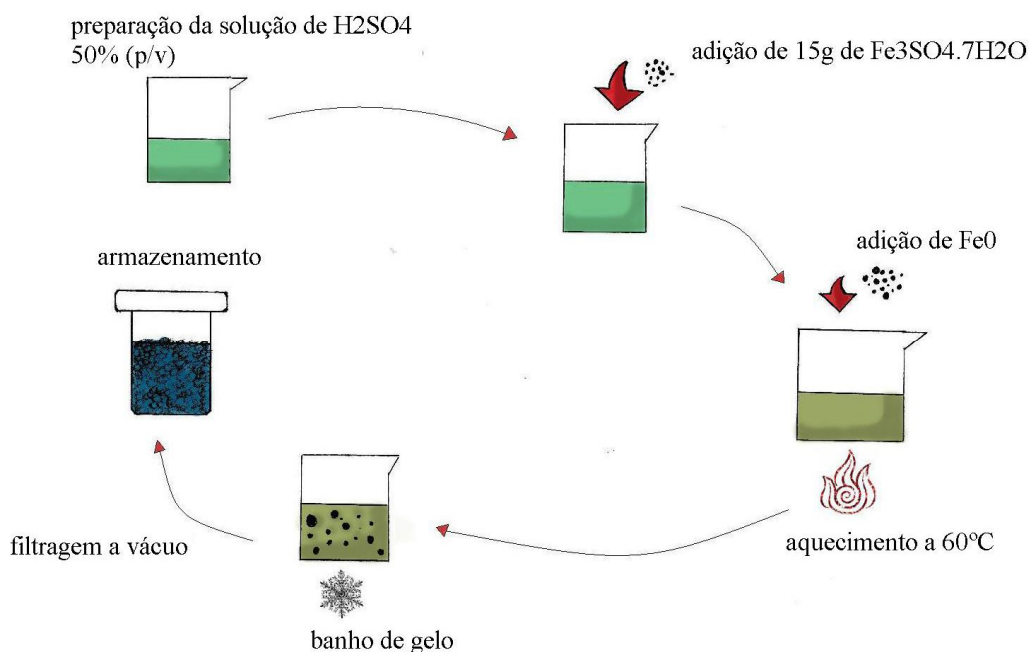
- a) purificação do sulfato de ferro II;
- b) obtenção do cloreto de ferro II;
- c) preparação da solução de cloreto de ferro III;
- d) síntese da magnetita.

#### a) PURIFICAÇÃO DO SULFATO DE FERRO II:

Inicialmente foi preparada uma solução de ácido sulfúrico 50% (p/v). Em seguida,

diluiu-se 15g de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  nessa solução. Posteriormente, a solução foi aquecida a  $60^\circ\text{C}$  e mantida sob agitação. Enquanto o ferro metálico ( $\text{Fe}^0$ ) foi adicionado lentamente e em pouquíssimas quantidades, até se observar a saturação da solução. Após a saturação, a solução foi resfriada até a temperatura ambiente, e depois colocada em banho de gelo para recristalização do sulfato de ferro II purificado, em um período máximo de 24 horas.

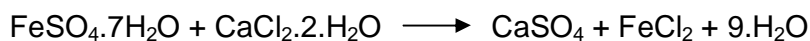
Após esse tempo, filtrou-se à vácuo e os cristais foram pesados e armazenados em um dessecador até a utilização. A FIG.14.1 ilustra esta etapa:



**FIG. 14.1** Purificação do Sulfato de Ferro II

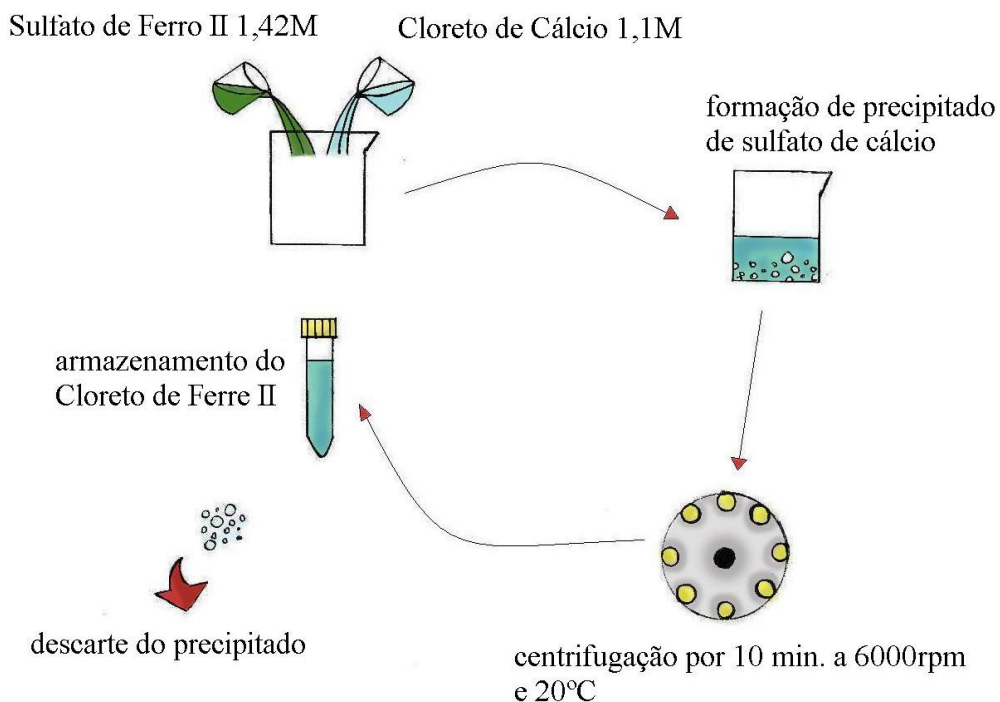
#### b) OBTENÇÃO DO CLORETO DE FERRO II:

A reação de obtenção do  $\text{FeCl}_2$  é dada por:



Para tanto se preparou uma solução de cloreto de cálcio 1,9M e de sulfato de ferro

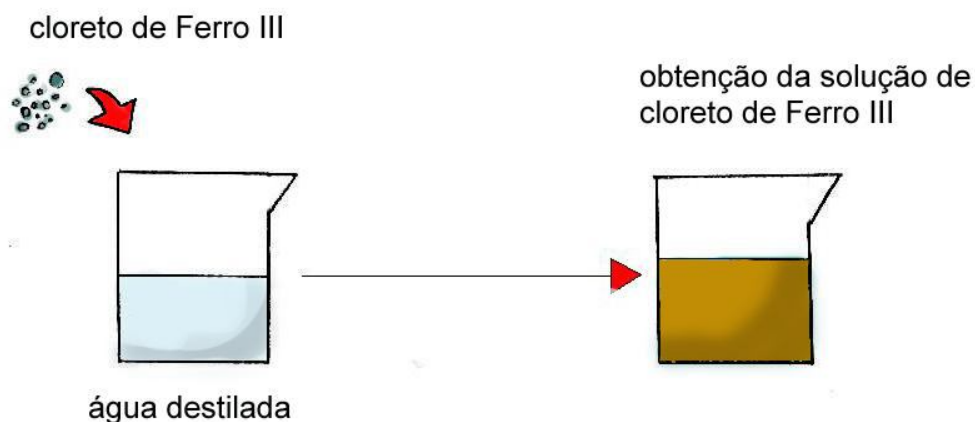
II purificado 1,42M. As duas soluções foram misturadas, gerando um precipitado branco, referente ao sulfato de cálcio. Promoveu-se uma centrifugação por 10 minutos à 6000 rpm, em uma temperatura de 20°C. Após a centrifugação, separou-se o sobrenadante para posterior utilização, e descartou-se o precipitado. Esse procedimento é ilustrado pela FIG.14.2:



**FIG. 14.2** Obtenção do Cloreto de Ferro II

### c) PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE CLORETO DE FERRO III:

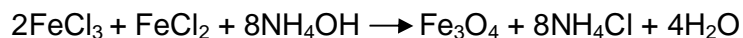
Foi preparada uma solução de  $\text{FeCl}_3$  0,86M. Para isso, dissolveu-se 6,757 g do sal em água destilada e transferiu-se para um balão volumétrico de 50 mL. A FIG.14.3 representa essa etapa:



**FIG. 14.3** Preparação da Solução de Cloreto de Ferro III

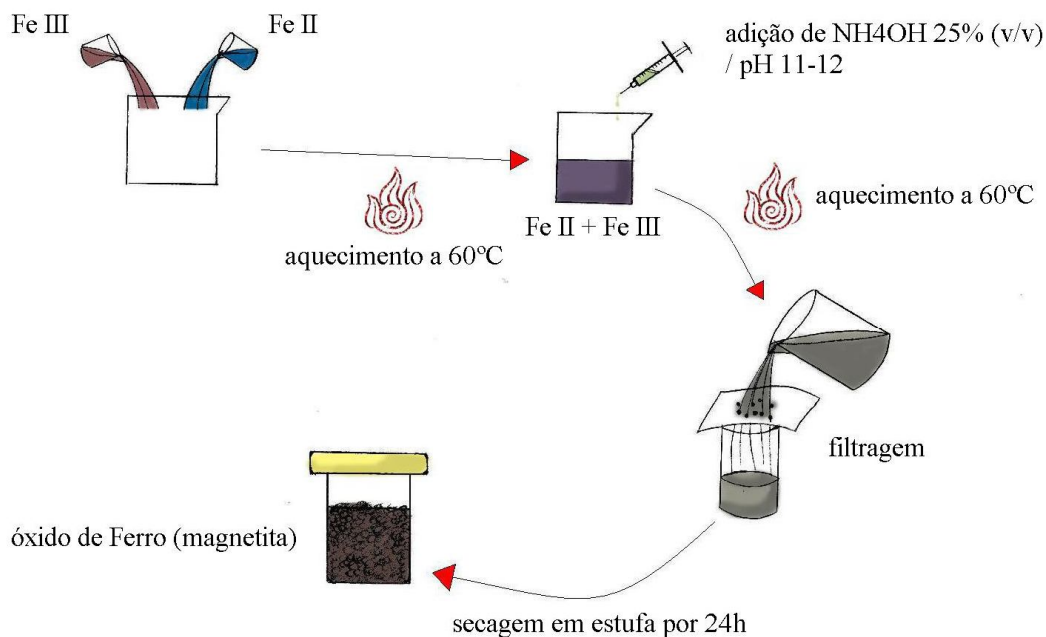
#### d) SÍNTESE DA MAGNETITA:

A magnetita é obtida através do método de coprecipitação de Fe II e Fe III em meio alcalino de acordo com a reação:



Primeiramente as soluções de  $\text{FeCl}_2$  e  $\text{FeCl}_3$  foram misturadas e mantidas sob agitação mecânica e temperatura de  $60^\circ\text{C}$  durante 15 minutos. Posteriormente, foram gotejados 200 mL de hidróxido de amônio 25% ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) à mistura de  $\text{FeCl}_2 + \text{FeCl}_3$ . Ao término do gotejamento, a solução permaneceu mais 15 minutos a  $60^\circ\text{C}$ . Durante esse processo, o pH deve ser controlado e mantido na faixa de 11-12.

A suspensão contendo a magnetita foi então resfriada até a temperatura ambiente. Depois, a suspensão foi centrifugada por 5 minutos a 6000 rpm e  $20^\circ\text{C}$ . Todo o sobrenadante foi descartado, e o precipitado lavado com 50 mL de água destilada e centrifugado novamente. Por fim, o precipitado foi liofilizado e armazenado em dessecador. Todo o processo é mostrado na FIG.14.4:



**FIG. 14.4** Síntese da magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>).

Com esse conjunto de processos, conseguiu-se obter a magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) com a pureza desejada para a realização deste trabalho.

### 3.2.2- ENCAPSULAMENTO DA Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> EM MATRIZ DE ALGINATO/QUITOSANA:

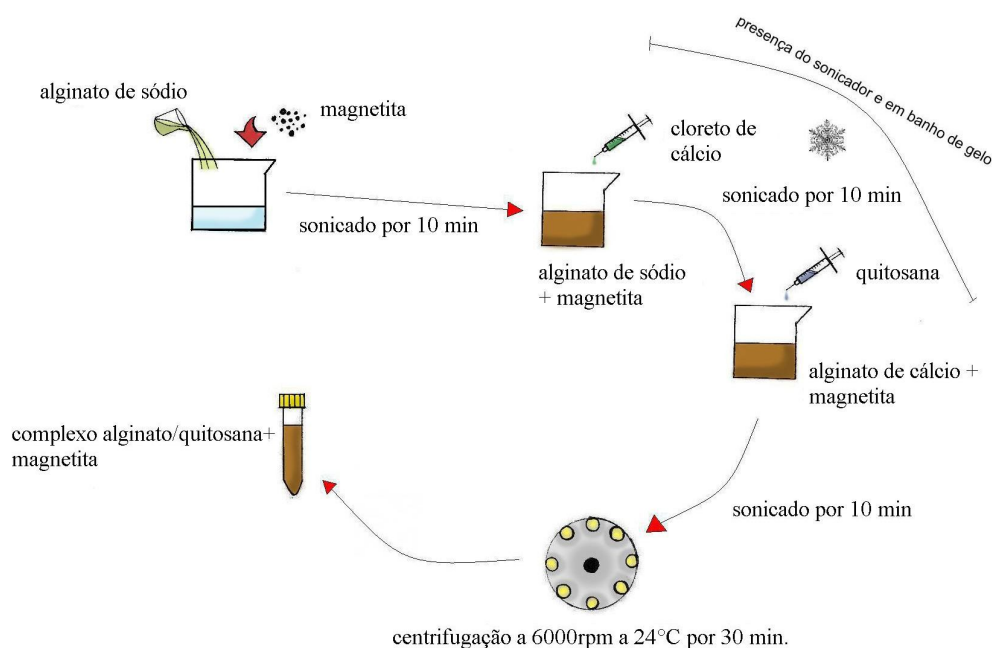
O primeiro passo foi preparar uma solução de alginato de sódio (9,5mL e 0,06%), uma solução de cloreto de cálcio (0,5mL, 18mM), e 2mL de solução de quitosana 0,05%. Na solução de alginato de sódio foi misturado 0,0024g de magnetita.

Após o preparo das soluções, a solução de CaCl<sub>2</sub> foi gotejada lentamente, com uma seringa, na solução de alginato+Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, que por sua vez foi constantemente agitada por um aparelho de ultrassom de pino (“sonicador”), para que pudesse ocorrer a total mistura das soluções. É importante ressaltar que o recipiente da solução de alginato + Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> estava em banho de gelo durante todo o processo, para que se evitasse o aquecimento da mesma em função da utilização do ultrassom. Após o gotejamento da solução de CaCl<sub>2</sub>, o mesmo processo foi repetido com a solução de quitosana, sendo esta gotejada em, agora, alginato de cálcio + Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Ao término do processo, a solução permaneceu em agitação por mais 20 minutos.

Essa solução foi mantida em repouso por 24h, para que a magnetita não



encapsulada se precipitasse no fundo do recipiente. O sobrenadante foi então retirado e armazenado para os testes de caracterização. A FIG.14.5 ilustra o processo de encapsulamento das nanopartículas:



**FIG. 14.5** Encapsulamento da magnetita em matriz de alginato/quitosana

### 3.3- PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISES:

#### a) DIFRAÇÃO DE RAIOS X:

Ambas as amostras, encapsuladas e não-encapsuladas, foram utilizadas na forma de pó.

#### b) MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO:

As amostras, ainda em suspensão, foram gotejadas nos portas-amostra e secadas à temperatura ambiente.

#### c) ESPALHAMENTO DE LUZ:

Antes de serem colocadas nos portas-amostra para análise, as amostras, ainda em suspensão, foram sonicadas durante um minuto.

#### d) MEDIDAS MAGNÉTICAS (“SQUID”):

Para as medidas magnéticas, ambas as amostras tiveram que ser utilizadas na forma de pó.

### 4- RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Para todos os testes foram preparadas duas amostras, A e B, referentes às nanopartículas de ferro não-encapsuladas e encapsuladas em matriz polimérica.

#### 4.1- DIFRAÇÃO DE RAIOS X:

Foram realizadas duas medidas de difração de raios X: I)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , II)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  encapsulado em complexo polimérico de alginato/quitosana. As medidas foram realizadas com o objetivo de identificar o tipo de óxido de ferro e comparar os difratogramas das nanopartículas de óxido de ferro puro e encapsulado em matriz polimérica. Os picos identificados no difratograma da FIG. 15.1 são característicos da magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). Ao se comparar o difratograma das nanopartículas magnéticas encapsuladas (FIG. 15.2) com o das não-encapsuladas (FIG. 15.1), percebe-se imediatamente a variação causada no difratograma devido à forte presença de material amorfo que é, nesse caso, o complexo alginato+quitosana. A boa definição dos picos de reflexão da amostra de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , resultando em um ótimo padrão de difração, pode revelar uma amostra extremamente pura e muito bem cristalizada. Isso pode confirmar que o método utilizado na obtenção da magnetita é válido. O tamanho de cristalito calculado através do método de Scherrer foi de 10nm.

I)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ :

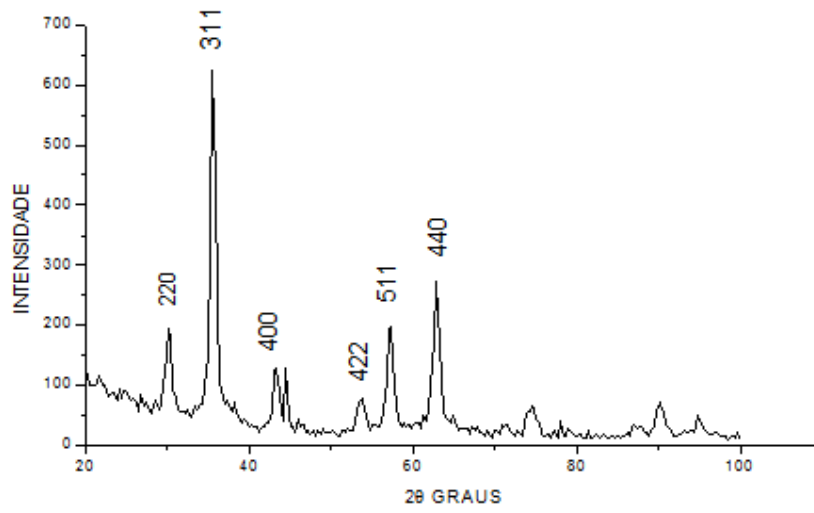


FIG. 15.1 Difratoograma das nanopartículas magnéticas.

II)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  + Polímero:

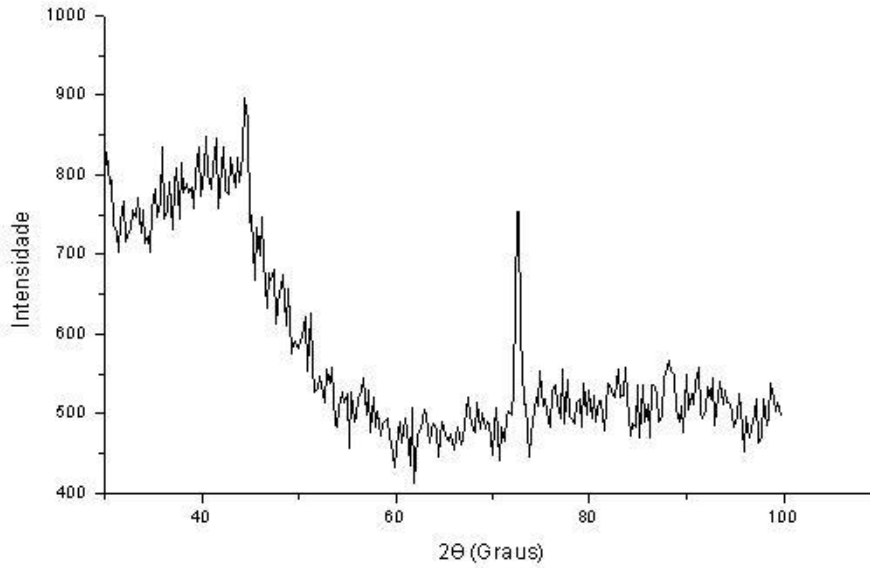


FIG. 15.2 Difratoograma de nanopartículas magnéticas encapsuladas em matriz polimérica

## 4.2- TAMANHO E POTENCIAL ZETA:

### 4.2.1- TAMANHO:

As medidas de tamanho são importantes para se definir o melhor método de preparo das amostras, já que se busca uma faixa de tamanho que reflita diretamente nas propriedades do material. O diâmetro médio das nanopartículas magnéticas, que é mostrado na Tabela 1.1, foi de 155,8nm, com polidispersão média de 0,213, e das nanopartículas magnéticas encapsuladas, mostrado na Tabela 1.2, foi de 255,0nm, com polidispersão média de 0,330. Esses valores de polidispersão revelam uma distribuição estreita de tamanho, e uma homogeneidade das nanopartículas, indicando a estabilidade e controle do diâmetro das mesmas (KULKAMP, 2009). Em seu trabalho, Ma (2006), sintetizou nanopartículas de magnetita ( $Fe_3O_4$ ) recobertas com alginato, e encontrou diâmetro médio de 193,8 nm, e com índice de polidispersão de 0,209. Ahmad, (2007), sintetizou nanopartículas de alginato/quitosana e obteve diâmetro médio de 229nm com índice de polidispersão de 0,44 dessas nanopartículas. É importante enfatizar que esse diâmetro é provavelmente referente à aglomerados, e não à nanopartículas isoladas . A possível confirmação disso poderá surgir através da análise de microscopia eletrônica de transmissão. O fato de que as nanopartículas encapsuladas apresentaram maior tamanho médio do que as não encapsuladas pode ser associado ao próprio recobrimento polimérico dessas nanopartículas. Devido a esses pequenos tamanhos, se espera que o material apresente as propriedades magnéticas desejadas, porém isso só poderá ser confirmado através da caracterização dessas propriedades.

**Tabela 1.1** Tamanho das NP magnéticas

MEDIDAS	DIÂMETRO (nm)	POLIDISPERSÃO
1	150,4	0,195
2	160,9	0,242
3	145,1	0,190
4	163,4	0,209
5	159,2	0,231
MÉDIA	155,8	0,213
ERRO	3,5	0,010

**Tabela 1.2** Tamanho das NP polimérico-magnéticas

MEDIDAS	DIÂMETRO (nm)	POLIDISPERSÃO
1	230,0	0,677
2	248,7	0,199
3	260,6	0,327
4	271,9	0,260
5	263,7	0,184
MÉDIA	255,0	0,330
ERRO	7,3	0,091

#### 4.2.2- POTENCIAL ZETA:

As medidas de potencial zeta foram realizadas a fim de descobrir se o material apresenta boa estabilidade eletrostática quando em suspensão. A regra geral para a estabilidade eletrostática da solução é a faixa de Potencial Zeta de +/- 30 mV. Como o potencial zeta das três amostras está fora dessa faixa, podemos considerar que as amostras estão estáveis. Um fator importante a ser considerado é a presença da quitosana no material. Pode-se perceber uma variação do potencial entre as amostras com e sem quitosana, sendo aquelas que possuem a quitosana, mais estáveis. Isso pode ser consequência direta do fato de que a quitosana age como um inibidor de cargas superficiais existentes no alginato, contribuindo assim para uma melhor estabilidade. A Tabela 2 mostra a variação do Potencial Zeta entre as nanopartículas recobertas e não recobertas.

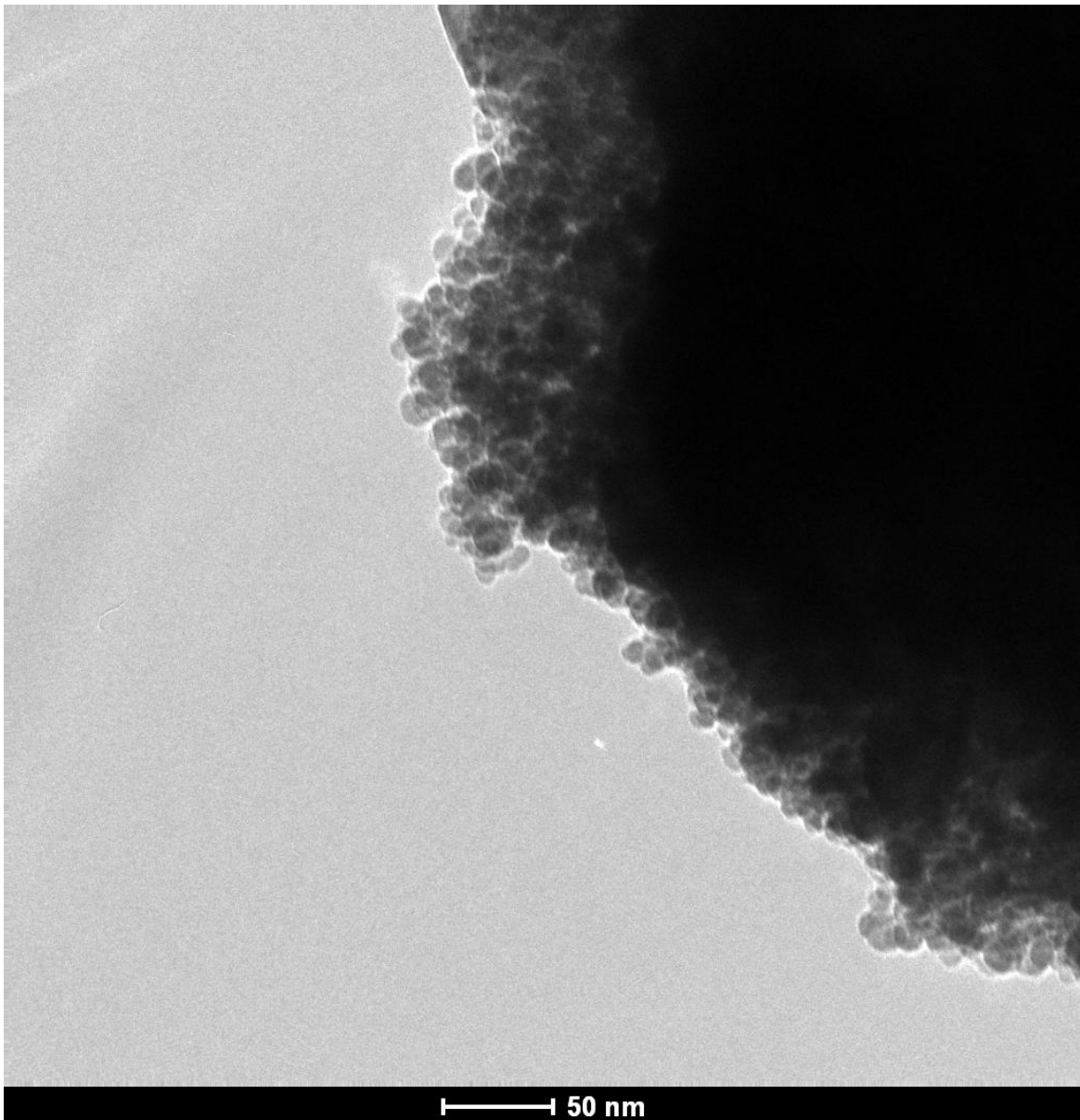
**Tabela 2** Potencial zeta das nanopartículas

pH	Amostra	Potencial Zeta médio
3,61	NP-PM c/ quitosana	-37,59 mV ± 2,89
3,61	NP-PM s/ quitosana	-30,63 mV ± 0,79
3,61	NP magnéticas	-30,45 mV ± 2,72

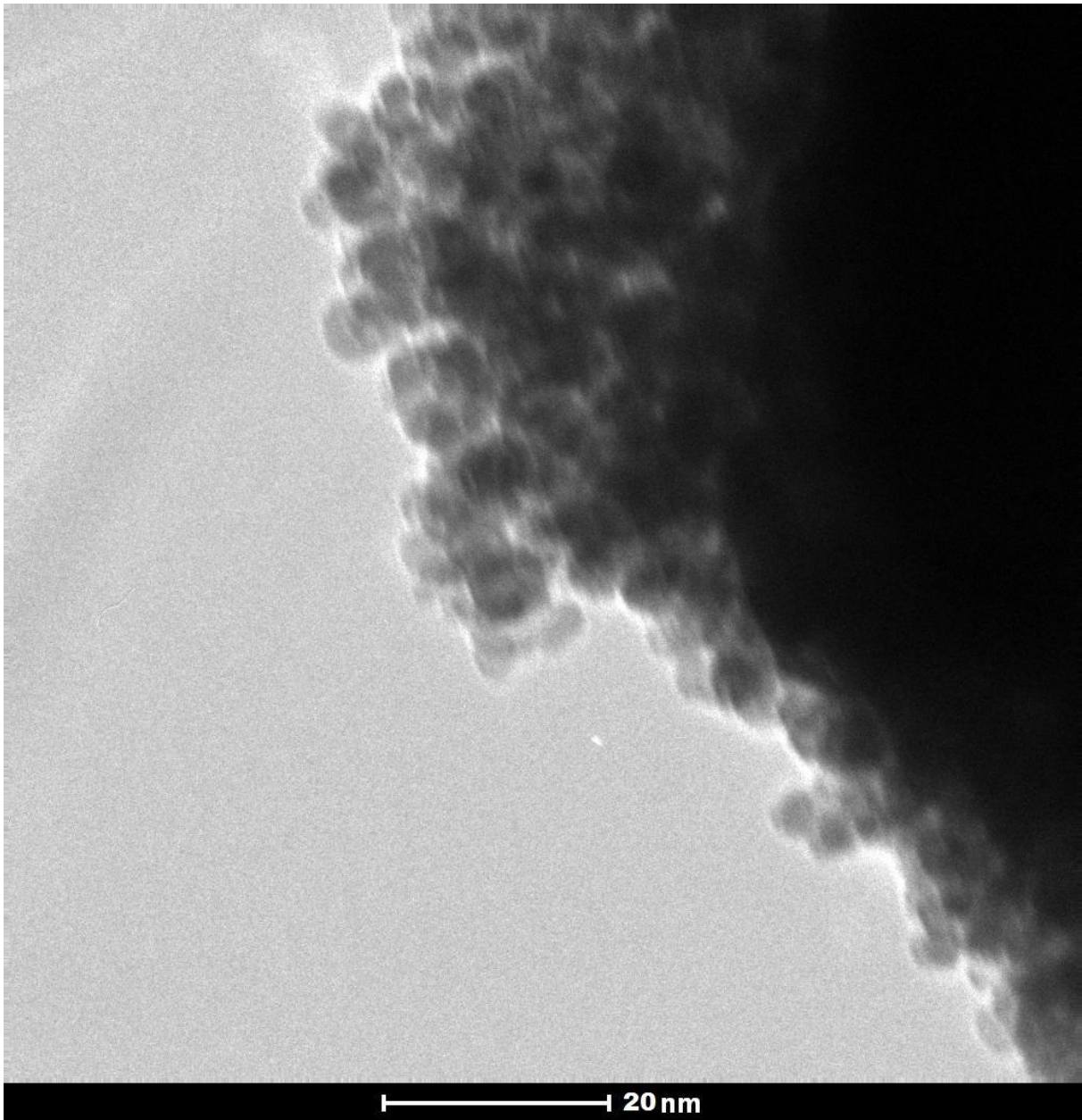
#### 4.3- MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO:

##### I) Nanopartículas magnéticas não-encapsuladas:

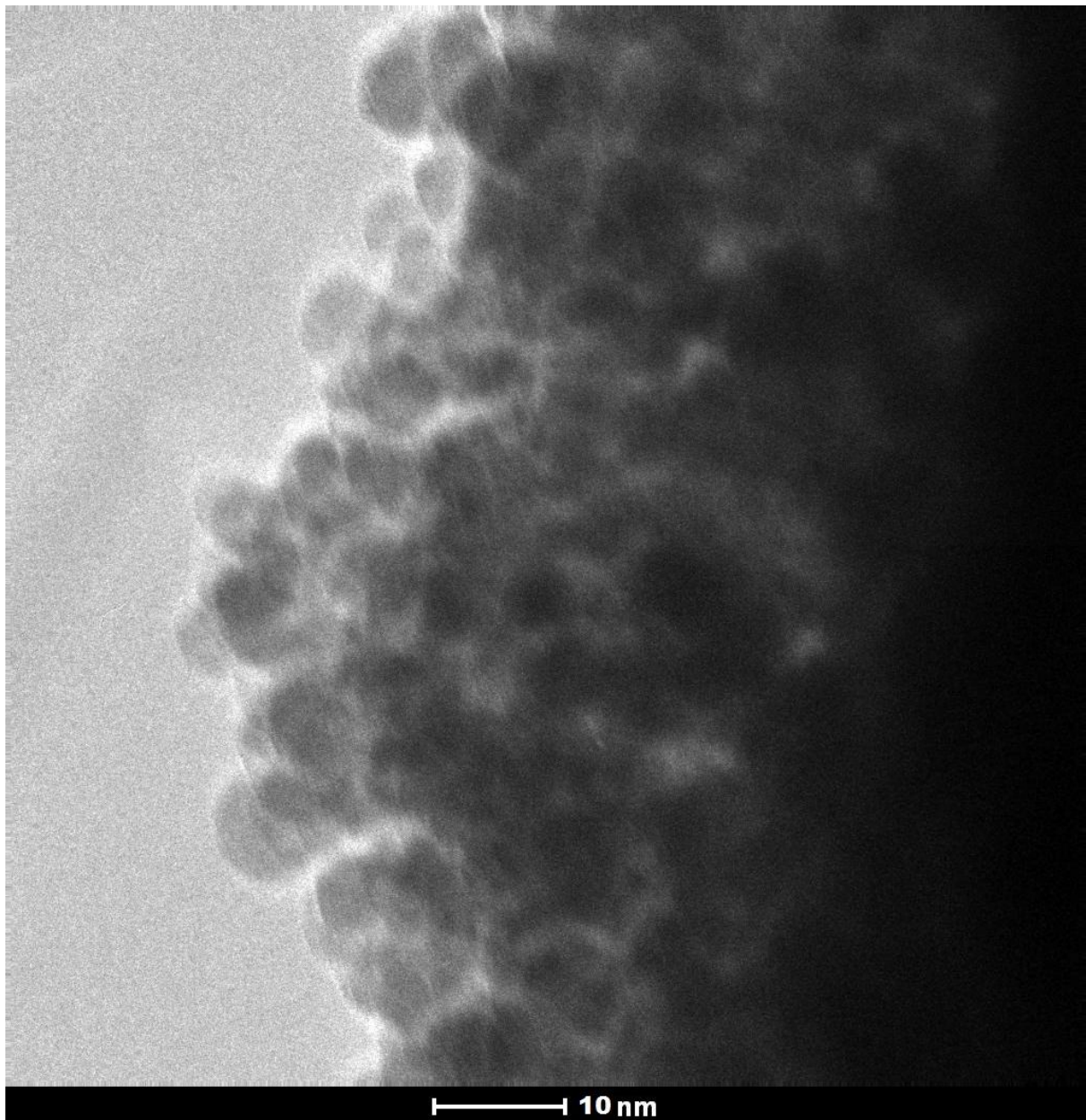
As FIG.16.1 a 16.3 são referentes as nanopartículas magnéticas sem o encapsulamento, nas quais se observa que apresentam uma forma quase esférica e que têm uma forte tendência a se aglomerarem. Nota-se também que o diâmetro está entre 10 e 20nm, o que permite a essas nanopartículas apresentarem comportamento superparamagnético. Em seu trabalho, Kim et al, (2006), sintetizou nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  recobertas com quitosana, e observou diâmetro médio de 10,3nm.



**FIG. 16.1** Micrografia a um aumento de 97000x, referente à fronteira da amostra de nanopartículas magnéticas



**FIG. 16.2** Micrografia referente à mesma região de fronteira da amostra de nanopartículas magnéticas, mas a um aumento de 195000x



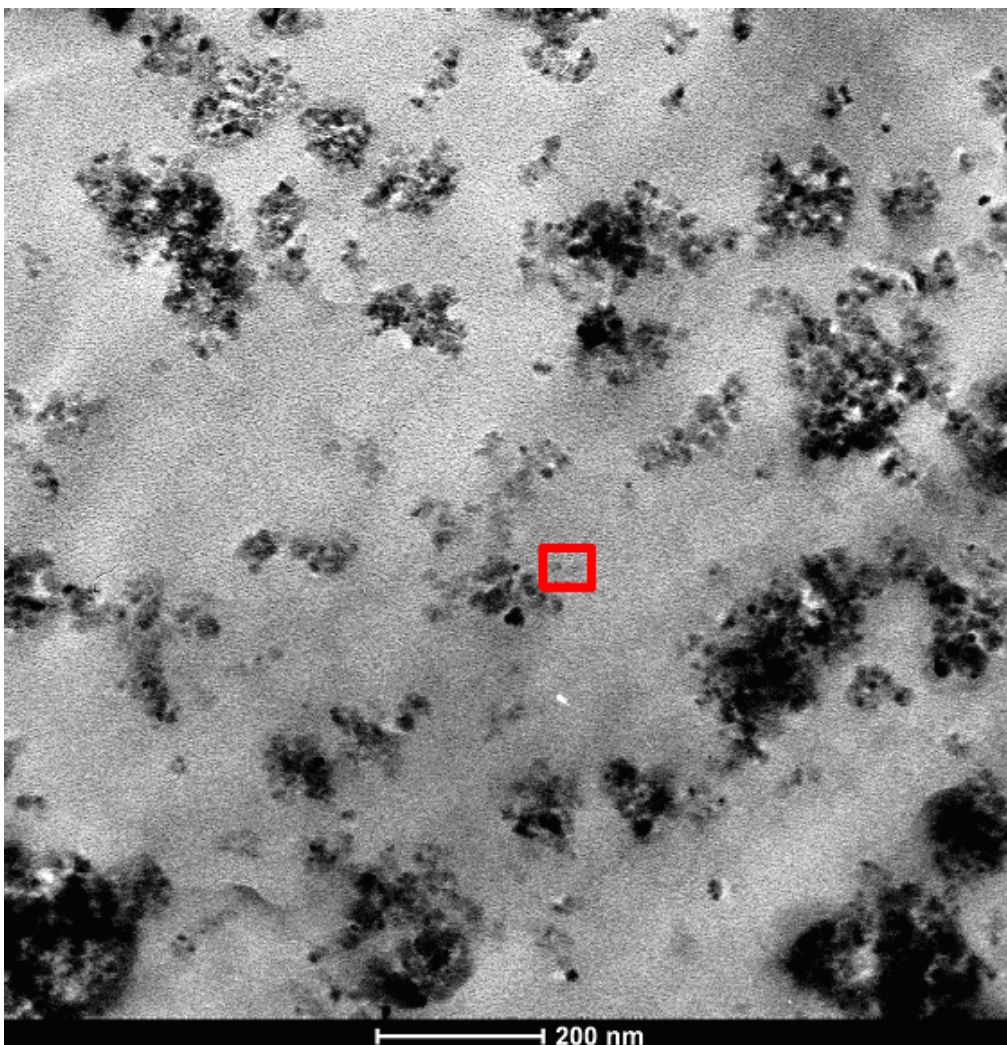
**FIG. 16.3** Micrografia da mesma região da amostra, porém a um aumento de 285000x

## II) Nanopartículas magnéticas encapsuladas:

As FIG. 17.1 a 17.4 são referentes as nanopartículas magnéticas encapsuladas em matriz polimérica (NP-PM). Pode-se observar que elas estão mais dispersas, o que possibilita melhor visualização de suas formas quase esféricas. Essa menor aglomeração pode estar ligada ao fato das nanopartículas magnéticas estarem encapsuladas em uma matriz de alginato e quitosana, e uma vez que a quitosana atua nessa matriz como um inibidor de cargas superficiais, tem-se como resultado uma melhor estabilidade das nanopartículas e conseqüente redução da aglomeração das mesmas. Pode-se também notar nas micrografias dois grupos de partículas: partículas claras e escuras, referentes as



NP-PM e as nanopartículas magnéticas, respectivamente. Essas nanopartículas magnéticas provavelmente não foram encapsuladas por estarem em excesso, e é possível notar, como nas micrografias anteriores, uma forte tendência a se aglomerarem. Percebe-se que as NP-PM também formam aglomerados, consequência da presença de cargas superficiais, ainda que em menor quantidade. Porém é possível distinguir melhor as nanopartículas encapsuladas umas das outras do que as não-encapsuladas. Em relação ao tamanho, o diâmetro está na faixa de 15 a 30nm, o que possibilita a essas NP-PM apresentarem comportamento superparamagnético. Essas micrografias também confirmam que o diâmetro encontrado nas análises de tamanho por técnicas de espalhamento luz é referente à aglomerados de nanopartículas. Em seu trabalho, MA et al, (2006), observou em NP-PM de magnetita ( $Fe_3O_4$ ) recobertas com alginato, diâmetro médio de 10nm. Foi realizada também a espectroscopia de energia dispersiva (EDS) das NP-PM nas nanopartículas destacadas pelo retângulo vermelho para confirmar a presença do alginato nas mesmas.



**FIG. 17.1** Micrografia das nanopartículas magnéticas recobertas a um aumento de 38000x

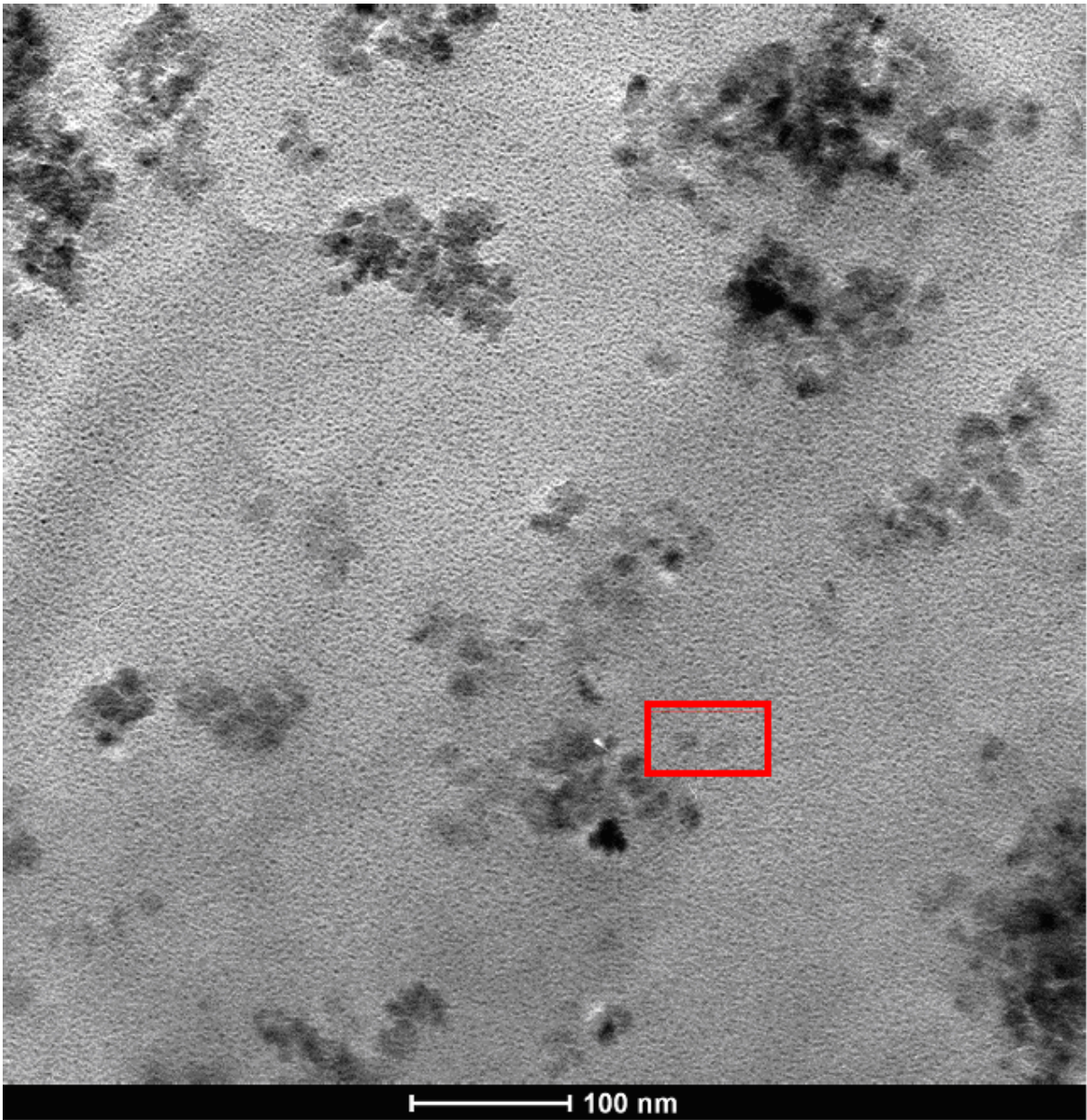
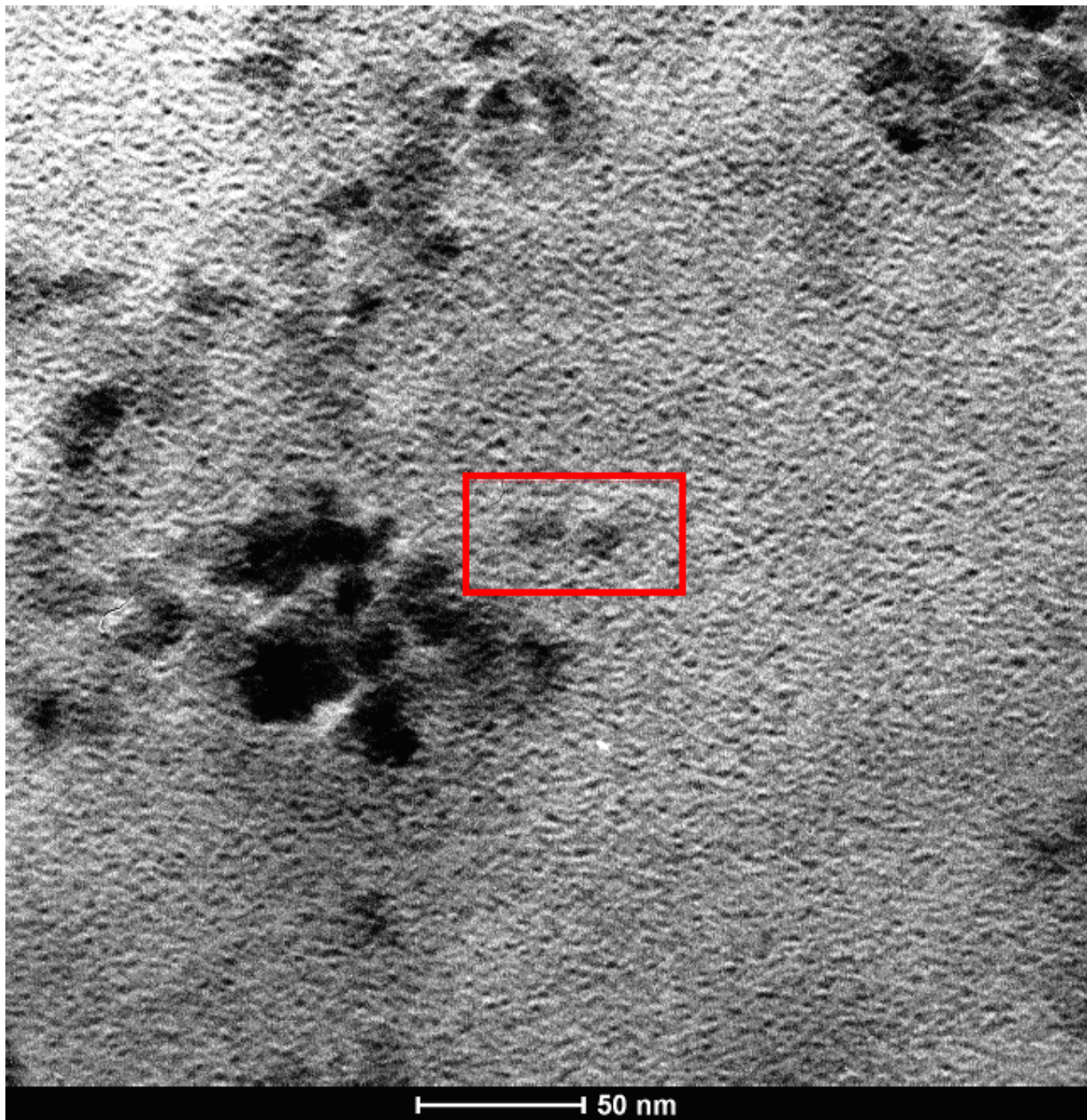
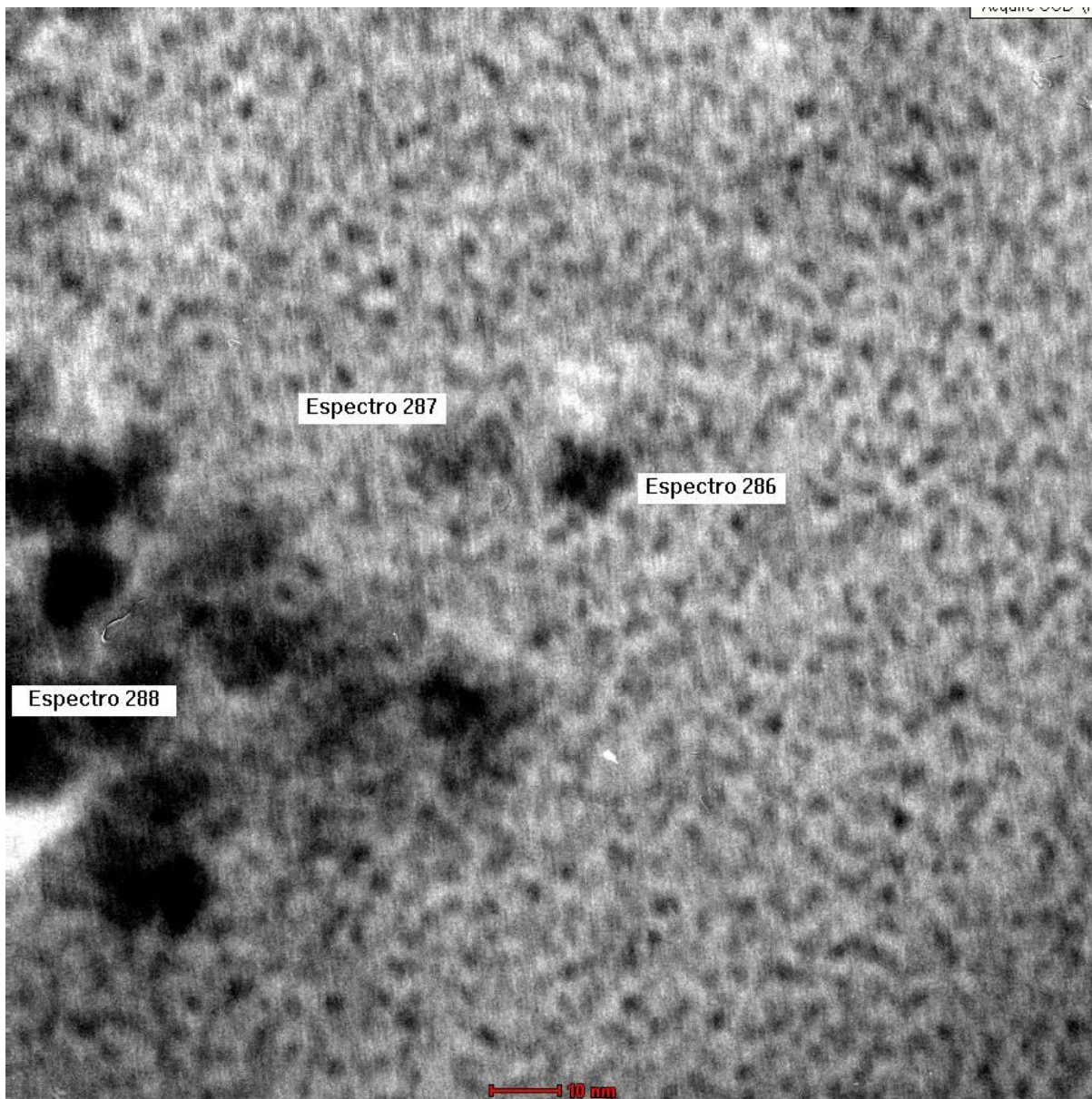


FIG. 17.2 Micrografia das amostra de NP-PM a um aumento de 71000x.



**FIG. 17.3** Micrografia das NP-PM a um aumento de 145000x. A região destacada é referente a duas nanopartículas isoladas.



**FIG. 17.4** Micrografia da mesma região a um aumento de 285000x. Os locais destacados são as regiões onde a EDS será realizada.

Também foi realizada a EDS de uma região de aglomerado próximo as nanopartículas destacadas. No espectro das três regiões aparecem os picos do ferro e do cálcio, o que pode confirmar o encapsulamento das nanopartículas magnéticas em alginato. Porém, no espectro da região do aglomerado se percebe um crescimento muito acentuado do pico do ferro e um decréscimo do pico do cálcio, o que pode confirmar maior presença de nanopartículas magnéticas não-encapsuladas do que encapsuladas. As FIG. 18.1, 18.2, e 18.3 mostram esses espectros.

#### 4.3.1- Espectros de EDS:

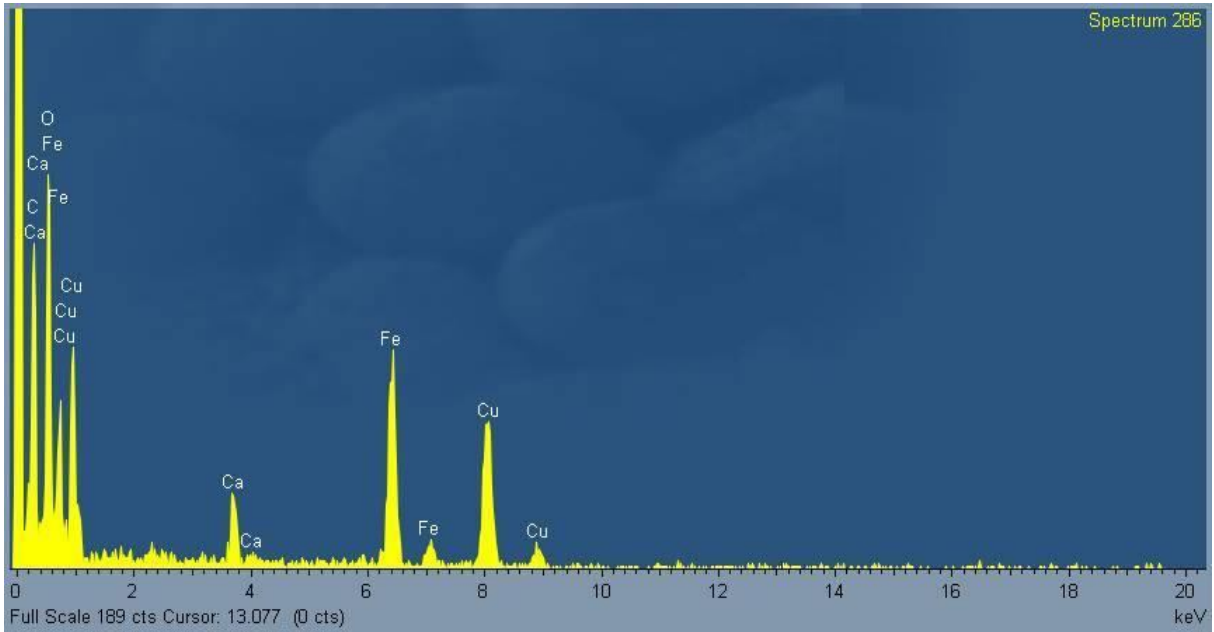


FIG. 18.1 Espectro de EDS da região 286 especificada na FIG.17.4.

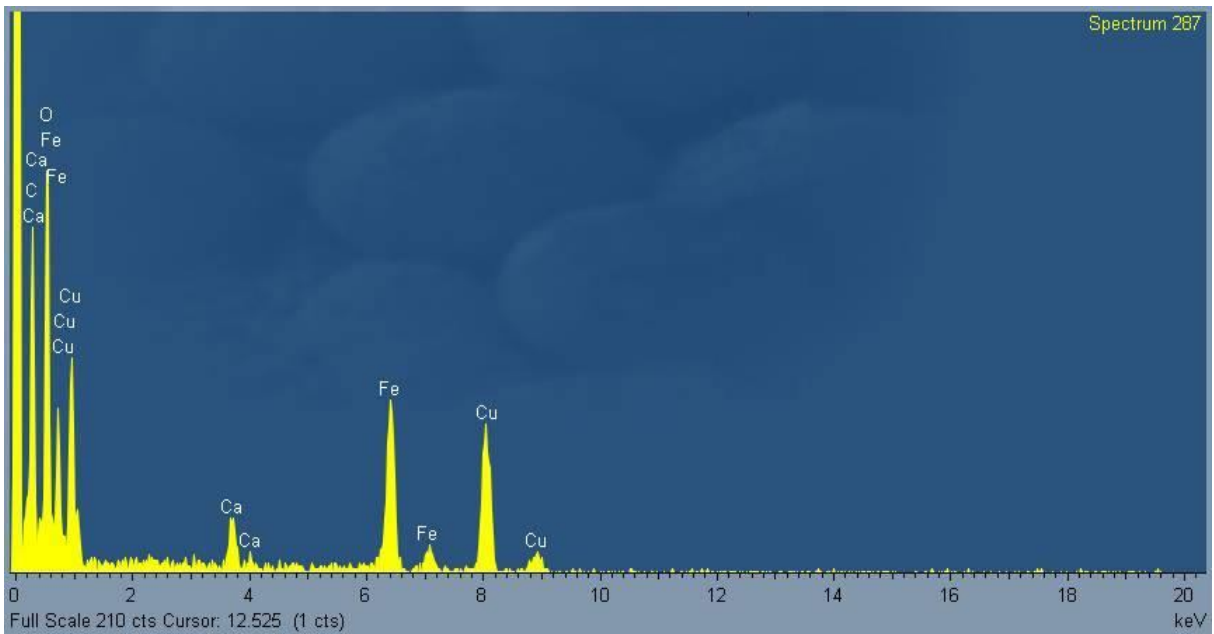
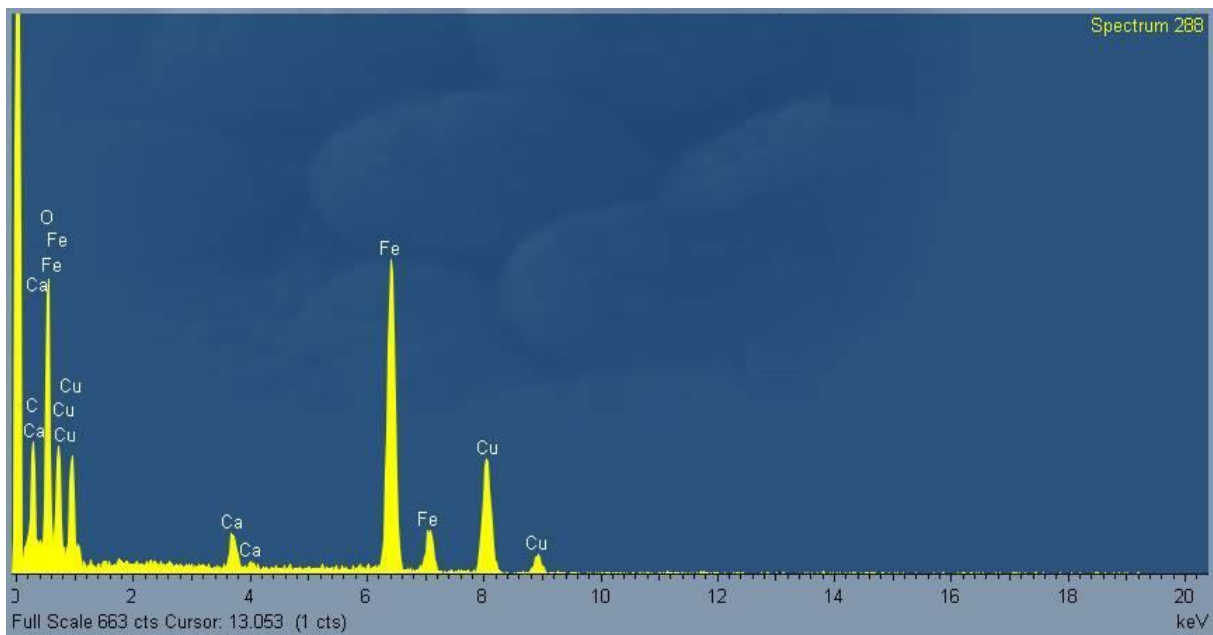


FIG. 18.2 Espectro de EDS da região 287 especificada também na FIG.17.4.

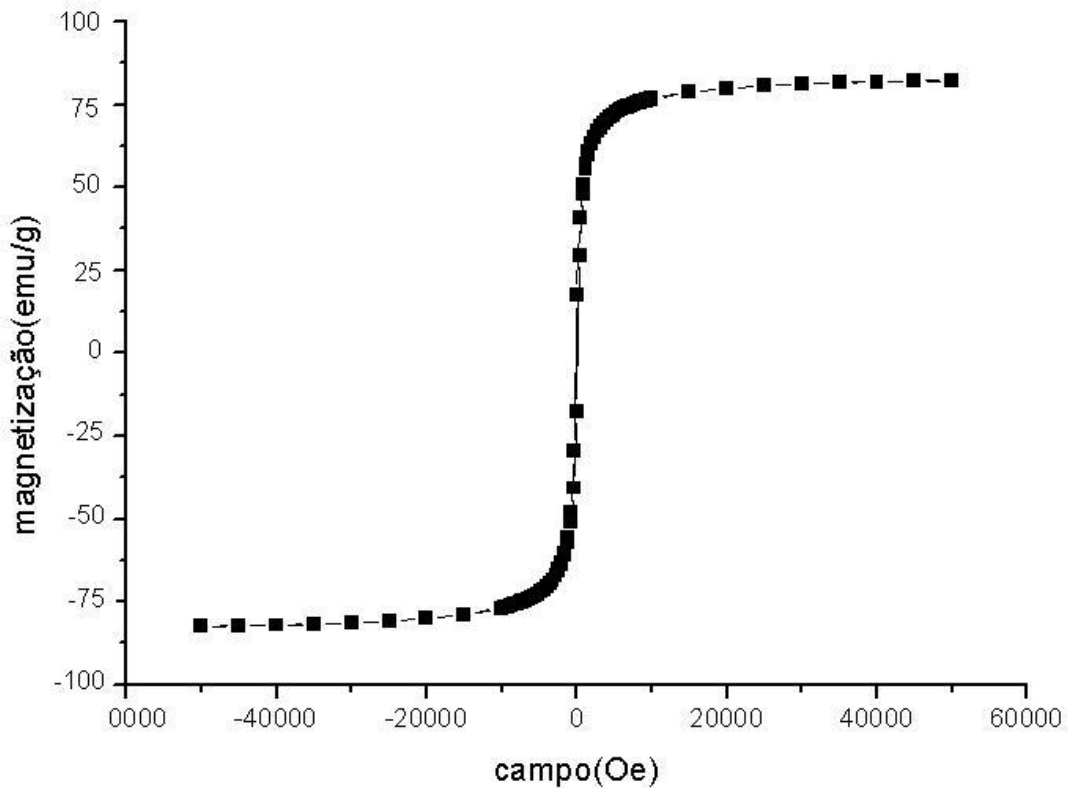


**FIG. 18.3** Espectro de EDS da região 288, referente ao aglomerado destacado na FIG.17.4

#### 4.4- MEDIDAS MAGNÉTICAS (SQUID):

As medidas de magnetização das amostras A e B são mostradas nas FIG. 19.1 a 19.4, as temperaturas de 20K e 300K. Em 20K, o campo de saturação das amostras A e B foi de aproximadamente 50KOe, e em 300K, de 49KOe. Os valores máximos de magnetização nas nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  sem recobrimento variaram de 75 a 100 emu/g, em 300K e 20K, respectivamente, e nas nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  com recobrimento variaram de 8 a 12 emu/g, em 300K e 20K, respectivamente. Em 300K, se observa uma redução na magnetização de ambas as amostras quando comparada com a mesma medida em 20K. Uma maior redução é observada entre as amostras A e B. Essa redução pode estar associada ao encapsulamento da magnetita, de modo que a esfera de alginato funcione como uma barreira para a magnetização. Se o alginato recobrir completamente as nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , a magnetização irá decair significativamente (DENIZOT et al.: 1999). Essa redução também pode estar associada a dois fatores: o processo de secagem das amostras encapsuladas e, principalmente, a concentração de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  utilizada na preparação das mesmas. Outro fato importante a ser destacado é que ambas as amostras, a 20K e 300K, praticamente não apresentaram histerese, apresentando coersividade quase nula. Esse fato pode confirmar o caráter

superparamagnético das amostras. Em seu trabalho, Ma, (2006), encontrou valores de magnetização para as nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) encapsuladas em matriz de alginato variando de 30 a 55 emu/g, a temperatura ambiente. Ma, (2006), associa essa variação à concentração de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  utilizada na síntese de suas amostras, O campo de saturação encontrado por Ma, (2006), em todas as suas amostras foi pouco maior que 10KOe, valor este quase seis vezes menor quando comparado aos encontrados neste trabalho.



**FIG. 19.1** Curva MxH a 20K das nanopartículas de magnetita

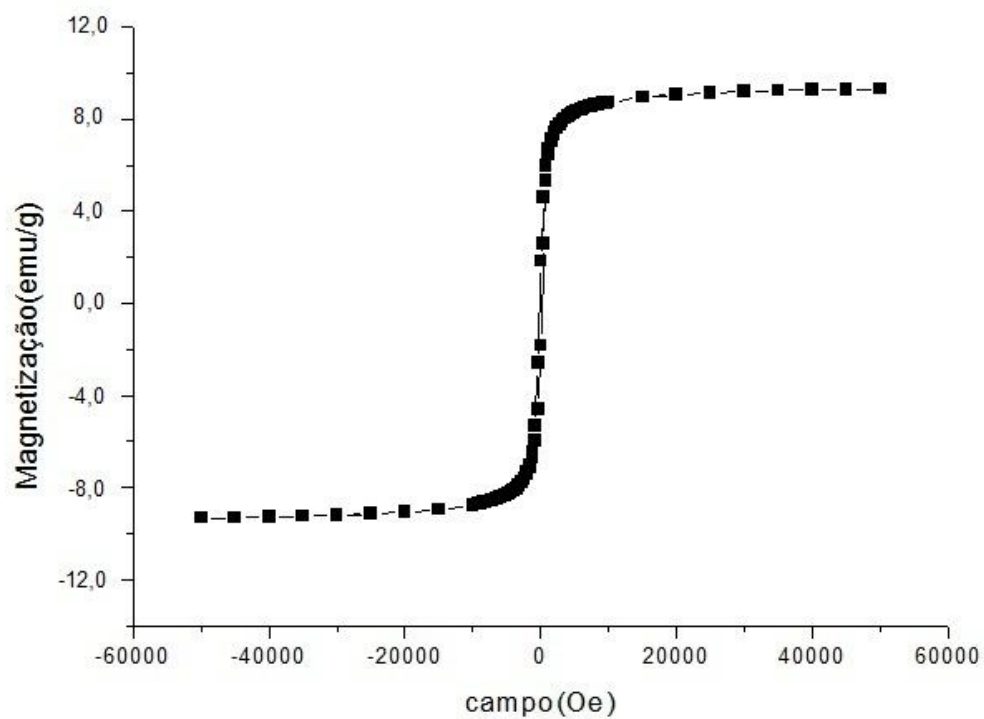


FIG. 19.2 Curva MxH a 20K das nanopartículas de magnetita encapsuladas

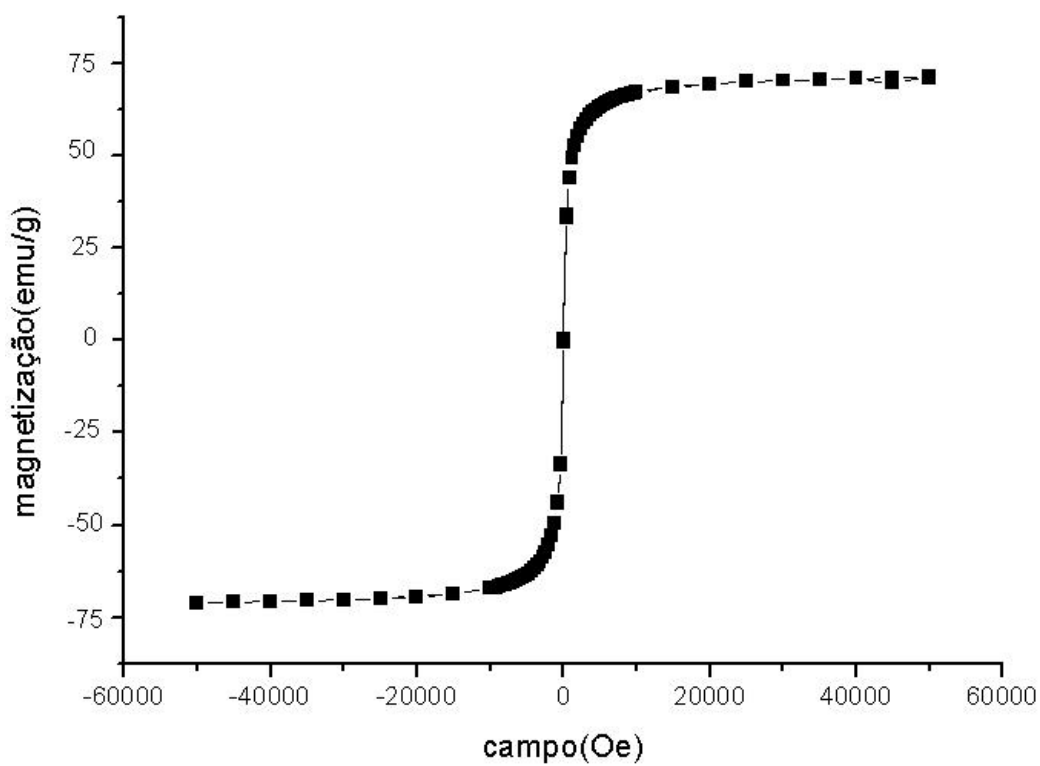
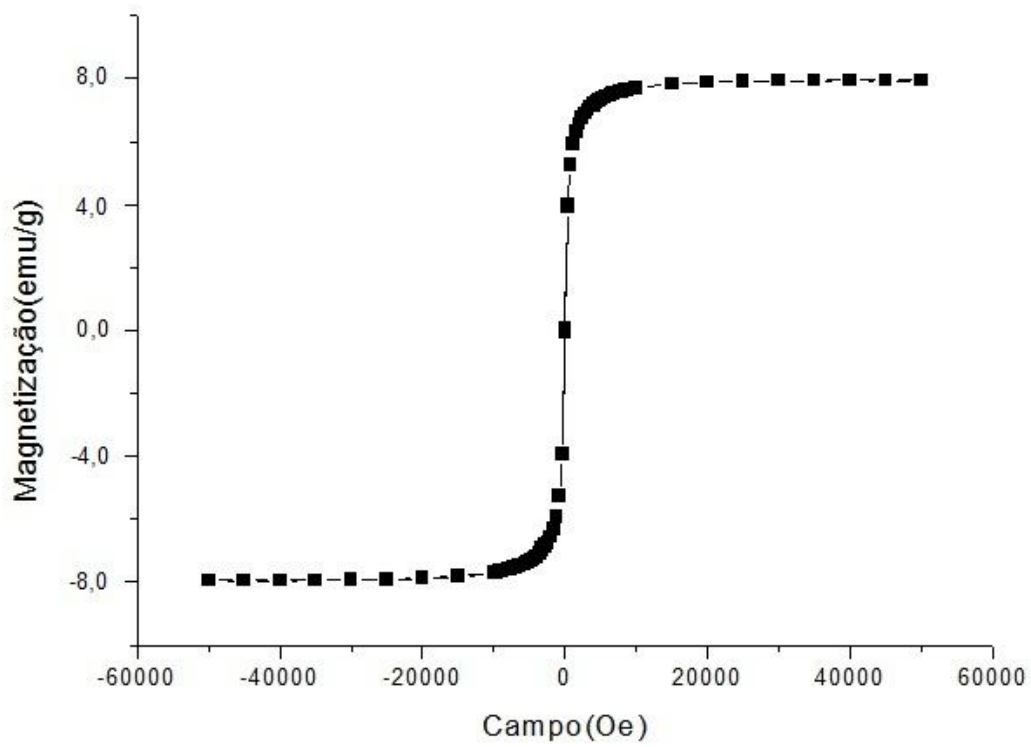


FIG. 19.3 Curva MxH a 300K das nanopartículas de magnetita





**FIG. 19.4** Curva MxH a 300K das nanopartículas de magnetita encapsuladas

## **5- CONCLUSÕES GERAIS E PROPOSIÇÕES FUTURAS:**

### **5.1- Conclusões:**

Com a intenção de produzir um material que atenda às aplicações biomédicas descritas no capítulo 2, as nanopartículas de alginato e magnetita foram sintetizadas com sucesso. A natureza do óxido de ferro (magnetita- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) foi confirmada através da identificação dos picos de difração na análise de DRX. Também foi feita a medida de tamanho de cristalito através do método de Debye, encontrando como resultado um diâmetro médio de 10nm. O material apresentou boa estabilidade, medida através do potencial zeta, e tamanho ideal, que pôde ser medido através do espalhamento de luz e microscopia eletrônica de transmissão. A microscopia também permitiu fazer uma análise morfológica do material, confirmando a forma quase esférica esperada das nanopartículas. A boa magnetização e o caráter superparamagnético do material foram confirmados através das medidas de SQUID magnético. Apesar da redução (esperada) na magnetização das nanopartículas encapsuladas em relação as não-encapsuladas, esta redução não se torna um impedimento para a aplicação dessas nanopartículas. Apesar das dificuldades encontradas durante a realização desse trabalho, pode-se, através dos resultados obtidos, concluir que o material apresenta bom potencial para as aplicações biomédicas, criando ótimas perspectivas para o futuro. Com o aprimoramento dos métodos de produção e análises mais sofisticadas e específicas de caracterização do material, se espera que as nanopartículas polimérico-magnéticas possam representar o futuro dos sistemas de liberação de fármacos, tratamento do câncer e como contraste para IRM. Cientistas do mundo inteiro estão aplicando seus esforços nessas áreas, configurando um cenário que converge para uma maior democratização do tratamento de doenças, cujo custo para tal não está ao alcance da maioria da população. Nesse cenário, o uso das nanopartículas polimérico-magnéticas pode surgir como uma alternativa barata, segura e acessível para essa grande parcela da população.

### **5.2- Proposições Futuras:**

Com o objetivo de utilizar, de fato, as nanopartículas polimérico-magnéticas sintetizadas em aplicações biomédicas, se faz necessário aprofundar os conhecimentos sobre o comportamento destas no corpo. Para tal, se propõe as seguintes etapas:

- 1- analisar o comportamento *in vitro* e *in vivo* das nanopartículas polimérico-magnéticas, com o objetivo de avaliar a biocompatibilidade e biodegradabilidade dessas nanopartículas;
- 2- aperfeiçoar a síntese das nanopartículas polimérico-magnéticas, visando maior uma padronização do processo de produção;
- 3- avaliar a capacidade de encapsulamento das nanopartículas polimérico-magnéticas;
- 4- realizar testes de liberação de fármacos das nanopartículas-magnéticas;
- 5- avaliar *in vitro* a variação da temperatura local em função do campo magnético oscilante aplicado às nanopartículas polimérico-magnéticas;
- 6- avaliar comportamento das NP-PM em plasma;

## 6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, Z., **Pharmacokinetic and pharmacodynamic behaviour of antitubercular drugs encapsulated in alginate nanoparticles at two doses**, International Journal of Antimicrobial Agents, 27, 409–416, 2006.

ALBERTS, Bruce, **Molecular Biology of the Cell**, 4th edition, Garland Science, New York, 2002.

ANDRANDE, J. E., **Medidas de Tamanho e Potencial Zeta de Nanopartículas Utilizando Espalhamento de Luz**, Universidade Federal do Sergipe, 2008.

AN-HUI LU, SALABAS, E. L., SCHUTH, Ferdi, **Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application**, Angewandte Chemie International Edition, V. 46, n°8, p. 1222-1244, 2007.

ATSUMI, T.; JEYADEVANB, B.; SATOB, Y.; TOHJI, K. **Heating efficiency of magnetite particles exposed to AC magnetic field**. Journal of Magnetism and Magnetic Materials. 310,2841–2843, 2007.

BERTOTTI, G., **Hysteresis in Magnetism: For Physicists, Materials Scientists**, Academic Press (San Diego), 1998

BOISSESON, M.R.; LEONARD, M.; HUBERT, P.; MARCHAL, P.; STEQUEART, A.; CASTEL, C.; FAVRE, E.; DELLACHERIE, E. **Physical alginate hydrogels based on hydrophobic or dual hydrophobic/ionic interactions: Bead formation, structure, and stability**. Journal of Colloid and Interface Science, 273, 131-139, 2004.

BOOTH, F. (1948). "Theory of Electrokinetic Effects". Nature 161: 83

BOYSEN, Earl – **Understanding Nanotechnology** - <http://www.understandingnano.com/>

BRANNON-PEPPAS, L., **Polymers in Controlled Drug Delivery**. Disponível em <http://www.device-link.com/mpb/archive/97/11/003.html> , Acesso em 2009.

CAIZER, C., et. al., **Magnetic behaviour of iron oxide nanoparticles dispersed in a silica matrix**. Materials Science and Engineering, B97, p.12-134, 2003.

CANELLA, K.M.N.C.; GARCIA, R.B. **Caracterização de Quitosana por Cromatografia de Permeação em Gel** – Influência do Método de Preparação e do Solvente. Quim. Nova, 24 (1), 13-17, 2001.

CHAN, L.W.; LEE, H.Y.; HENG, P.W.S. **Production of alginate microspheres by internal gelation using an emulsification method**. International Journal of Pharmaceutics, 242 (1-2),259-262, 2002.

CIOFANI, G., RIGGIO, C., **A bi-modal approach against cancer: Magnetic alginate nanoparticles for combined chemotherapy and hyperthermia**, Medical Hypotheses, v.73, p.80–82, 2009.

CULLITY, B.D., **Elements of X-Ray Diffraction**, 2<sup>o</sup> ed., Addison-Wesley Publishing Company,Inc. 1978.

DARBY, M.I. (1967), "Tables of the Brillouin function and of the related function for the spontaneous magnetization", Brit. J. Appl. Phys. 18: 1415–1417, doi:10.1088/0508-3443/18/10/307

DASH, A. K., CUDWORTH, G. C., **Therapeutic applications of implantable drug delivery system**. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, V. 40, p. 1-12, 1998.

DENIZOT, B., **Phosphorylcholine coating of iron oxide nanoparticles**. J. Colloid Interface Sci. 209, 66–71, 1999.

FINOTELLI, Priscilla Vanessa – Tese de Doutorado - **Microcápsulas de Alginato contendo Nanopartículas Magnéticas para Liberação Controlada de Insulina**. UFRJ, Instituto de Química, 2006.

GOULD, RT-(R)(MR)(ARRT), Todd A. **"How MRI Works."** 01 April 2000. HowStuffWorks.com. <http://www.howstuffworks.com/mri.htm>

GOYA, G., **Superparamagnetism: The collapse of domain walls**. Versão 7, Knol, 2009.  
Disponível em: <http://knol.google.com/k/gerardo-f-goya/superparamagnetism/19zqxfeerpqe7/4>.

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

HOFFMAN, A.S. **Hydrogels for biomedical applications**. Advanced Drug Delivery Reviews, 43, 3-12, 2002.

IGARTUA, M., **Development and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with magnetite**, International Journal of Pharmaceutics, v.233, p.149-157, 2002.

ISKAKOV, R.M.; KIKUCHI, A.; OKANO, T. **Time-programmed pulsatile release of dextran from calcium-alginate gel beads coated with carboxy-n-propylacrylamide copolymers**. Journal of Controlled Release, 80: 57–68, 2002.

JOHANNSEN, M., et al. **Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: presentation of a new interstitial technique**. Int J Hyperthermia, v. 21, n. 7, p. 637-647, 2005.

JORDAN, A.; SCHOLZ, R.; WUST, P.; FELIX, R. **Magnetic fluid hyperthermia: cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles**. J. Magn. Mater. V.201, p. 413-419, 1999.

KIM, D. H., **Surface-modified magnetite nanoparticles for hyperthermia: Preparation, characterization, and cytotoxicity studies**, Current Applied Physics, 6S1, e242–e246, 2006.

KULKAMP, Irene Clemes; PAESE, Karina; GUTERRES, Sílvia Stanisçuaski and POHLMANN, Adriana Raffin. **Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea**. Quím. Nova [online]. 2009, vol.32, n.8, pp. 2078-2084.

KUMAR, R. **Nano and microparticles as controlled drug delivery devices.** *J Pharm Pharm Sci*, 3(2), 234-258, 2000.

LACAVAL, Zulmira G. M., **Aplicações biomédicas de nanopartículas magnéticas.** universiabrasil.net, 08 out. 2004

LANGER, R., **New Methods of Drug Delivery**, *Science*, v. 249, p. 1527-1533, 1990.

LERTSUTTHIWONG, P., NOOMUN, K., JONGAROONNGAMSANG N., ROJSITTHISAK, P., NIMMANNIT, U., **Preparation of alginate nanocapsules containing turmeric oil**, *Carbohydrate Polymers*, v.74, p.209–214, 2008.

LIU, T., HU, S., **Biomedical nanoparticle carriers with combined thermal and magnetic responses**, *Nano Today* v.4, p.52—65, 2009.

LIU, Z., JIAO, Y., **Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems**, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.60, p.1650–1662, 2008.

MA, Hui-li, et. al, **Preparation and characterization of superparamagnetic iron oxide nanoparticles stabilized by alginate**, *International Journal of Pharmaceutics*, 333,177–186, 2007.

MATTER – The University of Liverpool – 2000 - <http://www.matter.org.uk/diffraction/x-ray/default.htm>

MONTAGNE, F., et. al, **Preparation and characterization of narrow sized (o/w) magnetic emulsion**, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v.250, p.302-312, 2002.

MORNET, S., VASSEUR, S., GRASSET, F., **Magnetic nanoparticle design for medical applications**, *Progress in Solid State Chemistry*, v.34, p.237-247, 2006.

MORUP, S. e TRONK, E. (1994). **Superparamagnetic Relaxation of Weakly Interacting Particles.** *Physical Review Letters* 72, 3278-3821.

MURATA, Y.; TONIWA, S.; MIYAMOTO, E.; KAWASHIMA S. **Preparation of alginate gel beads containing chitosan salt and their function.** International Journal of Pharmaceutics, 176: 265–268, 1999.

NEEL, L. **Theorie du trainage magnetique des ferromagnetiques en grains fins avec applications aux terres cuites.** *Ann. Geophys.*, 5, 99-136, 1949.

PARK, S. I., LIM J. H., **Toxicity estimation of magnetic fluids in a biological test,** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v.304, p.406–408, 2006.

PIROTA, K. R., **Introdução ao Nanomagnetismo,** 2009.

POOJA, G., **Magnetic Nanoparticles Enhance Medical Imaging,** The Journal of Young Investigators, v.15 (2), 2006.

SCHUTT, W. Et al. **New methods for the investigation of blood-biomaterial interaction.** *Artif Organs*, v. 19, n. 8, p. 847-851, 1995.

**Selected Works of Louis Néel**, edited by N. Kurti, Gordon and Breach, New York, 1988, pp. 407–427.

SERSHEN, S.; WEST, J. **Implantable, polymeric systems for modulated drug delivery.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 1225–1235, 2002.

SCHULZ, Mark J., SHANOV, Vesselin N. **Nanomedicine Design of Particles, Sensors, Motors, Implants, Robots, and Devices,** artech house, 2009.

SIDHU, P.S.; GILKES, R.J.; POSNER, A.M. **The synthesis and some properties of Co, Ni, Zn, Cu, Mn and Cd substituted Magnetites,** *J. Inorg. Nucl. Chem.* 40, 429-435, 1978.

TARTAJ, P., **Advances in magnetic nanoparticles for biotechnology applications,** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 290–291, 28–34, 2005.

VIOTA, J.L., GONZÁLEZ-CABALLERO, F., **Study of the colloidal stability of**



**concentrated bimodal magnetic fluids**, Journal of Colloid and Interface Science, v.309, p.135–139, 2007.

WILLIAMS, D. B. e CARTER, C. B., "**Transmission Electron Microscopy**", Ed. Plenum, New York, 1996.

XU, R., **Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement**, Particuology, v. 6, p.112–115, 2007).

YANG, J.; PARK, S.B.; HUH, Y.; HAAM, S. Preparation of **poly  $\epsilon$ -caprolactone nanoparticles containing magnetite for magnetic drug carrier**. In. J. Pharm., In Press, 2006.

ZAHN, M., **Magnetic fluid and nanoparticle applications to nanotechnology**, Journal of Nanoparticle Research, v.3, p.73–78, 2001.

ZENG, P., KLINE, T. L., **Thermal response of superparamagnetic particles suspend in liquid and solid media**, journal of magnetism and magnetic materials, v.321, p. 373-376, 2009.

Zeta Potential Overview - Brookhaven Instruments, disponível em <http://www.bic.com/WhatisZetaPotential.html>

ZHAO, D.; ENG, X.; XIA, Q.; TANG, J. Inductive **heat property of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles in AC magnetic field for local hyperthermia**. Rare Metals. V. 25, Spec. Issue, p .621, 2006.