

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS – IQSC

DEPARTAMENTO DE FÍSICO-QUÍMICA
GRUPO DE MATERIAIS COLOIDAIS

NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS MULTIFUNCIONAIS: SÍNTESE E PROPRIEDADES
VISANDO APLICAÇÃO EM DIAGNÓSTICO E TERAPIA EM BIOMEDICINA

CAIO GUILHERME SECCO DE SOUZA

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos – USP, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências, no curso de Pós-Graduação em Ciências com área de concentração em Físico-Química.

PROF. DR. LAUDEMIR CARLOS VARANDA
-ORIENTADOR-

SÃO CARLOS

– 2011 –

“A entrada para a mente do homem é o que ele aprende, a saída é o que ele realiza. Se sua mente não for alimentada por um fornecimento contínuo de novas idéias, que ele põe a trabalhar com um propósito, e se não houver uma saída por uma ação, sua mente torna-se estagnada.”

Jeremias W. Jenks

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

Agradecimentos

Primeiramente, a minha família (pais e irmãos) por fornecer todo amor, carinho e apoio durante toda minha vida. Em especial aos meus pais Grace e João, que cada qual com sua forma de carinho, sempre me apoiaram e me deram muita força. Obrigado por tudo, amo muito todos vocês e não seria nada sem a presença e carinho marcante de vocês.

A todos meus parentes, entre eles: Tia Nilza, Tia Nitinha, Tia Ana, Vó Cida, Vô Zé, Tio Ananias, Tio Zé, Tia Cidinha, Tio Ivan, Andréia, Fernanda, Natália, Bruna, entre outros, que sempre me deram muito carinho e força. Obrigado a todos!

Ao Prof. Dr. Laudemir Carlos Varanda, que me dou ao direito de chamar de Mí, por todo apoio, ensinamentos, compreensão, oportunidades e proximidade que me propiciou durante estes dois anos que o conheço. Fico muito grato de ter feito a escolha certa de trabalhar com sua pessoa. Obrigado por tudo!

Aos amigos do Laboratório de Materiais Coloidais, Beck, Tiago, João e Herbert por todo apoio, aprendizagem, risadas e, sobretudo, pela amizade. Em especial a Tiago e Beck que iniciaram o mestrado junto comigo e sempre me apoiaram, suportaram e ajudaram em diversas ocasiões. Podem contar comigo no que precisarem!

A todos amigos que conheci na USP e em São Carlos, entre eles: Scooby, Fábio, Tung, Koxonha, Dionisio, Koxó, Fernanda, Vanessa, Lili, MP, Willian, Slot, Luana, Bezerra, Igor, Juliano, Boi, Vitinho, Driele, Nathalia, Vágner, Vivi, Nervão, Silvia, Sabrina, Daniel, entre outros, que me receberam muito bem e sempre tenho bons momentos com eles.

A todos amigos de Araraquara entre eles: Juzinha, Michele, Vorpa, Cris, Vanessa, Nyccolas, Doni, Ju, Maike, Néia, Lu, entre outros, que sempre me recebem muito bem e com muitas descontrações nas minhas estádias por lá.

A todo pessoal da Unioeste, aos quais sempre vou guardar boas recordações, além de todos amigos que sempre me apoiaram que não foram citados aqui, considerem-se todos muito agradecidos por todos momentos e alegrias que passamos juntos.

A todos os funcionários da USP que sempre me trataram muito bem e com muita dedicação, sendo entre eles: Silvia, Andréia, Sandra, Gustavo, Karina, entre outros.

A Helena (DeMa UFSCar) pelo treinamento e pela atenção nas análises no TEM CM-120; ao Thiago e o Márcio do CAQI pelo apoio nas análises de Fluorescência e EDX, respectivamente. Ao Prof. Daniel R. Cornejo pela atenção e apoio nas caracterizações magnéticas; ao Grupo de Eletroquímica do IQSC-USP pela disponibilidade do DRX; entre outros funcionários que direta ou indiretamente ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

À CNPq pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
I. Introdução	1
I.1. Nanopartículas magnéticas e multifuncionais	1
I.2. Métodos mais utilizados para síntese das NP luminomagnéticas	7
<i>I.2.1. Processo Poliol e Processo Poliol Modificado</i>	7
<i>I.2.2. Metodologia envolvendo sistemas microemulsionados</i>	9
<i>I.2.2. Algumas considerações sobre o recobrimento com sílica</i>	11
<i>I.2.3. Os desafios atuais</i>	14
II. Objetivos	16
III. Parte experimental	17
III.1. Síntese de NPM de FePt@Fe ₃ O ₄	17
III.2. Estabilização das NPM: recobrimento com Sílica	18
III.3. Funcionalização: incorporação de Rodamina B e recobrimento com Sílica	19
III.4. Caracterização das amostras	20
<i>III.4.1. Microscopia Eletrônica de Trasmissão (TEM)</i>	20
<i>III.4.2. Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR)</i>	21
<i>III.4.3. Difratometria de raios X (DRX)</i>	21
<i>III.4.4. Energia Dispersiva de raios-X (EDX)</i>	21

III.4.5. Magnetometria de Amostra Vibrante (VSM).....	22
III.4.6. Espectroscopia de Fluorescência.....	22
III.4.7. Mobilidade Eletroforética.....	22
IV. Resultados e Discussão	23
IV.1. Síntese do núcleo magnético de FePt@Fe ₃ O ₄	24
IV.2. Recobrimento com sílica das NPM de FePt@Fe ₃ O ₄	27
IV.2.1. Adequação da espessura da camada de sílica recobrindo as NPM.....	27
IV.2.2. Recozimento das NPM de FePt@Fe ₃ O ₄ /SiO ₂	40
IV.3. Síntese das NP luminomagnéticas.....	43
IV.3.1. Caracterização morfológica e estrutural das NP luminomagnéticas.....	45
IV.3.2. Caracterização Magnética das NP luminomagnéticas.....	49
IV.3.3. Caracterização Luminescente das NP luminomagnéticas.....	54
IV.3.4. Mobilidade Eletroforética.....	57
IV.4. Fotografias dos nanomateriais obtidos.....	58
V. Conclusões	60
VI. Perspectivas	61
Propriedades magnéticas e o superparamagnetismo das NPM	62
Referências	67

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Exemplos de mecanismo de estabilização de partículas de soluções coloidais: estabilização de partículas (a) por carga e (b) por efeito estérico^[27,28] 3
- Figura 2.** Materiais luminomagnéticos nanoestruturados de diferentes formas e arranjos. Adaptado^[8] 4
- Figura 3.** NPM com diversos ligantes funcionais: multifuncionalidade numa única NP. Adaptado^[7] 6
- Figura 4.** Representação esquemática do processo do poliol proposto por Sun e colaboradores, para a formação de NPM de FeP^[52]. 8
- Figura 5.** Representação esquemática do método poliol modificado proposto por Varanda e colaboradores, para a síntese de NPM de FePt com morfologia e composição controlados. 8
- Figura 6.** Representação esquemática de microemulsões (a) o/w e (b) w/o. Adaptado^[13] ... 10
- Figura 7.** Mecanismo proposto para o processo de formação de nanopartículas metálicas ou de óxidos metálicos pelo método de microemulsão por micela reversa. Adaptado^[59] 11
- Figura 8.** Exemplos esquemáticos de nanomateriais (vermelho) recobertos com sílica (azul) sintetizados de três maneiras diferentes: (a) método de microemulsão por micela reversa (surfactantes são ligados na superfície externa de sílica); (b) recobrimento com sílica mediado por surfactantes ou polímeros (camada verde intermediária na estrutura do tipo casca/caroço); e (c) nanopartículas de sílica auto-organizadas sobre nanomateriais (a camada verde retrata uma típica arquitetura camada-por-camada). Adaptado^[62] 12
- Figura 9.** Utilização da microemulsão convencional no processo de recobrimento de NP com sílica. Na primeira rota sintética, as NP são previamente sintetizadas (1A) e transferidas para micelas reversas estáveis preparadas pela agitação de solvente orgânico, água e surfactante (2A). Na segunda síntese, ambas a solubilização e a reação dos precursores do nanomaterial acontecem dentro da micela reversa e é seguida pela hidrólise e condensação de TEOS no interior da micela (3). Após a reação

e a lavagem, núcleos com tamanho e espessura de revestimento podem ser experimentalmente controlado (4). Numa etapa complementar, os núcleos dos nanomateriais podem ser substituídos por outros, por exemplo, a partir de processos térmicos ou físicos (5) e reação de um segundo precursor (6). Adaptada ^[62] 13

Figura 10. Representação esquemática do da rota de síntese das NPM de FePt@Fe₃O₄ pelo processo poliol modificado combinado com o crescimento mediado por sementes. 18

Figura 11. Representação Esquemática da etapa de recobrimento com sílica das NPM de FePt@Fe₃O₄..... 18

Figura 12. Representação Esquemática da etapa de funcionalização com RhB e recobrimento adicional com sílica..... 20

Figura 13. Representação esquemática utilizada para a síntese das NP luminomagnéticas: síntese do núcleo magnético (etapa 1); recobrimento do núcleo magnético com sílica (etapa 2) e funcionalizada com RhB e recobrimento com sílica (etapa 3). 23

Figura 14. Micrografias da amostra de NPM de FePt@Fe₃O₄ utilizada como núcleo magnético e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade. 25

Figura 15. Curva de magnetização e sua respectiva Ms para o núcleo magnético de FePt@Fe₃O₄, denominado de C01, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe. 26

Figura 16. Representação das estruturas do Igepal CO-520 e do Triton X-100. 27

Figura 17. Micrografias da amostra C02, no processo de recobrimento com sílica das NPM de FePt@Fe₃O₄ utilizando-se como surfactante no sistema microemulsionado Triton X-100 e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade. 28

Figura 18. Micrografias da amostra C03 do processo de recobrimento com sílica das NPM de FePt@Fe₃O₄ utilizando-se como surfactante o Igepal CO-520 e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade..... 29

Figura 19. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C03, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.	30
Figura 20. Micrografias da amostra C04 mostrando o recobrimento com sílica das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recoberta, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.	31
Figura 21. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C04, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.	32
Figura 22. Micrografias da amostra C05, obtida do processo de recobrimento com sílica das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.	33
Figura 23. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C05, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.	34
Figura 24. Micrografias da amostra C06, obtida do processo de recobrimento com sílica das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.	36
Figura 25. Micrografias da amostra C07, obtida do processo de recobrimento com sílica das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.	37
Figura 26. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C07, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.	38
Figura 27. Micrografias da amostra C07, obtida do processo de recobrimento com sílica das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.	39
Figura 28. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C08, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.	40

Figura 29. Representação das células unitárias indicando o arranjo dos átomos de Fe e Pt antes do recozimento, na estrutura do tipo fcc (a), e após o recozimento, na estrutura do tipo fct (b).....	41
Figura 30. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C08 após o recozimento, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.	42
Figura 31. Representação esquemática da ligação amida entre o APTES e a RhB.....	44
Figura 32. Micrografias da amostra, C09 relacionada ao processo de funcionalização luminescente com RhB e recobrimento com a segunda camada de sílica nas NPM de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ e gráfico com a distribuição de tamanho das NP luminomagnéticas obtidas, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.	46
Figura 33. Espectros de EDX para as amostra com os núcleos magnéticos de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$ (a) e para a amostra com as NP luminomagnéticas de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ (b).	47
Figura 34. DRX das amostras de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$ e $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ com os padrões de difração (JCPDF) inferindo a existência do núcleo metálico, uma camada de óxido de recobrimento e/ou passivação e a presença da camada de sílica.	48
Figura 35. Espectros infravermelho das NPM de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$) e das NP luminomagnéticas de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$	49
Figura 36. Curvas de histerese magnética das amostras sintetizadas nas diferentes etapas do trabalho comparando os valores da M_s das NPM e NP luminomagnéticas sintetizadas com núcleo magnético de Fe_3O_4 e de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$	51
Figura 37. Curvas FC (azul) e ZFC (vermelho) das NP obtidas indicando o comportamento SPM e as respectivas temperaturas de bloqueio (T_B): (a) Fe_3O_4 (●) e $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ (■), (b) $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ e (c) $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$	53
Figura 38. Espectros de emissão com excitação em 520 nm, para as amostras $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$, $\text{SiO}/\text{RhB}/\text{SiO}_2$, RhB, e $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$ em solução aquosa.	55
Figura 39. Gráficos de fotoestabilidade em um período de tempo de 60 min para (a) NP de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$; e (b) moléculas de RhB, ambas em solução aquosa.	56

- Figura 40.** Mobilidade eletroforética para as amostras de (a) $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ e (b) $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$, variando o pH de 2 a 10 e sob força iônica constante de 1×10^{-3} mol/L. 57
- Figura 41.** Fotografias das NPM de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$ dispersas em hexano sob (a) ausência do campo magnético externo, (b) presença do campo magnético externo. 58
- Figura 42.** Fotografias das NP multifuncionais de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ dispersas em água sob (a) ausência do campo magnético externo, (b) presença do campo magnético externo, e (c) sob presença do campo magnético externo e luz ultra-violeta. 59
- Figura 43.** Contribuições do Momento Magnético do Elétron: Momento Magnético Orbital e Momento Magnético de Spin. Adaptado ^[98] 62
- Figura 44.** Tipos de magnetismo para um material estendido: (a) momentos magnéticos na ausência e na presença de um campo magnético externo para um material diamagnético; (b) momentos magnéticos na ausência e na presença de um campo magnético externo para um material paramagnético; e (c) momentos magnéticos alinhados mesmo na ausência de um campo magnético externo, para um material ferromagnético. 63
- Figura 45.** Representações esquemáticas dos (a) Domínios magnéticos como regiões com grupos de dipolos magnéticos alinhados em um mesmo sentido (setas vermelhas), separados por paredes de domínio (linhas azuis); e (b) mudança gradual dos dipolos magnéticos na região da parede entre os domínios magnéticos. 64
- Figura 46.** Representação esquemática da (a) magnetização do material até sua M_s ; e (b) curva de histerese com um ciclo de magnetização e desmagnetização do material ferromagnético. 65
- Figura 47.** Gráfico da coercividade em função do diâmetro da partícula e o limite superparamagnético. 66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de substâncias biocompatíveis utilizadas no recobrimento de NP magnéticas ^[2]	5
Tabela 2. Exemplos de proteínas e ligantes-alvo utilizados na funcionalização de NP magnéticas ^[2]	6
Tabela 3. Condições representativas de microemulsão por micela reversa para recobrimento de nanopartículas com sílica e os nanomateriais relacionados. ^[62]	14
Tabela 4. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C02 e C03.	29
Tabela 5. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C03 e C04.	30
Tabela 6. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C04 e C05.	33
Tabela 7. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C05 e C06.	35
Tabela 8. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C05 e C07.	37
Tabela 9. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C07 e C08.	39
Tabela 10. Composições relativas de Fe, Pt e Si para as NP de FePt@Fe ₃ O ₄ e FePt@Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /RhB/SiO ₂ , obtidos pela análise por EDX.	46

RESUMO

A utilização de nanopartículas magnéticas em biomedicina e biotecnologia vem recebendo elevado destaque nos últimos anos, graças à versatilidade de aplicações como reparo de tecidos, diagnósticos, ressonância magnética por imagem, tratamento contra o câncer, separação celular, transporte controlado de drogas, entre outras. Atualmente, as nanopartículas com potencialidade de aplicação em biomedicina se restringem aos óxidos magnéticos de ferro, os quais apresentam comportamento superparamagnético a temperatura ambiente e magnetização da ordem de 300 emu/cm³. Entretanto, há necessidade inerente da funcionalização da superfície para possibilitar aplicações biomédicas tornando as nanopartículas biocompatíveis e/ou biosseletivas. Essa funcionalização adicional é obtida geralmente introduzindo camadas de materiais diamagnético e/ou paramagnéticos na superfície das NP, as quais baixam a eficiência das propriedades magnéticas exigindo o desenvolvimento de núcleos com elevado valor de magnetização de saturação. Desta forma, nesse trabalho foram sintetizadas nanopartículas magnéticas metálicas de FePt recobertas com óxido de ferro obtidas via processo poliol modificado combinado com a metodologia de crescimento mediado por sementes. Os núcleos magnéticos como-sintetizados foram recobertos com uma camada de sílica, seguido pelo recozimento em atmosfera redutora para elevar o valor da magnetização de saturação. Em seguida, sobre a superfície de sílica foram ancoradas moléculas luminescentes de rodamina B com o auxílio de moléculas de APTES atuando como grupo sililante e as NP resultantes foram novamente recobertas com uma fina camada de sílica. Os resultados permitem concluir que foi obtido um sistema bifuncional combinando em uma única nanopartícula a possibilidade de sensoriamento óptico e magnético, além de possuir sua magnetização de saturação intensificada cerca de 10 vezes em relação aos óxidos metálicos (64 emu/g), manter o caráter superparamagnético e possuir superfície biocompatível com possibilidades de funcionalizações adicionais, com grande potencial para aplicações em biomedicina.

Palavras chave: Nanopartículas multifuncionais. Nanopartículas luminomagnéticas. Estabilidade Coloidal. Propriedades magnéticas e luminescentes. Biomedicina.

ABSTRACT

In recent years, the magnetic nanoparticles uses in many biomedical and biotechnological areas have received great attention due to their several applications possibilities such as: tissue repair, diagnostics, magnetic resonance imaging, cancer treatment, cell separation, and controlled drug delivery, among others. Today, the potential magnetic nanoparticles applications are limited to magnetic iron oxides uses, which exhibit superparamagnetic behavior at room temperature and low saturation magnetization around 300 emu/cm^3 . However, for biomedical applications, the nanoparticle surface must be properly functionalized in order to confer biocompatibility and biospecificity. These additional functionalizations are generally obtained by paramagnetic and/or diamagnetic materials incorporations onto the nanoparticle surface leading a dramatic decreasing in the already low saturation magnetization. In this context, the development of new magnetic nuclei with high magnetizations values is required. Thus, in this work iron oxide-coated metallic FePt magnetic nanoparticles were synthesized by using the modified polyol process combined with the seed mediated growth method. The magnetic as-synthesized nuclei were coated with a thin silica shell followed by thermal annealing under reducing atmosphere in order to increase the saturations magnetization of this material. After that, onto the silica-coated magnetic nanoparticles surface luminescent dye Rhodamine B molecules were supported using the APTES as intermediate sililant molecules. Then, the functionalized nanoparticles were coated again with an outer layer. In conclusion, according to the obtained results, a bifunctional system combining the optical and magnetic sensing in the same nanoparticle was reported. The obtained nanoparticles present superparamagnetic behavior and high saturation magnetization around 10 times higher ($\sim 64 \text{ emu/g}$) compared with the iron oxide nanoparticles synthesized at the same conditions. In addition, the luminomagnetic nanoparticle surface is biocompatible allowing additional future functionalizations with high potential to biomedical applications.

Keywords: Multifunctional nanoparticles. Luminomagnetic nanoparticles. Colloidal stability. Magnetic and luminescent properties. Biomedicine.

I. INTRODUÇÃO

I.1. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS E MULTIFUNCIONAIS

A síntese de materiais em escala nanométrica, experimenta um vertiginoso crescimento nas últimas décadas e, recentemente, já vem sendo possível observar a utilização desses materiais em inúmeras aplicações tecnológicas^[1-5] e em biomedicina^[6-12]. Para tanto, a busca de métodos de síntese com extremo controle de tamanho e morfologia das nanopartículas (NP) tem se intensificado. O crescente interesse observado em nanotecnologia pode ser explicado pela forte dependência existente entre as dimensões dos nanomateriais e as propriedades apresentadas pelos mesmos, as quais são dependentes/ajustadas pelo tamanho (*size-tunable*)^[2]. Efeitos quânticos de tamanho, confinamento de portadores de carga, dependência entre estrutura eletrônica e tamanho, efeitos devido às propriedades originais dos átomos de superfície, elevadas relações área de superfície/volume e de átomos que compõem a superfície e o núcleo das NP são apenas algumas das mais freqüentes causas do comportamento não-usual desses materiais^[13]. Nanopartículas de diversos materiais têm sido constantemente estudadas, mas um considerável destaque tem sido dado às nanopartículas magnéticas (NPM) que, devido aos efeitos quânticos de tamanho e a grande área de superfície, têm algumas de suas propriedades magnéticas drasticamente alteradas, normalmente exibindo fenômenos superparamagnéticos e tunelamento quântico de magnetização, uma vez que cada partícula pode ser considerada como um monodomínio magnético^[14]. A origem do magnetismo, sua dependência com o tamanho e as principais propriedades magnéticas são apresentadas e exploradas no Apêndice A no final da dissertação. Propriedades magnéticas juntamente com outras propriedades mesoscópicas mecânicas e térmicas apresentadas pelas NPM, fazem com que estas ofereçam alto potencial para diversas aplicações, tais como processos catalíticos^[15,16], fluidos magnéticos^[17], biotecnologia e biomedicina^[10], ressonância magnética^[11,18,19], armazenamento de dados^[20] e descontaminação ambiental^[21,22].

Dentre as áreas citadas, talvez uma das mais exaltadas atualmente é a aplicação das NPM em biomedicina, na qual a utilização de NPM de óxidos de ferro (magnetita e maghemita), vem sendo projetadas com enorme potencialidade em diversos campos de aplicações^[6-8,11,12], incluindo tratamentos anticâncer por magnetohipertermia^[10-12,23], realce de

contrastes em imagens por ressonância magnética^[10], separação magnética de células e proteínas^[12,23] e carregadores de fármacos (*Drug Delivery*)^[7,12,23]. Em biomedicina, há a exigência pela utilização de NPM com comportamento superparamagnético à temperatura ambiente, isto é, que apresentem valores nulos de remanência (magnetismo residual) e coercividade (campo necessário para trazer a magnetização até zero) quando expostas a campo magnético externo aplicado. O superparamagnetismo permite o alinhamento magnético instantâneo da NP em relação a um campo magnético externo aplicado, mesmo em valores muito baixos de campo. Adicionalmente, a inexistência de direções preferenciais de magnetização impede a aglomeração dessas NP devido a interações de acoplamento magnético. Além disso, as aplicações biológicas, terapêuticas e de diagnósticos médicos requerem partículas magnéticas estáveis em sistemas aquosos, com pH neutro e salinidade fisiológica. A estabilidade coloidal da suspensão dependerá primeiramente, das dimensões das partículas, que devem ser suficientemente pequenas de modo a evitar a precipitação devido à força da gravidade e, em segundo, da carga e natureza química da superfície, cuja estabilidade ocorre graças a repulsões coulômbicas e estéricas^[12]. Deve-se ressaltar ainda o importante compromisso que há entre o tamanho das partículas e sua circulação em organismos vivos, sendo que estes necessitam ser compatíveis para evitar processos de embolia capilar^[6-8,11,12].

A utilização de NPM metálicas é extremamente desejada devido à suas propriedades magnéticas intensificadas em relação aos óxidos, sobretudo no que se refere à magnetização de saturação que nos óxidos é da ordem de 300-400 emu/cm³, podendo atingir valores ao redor de 1000, 1400 e 1700 emu/cm³, respectivamente para NPM metálicas de FePt, Co e Fe^[24]. Elevada magnetização de saturação juntamente com o comportamento superparamagnético são as duas principais características associadas ao comportamento magnético das NP para torná-las aplicáveis nas diversas áreas da biomedicina. Entretanto, além dos problemas relativos à estabilidade coloidal, problemas adicionais surgem quando as NP na forma de óxidos são substituídas por NP metálicas: (i) a alta reatividade apresentada por sua superfície química, a qual pode ser facilmente oxidada na presença de oxigênio do ar, resultando em uma considerável perda do magnetismo e da dispersibilidade, (ii) aumento da toxicidade da NP devido à superfície metálica e (iii) número reduzido de grupos funcionais para promover a conjugação com a superfície da NP levando a sua estabilização estérica. Uma vez que tais perdas podem trazer sérios prejuízos quanto

à maioria das aplicações de NPM, é atualmente indispensável o desenvolvimento de estratégias de proteção e estabilização química da superfície das NP, seja durante ou após sua síntese.^[25] As mais diversas estratégias de estabilização atualmente existentes são normalmente classificadas em duas categorias: estabilização eletrostática (Figura 1a) e estabilização estérica (Figura 1b). Na primeira, a estabilização é obtida graças à repulsão entre as superfícies eletricamente carregadas das partículas e pode ser controlada através do uso de diferentes solventes ou dispersantes com diferentes polaridades^[26]. Já na segunda, o contato entre as partículas é fisicamente evitado graças ao fato das mesmas possuírem junto à sua superfície um material espaçador. Este material pode se adsorver fisicamente ou se ligar covalentemente à superfície das partículas^[26]. Além disso, a camada formada pelo grupo espaçador desempenha outros papéis importantes, influenciando tanto as características individuais (solubilidade, tamanho e estrutura), como sua distribuição espacial, ou seja, a formação de arranjos após a secagem do solvente. Diversas substâncias podem ser utilizadas como agente espaçador, sendo as mais importantes os surfactantes ou tensoativos, moléculas orgânicas com grupos polares e polímeros^[27,28].

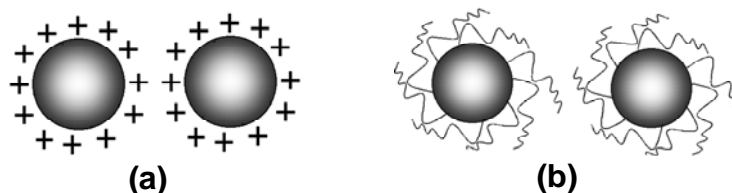


Figura 1. Exemplos de mecanismo de estabilização de partículas de soluções coloidais: estabilização de partículas (a) por carga e (b) por efeito estérico^[27,28].

Atualmente, as diferentes camadas de proteção são utilizadas não somente para estabilizar as nanopartículas, mas para conferir a estas uma funcionalização adicional de acordo com as aplicações desejadas, tornando-as, por exemplo, biocompatíveis, biosseletivas, interagentes em sistemas auto-organizados^[7,29,30] ou, mais recentemente, conferindo as NPM um conjunto de múltiplas características e propriedades, sendo estas denominadas de nanopartículas multifuncionais^[6,8,31,32]. Dentre as nanopartículas magnéticas multifuncionais, uma classe que vem recebendo merecido destaque são as nanopartículas que apresentam grupos ou entidades luminescentes ou fluorescentes denominados de luminóforos (ou fluoróforos)^[6-8,33], com destaques a moléculas como a rodamina B (RhB) e a fluoresceína e a alguns pontos quânticos semicondutores como

SeCd, TeCd, entre outros. Estas NP, denominadas luminomagnéticas, combinam as características individuais de cada sensor, cuja associação poderá ser utilizada para obtenção de imagens *in vivo* e *in vitro* tais como imagem por ressonância magnética (*MRI - Magnetic Resonance Imaging*) e microscopia de fluorescência (*FM - Fluorescence Microscopy*)^[34]. Podem ser utilizados em biomedicina ou nanomedicina aplicados como um agente anticâncer biomodal, capaz de interagir os efeitos das terapias fotodinâmica e hipertermia. Esse nanomaterial multifuncional poderia servir como uma ferramenta terapêutica e de diagnóstico possibilitando visualizar e simultaneamente, tratar diversas enfermidades. Uma outra possível aplicação para esses materiais é na separação magnética de células e proteínas, citometria, cujo rastreamento poderia ser monitorado e controlado utilizando microscopia fluorescente. No campo tecnológico, tais materiais podem ser utilizados como blocos de construção para diversos dispositivos magnéticos, eletrônicos e fotônicos, manipulando com campos magnéticos externos e controlando seus posicionamentos pela propriedade luminescente. As possibilidades de preparação desses materiais podem ser resumidas no esquema apresentado na Figura 2.

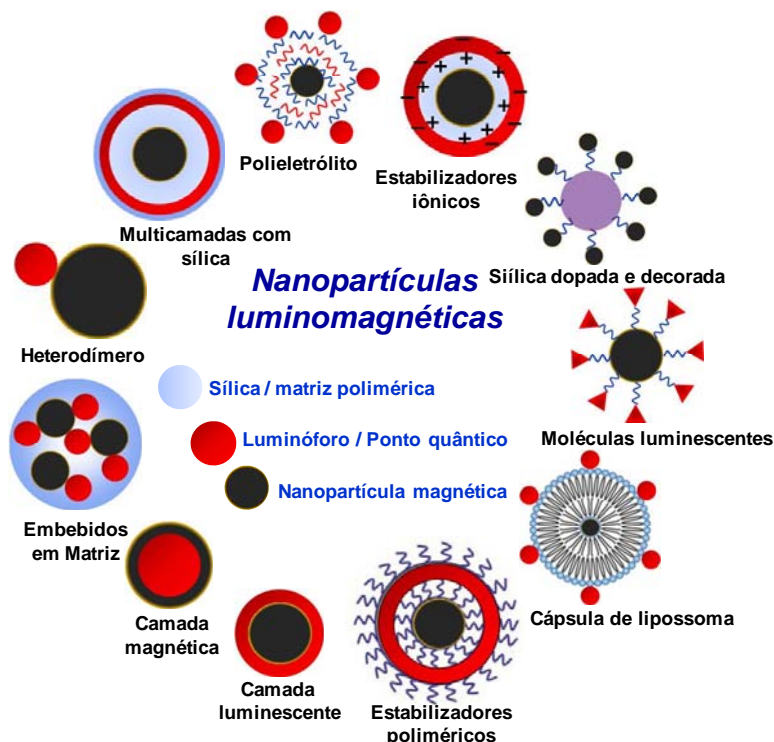


Figura 2. Materiais luminomagnéticos nanoestruturados de diferentes formas e arranjos. Adaptado^[8].

Desta forma, a escolha do material a ser utilizado no recobrimento das partículas deve ser feita em conformidade com a aplicação a qual se destinaria o produto final. Neste contexto, a literatura apresenta inúmeras estratégias de recobrimento com materiais inorgânicos, poliméricos, surfactantes e biológicos. Dentre os inorgânicos destacam-se a sílica^[12,23], carbono^[35], metais nobres^[36] e óxidos metálicos^[37]. Os poliméricos podem ser subdivididos em naturais, com destaque para dextrana^[38] e quitosana^[39], e sintéticos, com destaque para os polímeros baseados em poli(vinilpirrolidona) (PVP)^[40], poli(vinil álcool) (PVA)^[41], poli(etilenoglicol) (PEG)^[9], óxido de polietileno (PEO)^[42], dentre outros. Já dentre os surfactantes, normalmente empregados juntamente com macromoléculas e/ou polímeros para melhorar a dispersão das partículas e possibilitar a inclusão de grupos funcionais terminais^[2,10], merecem destaque a dodecilamina^[43], oleato de sódio^[10,37] e carboximetilcelulose de sódio^[2,44]. A Tabela 1 apresenta algumas macromoléculas e polímeros mais utilizados no recobrimento de NPM e suas respectivas características.

Tabela 1. Exemplos de substâncias biocompatíveis utilizadas no recobrimento de NP magnéticas^[2].

Espécie/Referência	Vantagens
Polietileno glicol (PEG)	Biocompatibilidade, tempo de circulação, acesso ao interior da célula
Dextrana	Melhora o tempo de circulação e estabiliza a suspensão coloidal
Polivinilpirrolidona (PVP)	Melhora o tempo de circulação e estabiliza a suspensão coloidal
Polivinil álcool (PVA)	Previne a coagulação de NP e aumenta o caráter monodisperso
Polipeptídeos	Bom para células biológicas, por exemplo, ligantes-alvo de células
Poli(D,L-lactídeo)	Biocompatível, baixa citotoxicidade
Poli(N-isopropilacrilamida)	Atua no transporte de drogas termo-sensíveis e separação de células
Quitosana	Polímero linear catiônico amplamente utilizado em sistemas de liberação de genes não-virais, biocompatível, hidrofílico.

Adicionalmente, pode ser realizado um novo recobrimento com moléculas biológicas tais como: anticorpos, proteínas, diversos agentes terapêuticos, DNA/RNA mediadores, agentes facilitadores de permeação, entre outras^[6-8,45], sobre o núcleo magnético previamente recoberto, conferindo novas características e propriedades ainda mais específicas como biosseletividade e/ou funcionalidade às NP. Esse recobrimento funcional faz com que as NP passem a reconhecer especificamente a membrana de determinadas células e tecidos ou grupos ativos de certas proteínas. Essas novas moléculas presentes no recobrimento são denominadas de ligantes funcionais^[7] e a eficiência dos processos para os

quais as mesmas são utilizadas parece depender intimamente de um rigoroso controle da quantidade dessas biomoléculas presentes nas NPM. O controle necessário vêm sendo exaustivamente investigado através da incorporação das moléculas em nanoestruturas classificadas como camada-por-camada (*layer-by-layer*)^[12]. A presença dessas moléculas com funções específicas leva a uma classe ainda mais abrangente de NP multifuncionais, podendo aliar os benefícios das NP luminomagnéticas com a funcionalização adicional obtida (Figura 3). A Tabela 2 apresenta exemplos de moléculas biológicas comumente utilizadas para funcionalizar as NPM destacando suas respectivas atividades funcionais.

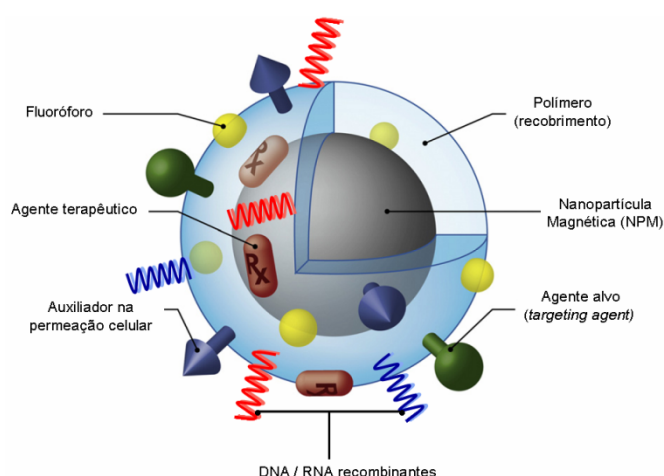


Figura 3. NPM com diversos ligantes funcionais: multifuncionalidade numa única NP. Adaptado^[7].

Tabela 2. Exemplos de proteínas e ligantes-alvo utilizados na funcionalização de NP magnéticas^[2].

Ligante	Atividade Funcional
Transferrina	Utilizado como ligante-alvo em alvos ativos de agentes anticâncer, proteínas e genes para proliferação de células primárias via receptores transferrina.
Lactoferrina	Similar a transferrina, atua como agente anti-infeccioso, modulador de respostas inflamatórias, absorção de ferro e proteína imuno-reguladora.
TGF- α *	Promove a proliferação e a diferenciação de células, atua na cura de feridas
Insulina	Hormônio que regula os níveis de glicose no sangue; é uma proteína pequena
NGF #	Importante para a sobrevivência de células neurais
Pullulan	Altamente solúvel em água, não-tóxico, não-imunogênicas e não-antigênicas.
Elastina	Proteína extracelular que confere elasticidade a muitos tecidos
Albumina	Proteína que se liga a uma variedade de compostos lipofílicos, incluindo esteróides
Tat-peptídeo	Peptídeo membrana-permeável, melhora o transporte intracelular
Ácido fólico	Ligante-alvo para células de câncer, fracamente imunogênico. Se liga a receptores foleatos na membrana e facilita a entrada das NP na célula

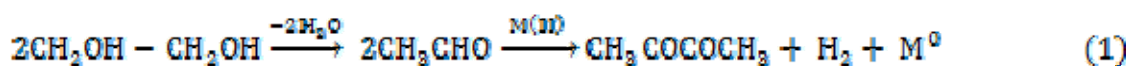
*Fator α de crescimento; # Fator de crescimento de nervos

I.2. MÉTODOS MAIS UTILIZADOS PARA SÍNTESE DAS NP LUMINOMAGNÉTICAS

Na literatura é possível encontrar inúmeros métodos de síntese de nanopartículas magnéticas, dentre os quais podemos citar processos baseados na decomposição térmica de sais metálicos e metodologias envolvendo microemulsões.

I.2.1. Processo Poliol e Processo Poliol Modificado

O método de decomposição térmica tem apresentado resultados muito satisfatórios quanto ao controle de tamanho, composição e forma das NP metálicas. Dentre eles, destaca-se o processo poliol, que se baseia na obtenção de NP metálicas e de óxidos metálicos pela decomposição térmica de precursores metálicos em temperaturas elevadas seguida pela redução do metal pelo diol. Primeiramente, o método do poliol foi proposto por Fièvet e colaboradores, no qual se observou a redução de sais metálicos a partir da desidratação do etilenoglicol em altas temperaturas e da conseqüente formação de acetaldeído, que atua como agente redutor no processo de redução do íon metálico ao estado de oxidação zero, resultando, todavia, em partículas de dimensões micrométricas. Desta forma, esta reação tem a formação de uma biacetila, do metal (no estado zero de oxidação) e liberação de hidrogênio molecular.^[46-51] A representação esquemática do processo reacional pode ser observada na equação 1:



Uma adequação do processo poliol foi proposta por Sun e colaboradores para a síntese de NP metálicas de FePt monodispersas e com tamanho e morfologia controlados baseada principalmente na substituição da molécula do diol de cadeia curta como o etilenoglicol por outra de cadeia mais longa, no caso 1,2-hexadecanodiol. Neste método, foram utilizados como precursores metálicos, sais de ferro pentacarbonila e acetilacetato de platina (II). No processo de decomposição térmica destes sais, ocorre a redução dos cátions metálicos utilizando-se como agente redutor o 1,2-hexadecanodiol, e com isso, ocorre a nucleação dos metais e formação da liga de FePt. O crescimento desta liga é controlado pela utilização dos agentes de superfície ácido oléico e oleilamina, que propicia o controle de forma e tamanho da partícula resultando na obtenção de sistema com tamanho

nanométrico^[52-56]. Na Figura 4, é demonstrado uma representação esquemática do processo reacional utilizado no processo poli-ol proposto por Sun e colaboradores.

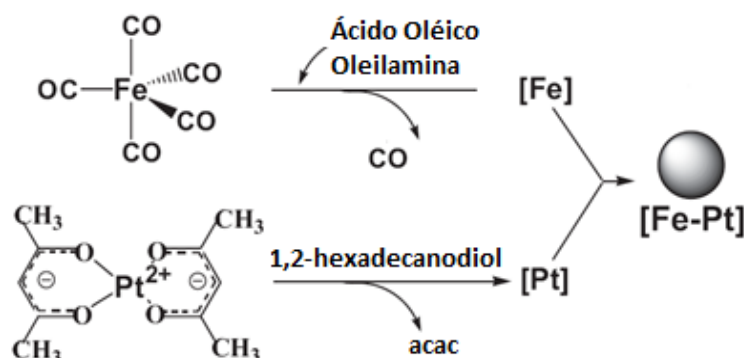


Figura 4. Representação esquemática do processo do poli-ol proposto por Sun e colaboradores, para a formação de NPM de FePt ^[52].

Apesar do método do poli-ol proposto por Sun ser eficaz na síntese de NPM monodispersas, pode-se encontrar trabalhos na literatura que relatam problemas com a elevada toxicidade do ferro pentacarbonila e com o controle da composição química das NPM, devido à volatilidade do Fe(CO)_5 . Neste sentido, foram propostas algumas modificações no processo poli-ol, tal como uma modificação desenvolvida por Varanda e colaboradores, na qual o ferropentacarbonila é substituído pelo acetilacetonato de ferro(III), composto não-volátil e com baixa toxicidade, o que propicia maior controle da composição química na síntese.^[4,5] Esta modificação resultou no chamado método poli-ol modificado cuja representação esquemática encontra-se na Figura 5.

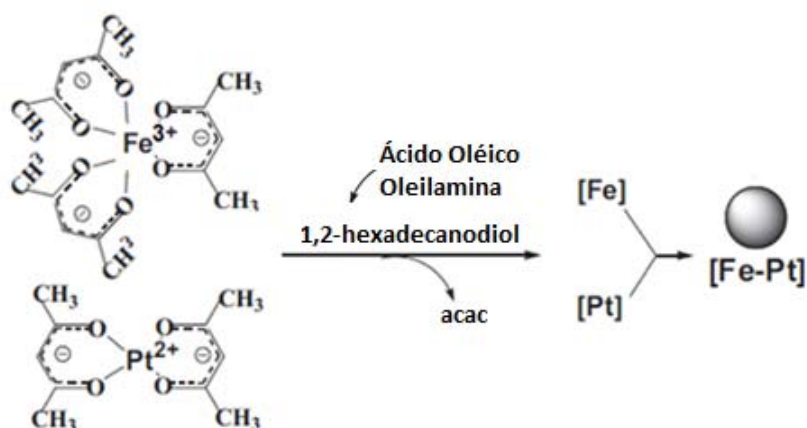


Figura 5. Representação esquemática do método poli-ol modificado proposto por Varanda e colaboradores, para a síntese de NPM de FePt com morfologia e composição controlados.

1.2.2. Metodologia envolvendo sistemas microemulsionados

A *microemulsão* é um sistema isotrópico, termodinamicamente estável e opticamente transparente, que é constituído ao menos de um líquido imiscível disperso em outro, tais como água e um solvente orgânico (óleo), na forma de gotículas nanométricas estabilizadas por uma camada de moléculas de surfactante.^[57,58] O surfactante geralmente são moléculas denominadas anfifílicas que são formadas de uma parte polar e outra parte apolar. Estas moléculas podem ser iônicas ou não-iônicas, alguns exemplos surfactantes iônicos são: o dodecilsulfato de sódio (SDS) e cloreto de hexadeciltrimetilamônio (CTAB), e alguns exemplos de surfactantes não-iônicos são: Igepal CO-520 e Triton X-100.^[13] Enquanto microemulsões parecem homogêneas em uma escala macroscópica, microscopicamente elas são meios heterogêneos que exibem microfases ou domínios distintos. A estrutura microscópica de microemulsões depende de sua composição, com ambas natureza e quantidade de cada componente sendo importantes. Três tipos de estruturas características têm sido identificados neste tipo de sistema, e são elas: (i) gotículas de água em uma fase contínua de óleo (microemulsões por micela reversa ou também chamada microemulsões w/o), que geralmente ocorrem em sistemas com alta quantidade de óleo; (ii) gotículas de óleo em uma fase contínua de água (microemulsões o/w ou óleo-em-água), tipicamente ocorrendo em microemulsões rica em água e (iii) estruturas bicontínuas, cujos domínios de água e óleo estão randomicamente interconectados na forma de microestruturas como esponja, e onde ambas óleo e água agem como fases contínuas enquanto permanecem distintos um no outro. Fases bicontínuas não são úteis para fins da síntese de nanopartículas e existem na região da fase intermediária das microemulsões w/o e o/w.^[57]

Dependendo da proporção dos componentes e do valor do balanço hidrofílico-lipofílico do surfactante utilizado, a formação das microgotículas pode ser na forma de micelas inchadas de óleo dispersas na fase aquosa como para a microemulsão o/w ou micelas inchadas de água dispersas em óleo como a microemulsão w/o (microemulsão por micela reversa).^[59] A representação esquemática de microemulsões o/w e w/o pode ser observado na Figura 6.

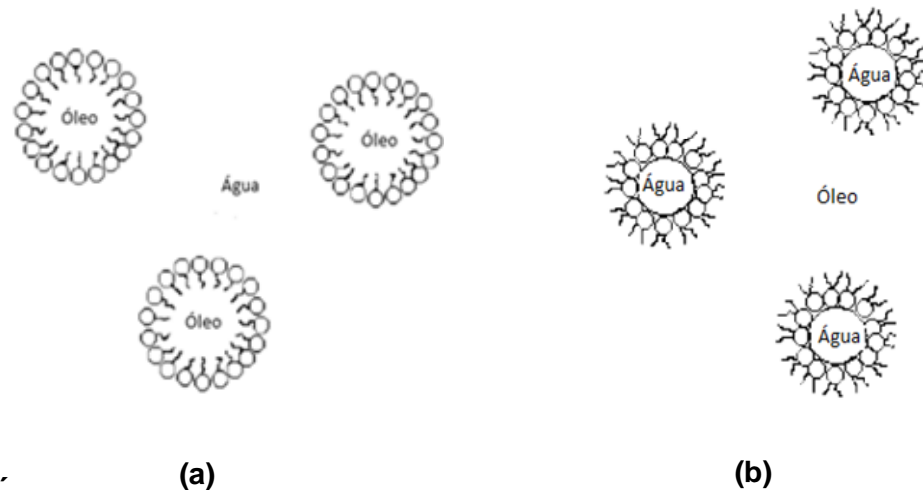


Figura 6. Representação esquemática de microemulsões (a) o/w e (b) w/o. Adaptado^[13]

O método de microemulsão por micela reversa, como uma espécie de técnica simples, é um caminho adequado para obtenção de nanopartículas com controle de tamanho e uniformidade. A dimensão das gotículas pode ser modulada por vários parâmetros, em particular o $W = ([\text{água}] / [\text{surfactante}])$. Estudos recentes indicam que com a assistência de um co-surfactante, o tamanho das nanopartículas preparadas em sistemas quaternários de micelas reversas é mais controlado. Entretanto, a relação entre W e o tamanho da nanopartícula ainda não está completamente estabelecido e precisa ser mais estudado. O método de microemulsão por micela reversa vem sendo utilizado tanto para a formação de nanopartículas metálicas dentro do próprio sistema reacional, quanto para se utilizar de processos de recobrimento do tipo casca/caroço. Neste último, se adiciona ao sistema reacional partículas pré-sintetizadas e os precursores que serão utilizados para gerar a camada de recobrimento.^[58] Em ambas as metodologias geralmente são preparados dois sistemas microemulsionados, sendo um com a presença dos sais metálicos que formarão as partículas e o outro com o agente redutor que reagirá com o sal após a mistura dos dois sistemas. Na Figura 7, pode ser visto uma representação esquemática de um mecanismo proposto para a formação de nanopartículas pelo método de microemulsão por micela reversa.^[59]

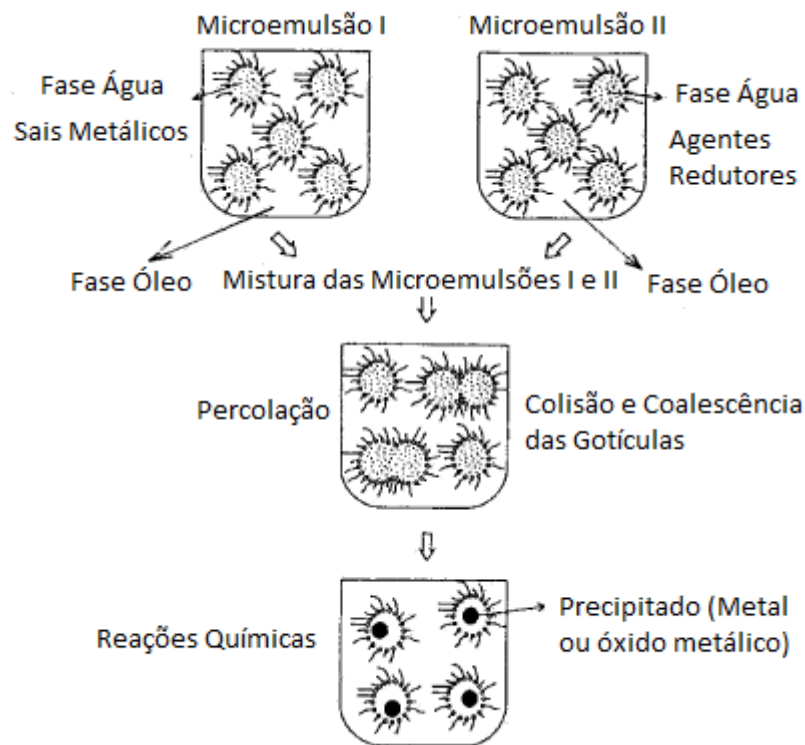


Figura 7. Mecanismo proposto para o processo de formação de nanopartículas metálicas ou de óxidos metálicos pelo método de microemulsão por micela reversa. Adaptado ^[59]

1.2.2. Algumas considerações sobre o recobrimento com sílica

A sílica tem sido muito explorada como material de recobrimento para nanopartículas magnéticas, principalmente visando aplicações em biomedicina. Usualmente, um recobrimento inerte de sílica na superfície de NP de magnetita previne sua agregação no líquido promovendo estabilidade química e melhor proteção contra toxicidade. Este tipo de recobrimento estabiliza as NPM geralmente de duas maneiras. A primeira delas está relacionada à blindagem parcial das interações de dipolo magnético e a segunda, mais importante, reside na estabilização eletrostática uma vez que a superfície da sílica encontra-se negativamente carregada em pH neutro, aumentando a repulsão coulômbica das NPM.^[2,60] Os recobrimentos com sílica tem muitas vantagens decorrentes de sua estabilidade em soluções aquosas, ser de fácil modificação de superfície e de fácil controle das interações inter-partículas, tanto em solução como dentro das estruturas através da variação da espessura da camada de recobrimento.^[2,60]

O método Stöber e o processo sol-gel estão entre os processos mais utilizados para o recobrimento das NPM com sílica. Nestes métodos a espessura da camada de sílica pode

ser controlada pela variação da concentração de hidróxido de amônio e a razão de tetraetilortosilicato (TEOS) em água. Basicamente, estes métodos convencionais se utilizam de precursores silanos que a partir de sua hidrólise básica propicia a formação da camada de sílica quando em uma solução aquosa com as NPM presentes no meio reacional.^[2,61]

Entre as mais utilizadas estratégias de síntese para recobrimento com sílica, existem três que estão sendo extensamente utilizadas, sendo estas: (i) nanopartículas, tais como: colóides metálicos, NPM e nanocristais semicondutores são recobertos utilizando-se do método de microemulsão por micela reversa (água em óleo); (ii) recobrimento de NP inorgânicas com sílica, mediados e estabilizados por agregados poliméricos e surfactantes; e (iii) organização de colóides de sílica em nano e micropartículas por diferentes estratégias de adsorção física. Na Figura 8 pode ser observado cada uma das diferentes estratégias de recobrimento com sílica.^[62]

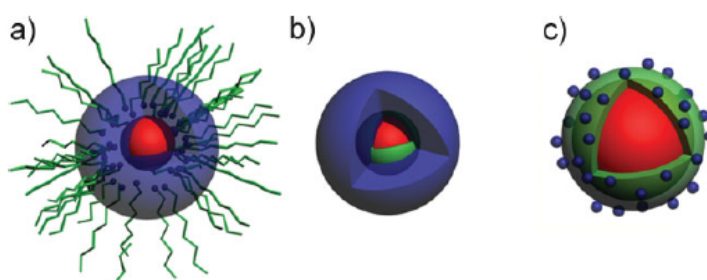


Figura 8. Exemplos esquemáticos de nanomateriais (vermelho) recobertos com sílica (azul) sintetizados de três maneiras diferentes: (a) método de microemulsão por micela reversa (surfactantes são ligados na superfície externa de sílica); (b) recobrimento com sílica mediado por surfactantes ou polímeros (camada verde intermediária na estrutura do tipo casca/caroço); e (c) nanopartículas de sílica auto-organizadas sobre nanomateriais (a camada verde retrata uma típica arquitetura camada-por-camada). Adaptado ^[62]

Microemulsões por micela reversa são extremamente úteis como nanoreatores confinados para síntese de partículas e recobrimento com sílica em escala nanométrica, visto que eles podem eficientemente dissolver sais inorgânicos e precursores organometálicos, bem como nanocristais pré-sintetizados, fornecendo então flexibilidade suficiente para sintetizar nanoestruturas com diversas formas, tamanhos e funções.^[62-64] Como as microemulsões são sistemas termodinamicamente estáveis, ambos os compostos contidos nas gotículas de água e as moléculas de surfactante nas interfaces são constante e rapidamente trocados entre as diferentes gotículas, facilitando assim reações químicas

envolvidas na síntese da partícula. Por exemplo, significa que em quase todos sistemas microemulsionados tanto o conteúdo presente na gotícula quando as moléculas de surfactante nas interfaces são trocadas entre diferentes partículas frequentemente por segundo.^[62]

Várias são as abordagens para o recobrimento com sílica de NP inorgânicas dentro de microemulsões por micela reversa. Na mais simples e utilizada metodologia, núcleos previamente sintetizados são recobertos com sílica dentro das gotículas de água, ao passo que num segundo procedimento, ambas a síntese dos núcleos e o processo de silanização ocorreram no interior da micela. As duas diferentes abordagens são resumidas na Figura 9.

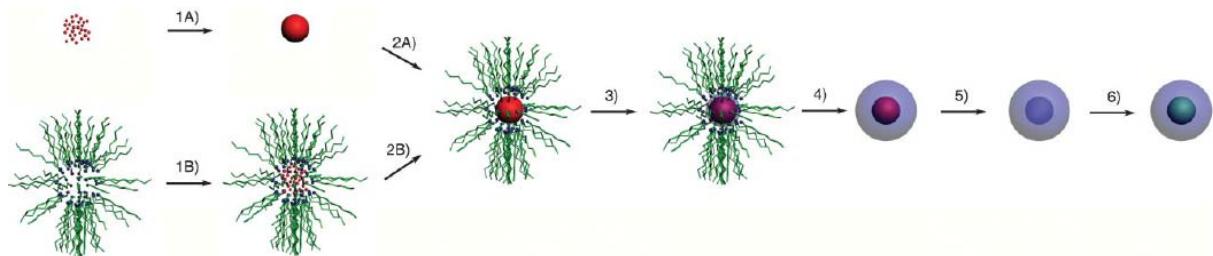


Figura 9. Utilização da microemulsão convencional no processo de recobrimento de NP com sílica. Na primeira rota sintética, as NP são previamente sintetizadas (1A) e transferidas para micelas reversas estáveis preparadas pela agitação de solvente orgânico, água e surfactante (2A). Na segunda síntese, ambas a solubilização e a reação dos precursores do nanomaterial acontecem dentro da micela reversa e é seguida pela hidrólise e condensação de TEOS no interior da micela (3). Após a reação e a lavagem, núcleos com tamanho e espessura de revestimento podem ser experimentalmente controlado (4). Numa etapa complementar, os núcleos dos nanomateriais podem ser substituídos por outros, por exemplo, a partir de processos térmicos ou físicos (5) e reação de um segundo precursor (6). Adaptada^[62]

Um fator altamente relevante no projeto de uma microemulsão é a escolha do surfactante, o qual é crucial para determinar o tamanho e forma dos nanoreatores no interior da micela. O tamanho e a natureza do microreator terão forte influência na homogeneidade do recobrimento, e o tamanho e forma dos nanocristais sintetizados no seu interior. Na Tabela 3 são mostrados os surfactantes mais utilizados para vários tipos de nanomateriais sintetizados ou inseridos no interior de uma micela, bem como as condições de síntese para a formação desta microemulsão por micela reversa.^[62]

Tabela 3. Condições representativas de microemulsão por micela reversa para recobrimento de nanopartículas com sílica e os nanomateriais relacionados. ^[62]

Núcleo da NP	Surfactante/Solvente Orgânico	Referência
Ag(a), Au(a), Pd(b), Fe-Pt(a), Rh(a), CdS(b), CdTe(a), CdSe(a), PbSe(a), Fe ₃ O ₄ (a), Fe ₂ O ₃ (a,b), CoFe ₂ O ₃ (a), MnFe ₂ O ₃ (a)	Igepal CO-520/Ciclohexano	[65-71]
Au(a), CdS:Mn/ZnS(b)	AOT/n-Heptano	[72,73]
Fe ₃ O ₄ (a), CdS(a), CdTe(a)	Triton X-100/Ciclohexano	[74,75]
Fe ₃ O ₄ (a)	SDS/Octano	[76]
FePt(b)	Brij 52 ou Brij 56/Iso-octano	[77]
Fe ₃ O ₄ (b)	Decilbenzenosulfato de Sódio/Xileno	[78]

(a) Recobrimento de nanocristais pré-sintetizados. (b) recobrimento de nanocristais sintetizados in situ.

De acordo com esta abordagem verifica-se que combinando a estabilidade química e física da sílica com as funcionalidades específicas dos diversos núcleos demonstrados na Tabela 3, é possível obter materiais híbridos com estrutura do tipo casca/caroço com fascinantes propriedades para futuras aplicações.

1.2.3. Os desafios atuais

Devido à elevada toxicidade das partículas metálicas, NPM de óxido de ferro, em especial magnetita (Fe₃O₄) e maghemita (γ -Fe₂O₃) têm sido extensamente estudadas quanto à sua possível utilização em aplicações biomédicas^[12,79]. Vários trabalhos reportados na literatura mostram a utilização dos óxidos magnéticos funcionalizados e indicam uma área bastante promissora de investigação. Poucos trabalhos de aplicação, por outro lado, inferem que a utilização dos óxidos torna-se muito limitada devido à relativamente baixa magnetização da nanopartícula a qual é da ordem de 300-400 emu/cm³, diminuindo ainda mais, com a presença das diversas camadas de recobrimento/funcionalização em virtude da presença das camadas de material diamagnético ou paramagnético^[10,80].

Neste contexto, a necessidade atual aponta para dois pontos em especial. Primeiramente, para o desenvolvimento de núcleos magnéticos com magnetização de saturação no intervalo observado para NPM metálicas, com magnitude de emanação superior a 1000 emu/cm³, preservando o caráter superparamagnético do material e, também, suas características de superfície que facilitem a funcionalização por grande

variedade de moléculas e compostos^[6-8,80]. Segundo, é essencial desenvolver rotas sintéticas para permitir a engenharia de superfície em nanoescala utilizando técnicas como bioconjugação química, acoplamento de proteínas^[81], ligantes heterobifuncionais para formação de ligações amidas, ésteres ou dissulfídicas^[82], além de compreender como estes mecanismos de reação ocorrem e integrá-los aos conceitos da ciência dos materiais evitando floculação e/ou agregação indesejáveis durante o processo^[83]. A próxima geração de NPM para uso em biomedicina incorporará novos núcleos nanocristalinos, materiais de recobrimento e ligantes funcionais a fim de melhorar a estabilidade, detecção, transporte, liberação de drogas e a especificidade. Os novos núcleos magnéticos deverão apresentar intensificação do momento magnético, melhorando o contraste em MRI, o transporte pelos vasos sanguíneos e a eficácia no diagnóstico e tratamento de enfermidades, como o câncer, por exemplo. Aprimoramentos nos recobrimentos/funcionalizações levarão a maior especificidade para a aplicação desejada, além de drástica diminuição na toxicidade das NPM. Trabalhos recentes indicam, inclusive, a possibilidade de aplicação das NPM bifuncionais luminomagnéticas no monitoramento aos possíveis mecanismos que levam às enfermidades como malária^[84] e metástase de alguns tipos de câncer^[85]. Esses resultados indicam uma fronteira na aplicação das NPM multifuncionais como sondas e em monitoramento de alterações químicas e físicas locais numa extensão que possibilitaria assistir e melhorar a detecção, o monitoramento e o tratamento de enfermidades.

Com o intuito de sintetizar NPM bifuncionais luminomagnéticas com propriedades controladas, tais como: elevada magnetização de saturação (Ms) e caráter superparamagnético, estabilidade coloidal, biocompatibilidade e funcionalização luminescente com baixa supressão de luminescência com o tempo, nesse trabalho foram devidamente adequados alguns métodos de preparação para obtenção e estabilização dessas nanopartículas.

II. OBJETIVOS

Diante dos desafios atuais no que se refere a síntese, estabilização e aplicação de nanopartículas magnéticas multifuncionais, especificamente nanopartículas luminomagnéticas, os objetivos deste trabalho são:

- i.** Utilizar o processo poliol modificado combinado com o crescimento mediado por sementes para sintetizar NPM de FePt@Fe₃O₄ (estrutura caroço/casca) com tamanho, morfologia e composição rigorosamente controlados, alta magnetização de saturação e caráter superparamagnético;
- ii.** Utilizar o método de microemulsão por micela reversa para recobrir com sílica (estrutura caroço/casca) as NPM de FePt@Fe₃O₄, buscando uma condição ideal para propiciar biocompatibilidade e estabilidade coloidal em sistemas biológicos, além de grupos terminais que possibilitem posterior funcionalização;
- iii.** Funcionalizar com moléculas de rodamina B a superfície da NPM recobertas com sílica, utilizando-se de um sistema reacional com as partículas e os precursores luminescentes, com o intuito de se obter sistemas de NPM bifuncionais integrando as propriedades magnéticas e luminescentes (materiais luminomagnéticos) para aplicações como nanobiossensores bifuncionais conjugados em biomedicina;
- iv.** Depositar nova camada de sílica sobre a superfície da NPM após a funcionalização luminescente, para minimizar a supressão da luminescência no meio fisiológico.

III. PARTE EXPERIMENTAL

Durante todas as etapas de preparação das amostras no desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados reagentes com grau analítico e sem tratamento prévio.

III.1. SÍNTESE DE NPM DE FePt@Fe₃O₄

Nanopartículas de FePt recobertas com magnetita (FePt@Fe₃O₄) do tipo caroço/casca foram sintetizadas pelo processo poliol modificado combinado com o crescimento mediado por sementes: uma mistura de 0,3 mmol de acetilacetato de platina(II), 0,37 mmol de acetilacetato de ferro(III) e 0,9 mmol de 1,2-hexadecanodiol foram adicionados em um balão de três bocas de 125 mL contendo 20 mL de dioctiléter. Sob agitação magnética e atmosfera de nitrogênio, o frasco foi aquecido a 100°C durante 10 min e então, 0,4 mmol de ácido oléico e 0,4 mmol de oleilamina foram injetados no sistema reacional. O sistema foi aquecido a 200°C por 60 min em uma taxa de 5°C/min, e a temperatura foi novamente aumentada para 290°C (refluxo) utilizando a mesma taxa de aquecimento. Após 30 min sobre refluxo, o sistema foi resfriado a temperatura ambiente pela remoção da fonte de calor. Em seguida, as nanopartículas obtidas foram lavadas e centrifugadas três vezes utilizando-se uma mistura etanol/hexano. Após as lavagens as nanopartículas foram dispersas novamente em hexano e misturadas no frasco de reação com 1,58 mmol de acetilacetato de ferro(III), 7,9 mmol de 1,2-hexadecanodiol em 20 mL de dioctiléter sob agitação magnética, a temperatura foi aumentada e mantida a 100°C durante 20 min com o sistema aberto para evaporação do hexano. Em seguida, a temperatura aumentada a 200°C por 1 h e sob refluxo a 290°C durante 30 min antes de resfriar o sistema novamente a temperatura ambiente. A mistura foi transferida para um tubo de centrifuga e etanol foi adicionado. Este tubo foi sonificado por 10 min e centrifugado a 7000 rpm durante 10 min. O precipitado obtido foi re-disperso em pequena quantidade de hexano e novamente foi feita a lavagem com etanol e centrifugado. Foram feitas três lavagens, e ao final do processo, as nanopartículas de FePt@Fe₃O₄ foram dispersas em ciclohexano. A Figura 10 mostra o fluxograma mostrando as etapas de preparação das nanopartículas através do processo poliol modificado combinado com o crescimento mediado por sementes para a obtenção das NPM de FePt@Fe₃O₄.

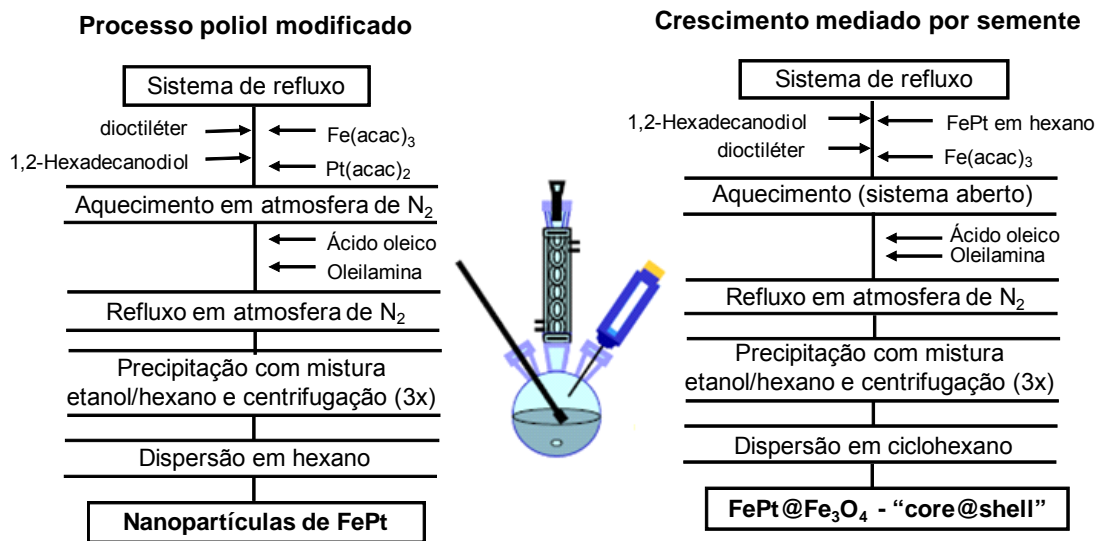


Figura 10. Representação esquemática da rota de síntese das NPM de FePt@Fe₃O₄ pelo processo poliol modificado combinado com o crescimento mediado por sementes.

III.2. ESTABILIZAÇÃO DAS NPM: RECOBRIMENTO COM SÍLICA

Para recobrimento das NPM sintetizadas pelo método poliol modificado foi utilizado o método de microemulsão por micela reversa, conforme indicado na Figura 11.

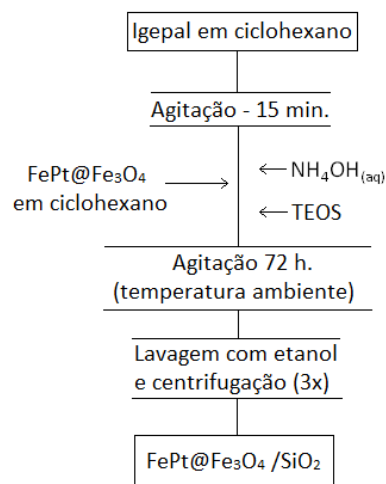


Figura 11. Representação Esquemática da etapa de recobrimento com sílica das NPM de FePt@Fe₃O₄.

Nesta etapa foram feitas diversas modificações nos sistemas microemulsionados com o intuito de encontrar uma condição ideal para controle de forma e tamanho e das propriedades desejadas para os sistemas nanoestruturados. Basicamente, as modificações foram realizadas com o intuito de verificar a influência do tipo de surfactante (Igepal CO-520

e Triton X-100) que formam as micelas; a modificação imposta pela presença de um co-surfactante (etanol) na estrutura micelar; a influência no processo reacional das quantidades relativas de NPM, tetraetilortosilicato (TEOS, precursor da camada de sílica) e $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$ (catalisador) e tempo de reação (24 h e 72 h). A condição ideal encontrada neste trabalho é resumida a seguir: foi preparada uma solução de 8 mL de Igepal CO-520 em 170 mL de ciclohexano em um erlenmeyer de 250 mL, esta mistura foi agitada durante 5 min. Em seguida, foram adicionados 15 mL de uma dispersão (10 mg/mL) das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ em ciclohexano e 1,3 mL de $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$ (30%) no erlenmeyer. A reação foi mantida durante 3 min e então, foi adicionado, vagarosamente, 1,5 mL de TEOS. A mistura reacional foi mantida em temperatura ambiente e sob intensa agitação durante 72 h. Ao final do processo, a mistura foi transferida para um tubo de centrifuga e etanol foi adicionado. Este tubo foi sonificado por 10 min e centrifugado a 7000 rpm durante 15 min. Foram feitas três lavagens desta forma, e depois das lavagens (para retirar as impurezas do processo reacional) as NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$ foram dispersas em etanol.

Após a lavagem, as NPM recobertas com sílica e estocadas em etanol foram secas em estufa a vácuo e tratadas termicamente para promover o recozimento do núcleo magnético. O recozimento das amostras foi realizado da seguinte forma: certa quantidade da amostra em pó foi colocada em barquinha de alumina e tratada em forno tubular no interior de um tubo de quartzo a 550°C durante 1 h sob fluxo de hidrogênio. Após o recozimento as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente sob atmosfera de hidrogênio e coletadas.

III.3. FUNCIONALIZAÇÃO: INCORPORAÇÃO DE RODAMINA B E RECOBRIMENTO COM SÍLICA

Esta etapa foi realizada com o intuito de conjugar as moléculas de rodamina B nas NPM recobertas com sílica e recozidas, para com isso providenciar a funcionalização luminescente nas NP, tornando-as NP luminomagnéticas. Após a funcionalização luminescente as amostras foram novamente recobertas com uma camada adicional de sílica. Para isto, foram sintetizados dois sistemas que diferem apenas na quantidade de nanopartículas de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$ (0,005 g e 0,02 g) adicionadas no meio reacional, mantendo-se fixos todos os outros reagentes. O procedimento utilizado nesta etapa pode ser resumido como segue: foi preparada uma mistura com 0,02 g de NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$, 0,3 mL de $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$ (30%), 5 mL de etanol e 0,1 mL de uma solução

recém preparada contendo 0,072 g de RhB, 0,3 mL de APTES em 5 mL de etanol agitada anteriormente durante 15 min. A dispersão resultante foi sonificada durante 10 min, e então, foi adicionada, vagorosamente, uma solução previamente preparada de 0,2 mL de TEOS em 0,6 mL de etanol. A mistura resultante foi mantida a temperatura ambiente e sob agitação magnética durante 20 h. As NPM luminomagnéticas obtidas foram coletadas em um tubo de centrifuga e etanol foi adicionado. Este tubo foi sonificado por 10 min e centrifugado a 7000 rpm durante 15 min. O procedimento de lavagem foi repetido por três vezes e após as NPM de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ foram dispersas em água. Na Figura 12 pode ser observada a representação esquemática do processo utilizado para funcionalização luminescente e para o recobrimento com a nova camada de sílica.

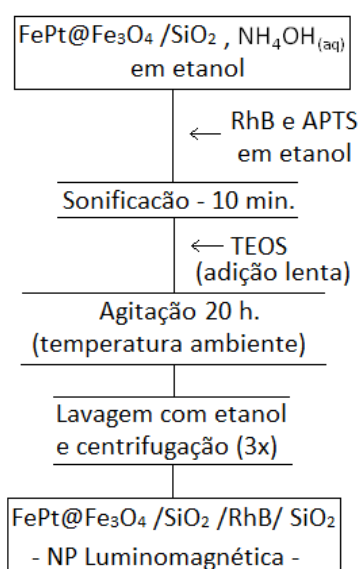


Figura 12. Representação Esquemática da etapa de funcionalização com RhB e recobrimento adicional com sílica.

III.4. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Durante as etapas do trabalho, as amostras foram sendo analisadas pelas técnicas citadas mencionadas para obtenção de informações quanto às propriedades morfológicas e estruturais de cada amostra obtida e planejamento de modificações e etapas posteriores.

III.5.1. Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

Morfologia, tamanho, distribuição de tamanho e homogeneidade do recobrimento das nanopartículas foram examinadas por microscopia eletrônica de transmissão utilizando o

microscópio eletrônico Philips CM120, operando a 120 kV (DEMA-UFSCar). As amostras de NPM de FePt@Fe₃O₄ foram dispersas e diluídas em hexano, e todas as demais amostras após o recobrimento com sílica foram dispersas e diluídas em isopropanol. Em todos os casos, uma gota da suspensão resultante foi depositada sobre o suporte de cobre previamente recoberto por um filme fino de carbono depositado por “*sputtering*”. O diâmetro médio e o desvio-padrão ($d \pm SD$) das NP foram determinados estatisticamente pela contagem de pelo menos 50 partículas por micrografia a fim de se obter o grau de polidispersividade (SD/d).

III.5.2. Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR)

As amostras foram analisadas por um FTIR Shimadzu modelo Prestige 21 (IQSC-USP) com o intuito de confirmar a presença das moléculas ou compostos de recobrimento e dos ligantes funcionais durante as diferentes etapas das sínteses. A preparação das amostras foi feita em forma de pastilhas com aproximadamente 5 mg de amostra misturada com 100 mg de KBr (pastilhas de KBr puro foram utilizadas como branco).

III.5.3. Difractometria de raios X (DRX)

A identificação das fases presentes nas amostras e o estudo da transformação da fase cúbica de face centrada (fcc) para tetragonal de face centrada (fct) para os núcleos magnéticos contendo platina foram realizadas através da difratometria de raios X utilizando o difratômetro Rigaku Ultima IV (IQSC-USP) no intervalo de 20 a 60 graus em 2θ e radiação K α do cobre ($\lambda=1,5406 \text{ \AA}$). As amostras foram preparadas gotejando-se uma dispersão das NPM em hexano na lâmina de vidro e deixando o solvente evaporar a temperatura ambiente. Para o caso das amostras recobertas com sílica, compactou-se a amostra em forma de pó na lâmina de vidro utilizada como porta-amostra.

III.5.4. Energia Dispersiva de raios-X (EDX)

A composição química das amostras foi determinada semi-quantitativamente por espectroscopia de energia dispersiva de raios X (XEDS) a partir de uma sonda PGT acoplada ao microscópio eletrônico de varredura Zeiss-Leica/440. As amostras foram preparadas gotejando-se uma dispersão das nanopartículas em hexano ou isopropanol (dependendo da amostra) na lâmina de vidro e deixando o solvente evaporar a

temperatura ambiente. Esse procedimento foi repetido várias vezes a fim de se obter um filme com espessura de $\sim 0,4 \mu\text{m}$.

III.5.5. Magnetometria de Amostra Vibrante (VSM)

A caracterização magnética das amostras foi realizada em magnetômetro de amostra vibrante (VSM) e SQUID comerciais (IF-USP) a temperatura ambiente com campo máximo aplicado a 70 kOe (7 T). Os parâmetros magnéticos de interesse como magnetização de saturação (M_S) e coercividade (H_C) foram obtidos através das curvas de histerese magnética a temperatura ambiente. As amostras foram preparadas compactando uma pequena quantidade das amostras em pó, cuja massa foi previamente determinada, numa ampola de remédio utilizada como porta-amostra.

III.5.6. Espectroscopia de Fluorescência

As medidas das propriedades luminescentes, tais como: bandas de excitação e emissão e fotoestabilidade temporal das amostras, foram medidas utilizando-se um espectrofluorímetro Hitachi F-4500. As amostras foram preparadas dispersando e diluindo as amostras em isopropanol ou água.

III.5.7. Mobilidade Eletroforética

Estas medidas foram realizadas utilizando um espectrômetro de foto-correlação ZETASIZER Nano ZS da Malvern Instruments (IQ-UNESP) com o intuito de conhecer algumas características da interface das NPM nuas e recobertas com sílica, na qual foi encontrada a região de ponto isoeletrônico (p.i.e.) para ambos tipos de amostras. As medidas foram realizadas variando-se o pH da solução de 2 a 10 utilizando o titulador automático que constitui um acessório do equipamento. As amostras foram preparadas a partir de dispersões com força iônica constante ajustada pela adição de uma solução 1×10^{-3} mol/L de NaNO_3 como eletrólito de suporte no módulo de medida de mobilidade eletroforética.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O objetivo principal deste trabalho foi a síntese de NPM multifuncionais visando a aplicação destas como um nanobiossensor bifuncional e agente terapêutico em biomedicina. Para isto, a idéia proposta foi a síntese de NP com propriedades magnéticas e luminescentes conjugadas numa estrutura do tipo caroço/casca (NP luminomagnéticas). Porém, para aplicação destes nanomateriais em biomedicina/biotecnologia se tornam necessários alguns pré-requisitos básicos, tais como: estabilidade coloidal e estabilidade em meio fisiológico, baixa toxicidade, tamanho compatível para circulação nos vasos sanguíneos e biocompatibilidade para aumentar o tempo de circulação no corpo^[2,10,86]. Outros requisitos importantes que se tornam necessários quando se utilizam NP com funcionalidades magnéticas e luminescentes conjugadas são: núcleo magnético com alta Ms e caráter superparamagnético (detalhes no apêndice A), proteção das moléculas luminescentes para diminuir, ou mesmo evitar, o processo de supressão de luminescência pelo solvente e também por interações magnéticas promovidas pelo contato direto do composto luminescente com o núcleo magnético, aumentando assim a fotoestabilidade destas partículas em meio aquoso e pH neutro^[2,69,87]. Desta forma, a Figura 13 mostra uma representação esquemática do planejamento proposto neste trabalho para que todos os requisitos e propriedades necessárias fossem obtidos.

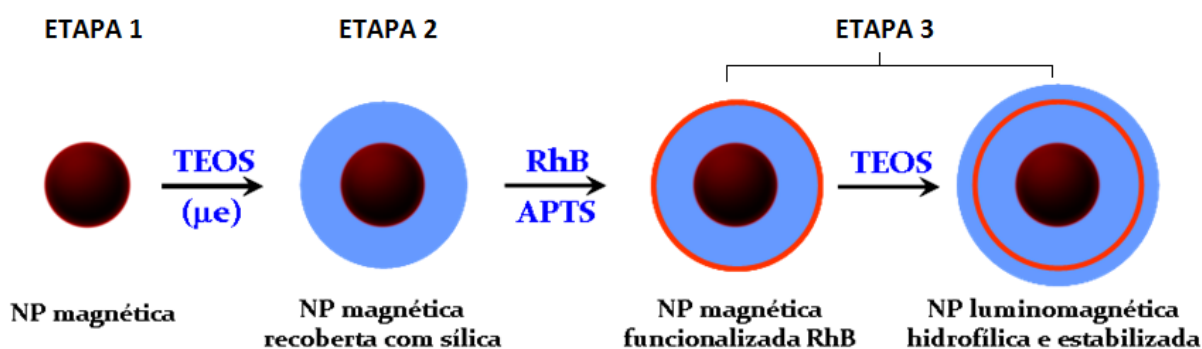


Figura 13. Representação esquemática utilizada para a síntese das NP luminomagnéticas: síntese do núcleo magnético (etapa 1); recobrimento do núcleo magnético com sílica (etapa 2) e funcionalizada com RhB e recobrimento com sílica (etapa 3).

Inicialmente, foi realizada a síntese do núcleo magnético de $\text{FePt}@Fe_3O_4$, na qual foi utilizado o método poli-ol modificado combinado com o crescimento mediano por sementes, que é reportado na literatura por diversos pesquisadores como um excelente método para

síntese de NPM monodispersas com composição, tamanho e morfologia controlados. A segunda etapa do trabalho foi a partir de uma adequação do recobrimento com sílica das NPM, se utilizando de um sistema de microemulsão por micela reversa. A terceira e última etapa de síntese deste trabalho foi a funcionalização luminescente com RhB das NPM recobertas com sílica e o recobrimento com uma segunda camada de sílica.

IV.1. SÍNTESE DO NÚCLEO MAGNÉTICO DE FePt@Fe₃O₄

Inicialmente, a primeira etapa do trabalho foi a síntese das NPM de FePt@Fe₃O₄, as quais a partir de trabalhos paralelos no grupo, possibilitaram que fosse encontrada uma condição ideal para intensificar a Ms do núcleo magnético, além de manter o caráter superparamagnético e o controle de composição, forma e tamanho desejados para aplicações biomédicas. Para isto, foi utilizado o método poliol modificado combinado com o crescimento mediado por sementes^[55,80]. Inicialmente, a proporção de sais metálicos utilizadas no meio reacional foi calculada para a obtenção da fase Fe₅₅Pt₄₅ a qual é considerada a composição química em nanopartículas de FePt que apresenta as melhores propriedades magnéticas, sobretudo, elevada magnetização de saturação. Como relatado na literatura, as nanopartículas de FePt sintetizadas pelo processo poliol modificado possuem estrutura cristalina cúbica de face centrada (fcc) dita quimicamente desordenada em função de ocorrer a formação de uma liga substitucional, na qual os átomos de ferro substituem os átomos de platina em posições aleatórias na estrutura fcc da platina^[4]. A estrutura fcc é esperada, dessa forma, apresentar um comportamento superparamagnético a temperatura ambiente em virtude da elevada simetria do cristal cúbico. Após a mistura dos reagentes no frasco de reação, a temperatura foi elevada a 100 °C para promover a completa dissolução dos reagentes no solvente dioctiléter. Em seguida foi promovida a adição dos agentes de superfície ácido oléico e oleilamina os quais atuam no controle do tamanho das nanopartículas. O aumento da temperatura para 200 °C é promovido por se tratar da temperatura onde ocorre a decomposição térmica do acetilacetonato férrico. Ao atingir temperaturas superiores a 120°C foi possível observar um pequeno escurecimento da solução indicando a formação dos núcleos de platina metálica os quais são obtidos pela redução do acetilacetonato de platina(II) pelo diol. Ao redor de 200 °C, a solução tornou-se completamente preta inferindo a formação das nanopartículas de FePt, a qual ocorre logo após a decomposição térmica do precursor de ferro. O aumento da temperatura e a

permanência do sistema sob refluxo foram realizados para garantir a completa difusão dos átomos ferro na estrutura da platina e, também, para permitir o crescimento das nanopartículas de forma controlada pela presença dos surfactantes no meio reacional resultando em nanopartículas de FePt monodispersas.

Após a lavagem das nanopartículas de FePt, o procedimento foi repetido, mas ao invés do precursor de platina no meio reacional foram adicionadas as nanopartículas previamente sintetizadas para efetuar o recobrimento das mesmas através da metodologia de crescimento mediado por sementes. Assim, as NP de FePt se comportam como sementes sobre a superfície das quais será depositado o composto de ferro formado pela decomposição térmica do acetilacetonato férrico. Mesmo que parte do ferro seja reduzido sobre a superfície da NP, o excesso de ferro utilizado é suficiente para garantir a formação de uma camada de óxido de ferro na superfície da NP cujo crescimento é controlado pela presença dos surfactantes assim como ocorreu com as NP de FePt, resultando em nanopartículas de FePt@Fe₃O₄ na estrutura caroço/casca (Figura 14)

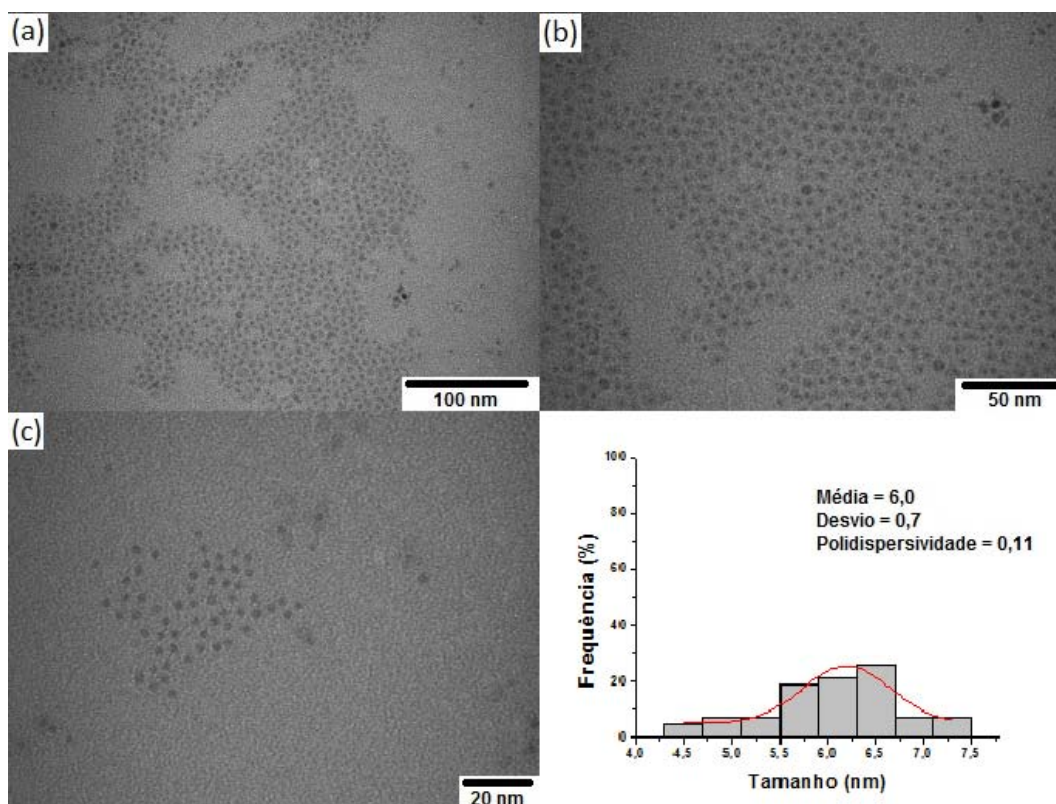


Figura 14. Micrografias da amostra de NPM de FePt@Fe₃O₄ utilizada como núcleo magnético e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.

Pela Figura 14 é possível observar as micrografias da amostra C01, utilizada como núcleo magnético, na qual o diâmetro médio obtido foi de $d = 6,0$ nm, com um desvio padrão de $SD = \pm 0,7$ e polidispersividade de 11%. Um sistema é geralmente considerado como monodisperso desde que o grau de polidispersividade seja menor ou igual a 10%. Para as nanopartículas recobertas, o grau de polidispersividade de 11% indica praticamente um sistema monodisperso com baixíssimo grau de polidispersão. Adicionalmente, as micrografias da Figura 14 mostram a estrutura caroço/casca, onde é possível observar um metálico de FePt com maior contraste, recoberto por magnetita (Fe_3O_4) com um contraste relativamente menos intenso.

A Figura 15 apresenta a curva de histerese magnética da amostra de $FePt@Fe_3O_4$, (denominada de amostra C01) na qual constatou-se um caráter superparamagnético, com $M_s = 34,3$ emu/g. A caracterização estrutural e os resultados quanto a composição química da amostra serão apresentados mais adiante quando serão feitas comparações para indicar o recobrimento com sílica no caso da amostra das NP luminomagnéticas. Desta forma, a amostra C01 foi a amostra mais adequada para utilização como núcleo magnético para as etapas de funcionalizações adicionais e recobrimentos do tipo caroço/casca, levando estas NPM a sistema de NP multifuncionais.

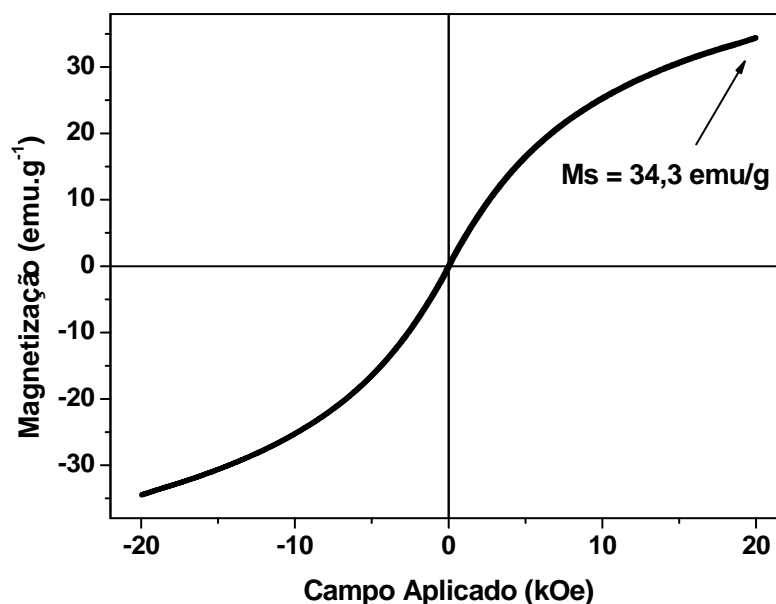


Figura 15. Curva de magnetização e sua respectiva M_s para o núcleo magnético de $FePt@Fe_3O_4$, denominado de C01, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.

IV.2. RECOBRIMENTO COM SÍLICA DAS NPM DE $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$

IV.2.1. Adequação da espessura da camada de sílica recobrindo as NPM

Como mencionado anteriormente, a etapa de recobrimento com sílica foi realizada se utilizando de um sistema de microemulsão por micela reversa. Foram feitas diversas modificações nos parâmetros dos componentes utilizados para adequação do sistema micelar visando controle de tamanho, polidispersividade, composição e morfologia das NPM recobertas com sílica, de tal forma que as propriedades das NPM fossem adequadas para as etapas posteriores do trabalho. Entre as modificações realizadas, foi verificada a influência de dois tipos de surfactantes no processo de formação das micelas e no controle das propriedades das partículas. Os surfactantes testados foram o Triton X-100 e Igepal CO-520, cujas estruturas estão apresentadas na Figura 16.

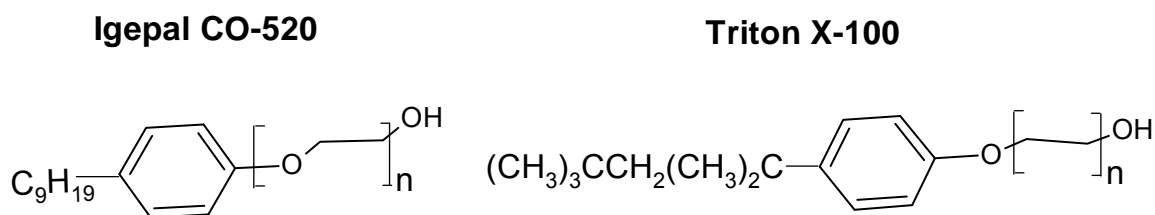


Figura 16. Representação das estruturas do Igepal CO-520 e do Triton X-100.

As micrografias e o gráfico de distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica ($\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$) utilizando-se o Triton X-100 como surfactante na formação do sistema microemulsionado (amostra C02) são apresentados na Figura 17. De acordo com os resultados observados na Figura 17, estimou-se os valores de diâmetro médio $d = 169,1$ nm, e do desvio padrão $\text{SD} = \pm 37,3$ e da polidispersividade de 22%. Com esses resultados constatou-se que o sistema microemulsionado propondo-se a utilização do Triton X-100 como surfactante no sistema microemulsionado para formação das micelas não produziu resultados satisfatórios, pois não controlou adequadamente o tamanho das NPM recobertas com sílica, além do que a polidispersividade ficou muito elevada, o que poderia afetar no controle das propriedades das NP individuais.

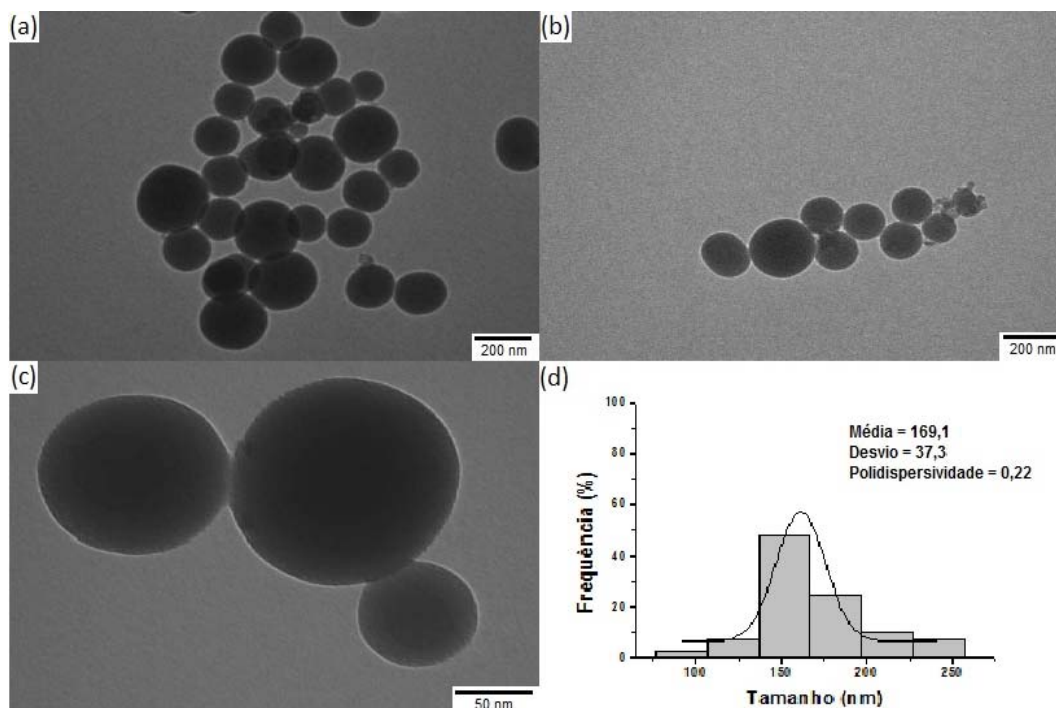


Figura 17. Micrografias da amostra C02, no processo de recobrimento com sílica das NPM de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$ utilizando-se como surfactante no sistema microemulsionado Triton X-100 e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.

Na Figura 18 são apresentados os resultados das análises por MET bem como o gráfico de distribuição de tamanho para o processo de síntese utilizando o Igepal CO-520 como surfactante (amostra C03). Conforme pode ser observado nas micrografias, as partículas recobertas com sílica apresentam valores de diâmetro médio $d = 43,0 \text{ nm}$, de desvio padrão $SD = \pm 1,8$ e polidispersividade de 4%. Adicionalmente, como a camada de sílica apresentou menor espessura quando comparada ao sistema com Triton X-100, é possível observar a presença de uma região de maior contraste, a qual é atribuída ao núcleo magnético. Neste caso verificou-se controle no tamanho das NP e a polidispersividade ficou relativamente pequena, o que indica partículas com características semelhantes.

Comparando-se o processo de síntese com a utilização de Triton X-100 e do Igepal CO-520, nos quais foram mantidas todas as outras condições de síntese (Tabela 4), constatou-se que o Igepal controlou mais o tamanho, morfologia e polidispersividade em relação ao Triton X-100. Desta forma o sistema contendo Igepal como surfactante foi utilizado para todas as outras condições de síntese testadas durante o trabalho.

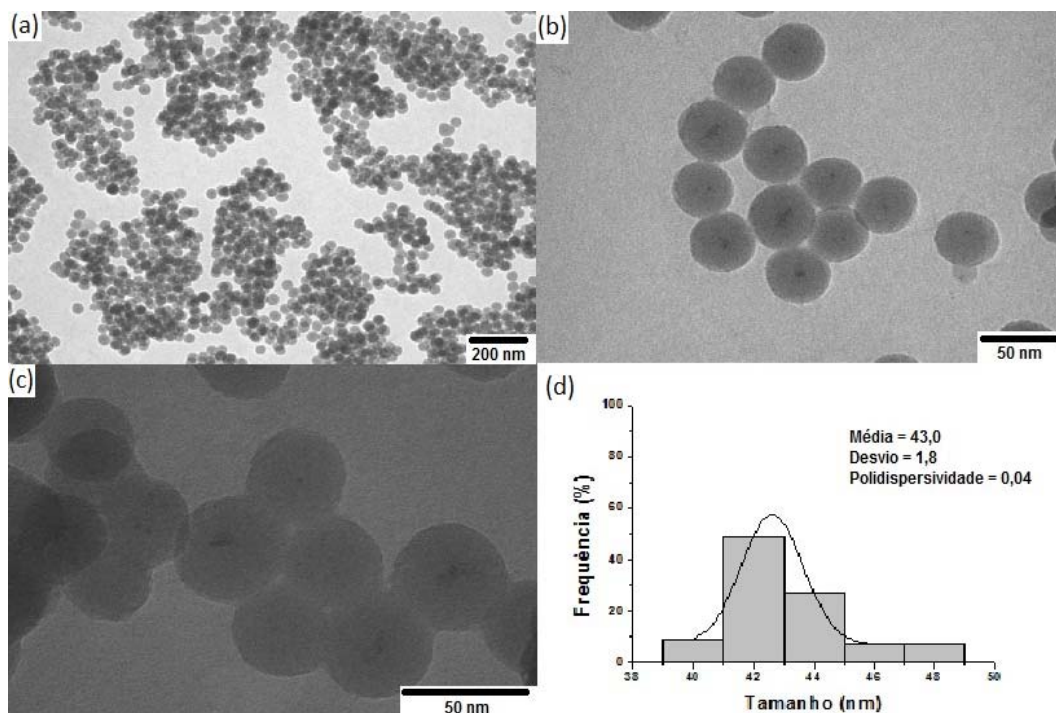


Figura 18. Micrografias da amostra C03 do processo de recobrimento com sílica das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ utilizando-se como surfactante o Igepal CO-520 e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.

Tabela 4. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C02 e C03.

Condição Reacional	Amostra C02	Amostra C03
Igepal CO-520	—	8 mL
Triton X-100	8 mL	—
Ciclohexano	170 mL	170 mL
$\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$, 30%	1,3 mL	1,3 mL
NPM em ciclohexano (10 mg/mL)	16 mL	16 mL
TEOS (em mL)	3,0 mL	3,0 mL
Tempo de reação	24 horas	24 horas

Com relação às propriedades magnéticas (Figura 19) obtidas para a amostra C03, apesar das NPM terem mantido o caráter superparamagnético observado na amostra C01 (núcleo magnético), a M_s das NPM ficou muito baixa ($M_s = 0,31 \text{ emu/g}$). Isto se deve principalmente a espessa camada de sílica recobrindo o núcleo magnético de $\text{FePt}@Fe_3O_4$, que por se tratar de um material diamagnético, contribui de tal forma a diminuir a magnetização do nanomaterial. Desta forma, a resposta magnética do nanomaterial quando

submetido a um campo magnético externo será pequena o que pode prejudicar uma possível aplicação.

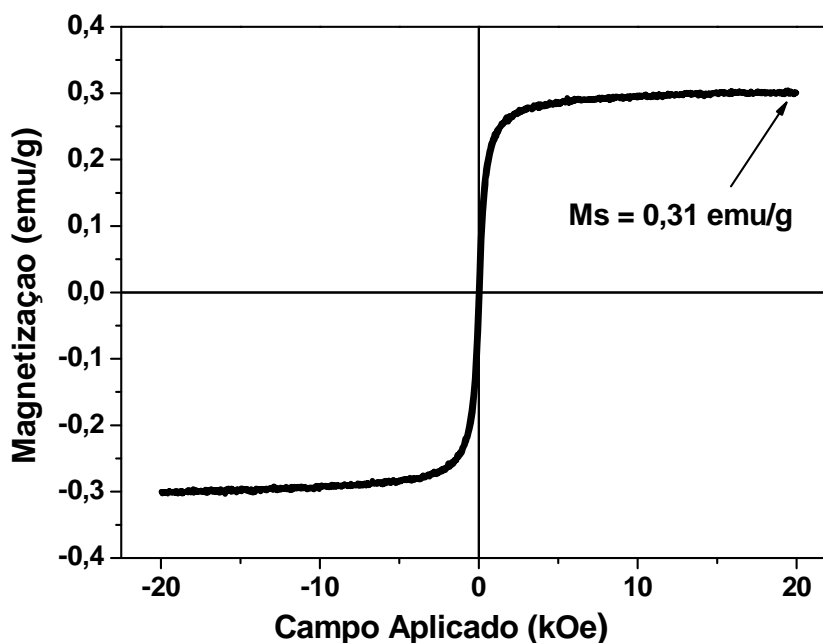


Figura 19. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C03, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.

Uma das alternativas para solucionar o problema da baixa magnetização das NPM recobertas com sílica obtidas na amostra C03, foi diminuir a quantidade relativa de TEOS e $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$. Estas mudanças foram feitas mantendo-se constantes as quantidades relativas dos outros componentes utilizados no sistema de microemulsão para recobrimento das NPM, e esta amostra foi denominada C04. A Tabela 5 mostra a comparação entre as quantidades relativas dos reagentes utilizados na obtenção das amostras C03 e C04.

Tabela 5. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C03 e C04.

Condição Reacional	Amostra C03	Amostra C04
Igepal CO-520	8 mL	8 mL
Ciclohexano	170 mL	170 mL
$\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$, 30%	1,3 mL	0,7 mL
NPM em ciclohexano (10 mg/mL)	16 mL	16 mL
TEOS	3,0 mL	1,5 mL
Tempo de reação	24 horas	24 horas

A Figura 20 mostra as micrografias e o gráfico de distribuição de tamanho para as NPM recobertas com sílica da amostra C04, na qual, comparando-se com a amostra C03, foram diminuídas as quantidades relativas de TEOS e NH_4OH no processo de recobrimento. As micrografias da amostra C04 indicam valores de diâmetro médio $d = 37,0$ nm, de desvio padrão $\text{SD} = \pm 2,8$, e polidispersividade de 8%. Comparando-se as amostras C03 e C04 observou-se que a diminuição da quantidade relativa de TEOS e NH_4OH diminuiu a espessura da camada de sílica na NPM, porém, o controle da polidispersividade das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$ na amostra C04 diminuiu em relação a amostra C03, o que de certa forma não é uma condição desejável para o padrão das NPM recobertas com sílica.

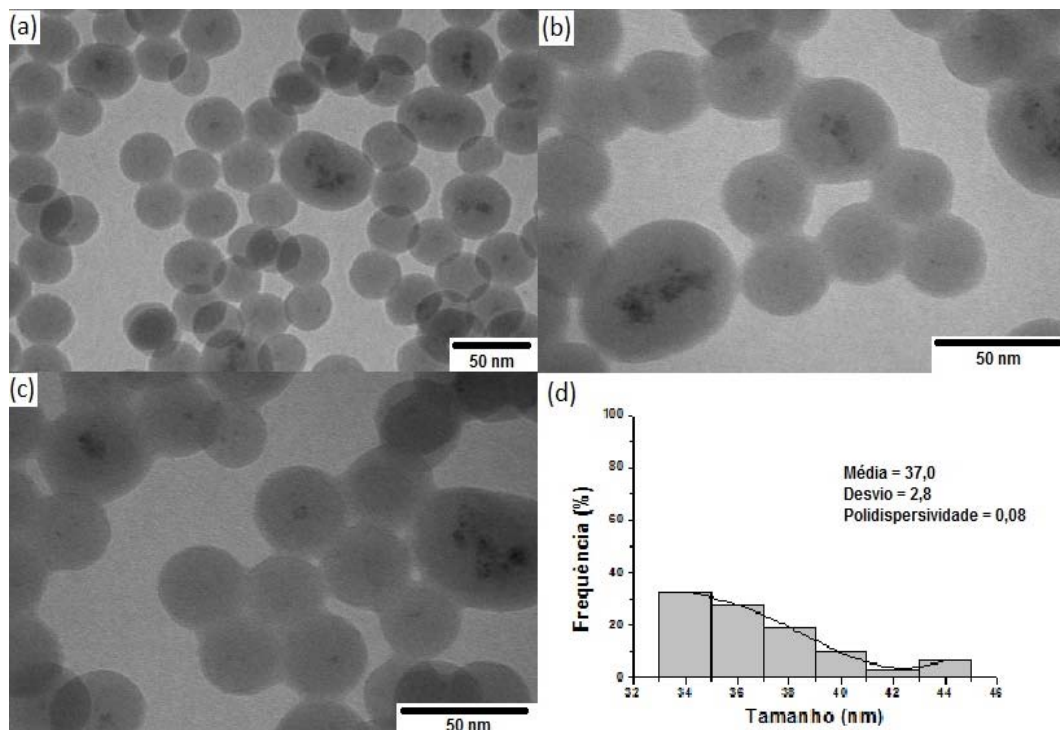


Figura 20. Micrografias da amostra C04 mostrando o recobrimento com sílica das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recoberta, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.

Com relação às propriedades magnéticas da amostra C04, pode ser observado pela Figura 21 que a amostra apresentou uma $M_s = 0,7$ emu/g, e as NPM mantiveram o caráter superparamagnético desejáveis para aplicações biomédicas. Comparando-se a M_s da amostra C04 com aquela observada para a amostra C03, constatou-se uma maior magnetização das NPM recobertas com sílica obtidas pelo processo de obtenção da amostra C04, o que pode estar diretamente associado a diminuição da espessura da

camada de recobrimento de sílica na NPM, devido às diminuições da quantidade do precursor TEOS e de NH_4OH na síntese.

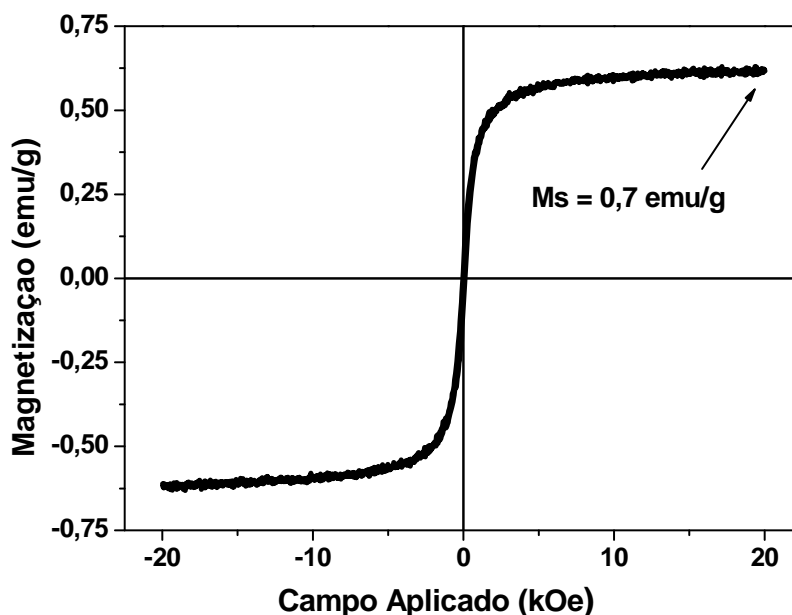


Figura 21. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C04, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.

Com a modificação das quantidades de TEOS e NH_4OH não se verificou uma condição ideal quanto a polidispersividade das NPM recobertas com sílica, porém, foi verificado uma diminuição no diâmetro médio das partículas em relação a amostra C03 devido à diminuição da espessura da camada de recobrimento. Por este motivo, uma nova condição para adequação do sistema reacional, sendo assim denominada de amostra C05, foi a mudança na quantidade apenas de $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$ para verificar a influência que a basicidade do meio, ou até mesmo, do tamanho das gotículas de água no interior das micelas pode propiciar no controle das características das NPM recobertas com sílica. Desta forma, na Tabela 6 constam as quantidades relativas dos reagentes utilizados na condição de síntese da amostra C05 em comparação com a condição de síntese da amostra C04. Na Figura 22 pode ser observado as micrografias e o gráfico de distribuição das NPM recobertas com sílica da amostra C05. Os valores obtidos para esta condição de recobrimento foram valores de diâmetro médio $d = 39,5$ nm, de desvio padrão $\text{SD} = \pm 2,5$ e de polidispersividade de 6%. Assim, comparando-se a amostra C05 com a amostra C04, foi observado que com o aumento da quantidade de $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$, a polidispersividade das NPM

de FePt@Fe₃O₄/SiO₂ diminuiu, porém, o tamanho médio das partículas aumentou em relação a amostra C04.

Tabela 6. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C04 e C05.

Condição Reacional	Amostra C04	Amostra C05
Igepal CO-520	8 mL	8 mL
Ciclohexano	170 mL	170 mL
NH ₄ OH _(aq) , 30%	0,7 mL	1,3 mL
NPM em ciclohexano (1,0 mg/mL)	16 mL	16 mL
TEOS	1,5 mL	1,5 mL
Tempo de reação	24 horas	24 horas

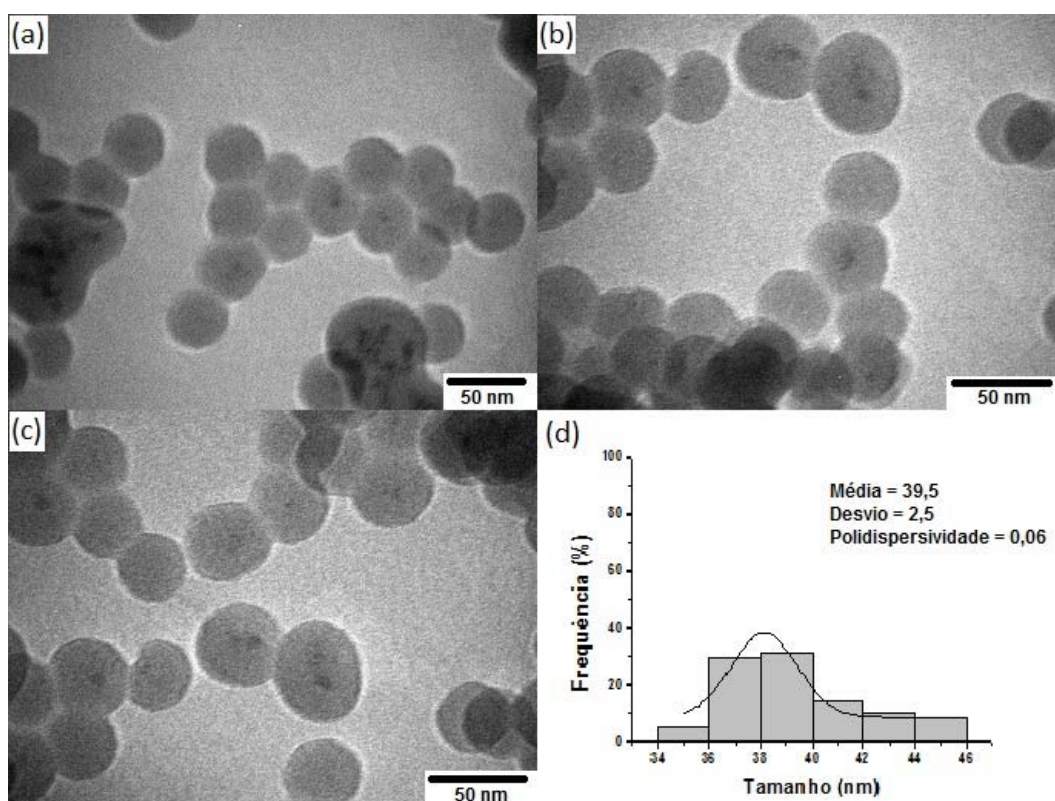


Figura 22. Micrografias da amostra C05, obtida do processo de recobrimento com sílica das NPM de FePt@Fe₃O₄ e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.

Com relação à magnetização da amostra C05, pela Figura 23 é possível observar que a Ms desta amostra (Ms = 2,2 emu/g) é relativamente mais intensa do que a magnetização de 07, emu/g da amostra C04 e, também, que a amostra manteve o caráter

superparamagnético. Embora tenha ocorrido um pequeno aumento na magnetização de saturação para a amostra C05, algumas modificações precisaram ser realizadas no sistema reacional para encontrar uma metodologia que permita aumentar a M_s da NPM recoberta com sílica, além de controlar morfologia, tamanho e a polidispersividade. Mesmo com o recobrimento com sílica, um material paramagnético, ou seja, que não contribui para a magnetização das nanopartículas, a magnetização observada deve atingir valores mais próximos do valor observado para a nanopartícula de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ (~34 emu/g) sem recobrimento. Dependendo da espessura da camada de recobrimento, é esperado que a magnetização da nanopartícula recoberta seja pelo menos cerca de 50% do valor observado para a NP sem recobrimento, considerando que, em massa, a quantidade de sílica atinja proporções entre 50-70% da massa total da amostra.

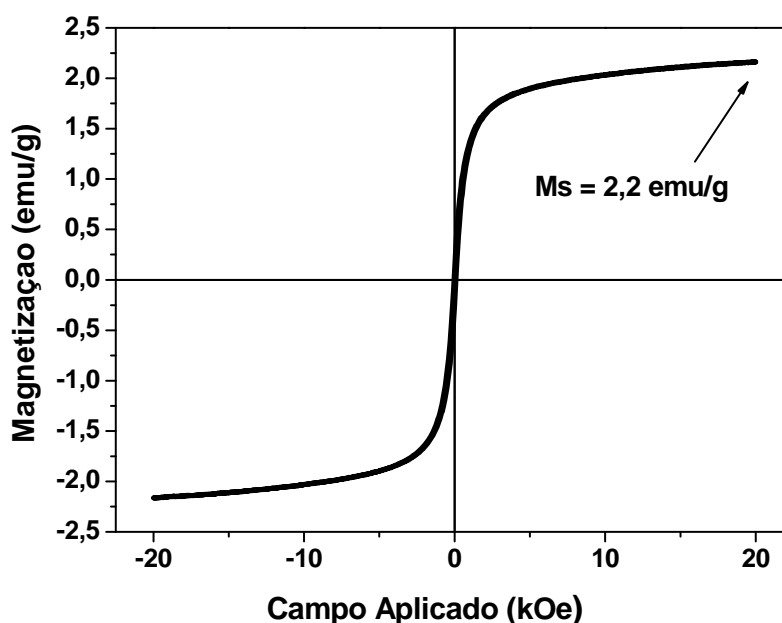


Figura 23. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C05, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.

Com intuito de modificar o tamanho do nanoreator localizado no interior da micela reversa, outra tentativa de modificação no sistema reacional proposto para recobrimento das NPM com sílica, foi a adição de um co-surfactante na etapa de formação da microemulsão. Esta tentativa teve o objetivo de aumentar o empacotamento da micela, e assim, diminuir o tamanho do nanoreator, para com isso limitar a espessura da camada de sílica na etapa de recobrimento das NPM. O composto utilizado para atuar como co-surfactante no processo

de micelização foi o etanol, pois geralmente alcoóis de cadeia curta podem se posicionar nos interstícios entre as moléculas de surfactante (neste caso o Igepal CO-520) e por interações entre as partes polares das moléculas de surfactante e co-surfactante ocasionarem o empacotamento da micela. Na Tabela 7 podem ser observadas as quantidades relativas dos reagentes utilizados nesta nova tentativa de recobrimento com a presença de um co-surfactante, e as NP obtidas com essa condição reacional foram denominadas de amostra C06.

Tabela 7. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C05 e C06.

Condição Reacional	Amostra C05	Amostra C06
Igepal CO-520	8 mL	8 mL
Etanol	—	4 mL
Ciclohexano	170 mL	170 mL
NH ₄ OH _(aq) , 30%	1,3 mL	1,3 mL
NPM em ciclohexano (1,0 mg/mL)	16 mL	16 mL
TEOS	1,5 mL	1,5 mL
Tempo de reação	24 horas	24 horas

Na Figura 24 é possível observar as micrografias e a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica presentes na amostra C06. Observando-se estas micrografias foi possível verificar valores de diâmetro médio $d = 222,4$ nm, desvio padrão $SD = \pm 6,9$ e de polidispersividade de 3%. Por intermédio das micrografias da Figura 24, referentes a amostra C06, constatou-se que a presença de etanol como co-surfactante não foi efetiva para compactar o interior dos sistemas micelares, pois foi observada a formação de agregados das NPM com a matriz de sílica, o que demonstra que o sistema micelar nesta condição de síntese não controlou o crescimento e tamanho no processo de recobrimento com a camada de sílica. Ainda, a formação de agregados de NPM fora das NP de sílica indica que a presença de etanol parece ter dificultado a formação da micela ao redor das nanopartículas magnéticas. Desta forma, a presença de co-surfactante, tal como o etanol, se mostrou ineficiente para o controle do tamanho das NPM de FePt@Fe₃O₄/SiO₂, e até mesmo para promover o recobrimento das mesmas.

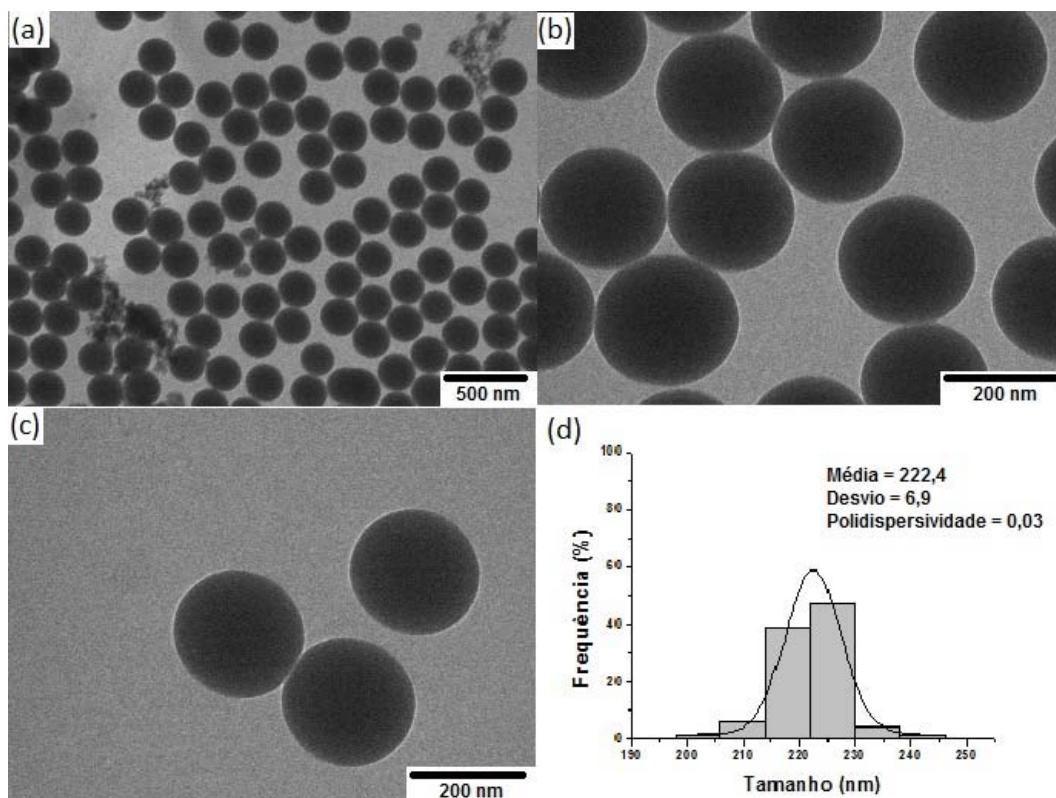


Figura 24. Micrografias da amostra C06, obtida do processo de recobrimento com sílica das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.

Outra mudança no sistema reacional feita neste trabalho foi verificar a influência que o tempo de reação pode ocasionar no controle do tamanho e da polidispersividade das NP recobertas. A difusibilidade dos componentes reacionais de uma micela para outra, como uma forma de homogeneização do sistema reacional, a partir do transporte de massa pode ser facilitado quando é aumentado o tempo de reação. O processo de recobrimento por sistema microemulsionado é relativamente lento e necessita de condições propícias para isto, tais como: temperatura adequada (geralmente temperatura ambiente), intensa agitação mecânica, além do tempo necessário para difusão dos componentes da síntese e término de todo este processo de recobrimento, que como mencionado anteriormente é um processo lento, podendo variar de algumas horas a alguns dias. Dessa forma, foram repetidas as condições de síntese utilizadas para a amostra C05, variando o tempo de reação de 24 para 72 horas, sendo que para a nova condição a amostra foi denominada C07, como pode ser verificado na Tabela 8.

Tabela 8. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C05 e C07.

Condição Reacional	Amostra C05	Amostra C07
Igepal CO-520	8 mL	8 mL
Ciclohexano	170 mL	170 mL
NH ₄ OH _(aq) , 30%	1,3 mL	1,3 mL
NPM em ciclohexano (1,0 mg/mL)	16 mL	16 mL
TEOS	1,5 mL	1,5 mL
Tempo de reação	24 horas	72 horas

Os resultados de MET obtidos para a amostra C07 e apresentados na Figura 25 mostram valores de diâmetro médio $d = 48,5$ nm, desvio padrão $SD = \pm 1,5$ e polidispersividade de 3%. Analisando os resultados da amostra C07 constatou-se que o aumento no tempo de reação em relação ao tempo utilizado para a amostra C05, ocasionou um maior controle na polidispersividade das NP, porém um aumento no tamanho das mesmas, devido provavelmente ao maior período de tempo para ocorrer hidrólise básica do TEOS formando maior quantidade de sílica no meio reacional.

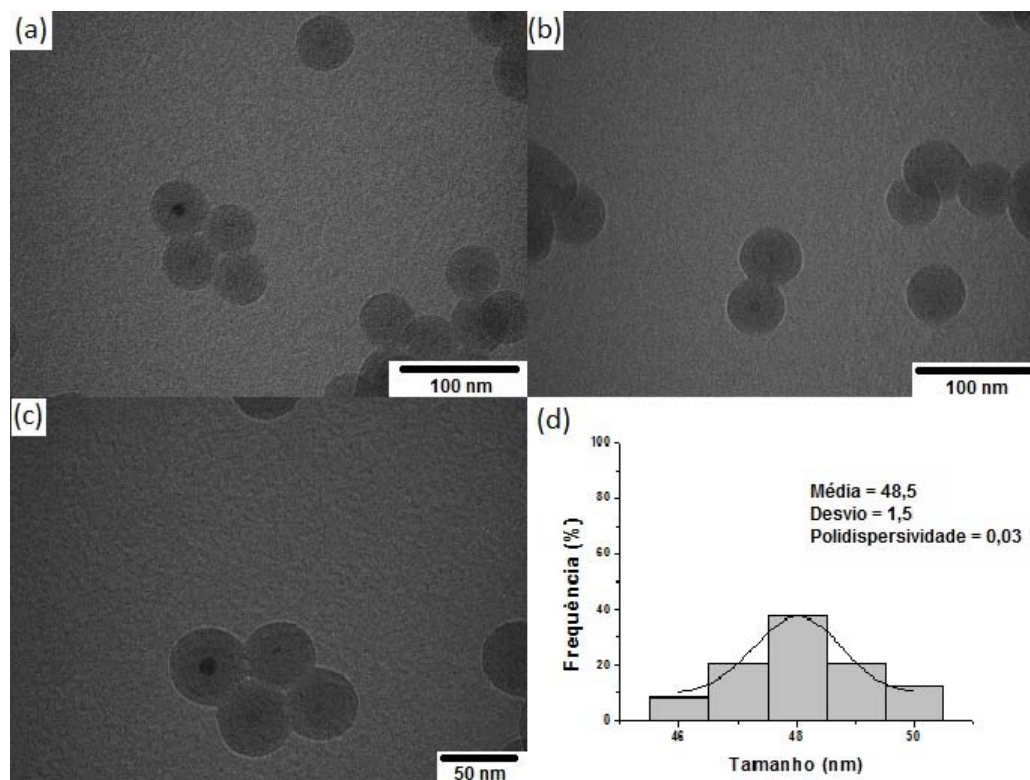


Figura 25. Micrografias da amostra C07, obtida do processo de recobrimento com sílica das NPM de FePt@Fe₃O₄ e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.

Em relação às medidas magnéticas para a amostra C07, pode ser observado pela Figura 26, que embora tenha ocorrido um aumento no tamanho das NPM recobertas com sílica houve também um significativo aumento na M_s das NP desta amostra, a qual exibe valores de $M_s = 10,2$ emu/g em comparação com a amostra C05 ($M_s = 2,2$ emu/g), além da manutenção do caráter superparamagnético. Uma possível explicação para isto é que apesar do fato do tamanho total da partícula ter aumentado, a razão entre o tamanho do núcleo magnético e da espessura da camada de sílica diminuiu, indicando que um número maior de nanopartículas magnéticas é responsável pela formação do núcleo.

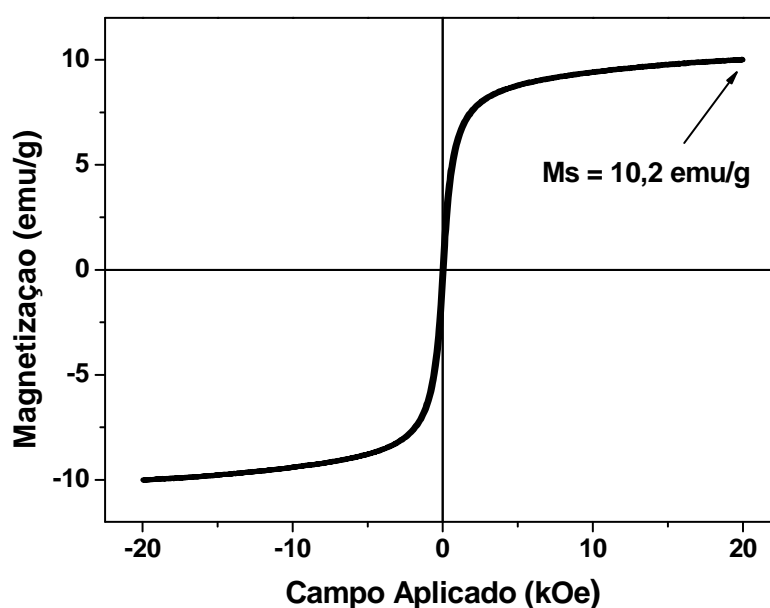


Figura 26. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C07, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.

Observando os resultados com relação ao tamanho das NPM de $\text{FePt}@\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ obtidos para amostra C07, ainda com o mesmo objetivo inicial de aumentar a magnetização de saturação e diminuir o tamanho das nanopartículas recobertas, uma nova modificação foi realizada na metodologia. A adequação proposta nas condições de síntese da amostra C07 foi o aumento na quantidade relativa de NPM no meio reacional, mantendo-se as quantidades dos outros reagentes constantes. Na Tabela 9 é possível comparar as quantidades relativas utilizadas para esta nova condição de síntese, na qual a amostra obtida é denominada C08, com a amostra anterior (amostra C07).

Tabela 9. Comparação das condições reacionais utilizadas para as amostras C07 e C08.

Condição Reacional	Amostra C07	Amostra C08
Igepal CO-520	8 mL	8 mL
Ciclohexano	170 mL	170 mL
NH ₄ OH _(aq) , 30%	1,3 mL	1,3 mL
NPM em ciclohexano (10,0 mg/mL)	—	15 mL
NPM em ciclohexano (1,0 mg/mL)	16 mL	—
TEOS	1,5 mL	1,5 mL
Tempo de reação	72 horas	72 horas

Os resultados de MET para a amostra C08 (Figura 27) mostram valores de diâmetro médio $d = 28,6$ nm, de desvio padrão $SD = \pm 1,6$ e de polidispersividade de 6%. Analisando os resultados, constatou-se uma diminuição no tamanho da NP com relação às NP da amostra C07, porém, o tamanho das NPM de FePt@Fe₃O₄/SiO₂ obtidas nesta amostra foi adequado para ser utilizado nas etapas posteriores deste trabalho. Embora tenha ocorrido um pequeno aumento da polidispersividade comparado a amostra C07, o sistema ainda pode ser caracterizado como sendo monodisperso.

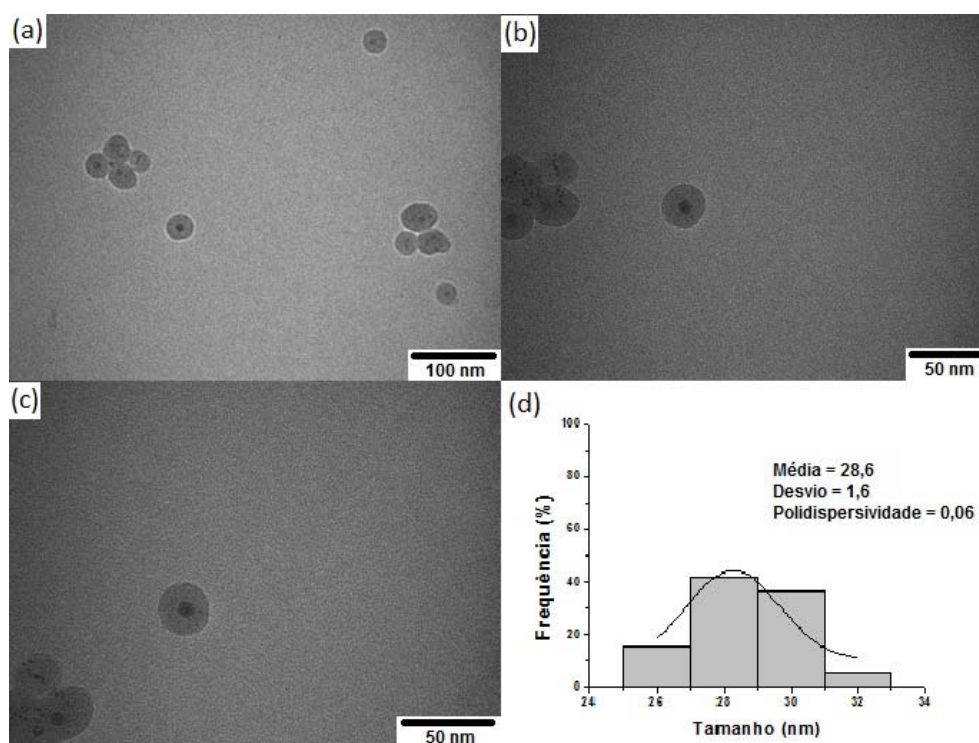


Figura 27. Micrografias da amostra C07, obtida do processo de recobrimento com sílica das NPM de FePt@Fe₃O₄ e gráfico com a distribuição de tamanho das NPM recobertas com sílica com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.

Embora as condições de síntese que levam a uma condição de controle morfológico bastante satisfatório tenham sido estabelecidas, ainda se faz necessário analisar os efeitos da nova modificação no processo de recobrimento sobre a magnetização de saturação das NP recobertas. Como pode ser verificado na curva de histerese magnética apresentada na Figura 28 para a amostra C08, foi verificado um aumento significativo na M_s comparando-se com a amostra C07. O aumento na quantidade de NP no meio reacional no início da síntese propiciou um aumento na distribuição da camada de sílica formada após a hidrólise básica do TEOS, devido ao aumento na população de núcleos magnéticos presentes no meio reacional. Desta forma, a menor espessura da camada de sílica ao redor das NPM levou a uma M_s de 16,2 emu/g, a qual corresponde a ~47% do valor observado para as NP sem recobrimento com sílica. Desta forma, esse valor foi considerado muito próximo do esperado e, dadas as características morfológicas da amostra C08, a mesma foi empregada nas etapas posteriores do trabalho.

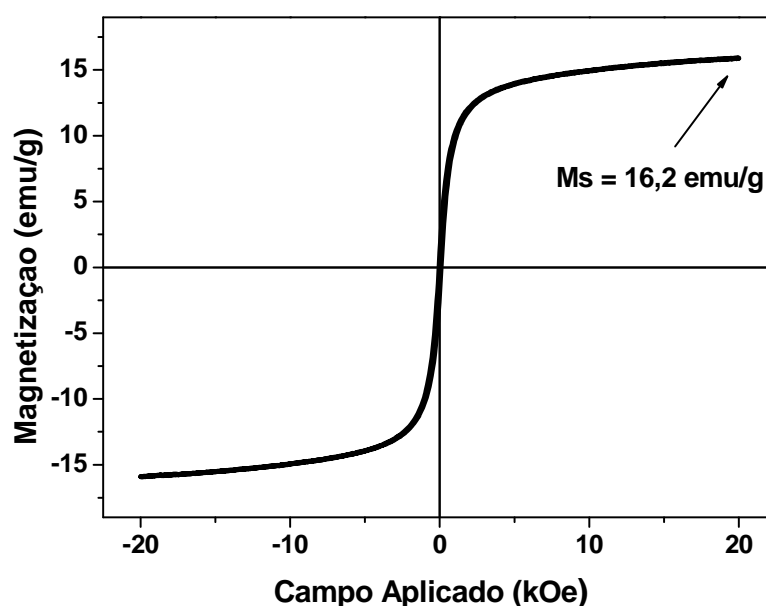


Figura 28. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C08, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.

IV.2.2. Recozimento das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$

Após a adequação da espessura da camada de recobrimento com sílica nas NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$, a amostra C08 foi submetida a um tratamento térmico para promover o recozimento das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$. Trabalhos anteriores desenvolvidos pelo Grupo

de Pesquisa mostraram que o recozimento de NP de FePt recobertas com óxido de ferro leva ao aumento da M_s deste nanomaterial^[80]. A magnetização das NPM de FePt@Fe₃O₄/SiO₂ aumentam devido ao rearranjo entre os átomos de Fe e Pt presentes no núcleo magnético causado pelo recozimento. Este rearranjo estrutural muda a estrutura do núcleo metálico de FePt da estrutura do tipo fcc, a qual apresenta elevada simetria e, portanto, baixos valores de magnetização de saturação, para a estrutura do tipo tetragonal de face centrada (fct). Esta última fase apresenta elevada anisotropia magnetocristalina por apresentar em um eixo preferencial de magnetização devido ao alongamento da estrutura em uma das direções cristalográficas. Pela Figura 29 é possível observar a representação do arranjo dos átomos de Fe e Pt na estrutura do tipo fcc (Figura 29a) e na estrutura fct (Figura 29b). A distorção tetragonal é causada pelo aparecimento de planos intercalados de átomos de Fe e Pt na estrutura cristalina ao invés de uma distribuição aleatória dos átomos de Fe, como mencionado anteriormente. A presença dos planos cristalográficos de átomos de Fe diminui o parâmetro de rede c uma vez que o tamanho dos átomos de Fe é significativamente menor do que dos átomos de Pt. Essa estrutura, ao contrário da estrutura fcc, é considerada quimicamente ordenada e apresenta como principal característica a anisotropia magnetocristalina responsável pela intensificação das propriedades magnéticas.

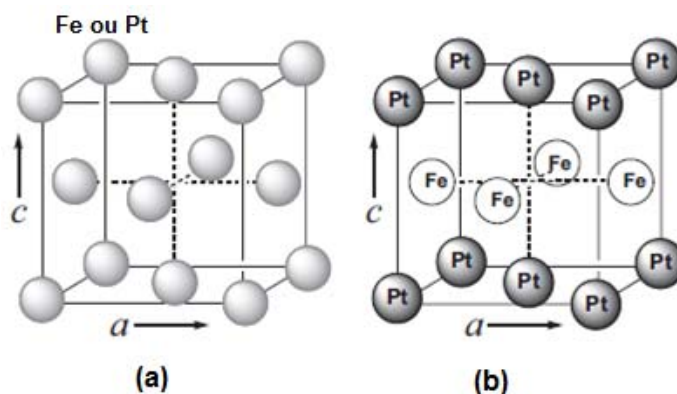


Figura 29. Representação das células unitárias indicando o arranjo dos átomos de Fe e Pt antes do recozimento, na estrutura do tipo fcc (a), e após o recozimento, na estrutura do tipo fct (b).

Nesse ponto, alguns fatores merecem atenção especial. A presença da estrutura fct em NP de FePt gera elevados compôs coercivos no material devido exatamente à existência da anisotropia magnetocristalina nessa estrutura, implicando na perda do comportamento superparamagnético necessário para aplicações em biomedicina. O recobrimento com óxido

de ferro foi também utilizado para evitar ou minimizar esse problema. O excesso de ferro na superfície da nanopartícula leva a formação de uma fase intermediária rica em ferro (Fe_3Pt), a qual é denominada magneticamente mole, ou seja, apresenta valores baixos e, no caso de nanopartículas, nulos de coercividade. O mesmo fenômeno magnético ocorre com o óxido de ferro. O recobrimento com sílica antes do recozimento tem por objetivo inicial proteger o núcleo magnético da sinterização e/ou coalescência, normalmente observados em temperaturas elevadas, mas também permitir a formação de uma fina camada de óxido de ferro sobre a superfície da NP mesmo após o recozimento devido às fortes interações entre os grupos silanos e os átomos de ferro superficiais. A formação da fase rica em ferro e a manutenção de uma fina camada de óxido sobre a superfície da NP têm papel fundamental para preservar o comportamento superparamagnético mesmo após o recozimento e a formação da fase fct. Fortes acoplamentos magnéticos denominados de *Exchange Bias* ocorrem quando fases magneticamente dura (elevada coercividade) e mole estão diretamente em contato, ocasionando drástica diminuição do campo coercivo. No caso específico de sistemas nanoparticulados, essa diminuição pode levar ao surgimento do superparamagnetismo^[80]. A Figura 30 mostra a curva de histerese para a amostra C08 após o recozimento indicando o aumento na M_s deste nanomaterial para $M_s = 84 \text{ emu/g}$ e a manutenção do comportamento superparamagnético devido aos efeitos mencionados.

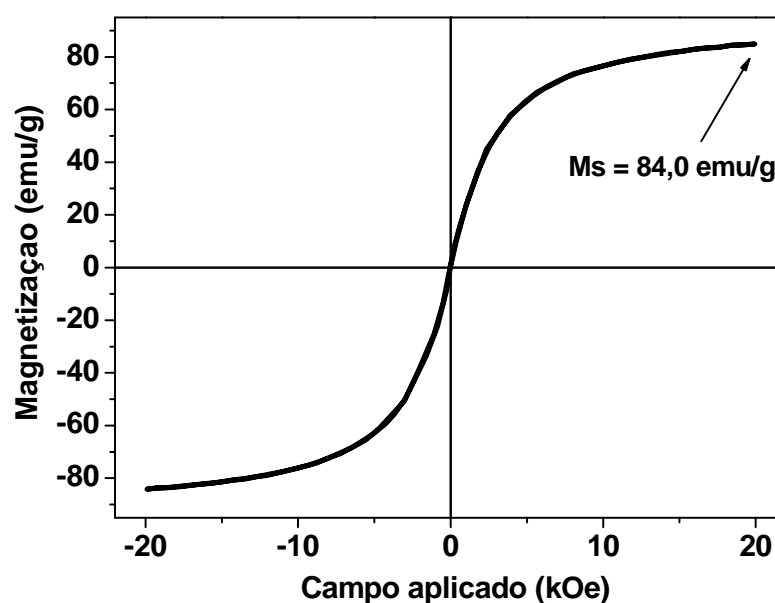


Figura 30. Histerese magnética e sua respectiva M_s para a amostra C08 após o recozimento, sendo esta submetida a um campo magnético de 20 kOe.

IV.3. SÍNTESE DAS NP LUMINOMAGNÉTICAS

Após as etapas de síntese do núcleo magnético de FePt@Fe₃O₄ e a primeira camada de recobrimento com sílica, a próxima etapa do trabalho foi a funcionalização luminescente com moléculas de rodamina B (RhB), seguida por outro recobrimento com uma camada de sílica adicional. Esse procedimento visa conjugar a propriedade magnética com a luminescente a nova camada será utilizada possa proteger as moléculas de RhB da supressão de luminescência, principalmente pelo solvente, além de propiciar estabilidade e biocompatibilidade em meio fisiológico, fornecendo, ainda, uma superfície compatível para funcionalizações adicionais^[69]. Cabe ressaltar que além das funções estabelecidas e anteriormente discutidas com relação à primeira camada de sílica, a mesma possui uma função adicional de evitar o contato direto entre o núcleo magnético e a camada contendo o material luminescente. Segundo a literatura, diversos compostos luminescentes têm a sua emissão diminuída ou mesmo suprimida quando em contato direto com materiais magnéticos. Embora não totalmente estabelecido, o mecanismo de desativação, mais pronunciado em sistemas moleculares, parece estar relacionado com o acoplamento magnético com os elétrons dos orbitais de fronteira diminuindo a passagem para estados excitados^[8,69,88].

Nesse trabalho, para a funcionalização luminescente, foi escolhida a molécula de RhB, pois além de existirem muitos trabalhos na literatura que utilizam estas moléculas como sensor luminescente relatando bons resultados para possíveis aplicações^[69,89,90], suas propriedades luminescentes são bastante difundidas possibilitando possíveis comparações com as NP luminomagnéticas obtidas. Devido a estrutura da molécula de RhB, a mesma não oferece facilidades de conjugação com a superfície da sílica, uma vez que o único grupo carboxílico que possibilitaria a formação de uma ligação covalente com os grupos silanóis e siloxanos presentes na superfície da NP recoberta encontra-se relativamente bloqueado estericamente (Figura 31). Desta forma, se tornou necessário utilizar um composto intermediário para ligar as moléculas de RhB na superfície das NPM recobertas com sílica, sendo que o composto utilizado foi o APTES (3-aminopropil trietóxisilano), a qual é comumente utilizada como um grupo sililante na conjugação de moléculas em superfícies oxidas realizando três ligações com os grupos silanos/siloxanos da superfície e uma ligação amida ou peptídica com a molécula de interesse. Na Figura 31 pode-se

observar a ligação amida formada entre o grupo carboxílico da RhB e o grupo amino do APTES, o que permite a conjugação das moléculas de RhB nas moléculas de APTES. Com a presença das NPM recobertas com sílica no meio reacional, quando as moléculas de APTES sofrem uma hidrólise básica na presença de solução aquosa de NH_4OH , ela se liga na superfície hidrofílica de sílica das NPM, e isto possibilita a funcionalização luminescente nas NPM recobertas com sílica.

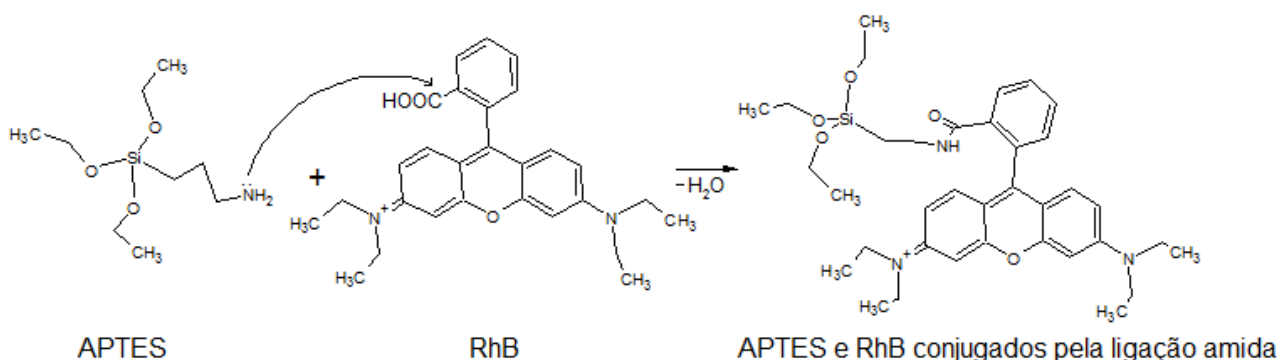


Figura 31. Representação esquemática da ligação amida entre o APTES e a RhB.

Após a funcionalização luminescente com RhB uma nova camada de recobrimento com sílica se torna necessário, pois a RhB quando em contato com meio aquoso tem supressão de luminescência significativa em um curto período de tempo, o que diminui a intensidade de emissão fluorescente conforme ocorre a supressão^[69]. Porém, a segunda camada de sílica não pode ser muito espessa, para não afetar muito a intensidade de magnetização do núcleo magnético e com isso preservar alta resposta magnética do nanomaterial quando submetido a um campo externo, além de preservar o caráter superparamagnético da NP luminomagnética. Desta forma, preparou-se um sistema reacional baseado em trabalho de Chang e colaboradores^[69], e a partir deste sistema foram realizadas algumas alterações na quantidade relativa de NP luminomagnéticas mantendo-se fixos todos os outros componentes do sistema, estabelecendo-se, assim, as condições mais adequadas para proteção das moléculas de RhB e minimizando a diminuição da intensidade de magnetização do núcleo magnético com a espessura da a camada de sílica. Após o preparo da solução denominada de tinta luminescente, a qual contém uma mistura de RhB e APTES em meio etanólico uma porção da mesma foi adicionada a uma mistura contendo as NP recobertas com sílica em meio etanólico e na presença de hidróxido de amônia aquoso.

Como mencionado, a amônia aquosa atua como um catalisador para a reação de hidrólise das moléculas de APTES e, uma vez que a mesma encontra-se conjugada às moléculas de RhB, o composto luminescente é ancorado na superfície da NPM. Após esse passo, a adição lenta da solução etanólica de TEOS ao meio reacional leva a formação de sílica através da hidrólise do TEOS catalisada pelas moléculas de amônia presentes no meio, método de Stöber, e os núcleos ou clusters de sílica recém formados são preferencialmente heterocoagulados sobre a superfície das nanopartículas em detrimento de fenômenos de agregação e crescimento. Esse fenômeno foi extensamente estudado na literatura e energeticamente é mais viável os clusters recém formados se depositarem sobre uma superfície existente do que sofrerem agregação e crescimento originando novas partículas, desde que a concentração de TEOS no meio não seja elevada^[91]. A concentração de NPM recobertas com sílica no meio reacional foi variada a fim de estabelecer uma relação ótima entre a quantidade de TEOS e o número de NP presentes. Após alguns testes, mantendo-se as demais condições do sistema reacional fixas, a concentração ideal de NPM recobertas com sílica foi estabelecida em 0,02 g.

Em seguida, serão mostradas e discutidas as caracterizações morfológica, estrutural, magnética, luminescente e de mobilidade eletroforética da amostra obtida com a camada de sílica com a espessura mais adequada para preservar as propriedades do nanomaterial.

IV.3.1. Caracterização morfológica e estrutural das NP luminomagnéticas

Após o processo de funcionalização luminescente com RhB e segunda a camada de recobrimento com sílica nas NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$, foi possível obter NP luminomagnéticas com tamanho e morfologia controlados. Isto pode ser observado pela Figura 32, que mostra a micrografia e o gráfico de distribuição de tamanho da amostra C09, referente ao sistema de NPM devidamente funcionalizadas como mencionado anteriormente. Nas micrografias apresentadas na Figura 32 é possível observar que as NP luminomagnéticas obtidas tiveram diâmetro médio $d = 34,3$ nm, desvio padrão $SD = \pm 1,5$ e polidispersividade de 5%. Pelos dados de microscopia de transmissão da amostra C09 ($\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$) e comparando com a amostra C08 ($\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$) foi possível constatar que após a adição das camadas de RhB e da segunda camada de sílica, houve um aumento de aproximadamente 6 nm no diâmetro médio das NP, porém o aumento foi acompanhado de boa homogeneidade das partículas nos revestimentos. Deve

ser ressaltado o contraste muito mais bem definido entre o núcleo magnético e a camada de sílica (Figura 32), o qual é devido ao recozimento realizado previamente à funcionalização. Durante o recozimento em atmosfera redutora, como já mencionado, há a formação de maior quantidade de fases metálicas no núcleo, a qual é responsável pela variação da intensidade e mesmo por um pequeno aumento de tamanho do núcleo magnético.

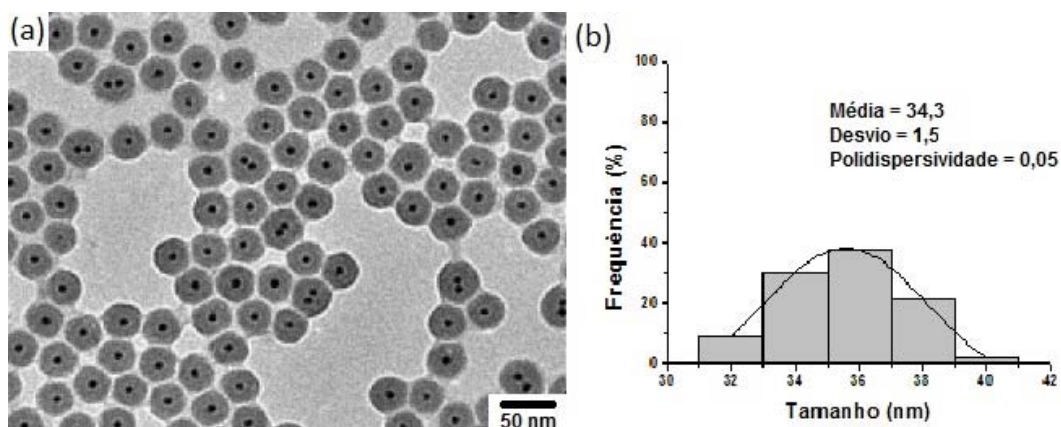


Figura 32. Micrografias da amostra, C09 relacionada ao processo de funcionalização luminescente com RhB e recobrimento com a segunda camada de sílica nas NPM de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ e gráfico com a distribuição de tamanho das NP luminomagnéticas obtidas, com os respectivos valores de diâmetro médio, desvio padrão e polidispersividade.

Pelas análises obtidas por EDX foi possível verificar as composições de Fe, Pt para o núcleo magnético, em comparação com as composições de Fe, Pt e Si obtidos para as NP luminomagnéticas, após o recobrimento com as duas camadas de sílica. As composições relativas de Fe e Pt para o núcleo magnético e de Fe, Pt e Si para a NP luminomagnéticas encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10. Composições relativas de Fe, Pt e Si para as NP de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$ e $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$, obtidos pela análise por EDX.

Elemento	Porcentagem relativa (%)	
	$\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$	$\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$
Fe	72	30
Pt	28	9
Si	-	61

Analisando os dados da Tabela 10, é possível inferir que a proporção de 72:28 na amostra de FePt recoberta com óxido de ferro está em boa concordância com o aumento esperado na concentração de ferro devido à formação do óxido na camada de recobrimento quando comparado à amostra de FePt antes do recobrimento que apresentava proporções próximas a 55:45. Após todo o processo de recozimento e funcionalização, as proporções relativas de Fe:Pt:Si foram de aproximadamente 30:9:61. Embora pareça ter ocorrido ligeiro aumento na quantidade de ferro em relação à platina quando comparado com a amostra apenas recoberta com sílica, em ambos os casos a proporção relativa entre os elementos se aproxima de 3. Deve-se levar em conta, evidentemente, o caráter semi-quantitativo da análise por EDX e, dessa forma, os valores encontrados apresentam boa coerência com o esperado. Os espectros de EDX das amostras antes e após a funcionalização são apresentados na Figura 33.

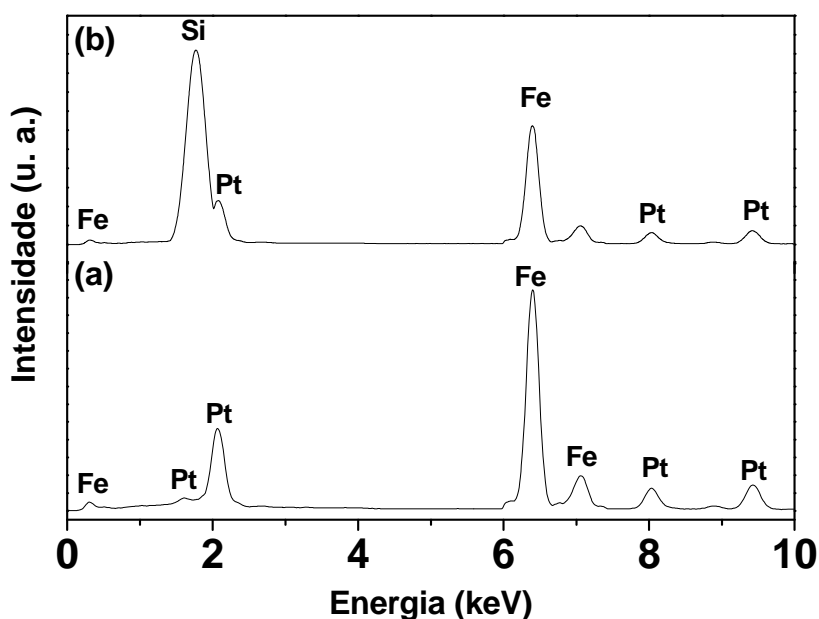


Figura 33. Espectros de EDX para as amostra com os núcleos magnéticos de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$ (a) e para a amostra com as NP luminomagnéticas de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ (b).

Outra técnica utilizada para caracterização estrutural foi a difratometria de raios X (DRX), cujos difratogramas representativos encontram-se na Figura 34. Os resultados de DRX mostram a presença das fases de FePt na estrutura fcc e também da estrutura do tipo espinélio inverso para o óxido de ferro para o caso da amostra de FePt apenas recoberta com óxido de ferro. Para o caso da amostra de NP luminomagnética após todo o processo

de recozimento e funcionalização, também são observados os picos referentes à fase FePt, a diminuição da intensidade do pico principal do óxido de ferro, centrado em aproximadamente 35° em 2θ e o aparecimento de um halo de difração bastante alargado centrado em $\sim 22^\circ$ em 2θ o qual é atribuído a difração do óxido de silício. A diminuição do pico referente ao óxido de ferro pode ser explicada pelo processo de recozimento que levou a formação de fases metálicas diferenciadas de FePt na amostra. Entretanto, os picos principais das três possíveis fases de FePt que poderiam estar presentes a amostra, (fcc-FePt, fct-FePt e Fe_3Pt) encontram-se todos praticamente centrado entre $40,5^\circ$ e $41,2^\circ$ em 2θ . Essa característica impede que seja realizada uma análise mais detalhada por DRX quanto às possíveis fases presentes na amostra. Um fato importante, que merece atenção é a existência do pico referente ao óxido de ferro mesmo na amostra após o recozimento indicando que o excesso de ferro utilizado para a formação da camada de óxido foi efetivo, também, para manter uma camada de passivação sobre a superfície da NPM metálica. Adicionalmente, o pico alargado referente à sílica tipicamente pode ser atribuído a presença de óxido amorfo ou na forma de filme fino, o qual está associado a camada de recobrimento.

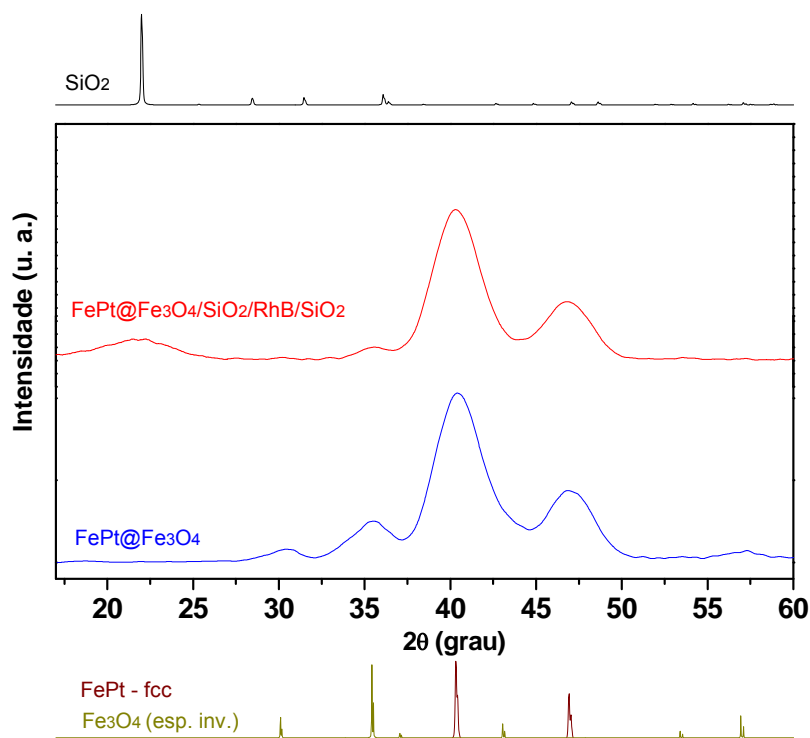


Figura 34. DRX das amostras de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ e $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ com os padrões de difração (JCPDF) inferindo a existência do núcleo metálico, uma camada de óxido de recobrimento e/ou passivação e a presença da camada de sílica.

Pelos espectros infravermelho mostrados na Figura 35, é possível identificar e confirmar os grupos funcionais presentes nas amostras C08 e C09, respectivamente para a mostra de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ recoberta com sílica e para a amostra de NP luminomagnéticas. Na amostra C08 a presença do núcleo magnético pode ser identificada pelas bandas em 463 cm^{-1} referente à deformação Fe—O em sítios octaédricos e em 586 cm^{-1} referente à deformação Fe—O em sítios tetraédricos e octaédricos. Na amostra C09 a presença da funcionalização com RhB no núcleo magnético pode ser confirmada pelas presenças da banda centrada em 3420 cm^{-1} correspondente ao estiramento N—H de amins aromáticas, a pequena banda na região aromática de 1454 cm^{-1} pode ser atribuída aos anéis da rodamina B e a banda centrada em 1353 cm^{-1} refere-se aos modos de vibração C—N ligados em anéis benzeno. E a presença das camadas de sílica pode ser confirmada pelo estiramento assimétrico Si—O—Si na região de 1080 cm^{-1} , além dos estiramentos de grupos hidroxilas presentes em superfície de sílica na região de 1630 cm^{-1} .^[92-98]

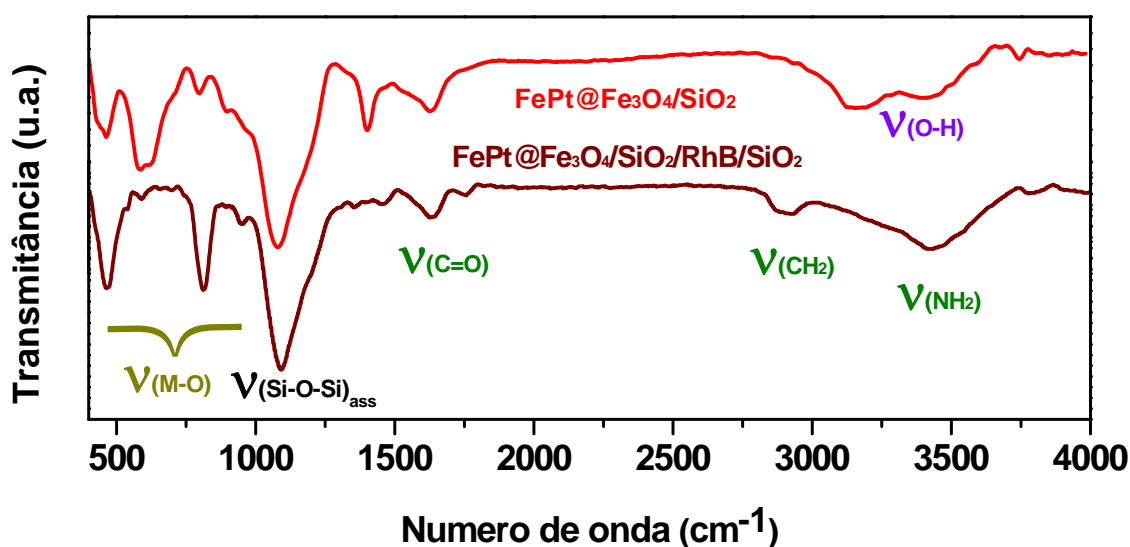


Figura 35. Espectros infravermelho das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$ e das NP luminomagnéticas de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$.

IV.3.2. Caracterização Magnética das NP luminomagnéticas

A principal proposta deste trabalho está relacionada à obtenção de nanomateriais luminomagnéticos e biocompatíveis com propriedades magnéticas intensificadas. Na literatura encontram-se muitos trabalhos utilizando NP de magnetita como núcleo magnético para possíveis aplicações em biomedicina/biotecnologia^[8,60,69], porém, estas NP tem

algumas limitações quanto a toxicidade e intensidade de magnetização. Estas limitações prejudicam a resposta magnética deste nanomaterial, quando a superfície deste núcleo magnético é recoberta com camadas de moléculas que diminuem a toxicidade destas NP em meio fisiológico, ou mesmo, quando são conjugadas outras funcionalizações em sua superfície. Desta forma, um dos objetivos do trabalho, foi a modificação do núcleo magnético destes nanomateriais para um núcleo magnético que propicie um aumento na intensidade magnética, para que após a adição de camadas adicionais na superfície da NPM, a resposta magnética do nanomaterial permaneça elevada. Para isto, observou-se na literatura que núcleos magnéticos de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ apresentam alta M_s ^[4,5,55,60,80], além de preservar o caráter superparamagnético necessário para aplicações biomédicas, como mencionado anteriormente.

A grande vantagem da síntese das NPM utilizando o método poliol modificado reside no alto controle da morfologia, composição e tamanho proporcionado por essa metodologia de síntese para obtenção de NPM metálicas de FePt ^[4,5,55,60,80]. Após as NPM serem recobertas com as camadas de sílica e a camada de RhB, obtendo-se os nanomateriais multifuncionais, as propriedades magnéticas do núcleo magnético são afetadas por estas camadas de compostos diamagnéticos e paramagnéticos, o que causa a diminuição da intensidade da M_s total do nanomaterial obtido. Porém, como tratado anteriormente, este problema da intensidade magnética é bastante minimizado para núcleos magnéticos com alta M_s . Na Figura 36 é possível observar as curvas de magnetização dos nanomateriais sintetizados nas diferentes etapas do trabalho e comparar os resultados obtidos para as amostras contendo o núcleo magnético de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ com aqueles obtidos apenas utilizando um núcleo de óxido de ferro obtido nas mesmas condições de síntese, mas na ausência de NP de FePt no meio reacional.

Analisando as curvas de histerese magnética apresentadas na Figura 36, foi observado que para as amostras com núcleo magnético de Fe_3O_4 a M_s do núcleo magnético foi de 52,5 emu/g, sendo após as funcionalizações para a obtenção das NP luminomagnéticas, o valor da M_s foi reduzido drasticamente para 5,2 emu/g. Já para o núcleo magnético de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ a M_s foi de 34,3 emu/g, sendo a M_s reduzida para 16,2 emu/g quando recoberto com a primeira camada de sílica ($\text{FePt}@Fe_3O_4/SiO_2$). Porém, após o processo de recozimento das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4/SiO_2$ a M_s aumentou para um valor de

84,0 emu/g e após ser funcionalizada com RhB e recoberta com a segunda camada de sílica ($\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$) a M_s foi reduzida para o valor de 64,3 emu/g.

Comparando as NP luminomagnéticas obtidas para os dois núcleos magnéticos utilizados observou-se que a M_s com o núcleo de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ foi consideravelmente maior que a M_s para o núcleo de Fe_3O_4 , destacando que se torna mais viável para uma futura aplicação biomédica, pois a intensidade da resposta magnética destas partículas tem valores bem mais expressivos que os apresentados pela amostra com o núcleo de magnetita. De fato, comparando as duas amostras de NP luminomagnéticas, a amostra sintetizado com o núcleo metálico apresentou um aumento na magnetização de saturação cerca de 12 vezes maior do que a amostra sintetizada apenas com o núcleo de magnetita. É importante ressaltar também que todas as amostras mostradas na Figura 36 apresentaram caráter superparamagnético, desejável para aplicações biomédicas, tendo valores de coercividade e remanência nulos à temperatura ambiente.

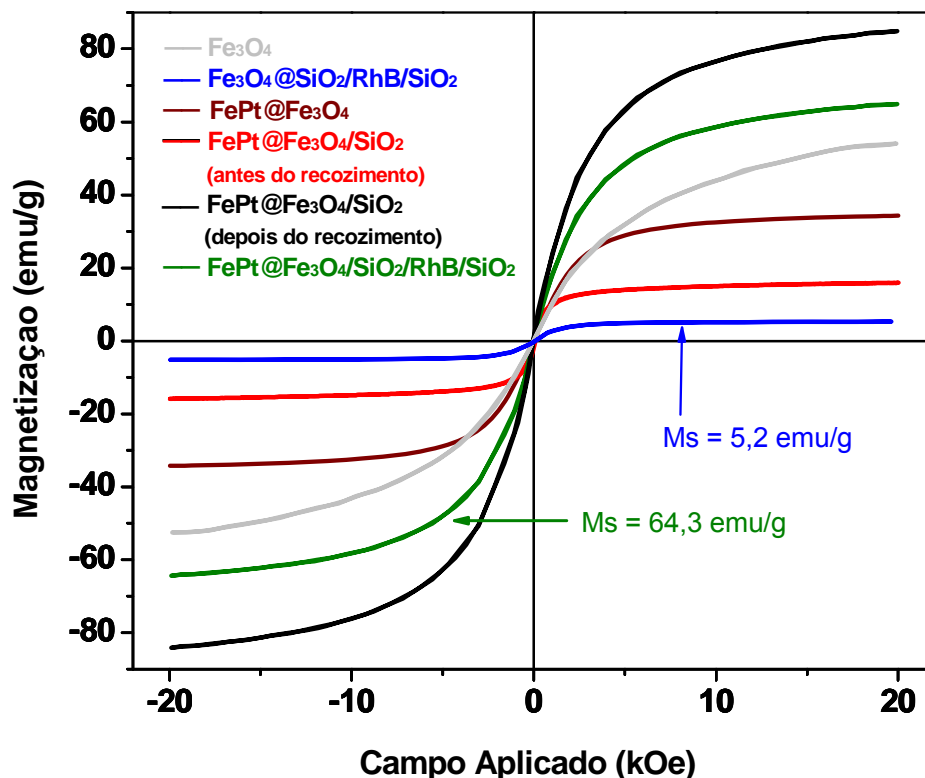


Figura 36. Curvas de histerese magnética das amostras sintetizadas nas diferentes etapas do trabalho comparando os valores da M_s das NPM e NP luminomagnéticas sintetizadas com núcleo magnético de Fe_3O_4 e de $FePt@Fe_3O_4$.

Com o intuito comprovar e caracterizar o comportamento superparamagnético das NP multifuncionais e determinar sua respectiva temperatura de bloqueio magnético (T_B), foram obtidas as curvas FC (*Field Cooling*) e ZFC (*Zero Field Cooling*) das NPM de FePt@Fe₃O₄ e Fe₃O₄, além das suas respectivas NP multifuncionais após os recobrimentos com as camadas de sílica e funcionalização com RhB, e para ambos os processos, *zero-field-cooled* (M_{ZFC}) e *field-cooled* (M_{FC}), as medidas foram realizadas com campo máximo aplicado $H = 100$ Oe. Quando uma amostra magnética é resfriada sem aplicação de um campo magnético externo, passando pela sua temperatura crítica (temperatura de Curie para sistemas ferromagnéticos ou temperatura de bloqueio para sistemas superparamagnéticos) e a magnetização é medida enquanto a amostra é aquecida na presença de um campo externo de baixa intensidade as curvas M_{ZFC} são obtidas. Este modo de medida de magnetização difere das medidas de M_{FC} , onde a amostra é resfriada passando pela sua temperatura crítica enquanto um campo magnético externo de baixa intensidade é aplicado e a magnetização medida durante o resfriamento ou o aquecimento após ser resfriada^[99]. Para um sistema de partículas superparamagnéticas ideal, tal como um sistema de nanopartículas uniformes e não-interagentes com anisotropia uniaxial ou magnetos moleculares, o máximo da curva M_{ZFC} e o ponto de interconexão das curvas M_{ZFC} e M_{FC} localizam-se na mesma temperatura e é definido como temperatura de bloqueio magnético (T_B). Acima da T_B a temperatura sobrepõe a barreira energética anisotrópica da nanopartícula ($K_U V$) e estas se tornam superparamagnéticas com elevado momento magnético, denominadas de “não-bloqueadas” e o comportamento termicamente instável induz ao decaimento exponencial da magnetização. Por outro lado, abaixo da T_B a energia térmica não é suficientemente alta para sobrepor a anisotropia e o momento da nanopartícula magnética é bloqueado^[99].

As curvas de magnetização FC e ZFC apresentadas na Figura 37, foram obtidas para as amostras de NP de Fe₃O₄ e Fe₃O₄/SiO₂/RhB/SiO₂ (Figura 37a), amostra de NP de FePt@Fe₃O₄/SiO₂/RhB/SiO₂ (Figura 37b) e, finalmente, para a amostra de NP de FePt@Fe₃O₄ (Figura 37c) sintetizadas nas diferentes etapas do trabalho. Analisando as curvas FC e ZFC constatou-se que para a amostra de NP de magnetita pura foi observada uma temperatura de bloqueio de 175 K e no caso das NP luminomagnéticas obtidas com o núcleo magnética composto apenas pelo óxido de ferro (Fe₃O₄@SiO₂/RhB/SiO₂) o valor da temperatura de bloqueio aumentou para 240 K. Para a amostra de nanopartículas

luminomagnéticas sintetizadas a partir do núcleo metálico recoberto com óxido de ferro, $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ foi observado um valor de temperatura de bloqueio de 40 K, em boa concordância com o valor de 27 K apresentado apenas pelo núcleo $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$.

Embora os resultados obtidos com relação à temperatura de bloqueio mostrem que todas as amostras possuem comportamento superparamagnético a temperatura ambiente, é importante que se faça uma análise comparativa entre os diferentes sistemas. Assim, comparando-se as amostras com núcleo magnético de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$ e Fe_3O_4 , observou-se que as amostras com núcleo magnético de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$ tem temperatura de bloqueio mais abaixo que as amostras com núcleo de Fe_3O_4 , ou seja, as amostras de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$ permanecem em regime superparamagnético numa faixa maior de temperatura maior que as amostras de Fe_3O_4 , podendo ter aplicabilidade em uma maior gama de condições térmicas.

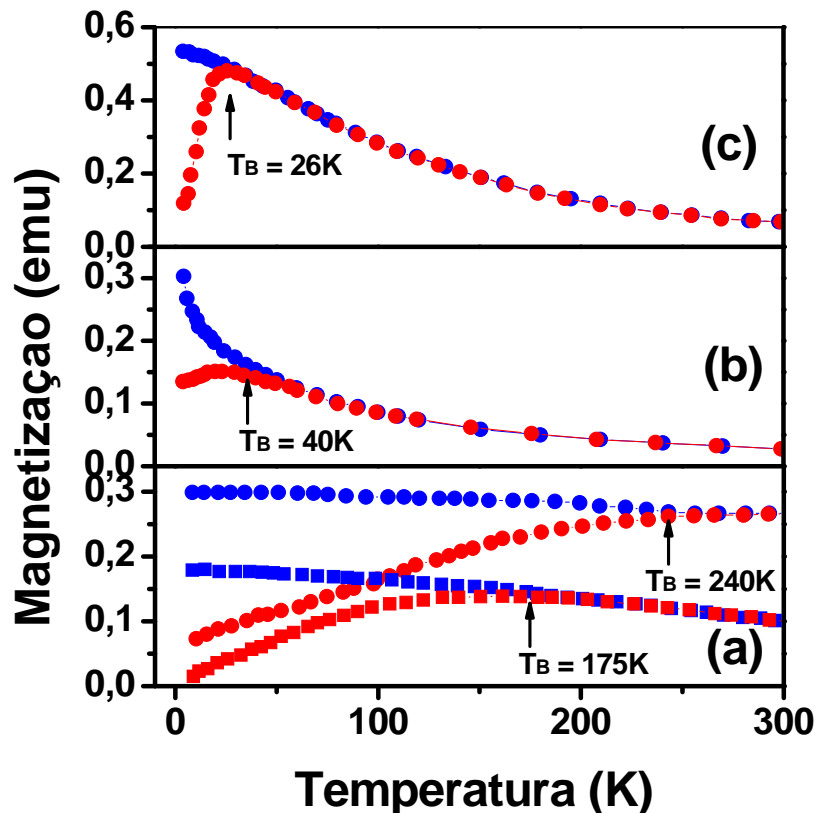


Figura 37. Curvas FC (azul) e ZFC (vermelho) das NP obtidas indicando o comportamento SPM e as respectivas temperaturas de bloqueio (T_B): (a) Fe_3O_4 (●) e $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ (■), (b) $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ e (c) $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4$.

IV.3.3. Caracterização Luminescente das NP luminomagnéticas

Um dos grandes desafios deste trabalho foi a conjugação das moléculas de RhB nas NPM preservando as propriedades magnéticas, tais como: caráter superparamagnético e elevada Ms. Além disso, um problema adicional foi encontrar uma forma de proteção para minimizar a supressão da intensidade de luminescência em um período de tempo, quando em contato com meio aquoso e/ou fisiológico ou mesmo com o núcleo magnético^[100]. Nesse último caso, como já fora mencionado, uma das soluções encontradas foi uma primeira camada de recobrimento com sílica entre o núcleo magnético (FePt@Fe₃O₄) e a molécula de RhB, como uma forma de manter as propriedades magnéticas e luminescentes características de cada componente da NP^[69]. Porém, esta primeira camada de recobrimento com sílica não impede o contato das moléculas de RhB com o meio aquoso, ou mesmo fisiológico, quando as NP estão dispersas. Como solução deste segundo problema, este trabalho propôs uma segunda camada de recobrimento com sílica para proteger as moléculas de RhB do contato com o meio dispersante das NP (por exemplo, água), como forma de prevenir a supressão de luminescência pelo solvente, o que aumenta a fotoestabilidade das moléculas de RhB e, portanto, manutenção da intensidade de emissão em um determinado período de tempo.^[69]

Para comprovar que as moléculas de RhB foram devidamente ancoradas nas nanopartículas luminomagnéticas, foram adquiridos espectros de emissão para a amostra de NP luminomagnética. Os espectros apresentados na Figura 38 foram obtidos excitando a amostra em 520 nm e, adicionalmente, os resultados obtidos foram comparados com NP de sílica sintetizadas de maneira semelhante, mas sem a presença no núcleo magnético (SiO₂/RhB/SiO₂); com solução aquosa de moléculas de RhB e, finalmente, com a NP magnética recoberta com sílica sem a incorporação das moléculas de RhB. Todas as amostras foram preparadas na forma de dispersões aquosas sendo que os comprimentos de onda de emissão para as amostras de FePt@Fe₃O₄/SiO₂/RhB/SiO₂ e SiO₂/RhB/SiO₂ foram de 572 nm, para as moléculas de RhB livres foram de 599 nm, e para a amostra de FePt@Fe₃O₄/SiO₂ não foi observada a existência de bandas de emissão no intervalo de comprimento de onda medido.

Pelas figuras (a) e (b) constatou-se que não há mudança no comprimento de onda da banda de emissão para estas amostras, o que permite afirmar que o núcleo magnético

provavelmente não está influenciando na emissão das NP luminomagnéticas, já que as NP de $\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ (sem a presença do núcleo magnético) não apresentam mudanças na região de emissão quando comparadas com as NP de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$. De acordo com os resultados apresentados na Figura 38, os espectros das NP de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ apresentam mudanças no comprimento de onda de emissão fluorescente em relação as moléculas de RhB livres em solução aquosa, devido à algumas interações que ocorrem entre a superfície da matriz de sílica com as moléculas de RhB. O espectro de emissão da amostra de NP de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$ não apresentaram máximo de emissão, o que sugere que a presença da banda de emissão das NP luminomagnéticas está associada exclusivamente a estrutura eletrônica das moléculas de RhB.

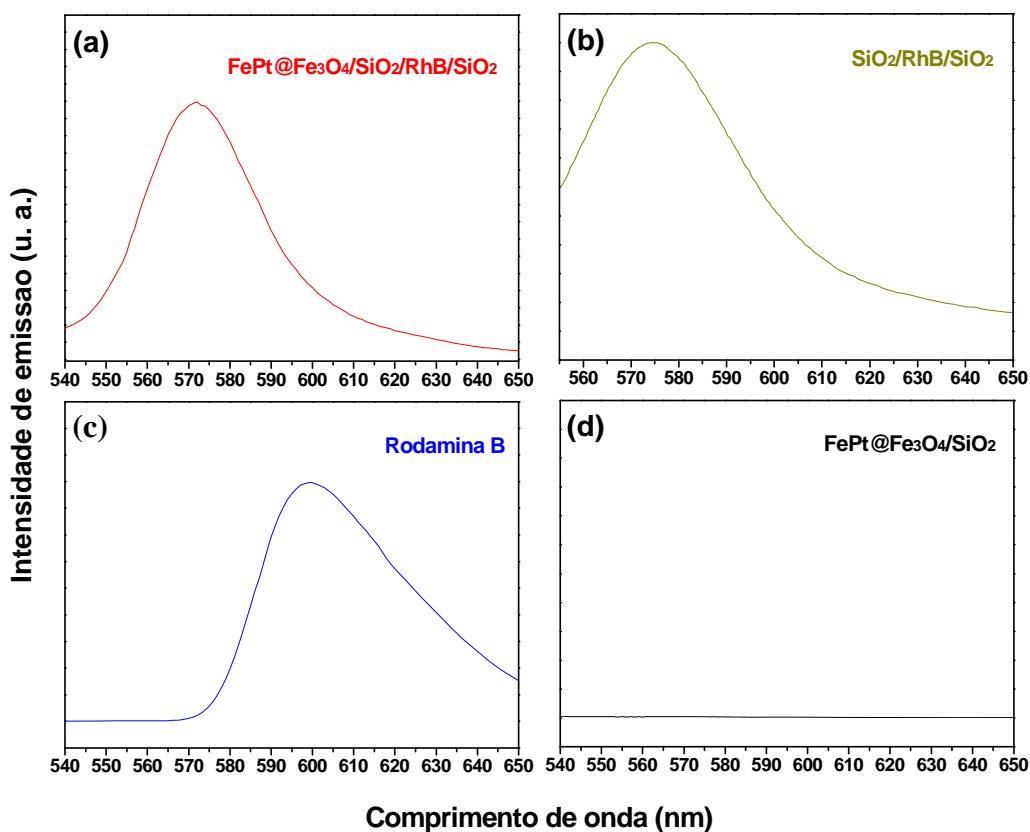


Figura 38. Espectros de emissão com excitação em 520 nm, para as amostras $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ (a), $\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ (b), RhB (c), e $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2$ (d) em solução aquosa.

As análises de fotoestabilidade das NP luminomagnéticas em comparação com as moléculas de RhB livres ambas em solução aquosa obtidas para um período total de 60 min, são apresentadas na Figura 39. Com esta análise foi possível verificar a taxa com que a

intensidade de luminescência das amostras diminui com o tempo ou se há certa estabilidade na intensidade de emissão. Pela Figura 39 observou-se que a intensidade emissão (com excitação em 520 nm) da amostra de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ diminuiu em 78 unidades, enquanto que a intensidade de emissão das moléculas de RhB livres diminuiu em 374 unidades no período de 60 min. Entretanto, como pode ser observado nos espectros da Figura 39, a diminuição ocorrida na intensidade de emissão das NP luminomagnéticas ocorre nos primeiros 10 min de análise e a emissão permanece constante após esse período. Já para o caso das moléculas de RhB livres em solução, o decaimento verificado após 60 min não apresentou estabilidade, sugerindo, ainda, que esse decaimento deva continuar ocorrendo em tempos maiores. Aparentemente, os resultados obtidos com esse ensaios preliminares de fotoestabilidade levam a considerar que a camada externa de sílica deva estar efetivamente dificultando o contato entre as moléculas de RhB ancoradas nas NP e o solvente, evitando assim, a supressão da luminescência observada para o caso das moléculas livres. Outras caracterizações ópticas devem ser realizadas para compreender melhor o comportamento do sistema nanoparticulado.

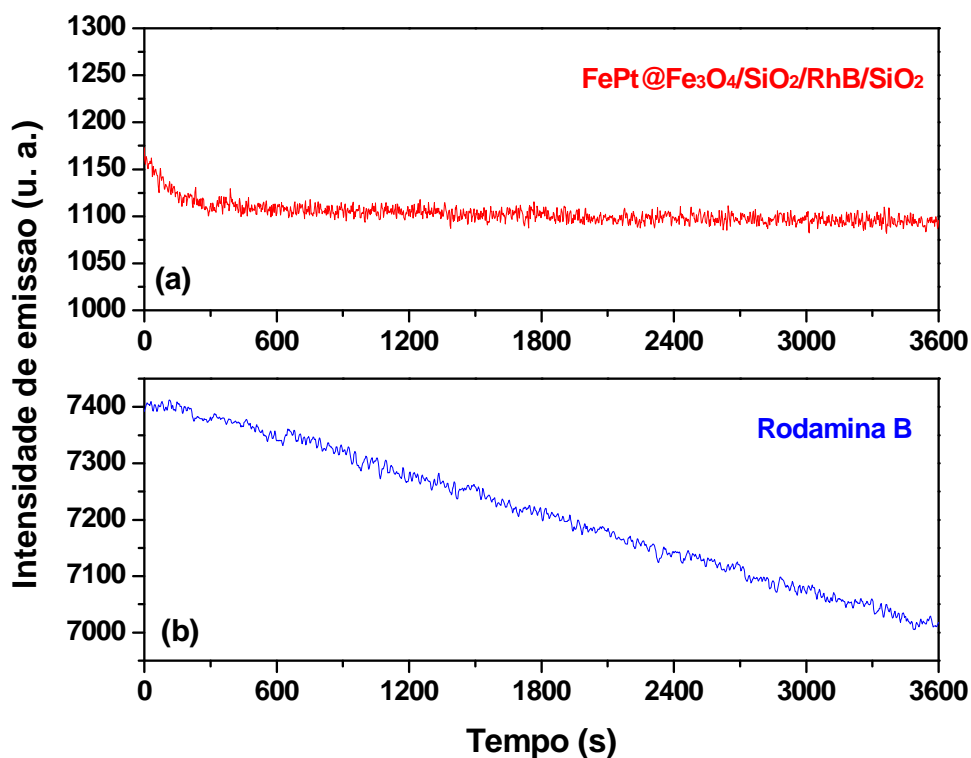


Figura 39. Gráficos de fotoestabilidade em um período de tempo de 60 min para (a) NP de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$; e (b) moléculas de RhB, ambas em solução aquosa.

IV.3.4. Mobilidade Eletroforética

Foram feitas medidas de mobilidade eletroforética com o intuito de constatar o efeito da mudança do pH na carga de superfície da NP luminomagnética, além de se tratar de uma técnica de caracterização adicional para verificar a eficiência do método de recobrimento com sílica. Os resultados apresentados na Figura 40 indicam que o ponto isoeletrônico para o núcleo magnético de FePt@Fe₃O₄ foi de 6,48, o qual está em excelente concordância com valores de p.i.e. observados para partículas de óxido de ferro. Dessa forma, é possível inferir que o recobrimento do núcleo metálico de FePt com a camada de óxido de ferro foi efetiva. Conclusão semelhante pode ser obtida após os processos de funcionalização com RhB e recobrimentos com sílica uma vez que o p.i.e. da amostra recoberta com sílica baixou para valores ao redor de 2,71 o qual encontra-se muito próximo do valor esperado para nanopartículas de sílica, ao redor de 3. Isto significa que após o recobrimento das NPM com sílica as cargas de superfície da NP se neutralizam em pH muito mais baixo que as NPM.

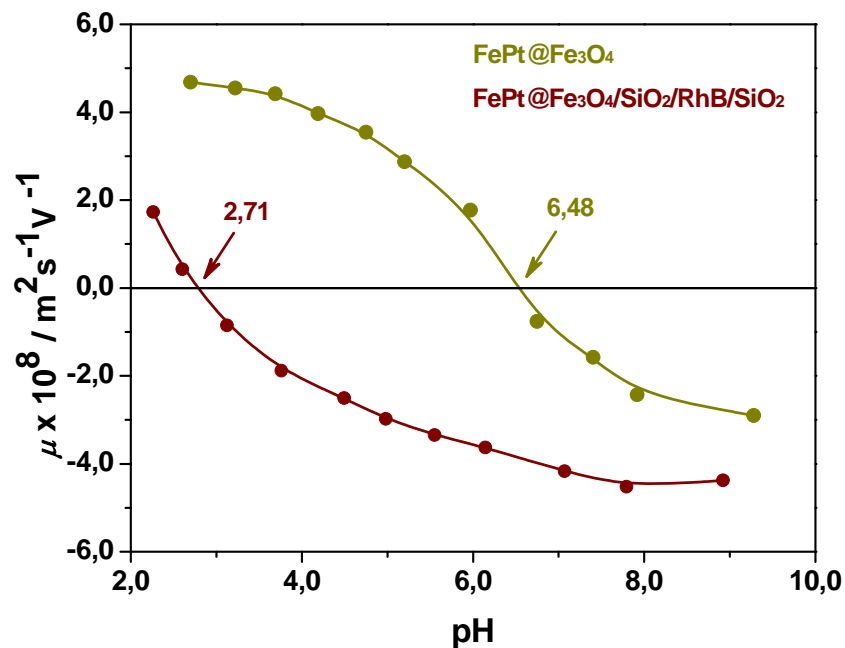


Figura 40. Mobilidade eletroforética para as amostras de (a) FePt@Fe₃O₄/SiO₂/RhB/SiO₂ e (b) FePt@Fe₃O₄, variando o pH de 2 a 10 e sob força iônica constante de 1×10^{-3} mol/L.

Ainda, uma constatação que pode ser feita é que relacionando a carga de superfície à estabilidade coloidal, pode-se inferir que as NP com pontos isoeletrônicos mais baixos são mais estáveis em meio fisiológico com pH próximo de 7 em relação às NPM que tem o ponto

isoeletrônico mais próximo deste pH, devido aos efeitos de repulsão eletrostática serem mais intensos, não permitindo a aglomeração das partículas. Desta forma, observando os valores apresentados na Figura 40, verifica-se que em pH próximo a 7, a superfície da NP luminomagnética permanecerá carregada mais negativamente que a NPM sem o recobrimento, e com isso, por repulsão eletrostática as partículas tenderão a se repelir mais acentuadamente conforme ocorre uma possível aproximação das partículas, não permitindo que ocorra aglomeração. Sendo assim, esta característica torna maior a estabilidade coloidal das NP luminomagnéticas de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ em relação as NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$.

IV.4. FOTOGRAFIAS DOS NANOMATERIAIS OBTIDOS

Com o intuito de ilustrar as características dos nanomateriais obtidos neste trabalho, foram fotografadas as NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$, obtidas pelo método poliol modificado combinado com o processo de crescimento mediado por sementes, e também as NP multifuncionais de $\text{FePt}@Fe_3O_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ obtidas após todos os processos de recobrimento com sílica e funcionalização com RhB. Para ambas as amostras, foram obtidas imagens na ausência e presença de campo magnético externo. Especificamente para as NP multifuncionais foram obtidas imagens sob presença de luz ultravioleta. Desta forma, na Figura 41 pode-se observar em (a) as fotografias das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ sob ausência de campo magnético externo e em (b) sob presença do campo magnético externo, sendo que em ambas fotografias as partículas estavam dispersas em hexano.

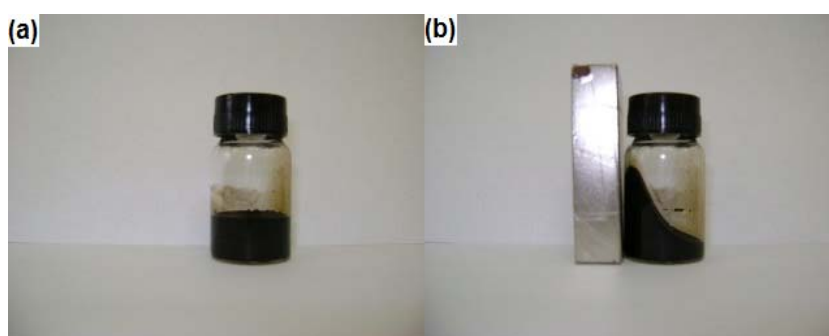


Figura 41. Fotografias das NPM de $\text{FePt}@Fe_3O_4$ dispersas em hexano sob (a) ausência do campo magnético externo, (b) presença do campo magnético externo.

Na Figura 42 é possível observar as fotografias das NP multifuncionais dispersas em água, sendo que em (a) as NP multifuncionais estão sob ausência de campo magnético externo, em (b) sob influência de campo magnético externo, e em (c) sob presença de campo magnético externo e de luz ultravioleta. Esse resultados mostram que foi obtido um sistema bifuncional combinando em uma única nanopartícula a possibilidade de sensoriamento óptico e magnético, além de possuir sua magnetização de saturação intensificada cerca de 12 vezes em relação aos óxidos metálicos e possuir superfície biocompatível com possibilidades de funcionalizações adicionais.

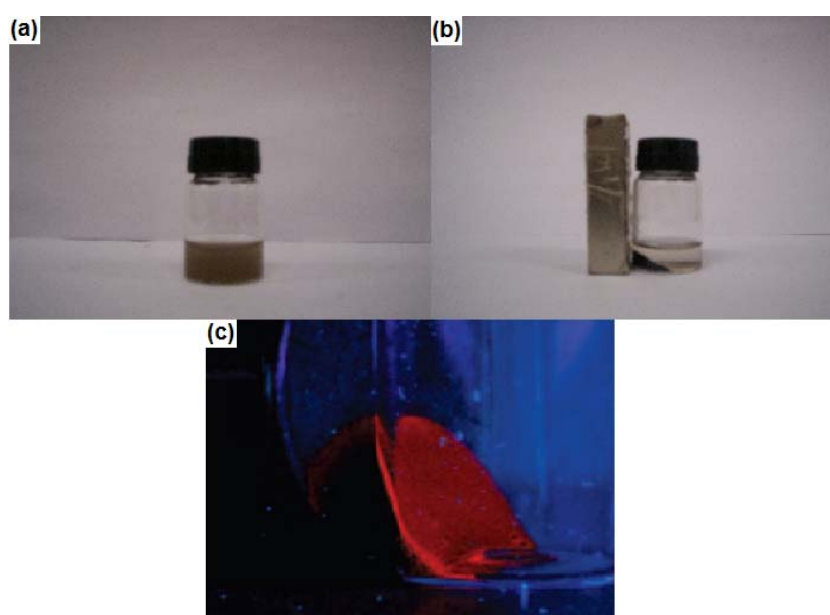


Figura 42. Fotografias das NP multifuncionais de $\text{FePt@Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{RhB}/\text{SiO}_2$ dispersas em água sob (a) ausência do campo magnético externo, (b) presença do campo magnético externo, e (c) sob presença do campo magnético externo e luz ultra-violeta.

V. CONCLUSÕES

Diante dos objetivos propostos para este trabalho e se baseando nos resultados obtidos, pode-se concluir que os sistemas multifuncionais obtidos tiveram tamanho, morfologia, composição e polidispersidade bastante controlados e adequados com vistas à possibilidade de aplicação em biomedicina, como proposto. O processo poliol combinado com o metodologia do crescimento mediado por sementes, foi efetivo na obtenção de NP de FePt recobertas com óxido de ferro com morfologia e composição. Para estabilização, proteção e propiciar uma superfície compatível para funcionalizações adicionais, a superfície das NPM de FePt@Fe₃O₄ foram devidamente recobertas com sílica. No sistema otimizado foram obtidas NPM recobertas com sílica com diâmetro médio de 28,6 ± 1,6 nm. Em relação às propriedades magnéticas, as NPM recobertas com sílica mantiveram o caráter superparamagnético em temperatura ambiente, e a Ms foi reduzida para 16,2 emu/g. Porém, após o recozimento, as NPM recobertas mostram um aumento da Ms para valores de 84 emu/g provavelmente devido a formação de fases com composição intermediárias entre FePt e óxido de ferro levando a acoplamentos magnéticos que resultaram na preservação do comportamento superparamagnético. O processo utilizado para a incorporação de moléculas de rodamina B utilizando o APTES como intermediário foi eficiente assim como a deposição da camada mais externa de sílica resultando em NP luminomagnéticas com elevada estabilidade coloidal e minimizando os efeitos de supressão da luminescência pelo solvente quando dispersas em água. O diâmetro médio das NP multifuncionais foi de 34,3 ± 1,5 nm constituindo um sistema monodisperso. A Ms das NP multifuncionais de FePt@Fe₃O₄/SiO₂/RhB/SiO₂ foi de 64,3 emu/g, preservando o caráter superparamagnético e apresentando aumento significativo no valor da Ms observada para o mesmo sistema cujo núcleo magnético foi constituído apenas por NP de óxido de ferro. As partículas tiveram emissão fluorescente no comprimento de onda de 572 nm e fotoestabilidade aproximadamente 4,8 vezes maior que as moléculas de RhB livres em solução aquosa.

Em resumo, os resultados permitem concluir que foi obtido um sistema bifuncional combinando em uma única nanopartícula a possibilidade de sensoriamento óptico e magnético, além de possuir sua magnetização de saturação intensificada cerca de 10 vezes em relação aos óxidos metálicos e possuir superfície biocompatível com possibilidades de funcionalizações adicionais, com grande potencial para aplicações em biomedicina.

VI. PERSPECTIVAS

Diante dos resultados obtidos, este trabalho possibilitou uma série de perspectivas quanto a possíveis aplicações destes sistemas multifuncionais em biomedicina/biotecnologia. As nanopartículas sintetizadas podem permitir que novas funcionalizações sejam realizadas sobre a superfície das mesmas, podendo conjugar, por exemplo, moléculas que propiciem biosseletividade a células tumorais para o tratamento do câncer, utilizar as propriedades magnéticas e luminescentes como um sensor bifuncional no diagnóstico, e usar a magnetohipertermia como forma de tratamento. Além disso, outro caminho para este trabalho seria a obtenção de outros tipos de sistemas multifuncionais, por exemplo, heterodímeros luminomagnéticos como uma forma de comparação das propriedades destes sistemas e para testar a viabilidade do tipo de sistema multifuncional com a possível aplicação biomédica.

Ressalta-se, ainda, que embora o resultado final observado para as nanopartículas sintetizadas seja altamente promissor, outros estudos devem ser realizados com o sistema em questão. Dentre eles, podem ser citados: (i) dar continuidade aos processos de otimização de tamanho e controle da espessura da camada de recobrimento a fim de minimizar ainda mais as perdas em relação a magnetização de saturação desse material; (ii) investigar as fases formadas no núcleo magnético após o recozimento com o intuito de propor modificações que possam levar a diminuir ou mesmo substituir um elemento extremamente caro como no caso da platina; (iii) dar continuidade aos estudos de fotoestabilidade e mecanismo de supressão de luminescência a fim de determinar com precisão qual o tempo máximo que as NP luminomagnéticas podem ser estocadas para uso posterior ou mesmo comprometer sua eficiência durante uma aplicação in vivo, por exemplo.

Apêndice A

PROPRIEDADES MAGNÉTICAS E O SUPERPARAMAGNETISMO DAS NPM

As propriedades magnéticas macroscópicas de um material são oriundas basicamente dos momentos magnéticos associados a cada elétron deste material^[101]. Há dois tipos de movimentos do elétron, o movimento orbital e movimento de spin, e cada um destes tem um momento magnético associado, sendo estes: o momento magnético orbital e o momento magnético de spin^[99]. Como observado na Figura 43, o momento magnético orbital está associado ao movimento do elétron em torno do núcleo atômico, enquanto o momento magnético de spin é associado ao giro do elétron em torno do seu próprio eixo^[99,101].

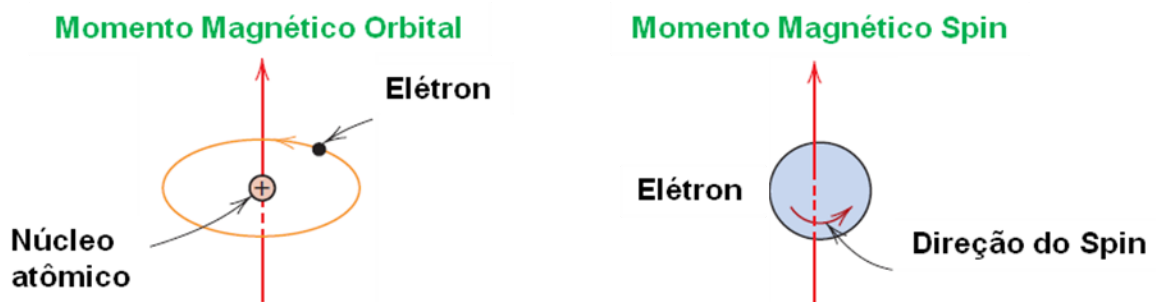


Figura 43. Contribuições do Momento Magnético do Elétron: Momento Magnético Orbital e Momento Magnético de Spin. Adaptado ^[98]

Para um átomo que possui muitos elétrons, os momentos magnéticos orbital e de spin, de cada elétron, se somam entre si de tal forma que o momento magnético do átomo é a soma vetorial de todos os momentos magnéticos eletrônicos, e duas possibilidades podem ocorrer:

1. Os momentos magnéticos de todos os elétrons podem estar orientados de tal forma que eles se cancelem um ao outro, e o átomo como um todo não tem momento magnético resultante. Esta condição é chamada de diamagnetismo^[99].
2. O cancelamento dos momentos magnéticos eletrônicos é somente parcial, e o átomo ficará com um momento magnético atômico resultante. Esta condição é chamada de paramagnetismo^[99].

Em sólidos estendidos, ou seja, materiais constituídos por diversos átomos, os tipos mais comuns de magnetismo que podem ocorrer são: diamagnetismo, paramagnetismo e ferromagnetismo, e adicionalmente podem ocorrer fenômenos como o ferrimagnetismo e antiferromagnetismo que não serão tratados neste trabalho. Porém, todos os materiais normalmente exibem ao menos um destes tipos de magnetismo e o comportamento depende da resposta dos dipolos magnéticos eletrônicos e atômicos sob a aplicação de um campo magnético externo^[23]. No diamagnetismo, como observado na Figura 44, na ausência de um campo magnético aplicado os átomos não apresentam momentos magnéticos resultantes e por este motivo os materiais estendidos não apresentam também um momento magnético resultante. Porém, com a aplicação de um campo magnético externo, é induzida a formação de momentos magnéticos atômicos resultantes, devido a uma mudança no movimento orbital dos elétrons. A magnitude do momento magnético induzido é extremamente pequena e em sentido oposto àquele do campo externo aplicado^[23,99,101].

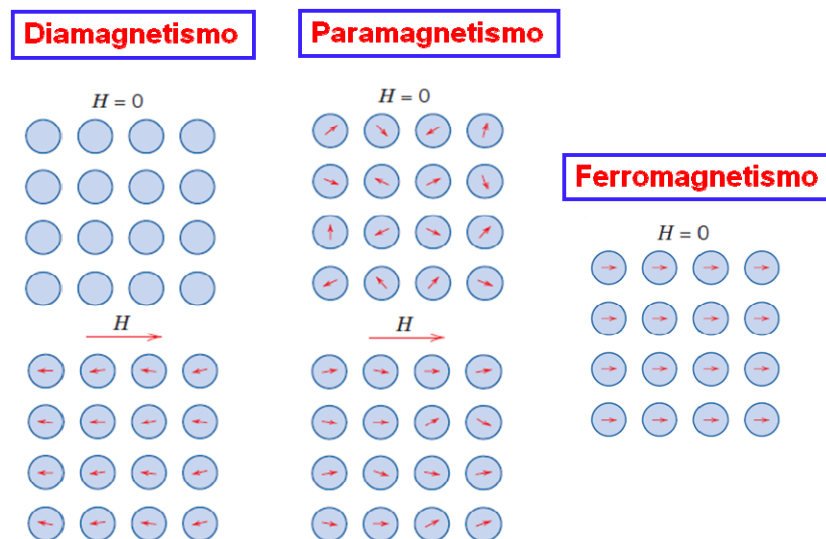


Figura 44. Tipos de magnetismo para um material estendido: (a) momentos magnéticos na ausência e na presença de um campo magnético externo para um material diamagnético; (b) momentos magnéticos na ausência e na presença de um campo magnético externo para um material paramagnético; e (c) momentos magnéticos alinhados mesmo na ausência de um campo magnético externo, para um material ferromagnético.

No paramagnetismo (Figura 44), na ausência de um campo magnético externo os átomos individuais possuem momentos magnéticos atômicos resultantes, porém, suas

orientações são aleatórias de tal forma que o material estendido com este tipo de magnetismo não possui momento magnético total resultante. Com a aplicação de um campo magnético externo, estes dipolos atômicos estão livres para experimentarem uma rotação, de tal forma, que se alinham no mesmo sentido que o campo magnético externo, e se somam, ampliando assim a magnitude do campo magnético total^[23,99,101]. No ferromagnetismo, alguns tipos de materiais, principalmente os metálicos, possuem um momento magnético permanente mesmo na ausência de um campo magnético externo e geralmente manifestam magnetizações muito grandes e permanentes. Isto ocorre devido a alguns efeitos cooperativos que ocorrem, devido a estrutura eletrônica, entre os momentos magnéticos dos átomos do material, que resulta em um alinhamento dos dipolos magnéticos atômicos e propicia uma magnetização remanente mesmo na ausência do campo externo.

Nos materiais ferromagnéticos estendidos, existem regiões em que os momentos magnéticos estão alinhados de formas diferentes, e estas regiões se chamam domínios. Estes domínios são separados por interfaces nas quais os momentos magnéticos vão mudando gradualmente. Estas interfaces são denominadas paredes de domínio, e estas paredes são móveis dependendo de algumas mudanças físicas que podem ocorrer nestes materiais, como a aplicação de um campo magnético externo. Os domínios magnéticos e as paredes de domínio são representados na Figura 45.^[99]

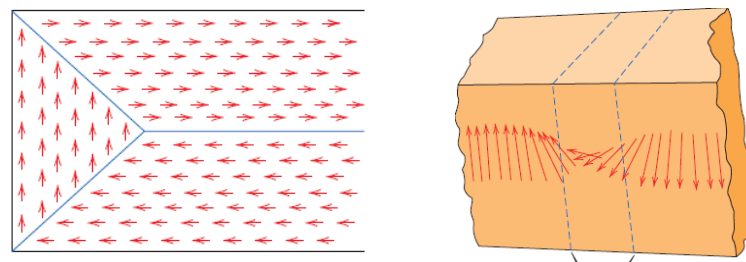


Figura 45. Representações esquemáticas dos (a) Domínios magnéticos como regiões com grupos de dipolos magnéticos alinhados em um mesmo sentido (setas vermelhas), separados por paredes de domínio (linhas azuis); e (b) mudança gradual dos dipolos magnéticos na região da parede entre os domínios magnéticos.

Com a aplicação de um campo magnético externo em um sólido ferromagnético estendido, ocorre um movimento das paredes de domínio deste material (Figura 45), de tal forma que os domínios com dipolos magnéticos mais favoráveis à direção e ao sentido do campo magnético externo aumentam, e os domínios com dipolos magnéticos com sentido

contrário ao campo externo diminuem. No momento em que todos domínios estão alinhados a favor do campo o material chega a uma saturação em sua magnetização, e esta propriedade é denominada magnetização de saturação (M_s). Porém, quando o campo magnético externo é retirado destes materiais ferromagnéticos, ocorre uma histerese na curva de magnetização (Figura 46), devido ao forte acoplamento dos domínios magnéticos no mesmo sentido que é formado após aplicação do campo externo. Com isso, mesmo na ausência total de um campo magnético externo, o material fica com uma magnetização residual, e esta é chamada de remanência. Para retirar essa remanência do material é necessário se aplicar um campo externo contrário ao sentido destes dipolos acoplados, de tal forma que torne essa remanência nula novamente, e para isto, o campo necessário para tornar a remanência nula chama-se coercividade.

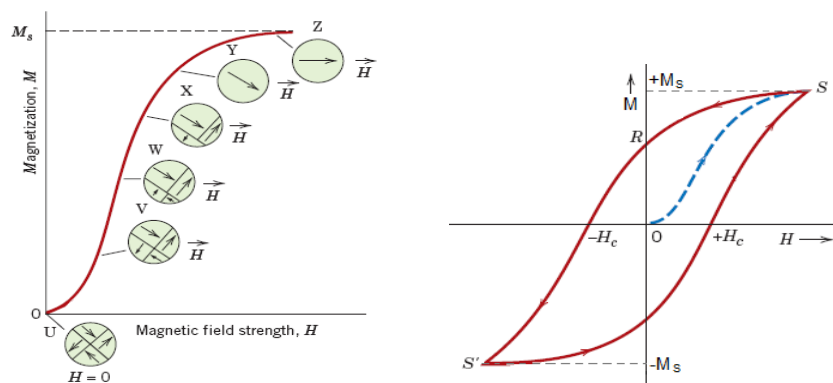


Figura 46. Representação esquemática da (a) magnetização do material até sua M_s ; e (b) curva de histerese com um ciclo de magnetização e desmagnetização do material ferromagnético.

A coercividade das partículas é dependente do seu tamanho, o que pode ser observado na Figura 47, a qual mostra a variação da coercividade intrínseca do material (H_{Ci}) em função do diâmetro da partícula (D). Na região do material estendido composto por multidomínios, a coercividade aumenta com a diminuição do diâmetro da partícula. Medidas experimentais comprovaram que em alguns materiais a dependência da coercividade com o tamanho da partícula é dada por pela equação 2, onde a e b são constantes:

$$H_{ci} = a + \frac{b}{D} \quad (2)$$

Em um determinado diâmetro crítico (D_s), variando de um tipo de material para outro, a partícula torna-se monodomínio e a coercividade atinge um valor máximo.

Continuando com a diminuição da partícula, abaixo do D_S , a coercividade da partícula diminui, de acordo com a equação 3, onde g e h são constantes:

$$H_{ci} = g - \frac{h}{D^{3/2}} \quad (3)$$

Quando a partícula alcança um outro diâmetro crítico (D_P), a coercividade da partícula se torna nula e estas partículas são chamadas de superparamagnéticas^[102,103].

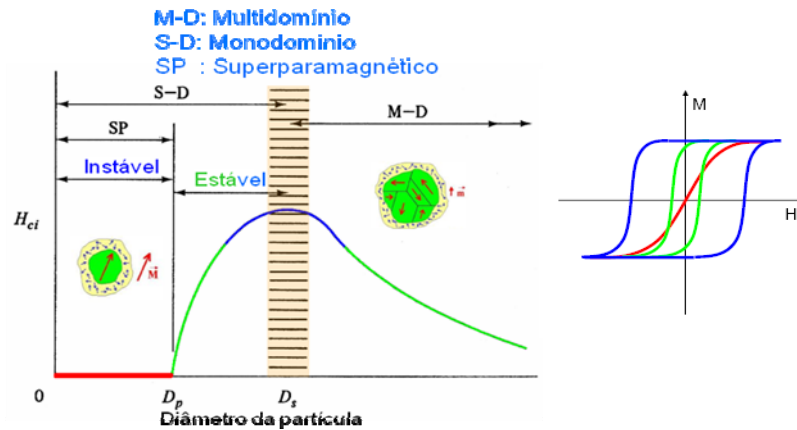


Figura 47. Gráfico da coercividade em função do diâmetro da partícula e o limite superparamagnético.

Em termos energéticos, a energia anisotrópica magnética, que é responsável por manter o momento magnético numa determinada direção e é dependente do volume da partícula, como é mostrada na equação 4:

$$E(\theta) = K_{ef} V \sin^2 \theta \quad (4)$$

onde V é o volume da partícula, K_{ef} é a constante anisotrópica e θ é o ângulo entre a magnetização e o eixo de fácil magnetização. À medida que o tamanho da partícula diminui, a energia anisotrópica também diminui até que no momento que é alcançado o diâmetro crítico D_P , no qual a energia anisotrópica se torna menor que a energia térmica do sistema ($K_B T$), sendo que esta última contribuição é desfavorável ao alinhamento dos dipolos magnéticos das partícula. Desta forma, o limite superparamagnético é atingido e nesta faixa de tamanho, que geralmente é na ordem de nanômetros, a partícula passa a ter caráter superparamagnético.

REFERÊNCIAS

1. Klabunde, K. J., Richards, R. M. *Nanoscale Materials in Chemistry*, Hoboken, 2009.
2. Lu, A. H., Salabas, E. L., Schuth, F. Magnetic nanoparticles: Synthesis, protection, functionalization, and application, *Angewandte Chemie-International Edition* (2007) 46, 1222-1244.
3. Tao, K., Dou, H. J., Sun, K. Interfacial coprecipitation to prepare magnetite nanoparticles: Concentration and temperature dependence, *Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects* (2008) 320, 115-122.
4. Varanda, L. C., Jafelicci, M. Self-assembled FePt nanocrystals with large coercivity: Reduction of the fcc-to-L1(0) ordering temperature, *Journal of the American Chemical Society* (2006) 128, 11062-11066.
5. Varanda, L. C., Jafelicci, M., Imaizumi, M. Temperature dependence and magnetocrystalline anisotropy studies of self-assembled L1(0)-Fe₅₅Pt₄₅ ferromagnetic nanocrystals, *Journal of Applied Physics* (2007) 101.
6. Salgueirino-Maceira, V., Correa-Duarte, M. A. Increasing the complexity of magnetic core/shell structured nanocomposites for biological applications, *Advanced Materials* (2007) 19, 4131-4144.
7. Sun, C., Lee, J. S. H., Zhang, M. Q. Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews* (2008) 60, 1252-1265.
8. Corr, S. A., Rakovich, Y. P., Gun'ko, Y. K. Multifunctional magnetic-fluorescent nanocomposites for biomedical applications, *Nanoscale Research Letters* (2008) 3, 87-104.
9. Gupta, A. K., Wells, S. Surface-modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: Preparation, characterization, and cytotoxicity studies, *IEEE Transactions on Nanobioscience* (2004) 3, 66-73.
10. Gupta, A. K., Gupta, M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications, *Biomaterials* (2005) 26, 3995-4021.
11. Mornet, S., Vasseur, S., Grasset, F., Veverka, P., Goglio, G., Demourgues, A., Portier, J., Pollert, E., Duguet, E. Magnetic nanoparticle design for medical applications, *Progress in Solid State Chemistry* (2006) 34, 237-247.
12. Tartaj, P., Morales, M. D., Veintemillas-Verdaguer, S., Gonzalez-Carreno, T., Serna, C. J. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine, *Journal of Physics D-Applied Physics* (2003) 36, R182-R197.
13. Liveri, V. T. *Controlled Synthesis of Nanoparticles in Microheterogeneous Systems*, New York, 2006.
14. Khomutov, G. B., Koksharov, Y. A. Effects of organic ligands, electrostatic and magnetic interactions in formation of colloidal and interfacial inorganic nanostructures, *Advances in Colloid and Interface Science* (2006) 122, 119-147.
15. Lu, A. H., Schmidt, W., Matoussevitch, N., Bonnemann, H., Spliethoff, B., Tesche, B., Bill, E., Kiefer, W., Schuth, F. Nanoengineering of a magnetically separable hydrogenation catalyst, *Angewandte Chemie-International Edition* (2004) 43, 4303-4306.

16. Tsang, S. C., Caps, V., Paraskevas, I., Chadwick, D., Thompsett, D. Magnetically separable, carbon-supported nanocatalysts for the manufacture of fine chemicals, *Angewandte Chemie-International Edition* (2004) 43, 5645-5649.
17. Chikazumi, S., Taketomi, S., Ukita, M., Mizukami, M., Miyajima, H., Setogawa, M., Kurihara, Y., Physics of Magnetic Fluids, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* (1987) 65, 245-251.
18. Li, Z., Wei, L., Gao, M. Y., Lei, H. One-pot reaction to synthesize biocompatible magnetite nanoparticles, *Advanced Materials* (2005) 17, 1001-+.
19. Na, H. B., Song, I. C., Hyeon, T. Inorganic Nanoparticles for MRI Contrast Agents, *Advanced Materials* (2009) 21, 2133-2148.
20. Hyeon, T. Chemical synthesis of magnetic nanoparticles, *Chemical Communications* (2003) 927-934.
21. Elliott, D. W., Zhang, W. X. Field assessment of nanoscale biometallic particles for groundwater treatment, *Environmental Science & Technology* (2001) 35, 4922-4926.
22. Takafuji, M., Ide, S., Ihara, H., Xu, Z. H. Preparation of poly(1-vinylimidazole)-grafted magnetic nanoparticles and their application for removal of metal ions, *Chemistry of Materials* (2004) 16, 1977-1983.
23. Jeong, U., Teng, X. W., Wang, Y., Yang, H., Xia, Y. N. Superparamagnetic colloids: Controlled synthesis and niche applications, *Advanced Materials* (2007) 19, 33-60.
24. Xu, C. J., Sun, S. H. Monodisperse magnetic nanoparticles for biomedical applications, *Polymer International* (2007) 56, 821-826.
25. Nel, A. E., Madler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M. V., Somasundaran, P., Klaessig, F., Castranova, V., Thompson, M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface, *Nature Materials* (2009) 8, 543-557.
26. Schmidt, A. M. Thermoresponsive magnetic colloids, *Colloid and Polymer Science* (2007) 285, 953-966.
27. Zanchet, D., Tolentino, H., Alves, M. C. M., Alves, O. L., Ugarte, D. Inter-atomic distance contraction in thiol-passivated gold nanoparticles, *Chemical Physics Letters* (2000) 323, 167-172.
28. Zanchet, D., Hall, B. D., Ugarte, D. Structure population in thiol-passivated gold nanoparticles, *Journal of Physical Chemistry B* (2000) 104, 11013-11018.
29. Bhattacharya, R., Mukherjee, P. Biological properties of "naked" metal nanoparticles, *Advanced Drug Delivery Reviews* (2008) 60, 1289-1306.
30. Quarta, A., Di Corato, R., Manna, L., Argentiere, S., Cingolani, R., Barbarella, G., Pellegrino, T. Multifunctional nanostructures based on inorganic nanoparticles and oligothiophenes and their exploitation for cellular studies, *Journal of the American Chemical Society* (2008) 130, 10545-10555.
31. Solanki, A., Kim, J. D., Lee, K. B. Nanotechnology for regenerative medicine: nanomaterials for stem cell imaging, *Nanomedicine* (2008) 3, 567-578.
32. Gao, J. H., Gu, H. W., Xu, B. Multifunctional Magnetic Nanoparticles: Design, Synthesis, and Biomedical Applications, *Accounts of Chemical Research* (2009) 42, 1097-1107.
33. Gai, S. L., Yang, P. P., Li, C. X., Wang, W. X., Dai, Y. L., Niu, N., Lin, J. Synthesis of Magnetic, Up-Conversion Luminescent, and Mesoporous Core-Shell-Structured Nanocomposites as Drug Carriers, *Advanced Functional Materials* (2010) 20, 1166-1172.

34. Selvan, S. T., Patra, P. K., Ang, C. Y., Ying, J. Y. Synthesis of silica-coated semiconductor and magnetic quantum dots and their use in the imaging of live cells, *Angewandte Chemie-International Edition* (2007) 46, 2448-2452.
35. Hsin, Y. L., Lin, C. F., Liang, Y. C., Hwang, K. C., Horng, J. C., Ho, J. A. A., Lin, C. C., Hwu, J. R. Microwave arcing induced formation and growth mechanisms of core/shell metal/carbon nanoparticles in organic solutions, *Advanced Functional Materials* (2008) 18, 2048-2056.
36. Latham, A. H., Williams, M. E. Controlling transport and chemical functionality of magnetic nanoparticles, *Accounts of Chemical Research* (2008) 41, 411-420.
37. Shavel, A., Rodriguez-Gonzalez, B., Spasova, M., Farle, M., Liz-Marzan, L. M. Synthesis and characterization of iron/iron oxide core/shell nanocubes, *Advanced Functional Materials* (2007) 17, 3870-3876.
38. Bautista, M. C., Bomati-Miguel, O., Morales, M. D., Serna, C. J. Veintemillas-Verdaguer, S., Surface characterisation of dextran-coated iron oxide nanoparticles prepared by laser pyrolysis and coprecipitation, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* (2005) 293, 20-27.
39. Ho, K. M., Li, P. Design and synthesis of novel magnetic core-shell polymeric particles, *Langmuir* (2008) 24, 1801-1807.
40. Lin, X. M., Samia, A. C. S. Synthesis, assembly and physical properties of magnetic nanoparticles, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* (2006) 305, 100-109.
41. Petri-Fink, A., Hofmann, H. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): From synthesis to in vivo studies - A summary of the synthesis, characterization, in vitro, and in vivo investigations of SPIONs with particular focus on surface and colloidal properties, *IEEE Transactions on Nanobioscience* (2007) 6, 289-297.
42. Chen, S., Li, Y., Guo, C., Wang, J., Ma, J. H., Liang, X. F., Yang, L. R., Liu, H. Z. Temperature-responsive magnetite/PEO-PPO-PEO block copolymer nanoparticles for controlled drug targeting delivery, *Langmuir* (2007) 23, 12669-12676.
43. Yu, D. B., Sun, X. Q., Zou, J. W., Wang, Z. R., Wang, F., Tang, K. Oriented assembly of Fe₃O₄ nanoparticles into monodisperse hollow single-crystal microspheres, *Journal of Physical Chemistry B* (2006) 110, 21667-21671.
44. Ichikawa, S., Iwamoto, S., Watanabe, J. Formation of biocompatible nanoparticles by self-assembly of enzymatic hydrolysates of chitosan and carboxymethyl cellulose, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* (2005) 69, 1637-1642.
45. Zhang, Q., Wang, C. H., Qiao, L., Yan, H. S., Liu, K. L. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles coated with a folate-conjugated polymer, *Journal of Materials Chemistry* (2009) 19, 8393-8402.
46. Fievet, F., Lagier, J. P., Blin, B., Beaudoin, B., Figlarz, M. Homogeneous and Heterogeneous Nucleations in the Polyol Process for the Preparation of Micron and Sub-Micron Size Metal Particles, *Solid State Ionics* (1989) 32-3, 198-205.
47. Poul, L., Jouini, N., Fievet, F. Layered hydroxide metal acetates (metal = zinc, cobalt, and nickel): Elaboration via hydrolysis in polyol medium and comparative study, *Chemistry of Materials* (2000) 12, 3123-3132.
48. Viau, G., Fievet-Vincent, F., Fievet, F. Nucleation and growth of bimetallic CoNi and FeNi monodisperse particles prepared in polyols, *Solid State Ionics* (1996) 84, 259-270.
49. Jezequel, D., Guenot, J., Jouini, N., Fievet, F. Submicrometer Zinc-Oxide Particles - Elaboration in Polyol Medium and Morphological-Characteristics, *Journal of Materials Research* (1995) 10, 77-83.

50. Toneguzzo, P., Viau, G., Acher, O., Guillet, F., Bruneton, E., Fievet-Vincent, F., Fievet, F. CoNi and FeCoNi fine particles prepared by the polyol process: Physico-chemical characterization and dynamic magnetic properties, *Journal of Materials Science* (2000) 35, 3767-3784.
51. Viau, G., Fievet-Vincent, F., Fievet, F. Monodisperse iron-based particles: Precipitation in liquid polyols, *Journal of Materials Chemistry* (1996) 6, 1047-1053.
52. Sun, S. H., Murray, C. B., Weller, D., Folks, L., Moser, A. Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices, *Science* (2000) 287, 1989-1992.
53. Sun, S. H., Anders, S., Thomson, T., Baglin, J. E. E., Toney, M. F., Hamann, H. F., Murray, C. B., Terris, B. D. Controlled synthesis and assembly of FePt nanoparticles, *Journal of Physical Chemistry B* (2003) 107, 5419-5425.
54. Sun, S. H., Zeng, H., Robinson, D. B., Raoux, S., Rice, P. M., Wang, S. X., Li, G. X. Monodisperse MFe₂O₄ (M = Fe, Co, Mn) nanoparticles, *Journal of the American Chemical Society* (2004) 126, 273-279.
55. Sun, S. H. Recent advances in chemical synthesis, self-assembly, and applications of FePt nanoparticles, *Advanced Materials* (2006) 18, 393-403.
56. Zeng, H., Li, J., Wang, Z. L., Liu, J. P., Sun, S. H. Bimagnetic core/shell FePt/Fe₃O₄ nanoparticles, *Nano Letters* (2004) 4, 187-190.
57. Malheiro, A. R., Varanda, L. C., Perez, J., Villullas, H. M. The aerosol OT plus n-butanol plus n-heptane plus water system: Phase behavior, structure characterization, and application to Pt₇₀Fe₃₀ nanoparticle synthesis, *Langmuir* (2007) 23, 11015-11020.
58. Ganguli, A. K., Ganguly, A., Vaidya, S. Microemulsion-based synthesis of nanocrystalline materials, *Chemical Society Reviews* (2010) 39, 474-485.
59. Capek, I. Preparation of metal nanoparticles in water-in-oil (w/o) microemulsions, *Advances in Colloid and Interface Science* (2004) 110, 49-74.
60. Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Elst, L. V., Muller, R. N. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications (vol 108, pg 2064, 2008), *Chemical Reviews* (2010) 110, 2574-2574.
61. Shao, D. D., Xu, K. K., Song, X. J., Hu, J. H., Yang, W. L., Wang, C. C. Effective adsorption and separation of lysozyme with PAA-modified Fe₃O₄@silica core/shell microspheres, *Journal of Colloid and Interface Science* (2009) 336, 526-532.
62. Guerrero-Martinez, A., Perez-Juste, J., Liz-Marzan, L. M. Recent Progress on Silica Coating of Nanoparticles and Related Nanomaterials, *Advanced Materials* (2010) 22, 1182-1195.
63. Darbandi, M., Thomann, R., Nann, T. Single quantum dots in silica spheres by microemulsion synthesis, *Chemistry of Materials* (2005) 17, 5720-5725.
64. Koole, R., van Schooneveld, M. M., Hilhorst, J., Donega, C. D., 't Hart, D. C., van Blaaderen, A., Vanmaekelbergh, D., Meijerink, A. On the incorporation mechanism of hydrophobic quantum dots in silica spheres by a reverse microemulsion method, *Chemistry of Materials* (2008) 20, 2503-2512.
65. Han, Y., Jiang, J., Lee, S. S., Ying, J. Y. Reverse microemulsion-mediated synthesis of silica-coated gold and silver nanoparticles, *Langmuir* (2008) 24, 5842-5848.
66. Lee, D. C., Mikulec, F. V., Pelaez, J. M., Koo, B., Korgel, B. A. Synthesis and magnetic properties of silica-coated FePt nanocrystals, *Journal of Physical Chemistry B* (2006) 110, 11160-11166.

67. Ikeda, M., Tago, T., Kishida, M., Wakabayashi, K. Thermal stability of an SiO₂-coated Rh catalyst and catalytic activity in NO reduction by CO, *Chemical Communications* (2001) 2512-2513.
68. Koole, R., van Schooneveld, M. M., Hilhorst, J., Donega, C. D., 't Hart, D. C., van Blaaderen, A., Vanmaekelbergh, D., Meijerink, A. On the incorporation mechanism of hydrophobic quantum dots in silica spheres by a reverse microemulsion method, *Chemistry of Materials* (2008) 20, 2503-2512.
69. Chang, Q., Zhu, L. H., Yu, C., Tang, H. Q. Synthesis and properties of magnetic and luminescent Fe₃O₄/SiO₂/Dye/SiO₂ nanoparticles, *Journal of Luminescence* (2008) 128, 1890-1895.
70. Vestal, C. R., Zhang, Z. J. Synthesis and magnetic characterization of Mn and Co spinel ferrite-silica nanoparticles with tunable magnetic core, *Nano Letters* (2003) 3, 1739-1743.
71. Santra, S., Tapeç, R., Theodoropoulou, N., Dobson, J., Hebard, A., Tan, W. H. Synthesis and characterization of silica-coated iron oxide nanoparticles in microemulsion: The effect of nonionic surfactants, *Langmuir* (2001) 17, 2900-2906.
72. Thakur, R., Gupta, R. B. Supercritical CO₂ based silica coating of gold nanoparticles using water-in-oil microemulsions, *Industrial & Engineering Chemistry Research* (2005) 44, 3086-3090.
73. Yang, H. S., Santra, S., Walter, G. A., Holloway, P. H. Gd-III-functionalized fluorescent quantum dots as multimodal imaging probes, *Advanced Materials* (2006) 18, 2890-+.
74. Stjernerahl, M., Andersson, M., Hall, H. E., Pajerowski, D. M., Meisel, M. W., Duran, R. S. Superparamagnetic Fe₃O₄/SiO₂ nanocomposites: Enabling the tuning of both the iron oxide load and the size of the nanoparticles, *Langmuir* (2008) 24, 3532-3536.
75. Yi, D. K., Selvan, S. T., Lee, S. S., Papaefthymiou, G. C., Kundaliya, D., Ying, J. Y. Silica-coated nanocomposites of magnetic nanoparticles and quantum dots, *Journal of the American Chemical Society* (2005) 127, 4990-4991.
76. Xu, H., Cui, L. L., Tong, N. H., Gu, H. C. Development of high magnetization Fe₃O₄/polystyrene/silica nanospheres via combined miniemulsion/emulsion polymerization, *Journal of the American Chemical Society* (2006) 128, 15582-15583.
77. Yan, Q. Y., Purkayastha, A., Kim, T., Kroger, R., Bose, A., Ramanath, G. Synthesis and assembly of monodisperse high-coercivity silica-capped FePt nanomagnets of tunable size, composition, and thermal stability from microemulsions, *Advanced Materials* (2006) 18, 2569-+.
78. Lee, J., Lee, Y., Youn, J. K., Bin Na, H., Yu, T., Kim, H., Lee, S. M., Koo, Y. M., Kwak, J. H., Park, H. G., Chang, H. N., Hwang, M., Park, J. G., Kim, J., Hyeon, T. Simple synthesis of functionalized superparamagnetic magnetite/silica core/shell nanoparticles and their application as magnetically separable high-performance biocatalysts, *Small* (2008) 4, 143-152.
79. Hussain, S. M., Braydich-Stolle, L. K., Schrand, A. M., Murdock, R. C., Yu, K. O., Mattie, D. M., Schlager, J. J., Terrones, M. Toxicity Evaluation for Safe Use of Nanomaterials: Recent Achievements and Technical Challenges, *Advanced Materials* (2009) 21, 1549-1559.
80. Varanda, L. C., Imaizumi, M., Santos, F. J., Jafelicci, M. Iron Oxide Versus Fe₅₅Pt₄₅/Fe₃O₄: Improved Magnetic Properties of Core/Shell Nanoparticles for Biomedical Applications, *IEEE Transactions on Magnetics* (2008) 44, 4448-4451.
81. Kalia, J., Raines, R. T. Advances in Bioconjugation, *Current Organic Chemistry* (2010) 14, 138-147.
82. Nandivada, H., Jiang, X. W., Lahann, J. Click chemistry: Versatility and control in the hands of materials scientists, *Advanced Materials* (2007) 19, 2197-2208.
83. Myers, D. *Surfaces, Interfaces and Colloids: Principles and Applications*, New York, 1999.

84. Suresh, S. Biomechanics and biophysics of cancer cells, *Acta Biomaterialia* (2007) 3, 413-438.
85. Sahai, E. Illuminating the metastatic process, *Nature Reviews Cancer* (2007) 7, 737-749.
86. Liu, Z., Kiessling, F., Gatzjens, J. Advanced Nanomaterials in Multimodal Imaging: Design, Functionalization, and Biomedical Applications, *Journal of Nanomaterials* (2010)
87. Hao, R., Xing, R. J., Xu, Z. C., Hou, Y. L., Gao, S., Sun, S. H. Synthesis, Functionalization, and Biomedical Applications of Multifunctional Magnetic Nanoparticles, *Advanced Materials* (2010) 22, 2729-2742.
88. Gai, S. L., Yang, P. P., Li, C. X., Wang, W. X., Dai, Y. L., Niu, N., Lin, J. Synthesis of Magnetic, Up-Conversion Luminescent, and Mesoporous Core-Shell-Structured Nanocomposites as Drug Carriers, *Advanced Functional Materials* (2010) 20, 1166-1172.
89. Makovec, D., Campelj, S., Bele, M., Maver, U., Zorko, M., Drofenik, M., Jamnik, J., Gaberscek, M. Nanocomposites containing embedded superparamagnetic iron oxide nanoparticles and rhodamine 6G, *Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects* (2009) 334, 74-79.
90. Yiu, H. H. P., Niu, H. J., Biermans, E., van Tendeloo, G., Rosseinsky, M. J. Designed Multifunctional Nanocomposites for Biomedical Applications, *Advanced Functional Materials* (2010) 20, 1599-1609.
91. Ohmori, M., Matijevic, E. Preparation and properties of uniform coated colloidal particle. VII. Silica on hematite, *Journal of Colloid and Interface Science* (1992) 150, 594-598.
92. Bagaria, H. G., Ada, E. T., Shamsuzzoha, M., Nikles, D. E., Johnson, D. T. Understanding mercapto ligand exchange on the surface of FePt nanoparticles, *Langmuir* (2006) 22, 7732-7737.
93. Barrera, C., Herrera, A., Zayas, Y., Rinaldi, C. Surface modification of magnetite nanoparticles for biomedical applications, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* (2009) 321, 1397-1399.
94. Hwang, E., Levitsky, I. A., Euler, W. B. Gas Phase Sensors for Bases Using Rhodamine B in Nafion Films, *Journal of Applied Polymer Science* (2010) 116, 2425-2432.
95. Liu, X. L., Cui, D. L., Wang, Q., Xu, H. Y., Li, M. Photoluminescence enhancement of ZrO₂/rhodamine B nanocomposites, *Journal of Materials Science* (2005) 40, 1111-1114.
96. Shukla, N., Liu, C., Jones, P. M., Weller, D. FTIR study of surfactant bonding to FePt nanoparticles, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* (2003) 266, 178-184.
97. Xu, Z. C., Shen, C. M., Hou, Y. L., Gao, H. J., Sun, S. S. Oleylamine as Both Reducing Agent and Stabilizer in a Facile Synthesis of Magnetite Nanoparticles, *Chemistry of Materials* (2009) 21, 1778-1780.
98. Aslam, M., Fu, L., Li, S., Dravid, V. P. Silica encapsulation and magnetic properties of FePt nanoparticles, *Journal of Colloid and Interface Science* (2005) 290, 444-449.
99. Cullity, B. D., Graham, C. D. *Introduction to Magnetic Materials*, Hoboken, 2009.
100. Yang, Y. H., Jing, L. H., Yu, X. L., Yan, D. D., Gao, M. Y. Coating aqueous quantum dots with silica via reverse microemulsion method: Toward size-controllable and robust fluorescent nanoparticles, *Chemistry of Materials* (2007) 19, 4123-4128.
101. Callister, W. D. Jr. *Materials Science and Engineering: An Introduction*, New York, 1991.
102. Battle, X., Labarta, A. Finite-size effects in fine particles: magnetic and transport properties, *Journal of Physics D-Applied Physics* (2002) 35, R15-R42.

103. Goesmann, H., Feldmann, C. Nanoparticulate Functional Materials, *Angewandte Chemie-International Edition* (2010) 49, 1362-1395.