Universidade de São Paulo
Instituto de Química de São Carlos
Departamento de Físico-Química
Grupo de Materiais Coloidais

MARIA EDUARDA SOUZA DIAS LINO

MODIFICAÇÃO DE ROTA VERDE PARA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS SUPERPARAMAGNÉTICAS DE MAGNETITA VISANDO AUMENTAR AS PROPRIEDADES MAGNETOTÉRMICAS PARA TRATAMENTO DE CÂNCER

São Carlos
2022

Maria Eduarda Souza Dias Lino

MODIFICAÇÃO DE ROTA VERDE PARA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS SUPERPARAMAGNÉTICAS DE MAGNETITA VISANDO AUMENTAR AS PROPRIEDADES MAGNETOTÉRMICAS PARA TRATAMENTO DE CÂNCER

EXEMPLAR REVISADO

O exemplar original encontra-se em acervo reservado na Biblioteca do IQSC-USP

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Físico-Química

Orientador: Prof. Dr. Laudemir Carlos Varanda

São Carlos

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assinatura:
Data:

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC

Lino, Maria Eduarda Souza Dias
Modificação de rota verde para síntese de nanopartículas superparamagnéticas de magnetita visando aumentar as propriedades magnetotérmicas para tratamento de câncer / Maria Eduarda Souza Dias Lino. — São Carlos, 2022.
101 f.

Dissertação (Mestrado em Físico-Química) — Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Paulo, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Laudemir Carlos Varanda

1. Síntese. 2. Magnetita. 3. Nanopartículas magnéticas. 4. Hipertermia magnética. 5. Câncer. I. Título.

Wilneide do C. Marchi Maiorano - CRB: 3978/8

LINO, M. E. S. D. **Modificação de rota verde para síntese de nanopartículas superparamagnéticas de magnetita visando aumentar as propriedades magnetotérmicas para tratamento de câncer**. 2022. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2022.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Laudemir Carlos Varanda

Instituição: IQSC - USP

Julgamento: APROVADA

Prof. Dr. Celso Molina

Instituição: UNIFESP - Externo

Julgamento: APROVADA

Prof. Dr. Watson Beck Júnior

Instituição: IFSC - Externo

Julgamento: APROVADA

Dedico este trabalho aos meus pais, Rodrigo e Elisabete, que sempre me impulsionaram a ser o que desejasse ser.

Também ao meu esposo, Lucas, por tanta paciência e carinho em cada etapa.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Rodrigo e Elisabete, por me motivarem a buscar meus sonhos, por investirem cada suor de muito trabalho em mim, pelos ensinamentos e atmosfera de amor em que sempre me envolveram.

Ao meu esposo amado, Lucas, pela paciência em me ouvir em dias alegres e tristes durante a trajetória, pelo empenho em me motivar a prosseguir e por todo amor e afeto apresentados em cada momento até aqui.

Também ao meu irmão, Felipe, por me ensinar a não perder a essência de quem nós somos e por me motivar a ser uma “Tata” melhor a cada dia.

À minha família, pelo apoio e entusiasmo a cada conquista, em especial às minhas avós Maria e Vera, joias preciosas. Também, em memória de meu avô, que com toda certeza estaria saltando de alegria ao me ver alcançar mais uma conquista, José Pereira Dias, a saudade causada por sua ausência, vô, invade-me.

Aos meus sogros, Rosilda e Idail, por tamanho entusiasmo e alegria em me ver alcançar os meus objetivos.

Ao Prof. Dr. Laudemir Carlos Varanda, agradeço pelo privilégio de ser orientada por alguém com tanto conhecimento na área, pelas histórias contadas que renderam boas risadas, pela paciência e disposição em ensinar tudo o que foi possível nesse período.

Aos meus colegas de laboratório, Natália Santos, Natália Sanches, Daniel, Caio, Bruno e Derik por cada minuto de auxílio, risadas e fofocas que deixaram os dias de trabalho mais leves.

Às minhas amigas de coração, Luana e Rhayane, que me conquistaram com seu carisma, sinceridade e alegria desde a graduação e, ainda hoje, demonstram paciência nos momentos de desabafo e companheirismo nos momentos de conquistas.

Aos professores responsáveis pela minha trajetória acadêmica até o momento, em especial à Prof. Edna Gonçalves e ao Prof. Antônio Poli, pelo incentivo em prosseguir os estudos no ensino superior, também ao Prof. Dr. Higor de Oliveira, Profa. Dra. Vanessa Camillo, Profa. Dra. Daniara Cristina e Profa. Dra. Carolina Lourencetti, que foram essenciais para a minha chegada à pós-graduação.

Ao Instituto de Química de São Carlos – IQSC, pela infraestrutura e apoio necessários. Aos funcionários da limpeza, da segurança, da portaria e dos equipamentos, sempre muito educados, divertidos e prestativos. Obrigada pela qualidade dos serviços prestados e pelo zelo em cada detalhe. Especialmente à Wilneide, gratidão por sua paciência e disposição em ajudar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), pela bolsa concedida.

Ao CNPq e à FAPESP pelo apoio financeiro.

“São as nossas escolhas, mais do que as nossas capacidades, que mostram quem realmente somos. ”

(Alvo Percival Wulfrico Bryan Dumbledore)

RESUMO

LINO, M. E. S. D. Modificação de rota verde para síntese de nanopartículas superparamagnéticas de magnetita visando aumentar as propriedades magnetotérmicas para tratamento de câncer. 2022. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2022.

A ampla utilização de óxidos de ferro em medicina é associada à técnica de hipertermia magnética em cânceres, através da aplicação do nanomaterial na região tumoral e utilizando energia térmica advinda de um campo magnético alternado que permite a destruição apenas das células cancerosas. Este trabalho tem como objetivos principais a obtenção e a caracterização de nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas de magnetita em meio aquoso através de uma rota considerada ambientalmente amigável. A síntese é baseada na geração *in situ* de íons Fe^{2+} através da redução controlada de íons Fe^{3+} na presença de íons sulfito. Sistematicamente, a metodologia conduz a obtenção de nanopartículas de magnetita com tamanho médio de 12±2 nm e estreita distribuição de tamanhos. Embora o tamanho se enquadre no regime superparamagnético desejado, a literatura atual sugere que nanopartículas na faixa de tamanho de 20-25 nm apresentam maior intensidade das suas propriedades hipertérmicas. Nesta faixa, as nanopartículas estão próximas ao limite crítico entre mono e multidomínios magnéticos intensificando processos de relaxação de Néel que refletem positivamente na eficiência de energia magnética em térmica. Uma avaliação de diversos parâmetros de síntese foi realizada neste trabalho como: ordem de adição dos reagentes, tipo e tempo de agitação (mecânica ou magnética), ajuste no tempo de injeção do complexo no meio alcalino e acidez inicial do meio. O estudo permitiu ampliar o conhecimento da rota de síntese e identificar fatores que governam as etapas de hidrólise e condensação e podem ser ajustados para permitir aumentar o tamanho médio das nanopartículas. As diferentes etapas e produtos foram caracterizados por difratometria de raios X, espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier e microscopia eletrônica de transmissão. Algumas amostras também foram analisadas por espalhamento de luz dinâmico (potencial zeta e tamanho hidrodinâmico) e medidas de hipertermia magnética. Nossos resultados mostraram que o complexo ferro-sultifo deve ser previamente formado e estar na cor amarela antes da adição no meio alcalino ou da adição de base. A cor amarela identifica que o processo redox $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ foi completado. O tipo de agitação magnética não interfere no produto da reação, mas deve ser usada apenas na etapa inicial de nucleação para evitar oxidação das nanopartículas durante o período de envelhecimento (24h/90°C). Adicionalmente, múltiplas injeções do complexo no meio de reação durante o período de envelhecimento resultaram em elevada polidispersão devido aos processos de nucleação e crescimento simultâneos durante a síntese. Embora não se tenha conseguido aumentar o tamanho médio das nanopartículas, uma amostra sintetizada diluindo previamente o complexo em água com adição controlada da base se mostrou bastante promissora neste sentido. As partículas apresentaram tamanho da ordem de 30 nm, mas com diferentes formas, alta polidispersão e formação de goethita juntamente à fase magnetita. Este efeito foi atribuído a baixa acidez inicial do meio devido à diluição e os parâmetros devem ser ajustados em estudos futuros, permitindo aumentar o tamanho das nanopartículas de forma controlada, sua estabilidade coloidal e intensificar os valores de magnetohipertermia.

Palavras-chave: Síntese. Magnetita. Nanopartículas magnéticas. Hipertermia magnética. Câncer.

ABSTRACT

LINO, M. E. S. D. Modification of green route for synthesis of magnetite superparamagnetic nanoparticles to increase magnetothermal properties for cancer treatment. 2022. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2022.

The wide use of iron oxides in medicine is associated with the technique of magnetic hyperthermia in cancers, through the application of the nanomaterial in the tumor region and using thermal energy from an alternating magnetic field that allows the destruction of only cancer cells. The main objectives of this work are to obtain and characterize superparamagnetic iron oxide nanoparticles of magnetite in aqueous media through a route considered environmentally friendly. The synthesis is based on the *in situ* generation of Fe^{2+} ions through the controlled reduction of Fe^{3+} ions in the presence of sulfite ions. Systematically, the methodology leads to obtaining magnetite nanoparticles with an average size of 12±2 nm and a narrow size distribution. Although the size fits the desired superparamagnetic regime, the current literature suggests that nanoparticles in the size range of 20-25 nm present greater intensity of their hyperthermic properties. In this range, the nanoparticles are close to the critical limit between mono and multi-domain magnetics intensifying Néel relaxation processes that positively reflect on the efficiency of magnetic energy in thermal. An evaluation of several synthesis parameters was carried out in this work, such as: reagents order of addition, time and type of agitation (mechanical or magnetic), adjustment of the complex injection time in the alkaline medium and initial acidity of the medium. The study allowed to expand the knowledge of the synthesis route and identify factors that govern the hydrolysis and condensation steps and can be adjusted to allow increasing the average size of nanoparticles. The different steps and products were characterized by X-ray diffractometry, Fourier transform infrared spectroscopy and transmission electron microscopy. Some samples were also analyzed by dynamic light scattering (zeta potential and hydrodynamic size) and magnetic hyperthermia measurements. Our results showed that the iron-sulfite complex must be previously formed and be yellow before the addition in alkaline medium or the addition of base. The yellow color identifies that the $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ redox process has been completed. The type of magnetic stirring does not interfere with the reaction product, but it should be used only in the initial nucleation step to avoid oxidation of the nanoparticles during the aging period (24h/90°C). Additionally, multiple injections of the complex into the reaction medium during the aging period resulted in high polydispersity due to simultaneous nucleation and growth processes during synthesis. Although it was not possible to increase the average size of the nanoparticles, a sample synthesized by previously diluting the complex in water with controlled addition of the base proved to be very promising in this regard. The particles had a size of the order of 30 nm, but with different shapes, high polydispersity and formation of goethite together with the magnetite phase. This effect was attributed to the low initial acidity of the medium due to dilution and the parameters should be adjusted in future studies, allowing to increase the size of the nanoparticles in a controlled way, their colloidal stability and intensify the magnetohyperthermia values.

Keywords: Synthesis. Magnetite. Magnetic nanoparticles. Magnetic hyperthermia. Cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Escala comparativa de dimensões entre 0,1 nm e 100 µm **18**

Figura 2 – Comparação entre partículas em a) macro escala e b) nanoescala **20**

Figura 3 - Representação esquemática de substâncias ferromagnéticas **23**

Figura 4 – Representação esquemática de substâncias antiferromagnéticas **24**

Figura 5 – Representação esquemática de substâncias ferrimagnéticas **24**

Figura 6 – Estrutura espinélio cúbica de face centrada do óxido magnetita **27**

Figura 7 – Estágios da carcinogênese **30**

Figura 8 – Atuação de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro em terapia de hipertermia magnética. Em a) um paciente com tumor cerebral maligno sendo submetido à terapia por hipertermia magnética, em vermelho o campo magnético alternado; em b) as nanopartículas localizadas na região tumoral sendo aquecidas (ondas em vermelho) e em c) a apoptose celular ocorrendo em decorrência da relaxação de Néel e movimento browniano das partículas sob a hipertermia magnética **32**

Figura 9 – Representação de paredes de domínio e domínio magnético. Em a) representação esquemática de domínios em um material ferromagnético ou ferrimagnético; setas representam dipolos atômicos magnéticos. Dentro de cada domínio, todos os dipolos são alinhados, enquanto a direção do alinhamento varia de um domínio para outro; em b) mudança gradual na orientação magnética do dipolo através de uma parede de domínio e em c) curva de coercividade intrínseca de uma NPSPM **35**

Figura 10 – Representação esquemática da magnetização e suas etapas. Em a) curva de histerese evidenciando magnetização de saturação, remanência e coercividade em função de H; em b) curva de magnetização inicial **36**

Figura 11 – Representação esquemática de diâmetro em função de campo magnético externo em estruturas mono e multidomínios magnéticos e superparamagnéticas. . **37**

Figura 12 – Representação dos fenômenos de relaxação que ocorrem em materiais ferromagnéticos a) relaxação de Néel e b) relaxação de Brown. **38**

Figura 13 – Nanopartículas de óxido de ferro sintetizadas por a) co-precipitação, b) decomposição térmica, c) microemulsão e d) via hidrotérmica e e) redução-precipitação **40**

Figura 14 – Aparato experimental utilizado na síntese de NPSPM **43**

Figura 15 – Variação da energia de Gibbs (ΔG) da goethita, hematita e magnetita **53**

Figura 16 – Difratogramas de raios X e Espectros FTIR do estudo da variação da ordem de adição na síntese de NPSPM..... **55**

Figura 17 – Microscopia eletrônica e histograma da amostra AM_SFH **59**

Figura 18 – Difratograma de raios X e Espectro FTIR da amostra AM_FRA1 ..... **61**

Figura 19 – Microscopia eletrônica e histograma da amostra AM_FRA1..... **62**

Figura 20 – Difratometria de raios X para as amostras AM_FRA2 e AM_FRA3 ..... **63**

Figura 21 – Microscopia eletrônica e histograma da amostra AM_FRA3..... **63**

Figura 22 – a) Espectro FTIR e b) difratograma de raios X e da amostra AM_T30. ..... **65**

Figura 23 – Microscopia eletrônica da amostra AM_T30 ..... **66**

Figura 24 – Difratograma de raios X das amostras AM_MAG e AM_MEC **67**

Figura 25 – Em a) espectro infravermelho das amostras AM_MAG e b) AM_MEC **68**

Figura 26 – Microscopia eletrônica das amostras AM_MAG e AM_MEC **69**

Figura 27 – Em a) difratograma de raio X, b) espectro infravermelho, c) microscopia eletrônica da nucleação em estágio inicial e d) microscopia eletrônica do produto final da amostra AM_MEC24H **70**

Figura 28 – Microscopia eletrônica de transmissão e histograma de tamanho de partículas para as amostras a) e b) AM_MAG e c) e d) AM_MEC. Em e), imagem TEM de uma alíquota da amostra AM_MEC retirada logo após a precipitação e antes do tempo de envelhecimento..... **72**

Figura 29 – Difratograma de raios X e espectro infravermelho da amostra AM_HIDROLISE **74**

Figura 30 – Difratograma de raios X e espectros infravermelho das amostras AM_VA e AM_A **76**

Figura 31 – Difratograma de raios X e espectro infravermelho das amostras AM_DUPLA1 e AM_DUPLA2..... **77**

Figura 32 – Microscopia eletrônica e histograma da amostra AM_DUPLA1 ..... **78**

Figura 33 – Difratograma de raios X e espectro FTIR da amostra AM_CITRATO **79**

Figura 34 – Microscopia eletrônica e histograma da amostra AM_CITRATO **80**

Figura 35 – Em a) difratograma de raios X b) e espectros FTIR das amostras AM_FSH_1, AM_FSH_2, AM_FSH_3 e AM_FSH_4V **81**

Figura 36 – Microscopia eletrônica e histograma das amostras AM_FSH_1, AM_FSH_2, AM_FSH_3 e AM_FSH_4V **84**

Figura 37 - Hipertermia magnética das amostras AM_FSH_1, AM_FSH_2, AM_FSH_3 e AM_FSH_4V em 600 segundos, medida em campo magnético alternado e frequência de 24 mT e 109,6 kHz **85**

Figura 38 – Potencial Zeta e mobilidade eletroforética da amostra AM_FSH_4V **87**

Figura 39 – DLS em pH 8 a) e pH 6 b) da amostra AM_FSH_4V **89**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades magnéticas de alguns óxidos de ferro **26**

Tabela 2 – Relação de métodos de síntese de óxidos de ferro..... **39**

Tabela 3 – Síntese de dados obtidos acerca das amostras discutidas **90**

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DC	Diâmetro crítico
SPM	Superparamagnético
HM	Hipertermia magnética
DNA	Ácido desoxirribonucleico
INCA	Instituto Nacional de Câncer
SAR	Taxa de absorção específica
SD	Monodomínio magnético
MD	Multidomínio magnético
pH	Potencial hidrogeniônico
NPSPM	Nanopartícula superparamagnética
SUS	Sistema Único de Saúde
N_2	Nitrogênio
Ar	Argônio
DRX	Difratometria de raio X
FTIR	Espectroscopia vibracional no infravermelho com Transformada de Fourier
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão
PDI	Índice de polidispersividade
JCPDS	*Joint Committee of Power Diffraction Standards*
SLP	Taxa de perda intrínseca
IEP	Ponto isoelétrico
ΔG	Variação de Energia de Gibbs
ΔH	Variação de Entalpia
τ	Tamanho médio de cristalito

SUMÁRIO

CONSIDERAÇÕES INICIAIS **16**

1 INTRODUÇÃO **17**

1.1 NANOTECNOLOGIA APLICADA À BIOMEDICINA **17**
1.2 MAGNETISMO EM MACROESCALA E NANOESCALA **18**
1.2.1 Tipos de magnetismo 21
1.2.1.1 Magnetismo atômico 21
1.2.1.2 Diamagnetismo 21
1.2.1.3 Paramagnetismo 22
1.2.1.4 Ferromagnetismo 23
1.2.1.4.1 *Antiferromagnetismo* 23
1.2.1.4.2 *Ferrimagnetismo* 24
1.2.1.4.3 *Superparamagnetismo* 25
1.3 COMPORTAMENTO MAGNÉTICO DOS PRINCIPAIS DE ÓXIDOS DE FERRO APLICADOS EM BIOMEDICINA **25**
1.3.1 Magnetita 26
1.3.2 Maghemita 28
1.4 TRATAMENTO DE CÂNCER POR HIPERTERMIA MAGNÉTICA (HM) **28**
1.4.1 Câncer 28
1.4.2 Hipertermia magnética 31
1.4.3 Campo Magnético Alternado (CMA) 33
1.4.4 Estados mono e multidomínios magnéticos 34
1.4.5 Magnetização e laços de histerese magnética 36
1.4.6 Relaxação de Néel e Brown 37
1.5 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO **38**
1.6 JUSTIFICATIVA DE PESQUISA **41**

2 OBJETIVOS **42**

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL **43**

3.1 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS SUPERPARAMAGNÉTICAS DE ÓXIDO DE FERRO **43**
3.2 VARIAÇÃO DE PARÂMETROS DE SÍNTESE **45**
3.3 CARACTERIZAÇÃO **49**
3.2.1 Difratrometria de raios X (DRX) 49
3.2.2 Espectroscopia vibracional no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) 50
3.2.3 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) 50
3.2.4 Medidas de Estabilidade Coloidal – DLS/Potencial Zeta 51
3.2.5 Hipertermia Magnética (HM) 51

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES 53

4.1 ORDEM DE ADIÇÃO 53
4.2 NATUREZA DAS VIDRARIAS 59
4.3 TEMPERATURA 64
4.4 TIPO DE AGITAÇÃO 66
4.5 CONTROLE NOS PROCESSOS DE REAÇÃO 73
4.5.1 Hidrólise 73
4.5.2 Intervalo (preparação-injeção) do complexo ferro-sulfito 74
4.5.3 Dupla injeção do complexo ferro-sulfito 76
4.5.4 Adição de citrato de sódio 79
4.6 ADIÇÃO DE ÁLCALI GRADATIVA AO SISTEMA 80

5 CONCLUSÕES 91

6 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS 93

REFERÊNCIAS 94

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O trabalho proposto está baseado em uma nova metodologia de síntese de nanopartículas de magnetita com tamanho controlado em meio aquoso que foi recentemente publicada pelo grupo de pesquisa. A metodologia leva à formação de sistemas quase-monodispersos com partículas esféricas facetadas e tamanho médio de 12 nm. O intuito do presente trabalho foi estudar variações de parâmetros de síntese para promover o aumento do tamanho médio das nanopartículas entre 20-25 nm, mantendo o seu caráter de baixa polidispersão. Não há dúvidas de que o estudo avançou neste sentido, indicando algumas frentes que devem ser exploradas para a sua continuidade.

É necessário ressaltar, no entanto, que a execução do trabalho foi fortemente afetada pela pandemia SARS-Cov-2 (ou simplesmente Covid-19), fato este que refletiu nos resultados esperados. A pós-graduanda Maria Eduarda iniciou o seu mestrado com sua matrícula do dia 20 de fevereiro de 2020. No dia 17 de março de 2020, cerca de um mês após o início de suas atividades, foi decretada a suspensão das atividades presenciais (ensino, pesquisa e trabalho administrativo) das Universidades Paulistas por questões de segurança frente ao avanço dos casos de Covid-19 no Estado e em todo o país. Durante cerca de um ano, praticamente não se pôde realizar nenhuma atividade nos laboratórios de pesquisa. Com certa diminuição de casos, um ano após a suspensão das atividades, houve algumas flexibilizações possibilitando um retorno gradual e controlado das atividades presenciais nos laboratórios. Ainda assim, diversas análises e caracterizações continuaram prejudicadas em detrimento da ausência ou rodízio de técnicos responsáveis pelos equipamentos.

Em certa extensão, basicamente a totalidade do trabalho foi realizada durante os diversos estágios da pandemia, com suas restrições e flexibilizações. Certamente, um conjunto maior de resultados e conclusões poderiam ser esperados num período dito “normal” para o desenvolvimento. A pós-graduanda se desdobrou, assim como acreditamos que muitos alunos de pós-graduação o fizeram mundo afora, para conseguir resultados e compilá-los de maneira a chegar à redação desta dissertação.

1 INTRODUÇÃO

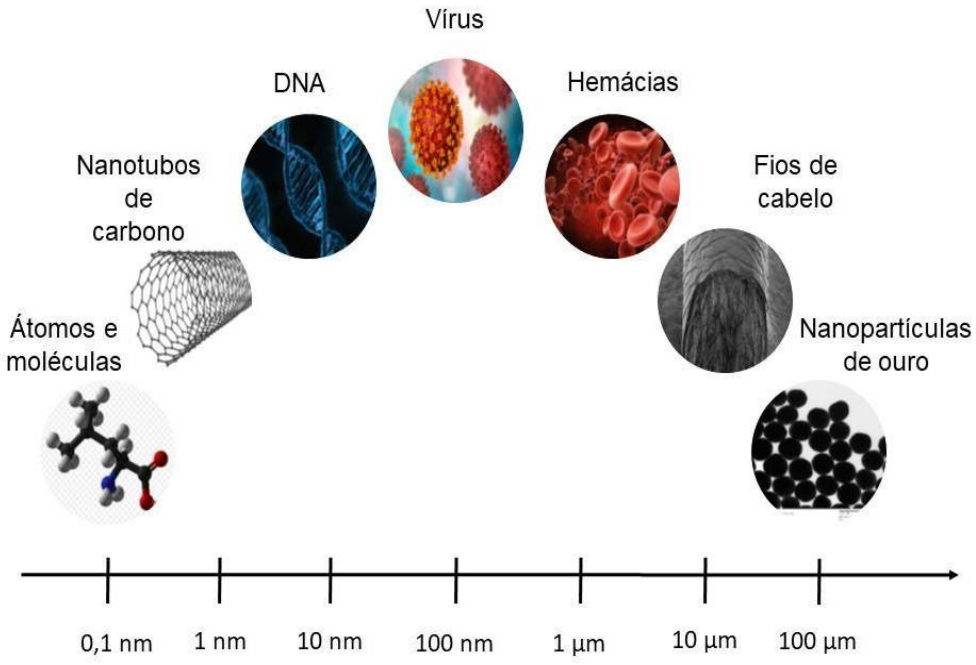
1.1 Nanotecnologia aplicada à biomedicina

O termo nanotecnologia foi reportado pela primeira vez em 1974, quando um engenheiro japonês o apresentou tratando-se a respeito da translação de átomos, nanomáquinas que atuariam como cirurgiões minúsculos e a possibilidade de gravar uma enciclopédia na cabeça de um alfinete. Apesar de representar um conceito em desenvolvimento, a nanociência, ramo da ciência que estuda a nanotecnologia, já havia sido idealizado por Richard Feynman e seus parceiros nas investigações do desastre do *Space Shuttle Challenger*, em 1959. Mais anteriormente, em 1875, cientistas descobriram o ouro coloidal (nanoestruturado), chamado de “rubi” devido à coloração diferenciada em relação ao ouro não coloidal.[1]

Embora pareça uma invenção humana, sistemas nanométricos sempre existiram na natureza. Após sua fundamentação como um ramo da ciência, ficou definido que um material nanométrico deve se encontrar na faixa de tamanho entre 1 e 100 nm, e para tanto, estando ao menos um de seus componentes no intervalo estabelecido, o sistema pode ser considerado um nanomaterial.[2] A **Figura 1** apresenta uma escala comparativa de dimensões entre espécies típicas e materiais nanométricos.

A biomedicina tem avançado em técnicas e terapias que se baseiam na utilização da nanotecnologia, como a terapia gênica, na introdução de DNA (ácido desoxirribonucleico) em células por endocitose, preservação do ácido nucleico,[3] detecção e tratamento de câncer de mama,[4] desenvolvimento neural por nanocompatibilidade,[5] tratamento de leucemia mielóide crônica através de nanocapsulas de curcumina,[6] produção de máscaras faciais contra diversos agentes patogênicos[7] e tantas outras aplicações.

Figura 1 - Escala comparativa de dimensões entre 0,1 nm e 100 µm



Fonte: Autoria própria.

1.2 Magnetismo em macroescala e nanoescala

O conceito de magnetismo surge historicamente em localizações variadas, como em registros chineses utilizado pelo imperador Huang-ti para indicar a direção Sul na famosa “carruagem do sul” (*tchi-nan*), em 2637 aC. Ou ainda, como observado pelo filósofo e cientista Tales de Mileto no século VI aC, que registrou em seus estudos uma pedra, denominada Magnésia (atualmente conhecida como magnetita), capaz de movimentar peças de ferro.[8]

Ao magnetismo pode-se atribuir a definição de propriedade de materiais que são atraídos ou repelidos por um campo magnético aplicado. Os estudos da área foram desenvolvidos entre os conceitos de eletricidade e magnetismo por nomes como Hans Christian Oersted (1819), André-Marie Ampère (1820), Jean-Baptiste Biot e Félix Savart (1821), Michael Faraday (1831) e James Clerk Maxwell, que sintetizou as relações obtidas nas conhecidas Equações de Maxwell, que levam em consideração eletricidade, magnetismo e ótica no campo do eletromagnetismo.[9]

O efeito magnético é caracterizado pelo surgimento a partir de duas formas distintas: por cargas elétricas em movimento (correntes elétricas) que criam campos magnéticos de acordo com a lei de Biot-Savart (**Equação 1**)[10] ou por momentos magnéticos intrínsecos das partículas (spins) previstos por Ampère.[9] A conhecida lei de Biot-Savart representa o campo magnético gerado em um ponto qualquer em um fio, que dista r_{12} do elemento gerador da corrente; 12r é um vetor unitário, μ_0 é a permeabilidade magnética do meio e $i_1 d\overrightarrow{l_1}$ é o elemento de corrente do fio.[10]

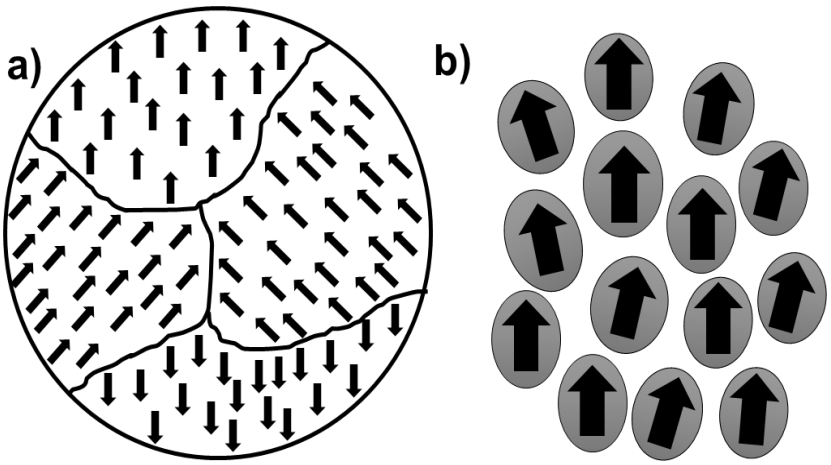
$$d\vec{B}(\vec{r}) = -\frac{\mu_0}{4\pi}\frac{1}{r_{12}^2}\,(i_1 d\overrightarrow{l_1}\; x\; \widehat{r_{12}}) \qquad (1)$$

Do ponto de vista clássico, a fonte que alimenta o fenômeno magnético é a movimentação angular orbital dos elétrons em torno de seu núcleo e o seu giro ao redor do próprio eixo (momento de dipolo magnético). Em macroescala, a grande quantidade de elétrons disposta em um material se distribui de forma que os momentos magnéticos (orbitais e intrínsecos) se excluam pelo Princípio de Exclusão de Pauli. Assim, a falta de magnetização em um material que apresenta elétrons desemparelhados pode ser explicada pela orientação aleatória dos momentos magnéticos de elétrons em um sólido. No entanto, os momentos magnéticos podem ser alinhados e atingir campo magnético total diferente de zero de maneira espontânea ou se submetidos à um campo magnético externo. O comportamento depende de diversos fatores, como temperatura, estrutura e configuração eletrônica do material. Neste sentido, os materiais magnéticos podem ser divididos quanto ao tipo de magnetismo, apresentados mais abaixo nesta seção.[9]

O magnetismo em macroescala difere do fenômeno em nanoescala pela maior proporção de átomos na superfície do material, os quais levam à quebra da simetria translacional, sítios com número de coordenação menor (ou incompletos) e dimensões divergentes entre nanopartículas magnéticas e monodomínios magnéticos.[2] Assim, conforme o tamanho da partícula decresce, grande parte dos átomos em uma nanopartícula são átomos de superfície, o que implica em efeitos de superfície e interface mais relevantes. Em decorrência da grande proporção de átomos de superfície e átomos do *bulk*, os *spins* de superfície têm importante

contribuição na magnetização do material. Conforme se observa na **Figura 2a**, um material em escala macro é classificado como multidomínio magnético, pois possui regiões (domínios) com magnetização dos átomos individuais numa mesma direção, sendo as regiões separadas por paredes de domínio. Já ao observar a **Figura 2b**, nota-se que as nanopartículas, quando assumem a forma superparamagnética, rompem com as paredes de domínio e tornam-se monodomínio magnético.[2]

Figura 2 – Comparação entre partículas em a) macro escala e b) nanoescala



Fonte: Autoria própria.

De maneira geral, quando as nanopartículas se encontram no intervalo de tamanho abaixo de um diâmetro crítico (D_c), o comportamento superparamagnético é ressaltado. Esse valor é característico de cada material, para a magnetita encontra-se ao redor de 20 nm. Nesse intervalo de tamanho e regime magnético, cada nanopartícula comporta-se como um átomo paramagnético gigante que apresenta grande momento magnético, de forma a responder ao campo magnético aplicado rapidamente, com remanência (magnetismo residual) e coercividade (campo necessário para tornar a magnetização nula) desprezíveis.[11] Propriamente por tais características, as nanopartículas superparamagnéticas são atrativas à áreas como a biomedicina, pois, em temperatura ambiente, o risco de formação de aglomerados por força de atração magnética é minimizado.[11] Outras características também contribuem para essa estabilidade, como uniformidade de tamanho e forma e, por consequência, baixo índice de polidispersividade, apresenta-se mais eficaz. Isso se

deve à minimização de efeitos cooperativos entre partículas maiores (multidomínios) ou com anisotropia magnética de forma (magnetização direcional) em contribuir para a formação de agregados.[12]

1.2.1 Tipos de magnetismo

1.2.1.1 Magnetismo atômico

Todos os materiais são magnéticos, fenômeno conhecido por *Magnetismo atômico*, no entanto, alguns são mais que outros. A principal diferença reside no fato de que em uma parcela de substâncias não há interação coletiva entre os momentos magnéticos atômicos, já em outra porção de substâncias a interação é muito forte.[9] Em átomos individuais ou íons, há apenas dois comportamentos magnéticos possíveis: (i) diamagnetismo, apresentando magnetização nula ou fracamente negativa na presença de campo magnético externo devido ao emparelhamento dos elétrons e (ii) paramagnetismo, com momento magnético resultando e não nulo devido aos elétrons desemparelhados. Nos materiais, quer sejam massivosnanométricos, além desses dois comportamentos, podem surgir outros devido aos efeitos cooperativos.[9]

1.2.1.2 Diamagnetismo

Diamagnetismo é uma propriedade básica de todas as substâncias e apresenta uma pequena repulsão a um campo magnético. A suscetibilidade magnética (χ_M) representa o grau de magnetização de um material correspondente ao campo externo aplicado. Para materiais diamagnéticos esse valor é pequeno (da ordem de -10^{-6}), negativo e independe da temperatura.[12]

1.2.1.3 Paramagnetismo

Já o *paramagnetismo* representa o oposto, uma forte atração por campos magnéticos. Substâncias paramagnéticas possuem elétrons desemparelhados que estão organizados de maneira aleatória em cada átomo.[13] Assim, quando há a aplicação de um campo magnético ocorre o alinhamento parcial dos elétrons ao campo, apresentando, portanto, um valor de χ_M positivo e pequeno (de 0 a 0,01), que varia com a temperatura de acordo com a Lei de Curie-Weiss (**Equação 2**).[12]

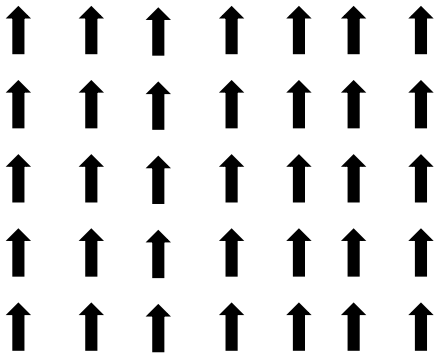
$$\chi_M = \frac{C_M}{T - T_C} \qquad (2)$$

A dependência de χ_M resulta de dois fatores principais: 1) conforme a temperatura aumenta, o alinhamento do momento magnético se opõe às vibrações térmicas de alta intensidade, diminuindo o valor de χ_M; por outros lado, 2) abaixo de uma certa temperatura crítica (chamada de temperatura de Néel e de Curie, de acordo com o tipo de efeito cooperativo, ferri- ou ferromagnetismo, respectivamente) que depende unicamente do material, materiais magnéticos passam por uma transição de estados entre ordem e desordem dos momentos magnéticos.[12] Abaixo da temperatura crítica os momentos permanecem ordenados e efeitos cooperativos entre os átomos ou domínios magnéticos levam a diferentes comportamentos no material: *ferromagnetismo, antiferromagnetismo e ferrimagnetismo.* Acima da temperatura crítica, a energia térmica supera os acoplamentos magnéticos e o material apresenta comportamento paramagnético (sem momento magnético resultante). As substâncias que sofrem transição descrita pela lei de Curie, possuem temperatura de Curie (T_C) e são denominadas ferromagnéticas ou ferrimagnéticas, já as que sofrem seguem a lei de Néel, apresentam a temperatura de Néel (T_N) sendo denominadas antiferromagnéticas.[14–16]

1.2.1.4 Ferromagnetismo

Substâncias ferromagnéticas possuem alinhamento paralelo dos momentos magnéticos de átomos individuais (**Figura 3**). Assim, possuem momento magnético líquido total diferente de zero e elevadas permeabilidade e suscetibilidade magnéticas (χ_M de 0,01 a 10^6).[12] São fortemente atraídas por campos magnéticos, pois possuem átomos com elétrons desemparelhados com momento resultante de interação entre átomos vizinhos alinhados parcialmente mesmo na ausência de campo aplicado (imãs permamentes). Com o aumento da temperatura, o arranjo ordenado diminui devido as flutuações térmicas dos momentos magnéticos individuais e χ_M diminui rapidamente.[14,15]

Figura 3 - Representação esquemática de substâncias ferromagnéticas

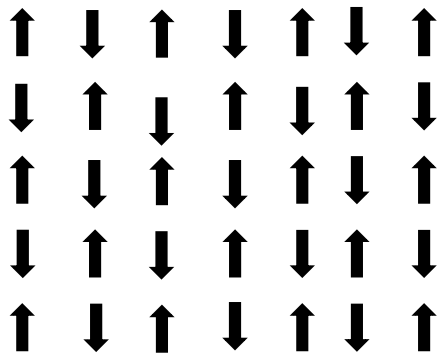


Fonte: Autoria própria.

1.2.1.4.1Antiferromagnetismo

As substâncias ferrimagnéticas ocorrem pelo acoplamento de momentos magnéticos entre átomos ou íons adjacentes. Apresentam momento magnético praticamente nulo devido à disposição antiparalela do momento magnético de átomos individuais (**Figura 4**).[15] Além de apresentarem momento magnético total próximo a zero, também possuem permeabilidade e suscetibilidade positivas (χ_M entre 0 e 0,1).[12] O aumento da temperatura aumenta χ_M, pois o ordenamento antiparalelo é interrompido.

Figura 4 – Representação esquemática de substâncias antiferromagnéticas

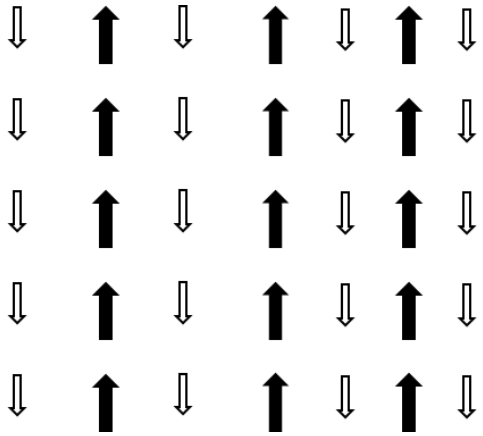


Fonte: Autoria própria.

1.2.1.4.2Ferrimagnetismo

As substâncias ferrimagnéticas ocorrem pelo cancelamento incompleto de spins no momento líquido do sistema.[15] Esse acoplamento é constituído de ao menos duas sub-redes que se interpenetram, apresentando alinhamento de spins antiparalelos, como no antiferromagnetismo. A diferença consiste nos momentos desiguais, desencadeando um momento magnético líquido diferente de zero (**Figura 5**).[13] Características de materiais ferromagnéticos e ferrimagnéticos em sólidos estendidos são similares, sendo o que os diferencia a fonte dos momentos magnéticos. Os princípios do ferrimagnetismo podem ser delineados por ferritas cúbicas em que um momento magnético líquido de spin é atribuído para cada íon, sendo os íons magneticamente neutros.[15]

Figura 5 – Representação esquemática de substâncias ferrimagnéticas



Fonte: Autoria própria.

1.2.1.4.3Superparamagnetismo

Quando partículas se encontram abaixo do diâmetro crítico, aquelas com momento magnético independente (não interagente) constituem os chamados sistemas superparamagnéticos (SPM), que são caracterizados pela instabilidade na magnetização em função das intensas agitações térmicas presentes.[17] Em partículas SPM, a energia térmica supera a energia de acoplamento magnético entre os momentos de átomos individuais, alinhando os momentos de maneira aleatória. Da mesma forma, a coercividade é nula devido aos efeitos térmicos.[14]

Assim, o superparamagnetismo é uma consequência da anisotropia magnética, como por exemplo a existência de preferência nas direções cristalográficas, ao longo das quais os momentos magnéticos de átomos individuais encontram-se bem alinhados e a substância pode ser magnetizada com muita facilidade.[14] Tal direção é específica para cada material ao longo de um eixo cristalográfico ou conjunto de eixos, isto é, preferência da direção é singular, como no caso da magnetita, em que a magnetização é facilitada ao longo do eixo cristalográfico [111]. O magnetismo ainda pode ser revertido caso a quantidade de energia fornecida tenha sido suficiente. O tempo requerido para a reversão do momento magnético, denominado tempo de relaxação (τ) dependem da altura da barreira de energia entre os estados de spin direto e reverso, enquanto a dependência com a temperatura pode ser descrita pela **Equação 3**:[12]

$$T \propto \frac{K_{eff} \cdot V}{kT} \qquad (3)$$

1.3 Comportamento magnético dos principais de óxidos de ferro aplicados em biomedicina

A interação de troca eletrostática é a principal responsável pela interação no comportamento magnético dos óxidos de ferro que ocorrem entre íons Fe em sítios adjacentes nos sólidos. Ela permite o alinhamento dos momentos magnéticos de maneira paralela ou antiparalela. Em óxidos de ferro, os íons Fe^{3+} encontram-se circundados por íons O^{2-} ou OH^{-}, assim, a reação de troca se direciona através da atuação de ligantes, processo conhecido por super-troca. Os elétrons emparelhados dos orbitais e_g em íons Fe^{3+} interagem com os elétrons do orbital p do O^{2-}, se

acoplando magneticamente. Estando o cátion e o ligante próximos o bastante para permitir o acoplamento de seus elétrons, ocorre a percolação – efeito de acoplamento de cadeia que passa através do cristal.[11,12]

As propriedades magnéticas deste tipo de material são estabelecidas por Espectroscopia Mössbauer, Difração de Pó de Nêutrons e Magnetometria, sendo os parâmetros de análise o momento magnético, permeabilidade, saturação de magnetização e constante de anisotropia magnética. A **Tabela 1** indica os valores de referência obtidos pela literatura para a magnetita, maghemita, hematita, goethita e ferridrita.[12]

Tabela 1 – Propriedades magnéticas de alguns óxidos de ferro

Óxido	Temperatura§ K	Estrutura magnética	Saturação de magnetização σ_s em 300 K $Am^2 kg^{-1}$$	Constante anisotrópica K_{eff} Jm^{-3}	Constante de Magneto-restrição λ
Magnetita	850 T_C 120 Verwey transition	ferrimagnética	92-100	10^4 - 10^5	35.10^{-6}
Maghemita	820-986 T_C	ferrimagnética	60-80	10^5	35.10^{-6}
Hematita	956 T_C 260 T_M	fracamente ferromagnética antiferromagnética	0,3	1^{-6}. 10^4	8.10^{-6}
Goethita	400T_N	antiferromagnética	0,01-1	10^3	-

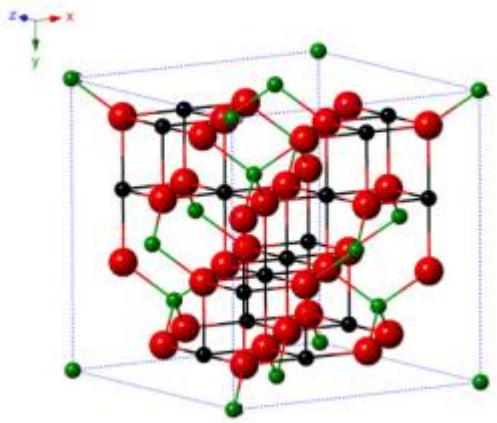
* §T_N: temperatura de Néel; T_C: temperatura de Curie; T_M: temperatura de transição de Morin
Fonte: Adaptado de Cornell; Schwertmann (2003).[12]

1.3.1 Magnetita

A magnetita (Fe_3O_4) é ferrimagnética em temperatura ambiente com uma temperatura de Curie de 850 K. Os dois diferentes sítios catiônicos da estrutura (tetraedro A ocupado por Fe^{3+} e octaedro B ocupado por Fe^{2+} e Fe^{3+}) formam as bases para diferentes sub-redes magnéticas interpenetrantes. Abaixo de T_c, os momentos magnéticos nos sítios A e B são antiparalelos e suas magnitudes diferentes, o que gera o ferrimagnetismo. Além disso, possui estrutura espinélio inverso, podendo ser nomeada de óxido de ferro preto, minério de ferro magnético, óxido de ferro II e III, pedra-imã, triferro tetróxido, ferridrita de ferro e até Pedra de Hércules.[11,14,17,18]

O arranjo dos spins é descrito como Fe^{3+} $[Fe^{3+}$ $Fe^{2+}]O_4$, onde os colchetes são utilizados para nomear os sítios octaédricos na estrutura. O principal tipo de interação é o acoplamento antiferromagnético que ocorre por FeA-O-FeB e se apresenta mais fortemente do que o acoplamento nos sítios octaédricos. Nos últimos sítios, os elétrons são deslocalizados de maneira térmica nos íons Fe^{2+} e Fe^{3+}, tornando a condutividade alta. Magnetita possui empacotamento cúbico de face centrada (**Figura 6**) e unidade celular com 32 íons O^{2-} regularmente empacotados ao longo de da direção [111].[11,14,17–20]

Figura 6 – Estrutura espinélio cúbica de face centrada do óxido magnetita



Fonte: Wu et al. (2015).[13]

A direção preferencial de magnetização ocorre ao longo das 8 diagonais do cubo relativas à família dos planos (111). Partículas de magnetita menores que 6 nm são superparamagnéticas à temperatura ambiente. Quando o tamanho das partículas e a distribuição de tamanho dos cristais são semelhantes, a morfologia do cristal afeta a coercividade na seguinte ordem: esferas < cubos < octaedros, de acordo com o aumento do número de eixos magnéticos ao longo da ordem apresentada. Controlar as condições de precipitação, e por consequência, tamanho e forma das partículas, permite obter sistemas com valores de coercividade variando entre 2,4 e 2,0 ± 1 KAm. Frequentemente, a magnetita não estequiométrica é obtida, indicando haver deficiência de sub-redes de Fe^{3+}. Em magnetitas estequiométricas, a razão Fe^{2+}/Fe^{3+} é igual a 0,5.[12,14]

1.3.2 Maghemita

A maghemita (γ-Fe_2O_3) é um óxido ferrimagnético à temperatura ambiente. A medida de T_C é dificultada pois maghemita torna-se hematita em temperaturas acima de 7-800 K, podendo se encontrar entre 820 e 986 K. A estrutura magnética é constituída de duas sub-redes em que íons Fe(III) localizam-se em sítios tetraédricos (A) e octaédricos (B). Os momentos atômicos em cada sub-rede são classificados como paralelos, mas aqueles de duas sub-redes são antiparalelos. Partículas de tamanho menor que 10 nm são superparamagnéticas em temperatura ambiente. O acoplamento magnético é influenciado pela extensão da agregação, por exemplo, partículas ultrafinas de maghemita podem levar à agregação de partículas por acoplamento magnético.[12]

Efeitos de superfície e interfaciais podem afetar as propriedades magnéticas de partículas ultrafinas de maghemita. A coordenação incompleta dos átomos na superfície pode configurar os spins de maneira não colinear, o que reduz a magnetização de partículas pequenas (anisotropia de superfície). Quanto à magnetização de saturação específica, pode-se observar uma diminuição linear conforme se aumenta a área de superfície específica, que também é influenciada pela morfologia do sistema.[16,21]

1.4 Tratamento de câncer por Hipertermia Magnética (HM)

1.4.1 Câncer

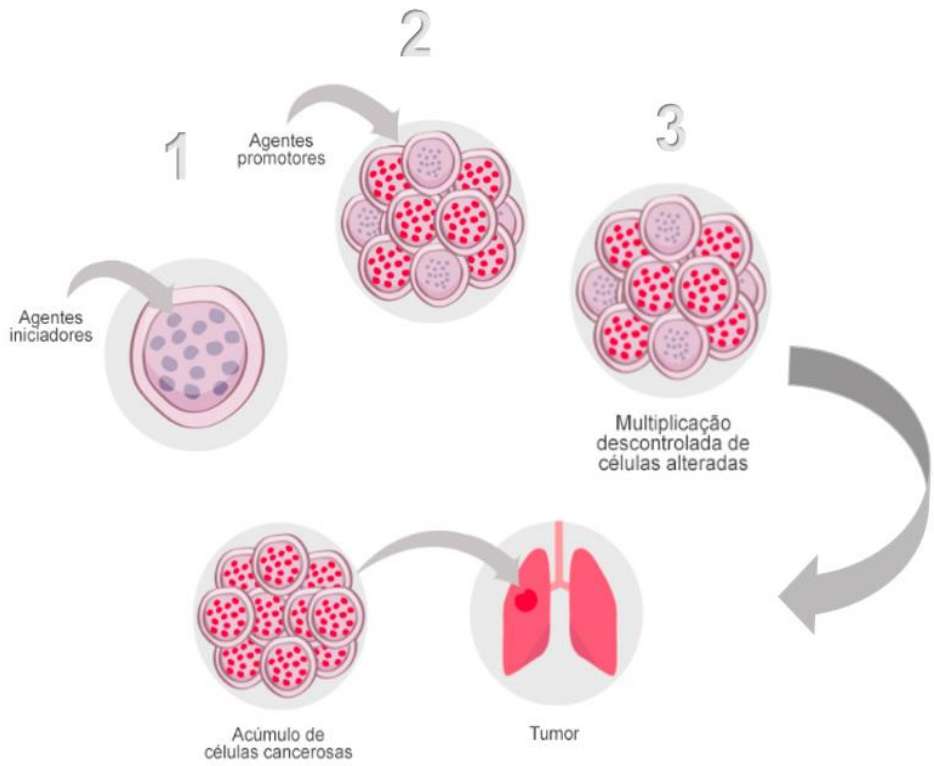
Câncer é considerado como um conjunto de doenças caracterizadas pelo crescimento randômico e contínuo de células que sofreram mutação genética. Tal mutação é compreendida como células que apresentam alteração em seu DNA de forma que as instruções de replicação são recebidas de maneira errônea. Células animais são constituídas por membrana celular (parte externa), citoplasma (interior da célula) e o núcleo (contendo cromossomos que são compostos por genes). Os genes representam uma base de dados que guarda e fornece instruções para a organização das estruturas, atividade e formas celulares dos organismos vivos. A informação genética de cada animal encontra-se nos genes, em uma memória química, o DNA, que transmite aos cromossomos o que fazer para manter o funcionamento celular.[22]

A formação do câncer é um processo conhecido por carcinogênese ou oncogênese, podendo ocorrer de forma lenta ou não, ou seja, uma célula cancerosa pode se proliferar durante vários anos até que um tumor seja visível. Casos de câncer associados a fatores hereditários representam cerca de 5 a 10% de todos os casos reportados, tornando a hereditariedade menos comum do que hábitos relacionados ao desenvolvimento de células cancerosas. No entanto, para casos específicos, como o retinoblastoma (câncer de olho que atinge crianças), a predisposição genética é um fator de suma importância para prevenção, tratamento e diagnóstico.[22]

A carcinogênese é frequentemente oriunda de efeitos cumulativos de diferentes agentes cancerígenos, determinada principalmente pela exposição e frequência aos fatores de risco, além de interações entre estes fatores. No entanto, características individuais que facilitam ou dificultam a iniciação da oncogênese devem ser consideradas. Em geral, três estágios são necessários para o desenvolvimento de um câncer (**Figura 7**):[22]

- Estágio de iniciação: os genes são modificados pela ação de agentes cancerígenos iniciadores. Com as células inicialmente alteradas, ainda não há a possibilidade de se detectar um tumor, mas estão “iniciadas” para o próximo estágio, em que outro grupo de agentes irá atuar.
- Estágio de promoção: neste estágio, as células alteradas sofrem o efeito de agentes oncopromotores e são transformadas em células malignas de forma gradual e lenta. A exposição ao oncopromotor deve ser longa e contínua, se interrompida, o processo é desativado. Componentes alimentares e exposição excessiva a hormônios são fatores que podem transformar células que foram iniciadas em malignas.
- Estágio de progressão: este estágio é caracterizado pela multiplicação descontrolada e irreversível de células mutadas. O câncer se instalou e evoluiu ao aparecimento de manifestações clínicas. Os fatores que promovem a progressão são chamados de oncoaceleradores ou carcinógenos, como por exemplo o fumo, agente carcinógeno completo que atua nos três estágios da oncogênese.

Figura 7 – Estágios da carcinogênese



Fonte: Adaptado de INCA (2021).[22]

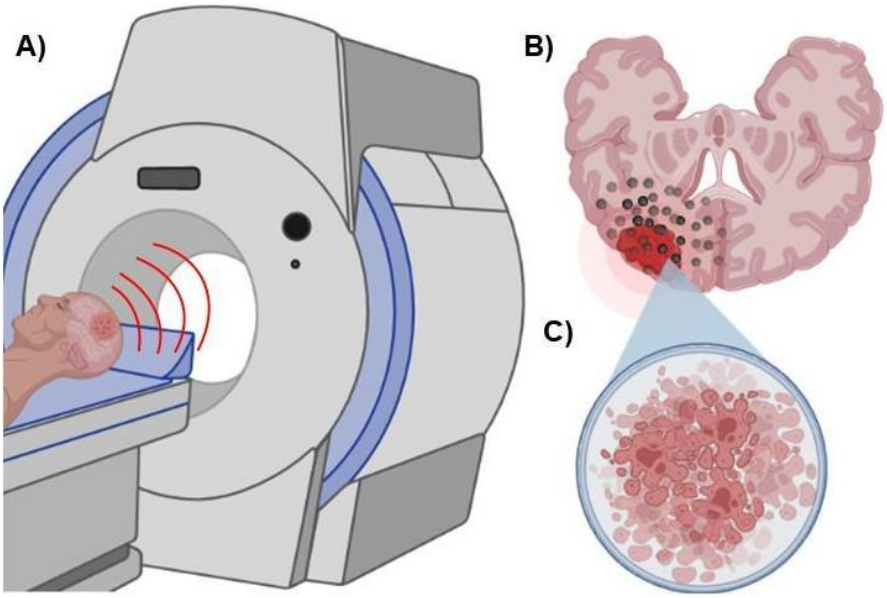
A doença é reconhecida como a segunda principal causa de morte em todo o mundo, tendo sido responsável por 9,6 milhões de mortes no ano de 2018. Em adição, aproximadamente 70% de mortes devidas ao câncer acontecem em países de renda baixa e média e cerca de um terço das mortes devem-se a cinco fatores de risco principais: alto índice de massa corpórea, baixo consumo de vegetais e frutas, ausência de atividade física e uso de álcool e tabaco. Em geral, países de baixa e média renda apresentam diagnóstico e tratamento tardios, além de inacessíveis à grande massa populacional. O impacto financeiro causado pelo câncer é cada vez maior, em 2010, o custo anual total foi de US$ 1,16 trilhão, tornando-se, portanto, um alvo de pesquisa para conduzir políticas públicas para o seu tratamento e diagnóstico.[23]

1.4.2 Hipertermia magnética

Na última década, a ampla utilização ou pesquisas conduzidas com óxidos de ferro em medicina é associada à técnica de hipertermia magnética em cânceres, através da aplicação do nanomaterial na região tumoral e utilizando energia térmica advinda de um campo magnético alternado que permite a destruição das células cancerosas apenas.[24]

O princípio da hipertermia é o aquecimento de células malignas em torno de 40 a 44°C, possibilitando a necrose, a apoptose celular ou aperfeiçoamento da suscetibilidade à quimio e radioterapia.[25] Deve ser ressaltado que comparativamente, células sadias apresentam maior resistência ao calor para iniciar os processos de apoptose celular (acima de 48°C), gerando certa seletividade ao tratamento magneto-térmico. O tratamento pode ser localizado, centrado em regiões ou ainda contemplar o corpo todo através de micro-ondas, radiofrequência, ultrassom, perfusão por água aquecida, infravermelho e laser.[19,26] A hipertermia magnética gera o aquecimento através de um campo magnético alternado aplicado externamente, o qual transforma a energia magnética devido à alternância do momento magnético e seus processos de relaxação em energia térmica (**Figura 8**).[19]

Figura 8 – Atuação de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro em terapia de hipertermia magnética. Em a) um paciente com tumor cerebral maligno sendo submetido à terapia por hipertermia magnética, em vermelho o campo magnético alternado; em b) as nanopartículas localizadas na região tumoral sendo aquecidas (ondas em vermelho) e em c) a apoptose celular ocorrendo em decorrência da relaxação de Néel e movimento browniano das partículas sob a hipertermia magnética



Fonte: Autoria própria.

A técnica apresenta vantagem por ser significativamente seletiva, menos invasiva, com alto poder de penetração e atingir apenas as células tumorais.[27] Células cancerosas são menos vascularizadas. No entanto, aspectos negativos permeiam a aplicação apenas em tumores que dificilmente seriam operados cirurgicamente, como por exemplo o glioblastoma – tumor maligno cerebral que representa uma das doenças mais devastadoras do sistema nervoso central.[20] A indução da morte celular programada através da hipertermia magnética por todo o corpo poderia causar pressão térmica no coração, dificultando aplicações integrais. Assim, a terapia tem sido mais indicada para tumores superficiais e localizados.[19,26]

Um dos grandes desafios enfrentado pela área de nanotecnologia aplicada à biomedicina é sintetizar nanomateriais que sejam entregues e permaneçam na localidade deseja, pois ao se deslocarem podem atingir células sadias e as levarem à desnaturação. Além disso, a toxicidade da terapia é um fator relevante, pois foram notados sintomas como eritemas, edemas faciais, ulceração, bolhas, queimaduras,[25] dores nas costas, cabeça e peito, prurido, choque anafilático, rachaduras cutâneas,

taquicardia e flutuações na pressão sanguínea, entre outros.[28] A biodegradação, excreção, estabilidade e solubilidade dos nanomateriais também têm sido avaliada por meio de nanodispersadores, podendo ser caracterizados como materiais com maior eficácia e menor toxicidade, sem produzir alterações celulares.[29]

Em termos de tratamento oncológico utilizando a nanotecnologia, uma grandeza avalia a intensidade de absorção calorífica das partículas-fármaco – SAR (*Specific Absorption Rate*, do inglês Taxa de Absorção Específica) - de forma a predizer qual delas terá melhor desempenho sob um campo magnético alternado com campo e frequência controlados. Nanopartículas com formas, tamanhos, composição química e estreita distribuição de tamanho bem definidos podem apresentar melhores resultados em hipertermia, possivelmente devido ao aquecimento rápido e homogêneo em resposta ao campo magnético alternado aplicado.[30] A **Equação 4** indica como o cálculo de SAR é realizado, em que C_p representa a capacidade calorífica da suspensão (para dispersões aquosas diluídas 4,184 $Jg^{-1}{}^{o}C^{-1}$), ΔT é a variação máxima de temperatura, a qual pode ser obtida pelo ajuste da equação de Lucas-Box (**Equação 5**) aos dados da curva experimental de aquecimento, e ρ é a concentração das nanopartículas em g mL^{-1}.[30]

$$SAR = \frac{C_p \, \Delta T}{\rho} \qquad (4)$$

A equação de Lucas-Box indica o valor da taxa de inclinação inicial ($dT/dt_{máx}$), assim, a curva de aquecimento dependente do tempo é desenvolvida pela equação que segue[30]:

$$\Delta T = \frac{S_m}{k}\left[1 - e^{-k(t-t0)}\right] \qquad (5)$$

1.4.3 Campo Magnético Alternado (CMA)

Nanopartículas superparamagnéticas possuem momentos magnéticos que não se cancelam, o que permite uma alta magnetização espontânea. Na terapia por hipertermia, o objetivo é reverter o momento magnético da partícula e permitir que os

processos de relaxação (Néel e Brown) e perda por histerese aqueçam o nanosistema e destruam as células-alvo através da aplicação de um campo magnético alternado.[31]

Um campo magnético alternado é capaz de produzir calor nas nanopartículas através da energia de conversão e então o calor é dissipado e atinge o objetivo desejado.[21] A alternância do campo aplicado permite que flutuações térmicas ocorram de uma posição de equilíbrio para outra, regidas pela Lei de Arrhenius (**Equação 6**):[32]

$$\tau = \tau_0 \, exp\left(\frac{E_a}{E_t}\right) = exp\left(\frac{KV}{k_B T}\right) \qquad (6)$$

A energia térmica (k_BT) tem sua magnitude comparável à energia de anisotropia da partícula (preferência da partícula em ser magnetizada em dada direção) (KV, em que K é a constante de anisotropia uniaxial efetiva e V o volume da nanopartícula), T a temperatura do sistema e k_B a constante de Boltzmann.[32]

Além disso, ao considerar um sistema monodisperso (tamanho de partícula uniforme) e estável, a taxa de tempo τ_0 ocorre em transições com um mínimo de energia, que caracteriza a frequência de tentativas de saltar a barreira de anisotropia. Assim, na transição entre dois estados de equilíbrio o sistema encontra-se superparamagnético, do contrário estará “bloqueado”, com momento magnético fixo.[32] Além disso, devido ao tamanho diminuto das partículas há a diminuição da energia de ativação (E_a), equilibrando a energia térmica (E_t) e resultando na relaxação superparamagnética.[33]

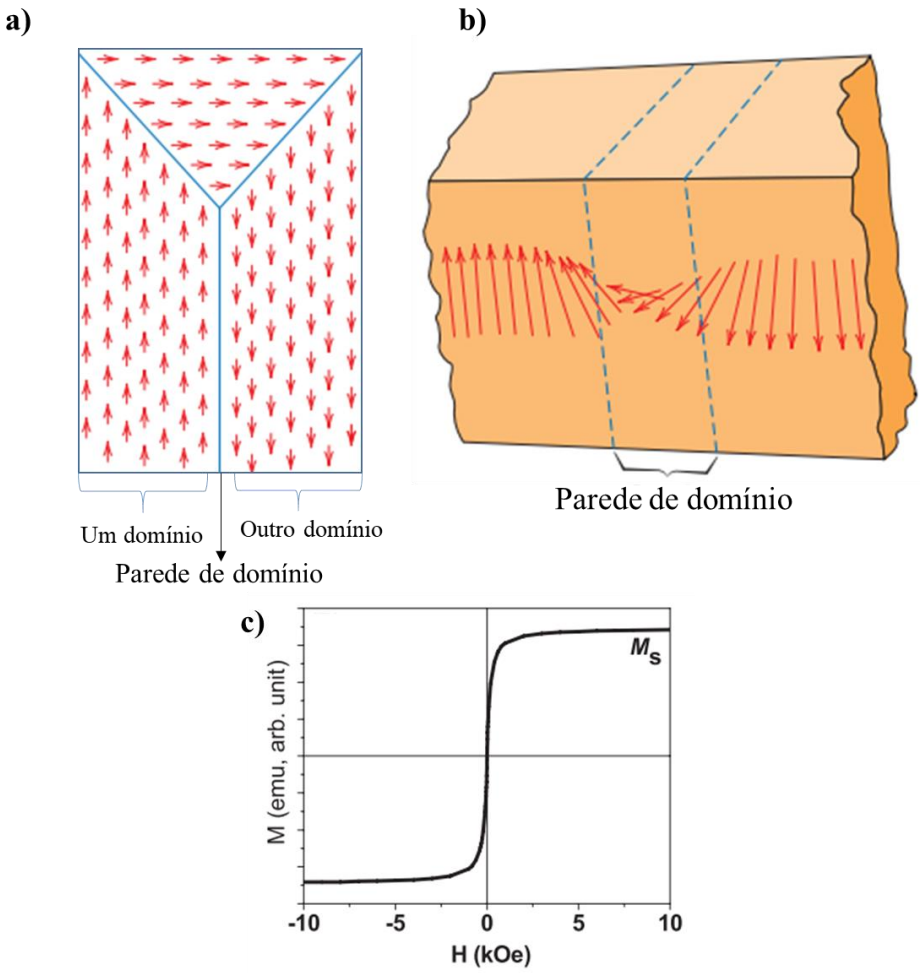
1.4.4 Estados mono e multidomínios magnéticos

Paredes de domínio fazem referência às interfaces entre regiões em que a magnetização possui direções diferentes, dentro delas a magnetização deve mudar de direção, de uma região cristalográfica para outra (**Figura 9**). A estrutura de domínios magnéticos de cristais cúbicos é mais complexa, devido aos três ou quatro eixos de direção possíveis.[14]

Ao reduzir o tamanho de materiais sólidos, em direção à nanoescala, as propriedades observadas serão diferenciadas, em decorrência do acoplamento magnético, da modificação dos domínios magnéticos e da estabilidade do material.

Assim, a consequência do efeito de reduzir o tamanho de materiais é a diminuição da energia magnetostática (Δ_{EM}) – responsável por formar e manter as paredes de domínio. Além disso, T_C também diminui, indicando que a partir dele, criar e manter paredes de domínio torna-se um processo mais energético do que suportar a Δ_{EM} de um estado de monodomínio magnético (SD). Portanto, abaixo de DC, partículas não apresentam mais multidomínios magnéticos (MD), isto é, elimina-se as paredes de domínio conforme o tamanho da partícula decresce (**Figura 9**). Em geral, DC se apresenta na escala nanomética.[33]

Figura 9 – Representação de paredes de domínio e domínio magnético. Em a) representação esquemática de domínios em um material ferromagnético ou ferrimagnético; setas representam dipolos atômicos magnéticos. Dentro de cada domínio, todos os dipolos são alinhados, enquanto a direção do alinhamento varia de um domínio para outro; em b) mudança gradual na orientação magnética do dipolo através de uma parede de domínio e em c) curva de coercividade intrínseca de uma NPSPM

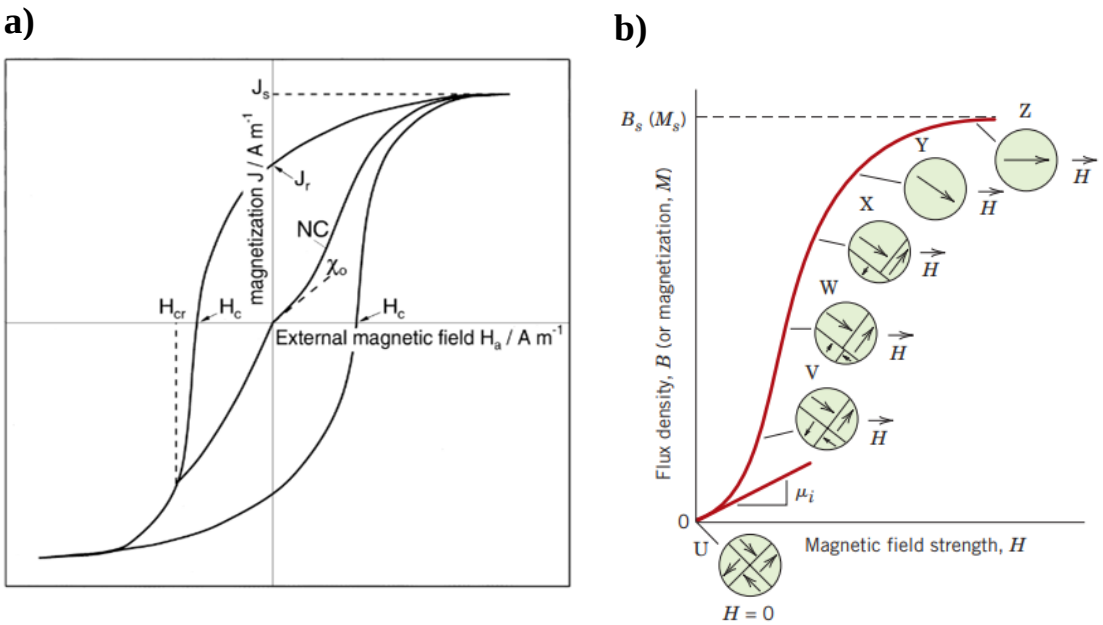


Fonte: Adaptado de a) e a b) Callister (2007)[15] e c) Sun (2006).[34]

1.4.5 Magnetização e laços de histerese magnética

Para induzir a magnetização de materiais magnéticos é necessário expô-los a um campo magnético externo (H_c) e a magnetização, J, é transmitida por um magnetômetro. Na origem, em um estado não magnético, J = 0 e H_c = 0 (curva NC), após a aplicação de H_c, J aumenta linearmente com o campo no início da curva. Em seguida se observa um crescimento não linear até que se alcance um máximo de J, chamado de saturação de magnetização, J_s (o máximo permitido dos momentos magnéticos estão orientados paralelamente na direção do campo magnético externo aplicado). A inclinação inicial (J/H_c) representa a suscetibilidade magnética inicial, χ_0 se H_c em algum momento é reduzido, a magnetização irá à zero em H_c = 0 (como consequência de um *loop* de histerese), originando a magnetização remanente. Um campo de força, H_{cr} é requerido para remover a remanência, definido como a coercividade ou força coerciva do material. O processo pode ser observado na **Figura 10**.[12,15]

Figura 10 – Representação esquemática da magnetização e suas etapas. Em a) curva de histerese evidenciando magnetização de saturação, remanência e coercividade em função de H; em b) curva de magnetização inicial

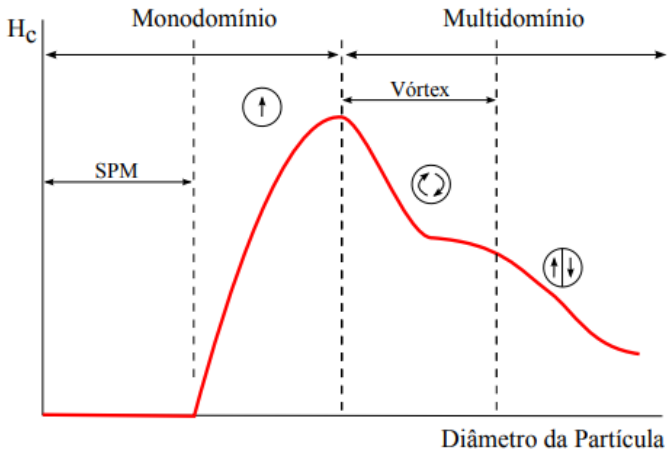


Fonte: a) Cornell; Schwertmann (2003)[12] e b) Callister (2007).[15]

1.4.6 Relaxação de Néel e Brown

A geração de calor em partículas magnéticas por modificações no campo magnético pode ocorrer por muitas rotas. A mais conhecida é a geração de calor por perda devido à corrente induzida no *bulk* de materiais magnéticos. Materiais de tamanho nanométrico não apresentam aquecimento por indução perceptível, pois sua condutividade elétrica é baixa. Assim, em torno da dimensão nanométrica a tensão gerada não é substancial. Portanto, o calor é gerado pela energia térmica dissipada por meio do processo de reversão do domínio magnético em materiais ferromagnéticos (**Figura 11**).[21]

Figura 11 – Representação esquemática de diâmetro em função de campo magnético externo em estruturas mono e multidomínios magnéticos e superparamagnéticas

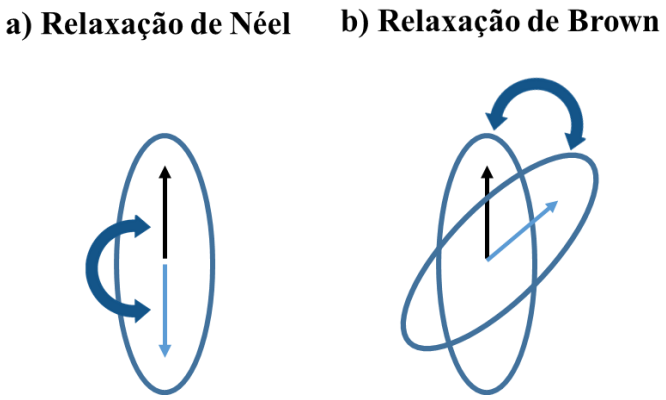


Fonte: Moncayo (2009).[16]

Nanopartículas, em especial as superparamagnéticas, apresentam perda de histerese em termos de relaxação Néeliana e Browniana. A relaxação de Néel representa o aquecimento das partículas em detrimento da perda de energia gerada pela rotação de momentos magnéticos individuais intrínsecos às partículas. Por outro lado, a relaxação de Brown refere-se ao calor gerado pela rotação física das partículas em detrimento do processo de alinhamento dos momentos magnéticos líquidos das nanopartículas individuais com o campo externo aplicado (**Figura 12**).[21,35,36] Enquanto o mecanismo de Néel é a contrapartida em partículas SD do movimento das paredes

em partículas MD, o mecanismo de Brown somente ocorre em partículas de tamanhos reduzidos o suficiente de forma que não sejam limitadas pelo momento de inércia.[36]

Figura 12 – Representação dos fenômenos de relaxação que ocorrem em materiais ferromagnéticos a) relaxação de Néel e b) relaxação de Brown



Fonte: Autoria própria.

1.5 Síntese de nanopartículas de óxido de ferro

Óxidos de ferro podem ser sintetizados por diversas vias. A escolha do método a ser utilizado leva em consideração a finalidade de aplicação do material, os custos envolvidos na produção, o tempo requerido, forma e tamanho desejados e outras variáveis que influenciam a obtenção do produto. Os precursores de óxidos de ferro geralmente são Fe^{2+} e Fe^{3+} devido ao baixo custo[12] e os métodos mais utilizados são co-precipitação, decomposição térmica, síntese hidrotérmica, microemulsão e redução-precipitação como sumarizado na **Tabela 2**.[11,37–40]

Tabela 2 – Relação de métodos de síntese de óxidos de ferro

Método de síntese	Síntese	Temperatura de reação (°C)	Tempo de síntese	Solvente	Controle de forma	Custo
Co-precipitação	Muito simples Cond. ambientes	20-90	Minutos	Água	Ruim	Alto
Decomposição térmica	Complicada Atmosf. Inerte	100-320	Horas/dias	Orgânico	Muito bom	Alto
Microemulsão	Complicada Cond. Ambientes	20-50	Horas	Orgânico/ água	Bom	Baixo
Síntese hidrotérmica	Simples, alta pressão	220	Horas/dias	Água-etanol	Muito bom	Médio

Fonte: Adaptado de Varanda, Jafelicci Júnior e Beck Júnior (2011);[24] Lu, Salabas e Schüth (2007).[11]

A síntese por co-precipitação é simples e conveniente na obtenção de óxidos de ferro. O precursor é geralmente uma solução aquosa de sais de ferro, seguido pela adição de solução alcalina em temperatura ambiente ou mais elevada. O tamanho, a morfologia e a composição das NP magnéticas dependem do tipo de sal utilizado (sulfatos, nitratos e cloretos, por exemplo), a razão entre íons ferro, ajuste de pH e força iônica do meio. As partículas obtidas apresentam boa estabilidade, mas podem ser oxidadas e a morfologia não é facilmente controlada (**Figura 13a**).[11]

A síntese por decomposição térmica baseia-se em métodos de preparo de nanocristais e óxidos semicondutores de alta qualidade. Em meio orgânico, as características que fazem o material ser excelente são controladas facilmente. Para tanto, a temperatura, o tempo de reação e o período de envelhecimento são cruciais para obtenção do controle (**Figura 13b**). Apesar dos bons resultados nos parâmetros de controle (forma, tamanha, dispersão de tamanhos, estrutura e composição química), o método é complicado e de custo significativamente elevado, incluindo custos energéticos devido às elevadas temperaturas.[11]

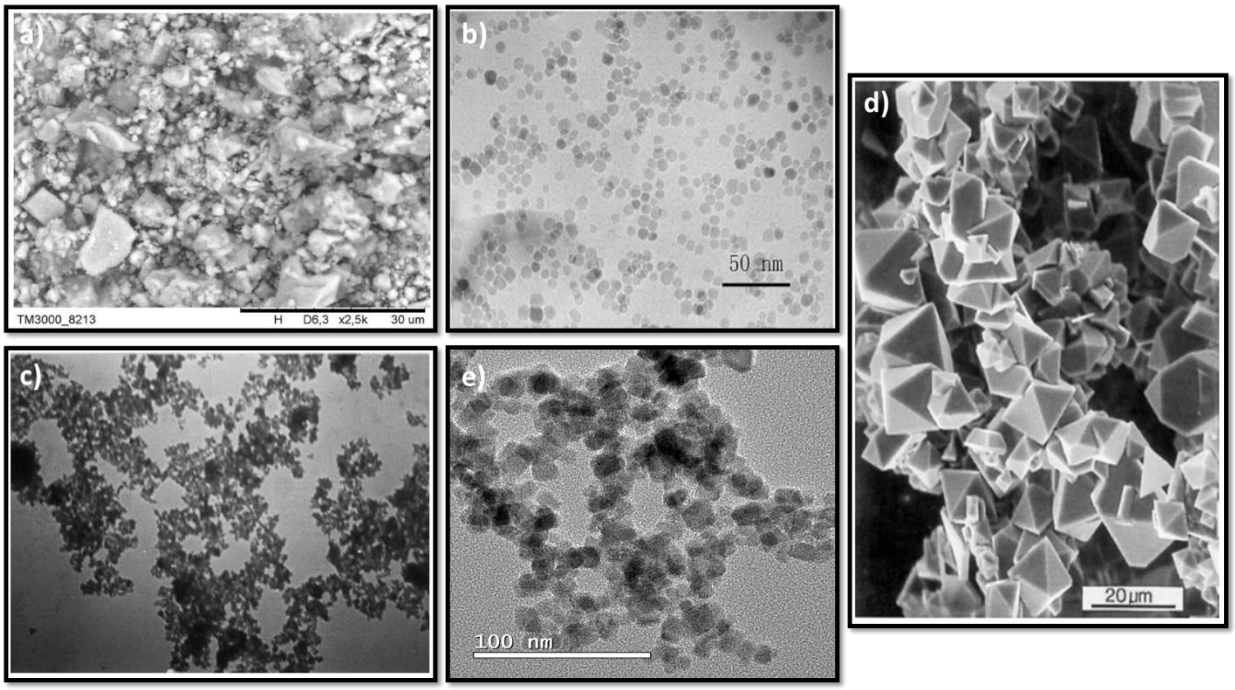
O método por microemulsões envolve a estabilização de uma dispersão de dois líquidos imiscíveis por meio de um filme interfacial de moléculas de surfactante. Em microemulsões do tipo água-óleo, a fase aquosa se encontra em microgotas (de 1 a 50 nm de diâmetro) cercadas por monocamadas de moléculas de surfactante na fase contínua de hidrocarboneto. A razão molar de água/surfactante determina o tamanho

da micela reversa. Após adição de solvente, usualmente acetona ou etanol, o precipitado pode ser extraído do meio, originando partículas com bom controle de tamanho, mas dispendiosos processos de lavagem e purificação são necessários (**Figura 13c**).[11]

Por outro lado, a síntese por vias hidrotérmicas até 100 ºC produzem óxidos arredondados, cúbicos, romboédricos ou cristais octaédricos (**Figura 13d**).[12] É um método simples, de custo mediano e excelente performance em controle morfológico, com a desvantagem da necessidade de reatores (autoclaves) e temperaturas, às vezes, relativamente elevadas.[11]

Por fim, a síntese de nanopartículas de magnetita via redução-precipitação tem se mostrado uma alternativa de baixo custo e de bom controle de tamanho e morfologia[30] (**Figura 13e**).

Figura 13 – Nanopartículas de óxido de ferro sintetizadas por a) co-precipitação, b) decomposição térmica, c) microemulsão e d) via hidrotérmica e e) redução-precipitação



Fonte: a) Scapim et al. (2017),[38] b) Costa (2013), [37] c) Yadav et al. (2003),[39] d) Cornell; Schwertmann (2003)[12] e e) Caio (2021).[30]

1.6 Justificativa de pesquisa

A síntese de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (NPSPM) tem apresentado resultados promissores em aplicações biomédicas, com valores significativos de SAR em torno de 80 a 1.648 Wg^{-1},[42–44] para nanopartículas de magnetita com tamanho variando de 30 a 67 nm. Apesar dos bons resultados observados, novas pesquisas têm indicado haver uma faixa de tamanho, pouco acima do diâmetro crítico, 22-27 nm, que representa a transição do estado de monodomínio magnético para multidomínios, em que os valores de SAR são 60 a 80 Wg^{-1}. Apesar do aumento no tamanho da partícula em relação ao diâmetro crítico (em torno de 25 nm para a magnetita), não há prejuízos significativos ao comportamento superparamagnético pois a coercividade intrínseca da NPSPM aumenta o processo de relaxação de Néel.[45,46] Assim, o maior valor de SAR garante uma terapia mais eficaz em termos de encurtamento do tempo de aplicação da terapia – que pode ser incômoda devido ao aquecimento entre 42 - 45 °C – e eficiência na destruição das células-alvo.

Com a diminuição do tamanho e o surgimento de características de monodomínio, o alinhamento dos momentos magnéticos dos átomos individuais nas nanopartículas praticamente se encontra numa mesma direção, e o material é comparado a um átomo paramagnético gigante, resultando no fenômeno de superparamagnetismo.[47] Nesta condição, a nanopartícula não apresenta magnetização residual permanente, se alinhando instantaneamente ao campo magnético externo aplicado e retornando a um estado de alinhamento randômico quando o campo é removido. Além da resposta magnética ao campo, tal comportamento minimiza os efeitos de interação magnética interpartículas e, consequentemente, processos de aglomeração por força magnética.

Portanto, a busca pelo aperfeiçoamento de materiais e metodologias de síntese com possibilidade de escalonamento de baixo custo e eficientes em tratamentos oncológicos é de suma importância em um país como o Brasil, em que 80% da população (190 milhões de pessoas) depende exclusivamente do Sistema Único de Saúde (SUS) oferecido e financiado pelo Governo Federal;[48] haja vista que o tratamento oncológico em clínicas particulares é uma realidade distante para muitas famílias brasileiras.

2 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivos principais a obtenção e a caracterização de nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas de magnetita em meio aquoso. A rota será desenvolvida de forma a ser simples, ter características sustentáveis e possibilitar a adequação em larga escala com custos reduzidos, como material base para a produção de uma plataforma magnética multifuncional adequada para hipertermia magnética.

Mais detalhadamente, os objetivos específicos são:

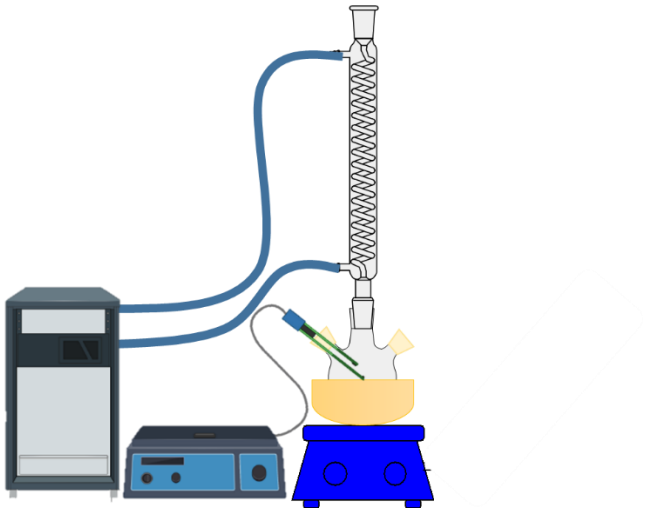
i. Estudo e otimização das variáveis experimentais de síntese, tais como: proporção, ordem de adição e natureza dos reagentes, temperatura e tempo de reação, tipo de agitação e pH do meio de reação;
ii. Obtenção das nanopartículas magnéticas na fase magnetita num processo ambientalmente amigável (química verde), com baixa geração de resíduos e mínima toxicidade;
iii. Estabelecimento dos parâmetros que governam a velocidade de hidrólise e, consequentemente, controlam os processos de nucleação e crescimento das nanopartículas, visando obtê-las com tamanho ao redor de 25 a 30 nm, correspondendo à transição entre multi e monodomínios magnéticos;
iv. Promover o controle de tamanho e forma buscando sistemas monodispersos ou de baixo grau de polidispersão, a fim de maximizar as propriedades de hipertermia magnética e avaliar parâmetros para possibilitar a produção em larga escala.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Síntese das nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro

O procedimento experimental padrão adotado nas sínteses das nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas de magnetita encontra-se descrito abaixo. O procedimento foi ajustado e modificado recentemente no Grupo de Materiais Coloidais[30] a partir da ideia reportada por Qu e colaboradores.[18] Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e empregados sem tratamento prévio. As sínteses foram realizadas em balão de três bocas acoplado a um condensador de Graham conectado ao banho termostatizado com circulação em 17 ºC. O aquecimento se deu por uma manta térmica acoplada a um controlador de temperatura, controlando o aquecimento através de um termopar imerso no meio de reação (**Figura 14**).

Figura 14 – Aparato experimental utilizado na síntese de NPSPM



Fonte: Autoria própria.

Por se tratar de um experimento em que o cloreto de ferro é utilizado como precursor, o reagente é solubilizado em meio ácido, HCl 0,01 molL^{-1}. Em seguida, 4 mL de solução de $FeCl_3.6H_2O$ 0,006 molL^{-1} ($[Fe^{3+}]_0$) são inicialmente misturados com 2,5 mL de uma solução de Na_2SO_3(aq) 0,002 molL^{-1}. O volume da solução final foi calculado a fim manter os íons ferro na solução final ($[Fe^{3+}]_f$) em 0,0006 molL^{-1} e a

porção de íons SO_3^{-2} satisfazendo a razão $[Fe^{3+}]_0/[SO_3^{-2}] = 3$. A **Equação 7** foi utilizada para o cálculo da concentração final de ferro no meio de reação:[30]

$$[Fe]_f = \frac{[Fe]_0 * Volume\ tomado}{Volume\ final\ da\ solução} \quad (7)$$

Logo após a mistura, pode-se observar a coloração vermelha intensa, indicando a formação de um complexo intermediário [Fe-SO_3]. Gradativamente, a solução retorna à cor amarela devido ao pequeno excesso de íons H_3O^+. Esse procedimento permite a redução controlada de íons Fe^{3+} para Fe^{2+}, habilitando a formação de magnetita nos próximos passos. Concomitantemente, o volume apropriado de uma solução de NaOH 0,01 $molL^{-1}$ é diluído em água para volume final total de reação de 40 mL, no balão de três bocas. A quantidade de NaOH adicionada foi calculada de acordo com as **Equações 8 e 9**, para manter um excesso de íons OH^- ($[OH^-]_{exc}$) em 0,002 $molL^{-1}$.

$$2Fe^{3+}_{(aq)} + Fe^{2+}_{(aq)} + 8OH^-_{(aq)} \rightarrow Fe_3O_{4(s)} + 4H_2O_{(l)} \quad (8)$$

$$[OH^-]_{exc} = [NaOH] - \frac{8}{3}[Fe]_f - [HCl]_f \quad (9)$$

A solução alcalina preparada foi aquecida à 90 ºC no aparato experimental descrito. Em seguida, foi adicionada a mistura de $FeCl_3.6H_2O$ e Na_2SO_3 sob agitação magnética. Instantaneamente é observada a formação de um precipitado preto. A agitação foi mantida por mais 5 minutos e então a suspensão permaneceu estática até completar 24 horas, processo conhecido por amadurecimento de Ostwald.[49] Após o tempo de síntese, o sistema foi resfriado à temperatura ambiente e o precipitado foi separado e lavado com água por separação magnética várias vezes. Por fim, as nanopartículas foram estocadas em água para posterior caracterização.

3.2 Variação de parâmetros de síntese

A fim de atender o objetivo principal previsto - qual seja, o aumento do tamanho médio das partículas em torno de 25 a 30 nm, região de transição de multidomínios magnéticos para monodomínios magnéticos - variações de parâmetros na síntese padrão foram propostas:

a. Ordem de adição (Seção 4.1)

A ordem de adição de reagentes em sínteses submetidas a reação de oxirredução é de suma importância para obtenção do produto desejado. Dessa forma, a fim de avaliar tais variações, seis amostras foram preparadas em que se manteve fixo o solvente da reação e se variou os reagentes em todas as possibilidades. Assim, o procedimento aqui realizado diferiu do procedimento padrão supracitado pela ordem de adição dos reagentes para avaliar o seu efeito na preparação das nanopartículas. Portanto, a identificação das amostras direciona à ordem de adição seguida para cada qual, por exemplo, em AM_SFH a letra S se refere ao sulfito de sódio, a letra F ao cloreto de ferro hexahidratado e a letra H ao hidróxido de sódio. Todos os procedimentos foram realizados em balão de três bocas e sistema de refluxo por 24 horas.

b. Natureza das vidrarias (Seção 4.2)

Nesta variação buscou-se caracterizar os produtos obtidos por meio de duas vidrarias diferentes, haja vista que materiais em nanoescala podem se comportar de maneiras diferentes quando submetidos a condições diversas. Para tanto, como forma alternativa ao balão de três bocas, três amostras foram sintetizadas com base na mudança de vidraria, neste caso foi utilizado um frasco de reação fechado capaz de suportar temperaturas maiores que 100°C. O intuito era evitar processos oxidativos na superfície da solução que não podem ser evitados em sistemas abertos sem onerosos processos de desaeração com gás inerte (geralmente N_2 ou Ar), pois o condensador de Graham mantém a solução em contato com o ambiente durante todo o processo. Assim, nas diferentes amostras foram variadas as razões de ferro-sulfito para melhor avaliar o produto obtido em função de um sistema fechado e diferentes

razões do complexo [Fe-SO_3]. A amostra AM_FRA1 se refere à razão padrão apresentada na seção 3.1, 0,5, AM_FRA2 razão 1,5 e AM_FRA3 razão 1,0. O procedimento consistiu em adicionar o solvente e os reagentes ao frasco de reação como descrito em 3.1. Em seguida, a vidraria foi vedada, fechada e submetida ao aumento de temperatura em estufa a 90°C por 24 horas.

c. Temperatura (Seção 4.3)

O efeito da variação da temperatura na metodologia de síntese foi avaliado de forma comparativa entre os resultados obtidos nas outras seções, em que a temperatura era de 90°C. Neste caso, o sistema foi mantido em 30°C durante todo o processo de nucleação, crescimento e maturação das partículas. Ressalta-se que nesta etapa a metodologia retomou o procedimento padrão apresentado em 3.1, sendo a amostra nomeada de AM_T30 em referência à temperatura utilizada.

d. Tipo de agitação (Seção 4.4)

Devido à característica magnética das nanopartículas aqui produzidas, duas variações foram utilizadas na homogeneização do meio de reação com o uso de um agitador mecânico em 300 rpm. Além disso, para fins comparativos uma amostra seguindo o procedimento padrão, isto é, em que se utiliza um agitador magnético, foi sintetizada também. A presença de uma barra magnética no sistema por agitação magnética foi avaliada de forma a inferir seu impacto no produto. Assim, a amostra AM_MAG se refere ao procedimento base, AM_MEC ao processo mecânico de agitação e AM_MEC24H ao mesmo processo com agitação durante todo o procedimento de síntese.

e. Controle nos processos de reação (Seção 4.5)

Em reações que envolvem processos de formação de materiais sólidos em meio aquoso, é de suma importância controlar os processos que permitem direcionar os fatores que estabelecem os parâmetros que governam a velocidade de hidrólise e, consequentemente, controlam os processos de nucleação e crescimento das

nanopartículas. Estes processos levam ao controle de tamanho e forma do material, relembrando que um dos objetivos é obter um tamanho ao redor de 25 nm (transição entre mono e multidomínios magnéticos) com baixo grau de polidispersão. Esses parâmetros estão diretamente correlacionados às propriedades de hipertermia magnética e permitem iniciar uma avaliação para possibilitar a produção em larga escala. Assim, quatro fatores foram avaliados como possíveis modificadores de parâmetros que regem a rota sintética, todos eles são explicitados em suas devidas subseções.

1. Hidrólise (Seção 4.5.1)

A literatura reporta que em meio acidificado o sistema ferro-sulfito é impedido de sofrer processos de hidrólise e condensação. Denota-se que neste caso, o HCl possui duas funções importantes na reação proposta: (i) permitir que ocorra a reação de redução dos íons Fe(III) a Fe(II) após a formação do complexo com os íons sulfito e (ii) impedir que ocorram reações de hidrólise dos íons Fe(III) em solução para permanecem na forma do complexo hexaaquoférrico ($[Fe(H_2O)6]^{3+}$) evitando a formação de clusters de ferrihidrita. Assim, esta síntese teve por objetivo ratificar a explicitação descrita e avaliar a possibilidade de produção de nanomagnetita em meio não acidificado. Portanto, a amostra sintetizada sob este parâmetro foi nomeada de AM_HIDROLISE.

2. Intervalo de oxidação do complexo ferro-sulfito (Seção 4.5.2)

Diante de observações recorrentes de mudança de coloração do complexo ferro-sulfito, testes foram propostos a fim de avaliar a interferência produzida quando utilizado em transição de coloração, isto é, vermelho e amarelo. Logo após a mistura das soluções de cloreto de ferro e de sulfito de sódio observa-se uma cor avermelhada, poucos instantes após agitação se observa o retorno à coloração amarelada de soluções de ferro(III) e finalmente a obtenção de uma solução amarela. Assim, as amostras foram nomeadas de AM_VA em referência à transição de coloração do complexo (solução intermediária) e AM_A que diz respeito à coloração amarela (solução final).

3. Dupla injeção do complexo ferro-sulfito (Seção 4.5.3)

Nesta etapa buscou-se avaliar a hipótese levantada pelo Princípio de Le Chatelier, cujo pressuposto reside no fato de que ao perturbar um sistema, seja por variação de temperatura, pressão, adição ou ainda retirada de reagentes ou produtos, existe um deslocamento na direção com que a reação se processa, o qual se reorganiza através de um novo equilíbrio no meio de reação. Dessa forma, foram propostas duas sínteses nesta etapa, AM_DUPLA1 e AM_DUPLA2.

Na amostra AM_DUPLA1, foi adicionado à solução alcalina sob aquecimento 70% do complexo ferro-sulfito, em seguida a reação seguiu o processo de envelhecimento por 6 horas, quando novamente o complexo foi adicionado, agora os 30% restantes. Na primeira etapa, a concentração de excesso de íons OH^- foi calculada para 0,035 $molL^{-1}$ para que, finda a adição de complexo, atingisse a concentração molar de 0,02 $molL^{-1}$, como calculado para todas as outras reações padrão. Em AM_DUPLA2, avaliou-se a adição do complexo em concomitância à nova adição de álcali passadas 6 horas de envelhecimento.

4. Adição de citrato de sódio (seção 4.5.4)

A literatura reporta tentativas de revestimento das NPSPM com citrato de sódio a fim de evitar processos de aglomeração que podem impedir a excreção por vias renais do produto. Além disso, a toxicidade de revestimentos com agente funcionalizante como os citratos é muito baixa, sendo adequado para os processos terapêuticos esperados. Assim, a amostra AM_CITRATO foi produzida a fim de avaliar seu potencial em evitar a agregação das NPSPM e permitir melhor maturação durante a etapa de amadurecimento de Ostwald. Foi adicionado ao sistema 0,5 g de $Na_3C_6H_5O_7$ 30 minutos após a adição do complexo [Fe-SO_3], a agitação foi mantida por alguns instantes e o processo de maturação se processou sem novas interferências.

f. Adição de álcali gradativa ao sistema (Seção 4.6)

Por fim, uma tentativa de alternar a ordem de adição, conforme a amostra AM_FSH, foi configurada uma nova amostra de forma a permitir a redução de íons ferro previamente à adição de álcali, ou seja, neste procedimento foi adicionado ao solvente o complexo aquecido a 90°C e então se adicionou a base NaOH ao sistema de maneira gradativa. O processo de envelhecimento ocorreu de maneira padrão. Devido ao resultado favorável da primeira amostra, AM_FSH_1, duas novas sínteses foram realizadas com os mesmos parâmetros para avaliar a reprodutibilidade do resultado. Ao final, uma nova síntese foi proposta com o aumento do volume final de solução para se avaliar a produção do óxido esperado em proporção maior, tal amostra foi nomeada de AM_FSH_4V, em que a letra V indica o volume modificado em dobro em relação às outras sínteses precedentes.

3.3 Caracterização

Após obtenção do material sintetizado, as nanopartículas de coloração preta ou marrom escuro foram lavadas por separação magnética com água destilada, enquanto aquelas de outra coloração (laranja ou amarela), foram lavadas com água e separadas por centrifugação a 9000 rpm por 5 minutos. Pequenas porções foram separadas para as análises. A avaliação das cores seguiu a paleta fornecida pela literatura para identificar as possíveis colorações dos óxidos de ferro,[12] bem como a estabilidade visual, em que a agitação seguida da velocidade de sedimentação das partículas é considerada (rápida sedimentação, pouca estabilidade). Os procedimentos para as diferentes técnicas utilizadas na caracterização das amostras são descritos a seguir.

3.2.1 Difratrometria de raios X (DRX)

A difratometria de raios X foi utilizada para a análise da estrutura cristalina e a identificação das fases cristalográficas presentes nas amostras. A amostra foi preparada gotejando a suspensão das nanopartículas em placas de vidro e secas em

estufa por 24 horas. O equipamento utilizado foi o difratômetro D8 Advance da Bruker, operando com radiação Kα do cobre (λ = 1,5418 Å), com tensão de 40 kV e corrente 40 mA. A varredura foi realizada de 10 a 90° em 2 em tomada fixa de 0,300 segundos por grau. Utilizou-se a equação de Scherrer (**Equação 10**) para o cálculo de tamanho médio de cristalito (τ).[12]

$$\tau = \frac{K\lambda}{\beta cos cos\,\theta} \qquad (10)$$

Em que τ é o tamanho médio de cristalito, K a constante de Scherrer (0,94), λ comprimento de onda dos raios X, β (em radianos) a largura a meia altura do pico de difração e θ o ângulo de Bragg.

3.2.2 Espectroscopia vibracional no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia foi necessária para analisar os grupos funcionais presentes nas amostras. O equipamento utilizado foi um espectrômetro Shimadzu, IRPrestige 21. As amostras foram preparadas na forma de pastilhas, utilizando uma pequena quantidade das nanopartículas e KBr (1:100). Os espectros foram obtidos no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras.

3.2.3 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

A microscopia eletrônica de transmissão (Do inglês, *Transmission eletron microscopy*) foi realizada com intuito de analisar a morfologia, o tamanho e a dispersão de tamanho das nanopartículas sintetizadas. O aparelho utilizado foi um microscópio eletrônico JEOL, modelo JEM-2100, operando a 200 kV. As amostras foram preparadas com suspensões aquosas diluídas das nanopartículas em isopropanol, que foram dispersas em banho de ultrassom. Uma gota da dispersão foi depositada sobre uma grade de cobre recoberta com um filme duplo de polímero Formvar® e uma

camada de carbono depositado por *sputtering*. O solvente foi evaporado a temperatura ambiente e as grades de cobre contendo as NPSPM foram armazenadas em dessecador à vácuo. Para o cálculo do tamanho médio das partículas o software livre ImageJ (versão 1.52a) foi utilizado. Estimativas de diâmetro médio (D_{TEM}) foram realizadas a partir da contagem de aproximadamente 200 partículas de cada amostra. Com base nos valores de desvio padrão obtidos, calculou-se o índice de polidispersividade (PDI) das amostras, conforme a **Equação 11**. Um conjunto de nanopartículas pode ser classificado como monodisperso quando σ possui valores abaixo de 10%.[50]

$$PDI = \frac{Desvio\ Padrão}{Diâmetro\ médio\ (M)} \times 100\% \qquad (11)$$

3.2.4 Medidas de Estabilidade Coloidal – DLS/Potencial Zeta

Os ensaios para determinação do potencial de superfície e de distribuição de tamanho hidrodinâmico foram realizados por Espalhamento Dinâmico de Luz (do inglês, *Dynamic Light Scattering*), utilizando o instrumento Malvern Zetasizer Nano ZS. As amostras foram preparadas em faixas de pH variando de 2 a 12 em solução aquosa de NaCl 10^{-3} $molL^{-1}$ e dispostas em cubetas de quartzo. As análises de potencial de superfície (zeta - ζ) seguiram o mesmo procedimento e foram realizadas em células de amostra específica.

3.2.5 Hipertermia Magnética (HM)

Os ensaios foram realizados no equipamento comercial MagneTherm 1.5AC (nanoTherics). As nanopartículas foram dispersas em água destilada na concentração de 5 $mg.mL^{-1}$. Um sensor de temperatura composto pelo semicondutor de GaAs de fibra óptica monitorou a temperatura em conjunto a um transdutor de sinal PicoM, ambos da Opsens Solutions. A amostra foi adicionada a um vial de 2 mL e mantida estática por 60 segundos para estabilização da temperatura e então um campo magnético alternado de 24 mT de amplitude e 109,6 kHz de frequência foram

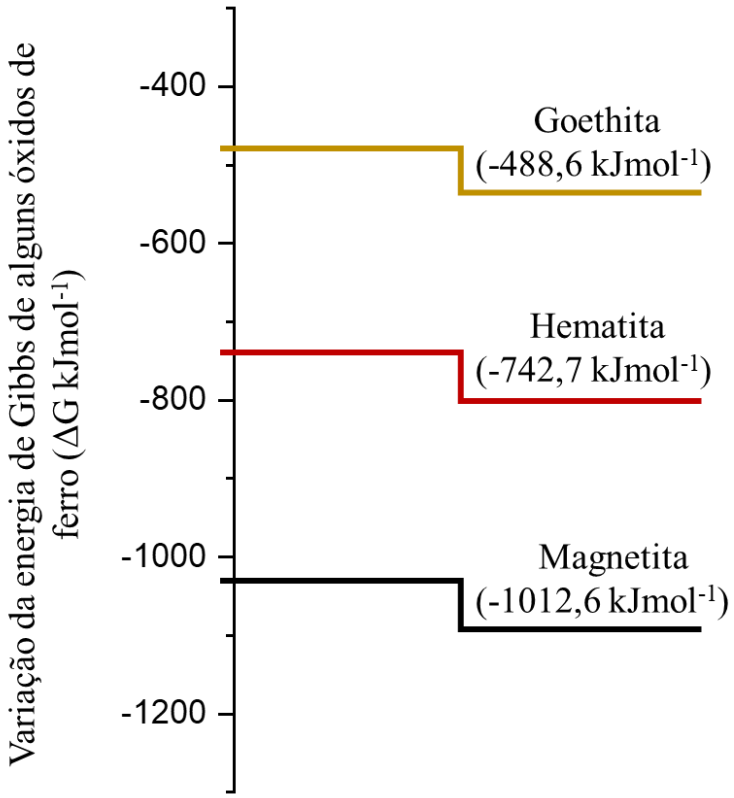
aplicados. Após 500 segundos, o campo magnético foi desligado e a temperatura registrada por mais 100 segundos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Ordem de adição

A ordem de adição de cada constituinte da síntese de NPSPM é essencial para a obtenção do produto desejado, pois a razão entre íons Fe^{2+} e Fe^{3+} presentes em solução direciona à formação termodinamicamente mais favorável dos diversos tipos de óxidos de ferro. Em análise às variações da energia de Gibbs (ΔG) desses materiais, pode-se observar que a formação de fases metaestáveis antecede a formação das mais estáveis, devendo-se ao fato de que a nucleação de fases metaestáveis é mais rápida. Na **Figura 15**, nota-se que que a magnetita tende a ser a fase mais estável devido ao menor valor de ΔG.

Figura 15 – Variação da energia de Gibbs (ΔG) da goethita, hematita e magnetita



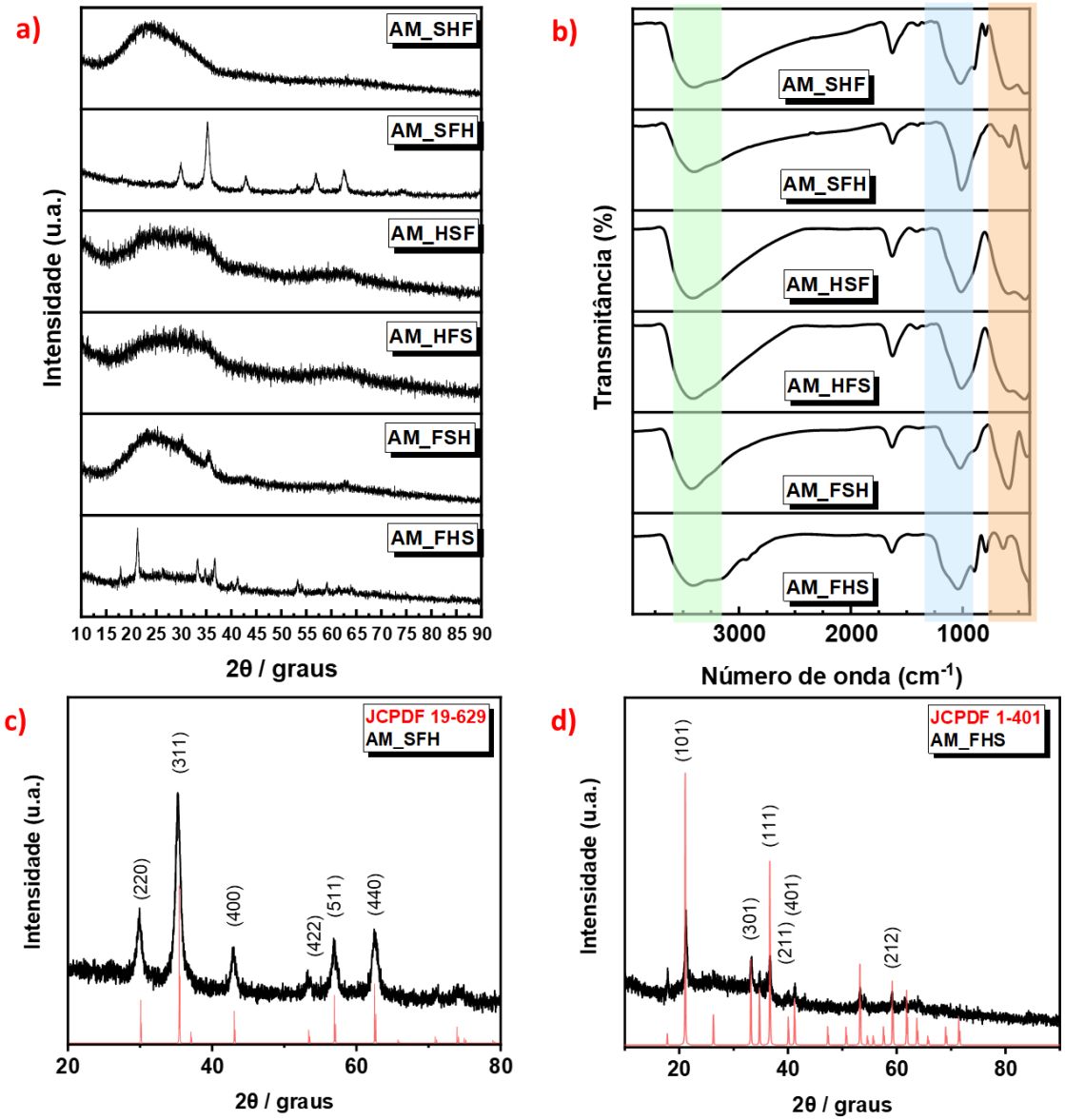
Fonte: Autoria própria.

Um polimorfo cristalino é termodinamicamente mais estável diante de uma série de condições, como temperatura, pressão, oxigênio e fugacidade da água, no entanto, outros polimorfos podem ser considerados metaestáveis por apenas alguns kilojules (kJ) de diferença por mol. Tal observação permite etapas sintéticas específicas. O argumento termodinâmico justifica que o sistema é dirigido a uma série de fases metaestáveis no caminho para a fase mais estável, diminuindo sua ΔG vagarosamente, ao contrário de atingir a fase esperada por um grande salto energético.[51] Essa progressão por pequenos passos é favorecida cineticamente ao assumir que pequenos rearranjos na energia livre ocorrem mais rapidamente, envolvendo, por consequência, menores energias de ativação. Tais rearranjos são determinantes na velocidade do processo, corroborando à Regra de Ostwald de formação de fases metaestáveis antecedentes às estáveis.[51–53]

A metaestabilidade em temperatura ambiente é regida, principalmente, por uma variação de 1-10 kJ/mol na entalpia (ΔH) juntamente com uma correção de 10-20% através do termo TΔS da equação de Gibbs ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$). Neste caso, os termos ΔH e ΔG são pequenos o suficiente para que a estabilidade termodinâmica seja invertida em decorrência de mudanças sutis ou não, como o tamanho de partícula.[52]

Dessa forma, o estudo da variação da ordem de adição dos constituintes da síntese de NPSPM está em acordo com a discussão apresentada. A **Figura 16** apresenta a caracterização da estrutura cristalina e fase cristalográfica das nanopartículas produzidas, bem como os grupos funcionais presentes nas amostras.

Figura 16 – Difratogramas de raios X e Espectros FTIR do estudo da variação da ordem de adição na síntese de NPSPM



Fonte: Autoria própria.

Os resultados obtidos indicam que apenas uma das seis rotas promoveu, de fato, a formação de magnetita. Ao analisar os difratogramas na **Figura 16c**, identifica-se o óxido magnetita na amostra AM_SFH, através do padrão JCPDS 19-629, por comparação aos picos de difração em 18,5°, 30,1°, 35,5°, 43,2°, 53,6°, 57,2° e 62,7° (2θ), correspondendo aos planos cristalográficos (220), (311), (400), (422), (511) e (440), respectivamente.[42] Embora os difratogramas AM_FSH, AM_HFS, AM_HSF e

AM_SHF (**Figura 16a**) sejam inconclusivos, traços característicos da fase oxihidróxido de ferro(III) hidratada (ferrihidrita) podem ser notados em torno de 20 a 35 graus e 55 a 70 graus. A fase ferrihidrita pode ocorrer em duas formas cristalinas distintas, denominadas de ferrihidrita 2-linhas e 6-linhas, de acordo com o número de reflexões que aparecem nos difratogramas de raios X.[42] Caracteristicamente, o composto se apresenta na forma de partículas ultrafinas que variam sua composição de acordo com a extensão do grau de hidrólise a partir da formação do complexo de íons Fe(III) em meio aquoso (hexaaquo Fe(III)). Geralmente é considerada como a formação de *clusters* atômicos (ou núcleos) que iniciam o crescimento das fases de óxidos de ferro(III) em meio aquoso, em pH ácido leva à formação de hematita (hidrólise ácida) e em pH alcalino, à formação de goethita (hidrólise alcalina).[54] Além do pH do meio de reação, o qual é decisivo para a formação das duas fases mencionadas, outros fatores como disponibilidade de monômeros de crescimento, concentração salina, temperatura, entre outros, podem contribuir para a evolução das fases de hematita ($\alpha-Fe_2O_3$) ou goethita (e suas polimórficas, akaganeita ou lepdocrocita).[12]

A ferrihidrita possui coloração vermelha intensa, ligeiramente diferente da fase hematita, com uma coloração vermelha alaranjada. Os padrões de difração observados nos DRX da **Figura 16**, indicam que para as amostras identificadas com esse padrão de baixa cristalinidade, atribuídos à possível formação de ferrihidrita 2-linhas, a redução controlada de íons Fe^{3+} para Fe^{2+} não ocorreu, assim como as reações de hidrólise e condensação foram prejudicadas em função das condições de pH e natureza dos íons precursores devido à ordem de adição dos reagentes. Uma ligeira diferença pode ser notada para a amostra AM_FSH, onde dois picos de difração de baixa intensidade próximos a 25° e 35° em 2θ pode sem observados. Neste caso, a adição de sulfito seguida de ferro(III) no volume inicial de água, parece ter originado uma pequena quantidade de íons Fe(II) no meio. O processo redox é prejudicado pela maior diluição das espécies e pelos processos de hidrólise intensificados frente a diluição da quantidade de ácido inicialmente utilizada na solução de cloreto de ferro(III). A maior proporção de íons Fe(III) em solução favoreceu a formação de ferrihidrita devido às proporções de íons metálicos e água, levando a rápida hidrólise. Uma observação mais detalhada acerca da reação esperada para a redução de íons férricos à ferrosos na presença de íons sulfito, mostra que a redução ocorre apenas

em condições ácidas e, por esse motivo, o complexo [Fe-SO_3] deve ser formado previamente, antes da adição da base, a reação pode ser vista na **Equação 12**.

$$2Fe^{3+}_{(aq)} + SO^{2-}_{3\,(aq)} + H_2O_{(l)} \rightarrow 2Fe^{2+}_{(aq)} + SO^{2-}_{4\,(aq)} + 2H^{+}_{(aq)} \qquad (12)$$

Assim, a reação para a formação do complexo deve ser realizada antes da antes da adição no meio alcalino e, preferencialmente, anteceder processos de diluição. O complexo é formado e injetado no meio de reação contendo a base diluída, ou previamente à adição da base. Neste último caso, o precursor de ferro é diluído com a quantidade desejada de água preservando a acidez do meio de reação para evitar processos de hidrólise dos íons complexos hexaaquosos de Fe(III). Então, a solução de sulfito é adicionada e, após a formação do complexo, o volume calculado de base é devidamente injetado na solução. Ordens de adição diferentes não levam à formação do complexo ou à redução parcial dos íons férricos e resultam na formação de fases indesejadas. Por fim, a amostra AM_FHS apresenta fase cristalográfica correspondente à formação de um oxihidróxido de ferro(III) (**Figura 16d**), mostrando a presença da fase goethita (FeOOH) confirmada pelo padrão JCPDS 1-401. A formação da fase goethita corrobora a discussão anterior, uma vez que em meio alcalino é observada a formação de ferrihidrita que evolui para a formação de goethita por hidrólise alcalina.[30] Após iniciado o processo, a adição de íons sulfito ao meio de reação alcalino não é capaz de promover a redução dos íons ferro(III) resultando na formação do oxihidróxido de ferro.

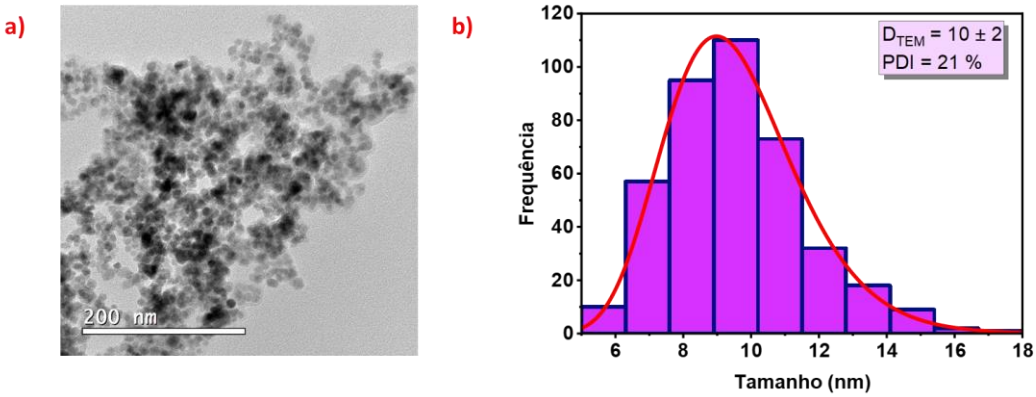
Ao analisar os espectros FTIR (**Figura 16b**, faixa laranja), uma avaliação mais detalhada das nanopartículas pode ser feita. Em AM_FHS, a formação de goethita é confirmada pelas duas bandas em torno de 895 e 786 cm^{-1} devido aos estiramentos da ligação Fe-O na fase goethita. Em AM_FSH, os traços de magnetita observados em análise de difratometria são confirmados pelas bandas em torno de 586 cm^{-1} e 409 cm^{-1}. Em AM_HFS e AM_HSF, nota-se através das bandas em 650 e 450 cm^{-1} a formação de ferrihidrita, confirmando a hipótese levantada por meio da análise dos difratogramas de raios X. Por fim, em AM_SFH há a formação de magnetita

confirmada por suas bandas características em 409 e 586 cm^{-1} atribuídas ao estiramento da ligação Fe-O em estruturas do tipo espinélio inverso.

Todos os espectros também apresentam uma banda alargada na região entre 1200 e 900 cm^{-1} devido à presença de íons sulfato adsorvidos na superfície das nanopartículas (faixa azul). Os íons sulfato são provenientes da reação de redução dos íons ferro(III) a ferro(II) que promove a oxidação dos íons sulfito à sulfato. Essas espécies se adsorvem fortemente à superfície de óxidos metálicos e, embora possam ser considerados um contaminante, contribuem eficientemente para a estabilização das nanopartículas em água.[30] Em adição, os espectros também apresentam uma banda bastante alargada na região de 3425 cm^{-1}, devido a presença de grupos hidroxila na superfície dos óxidos (faixa verde) e moléculas de água adsorvidas, caracterizadas pela banda ao redor de 1640 cm^{-1} atribuída à deformação da ligação O-H.

Quanto à análise quali-quantitativa, em decorrência da obtenção singular em AM_SFH do produto esperado, a caracterização por microscopia eletrônica foi direcionada apenas para essa amostra. Na **Figura 17a** pode-se observar a formação de partículas esféricas e aparentemente homogêneas. Os cálculos de tamanho de partícula originaram o histograma apresentado (**Figura 17b**), indicando um tamanho médio de partícula de 10 ± 2 nm. O tamanho médio das partículas corresponde aos valores de tamanho médio de cristalito calculados por Scherrer de 10,5 nm para a reflexão (311), sugerindo a obtenção de um sistema monocristalino. O índice de polidispersividade ao redor de 20%, infere que a amostra possui certo grau de polidispersão, mas pode ser considerado adequado quando comparado à valores da literatura para amostras sintetizadas em meio aquoso, em que elevados valores de polidispersividade são geralmente observados.[2,46]

Figura 17 – Microscopia eletrônica e histograma da amostra AM_SFH



Fonte: Autoria própria.

As nanopartículas de magnetita, como já mencionado, apresentam coloração preta e forte caráter magnético, caracterizado pela atração quando posicionado próximo a um ímã. De acordo com o conjunto de resultados mostrado nesta seção, as sínteses que originaram amostras de coloração alaranjada e não correspondentes à fase magnetita desejada não tiveram continuidade. Assim, concluiu-se que a obtenção das nanopartículas se restringe à ordem de adição das amostras AM_FSH e AM_SFH. Em ambas as amostras, a ordem de adição dos reagentes permitiu que o complexo [Fe-SO_3] fosse formado, gerando íons ferrosos no meio de reação para promover a formação da magnetita. Especificamente no caso da amostra AM_FSH, como o complexo foi formado já no meio de reação diluído, se acredita que a concentração de ácido no meio foi insuficiente para gerar a estequiometria esperada na reação de redução via íons sulfito. O excesso de íons férricos na solução provavelmente devido ao início indesejado das reações de hidrólise (baixa acidez do meio) resultou em maior formação de ferrihidrita e pequena quantidade da fase magnetita.

4.2 Natureza das vidrarias

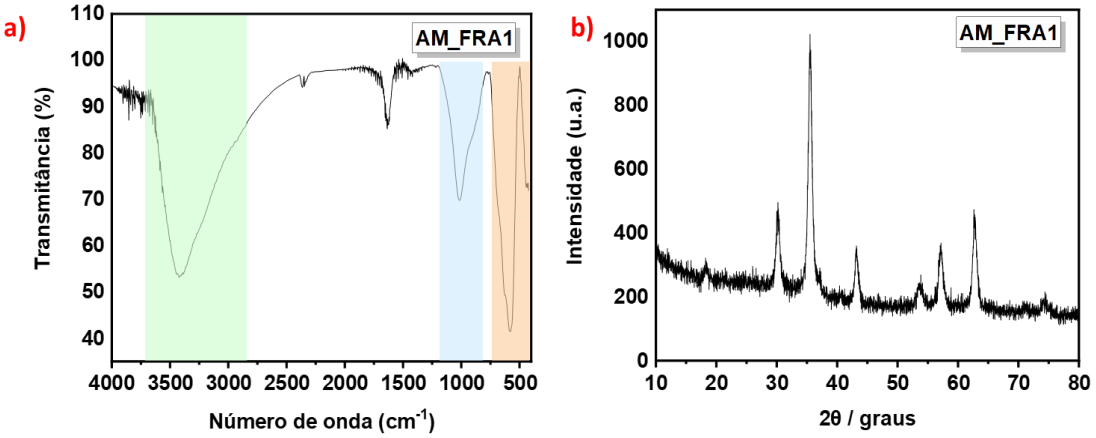
No procedimento de síntese proposto nesse trabalho, se ressalta a tentativa de simplificar o processo de coprecipitação tradicional que envolve a presença dos dois íons (férrico e ferroso) no meio de reação. Além disso, o preparo de soluções contendo íons ferrosos, assim como a solução na qual os íons férricos e ferrosos são misturados

precisam passar por onerosos processos de desaeração com gás inerte, geralmente N_2 ou Ar, para a remoção de parte de oxigênio dissolvido na água.[2,46,49] A geração *in situ* de íons ferrosos é esperada para minimizar os efeitos de processos de oxidação paralelos sem a necessidade do uso de gases inertes formando a fase magnetita com a participação dos íons ferrosos recém obtidos durante a reação com o sulfito. Nesse procedimento, a rápida formação dos íons ferrosos e sua injeção no meio alcalino é esperada para minimizar processos oxidativos. No entanto, durante o procedimento de síntese que resultou na formação da fase magnetita, foi notado a presença de uma pequena quantidade de partículas de cor marrom escura ou mesmo avermelhadas na superfície do material que permaneceu decantado durante as 24 horas de reação. Esse fenômeno foi atribuído a maior exposição dessas nanopartículas que ficaram na superfície do sólido decantado com a solução límpida que permaneceu acima do sólido durante a reação. Esta solução poderia estar mais rica em oxigênio dissolvido, uma vez que mesmo com o sistema de refluxo montado, a atmosfera interna no balão permanece aberta pela saída do condensador de Graham. Outro fato que levou à conclusão semelhante, é que em sínteses que foram realizadas em condições similares, mas com agitação durante o tempo de envelhecimento, resultaram na formação de precipitado marrom escuro (magnético) ou mesmo avermelhado (não magnético). Durante a agitação, o contato contínuo da suspensão com a atmosfera interna do balão resultou em maior oxidação do produto. A fase marrom escura, é associada à formação de maghemita (γ-Fe_2O_3), uma fase isoestrutural à magnetita, mas composta apenas com íons ferro no estado de oxidação 3+ e com propriedades magnéticas inferiores.

Na tentativa de evitar os processos oxidativos mencionados, foram realizados ensaios em um sistema utilizando um frasco de reação fechado. Para fins comparativos entre o uso do balão de três bocas e do frasco de reação, as amostras AM_FRA1, AM_FRA2 e AM_FRA3 foram preparadas de forma a analisar a correspondência da mesma síntese em balão de três bocas (AM_FRA1) com a diminuição da razão ferro-sulfito (AM_FRA2 em razão 1,5 e AM_FRA3 em razão 1).

Em AM_FRA1 os destaques no espectro FTIR (**Figura 18a**) indicam a presenta da magnetita por meio da banda intensa em torno de 580 cm^{-1} e a menor em torno de 400 cm^{-1}. O difratograma de raios X (**Figura 18b**) também evidencia a presença da fase magnetita no sistema.

Figura 18 – Difratograma de raios X e Espectro FTIR da amostra AM_FRA1

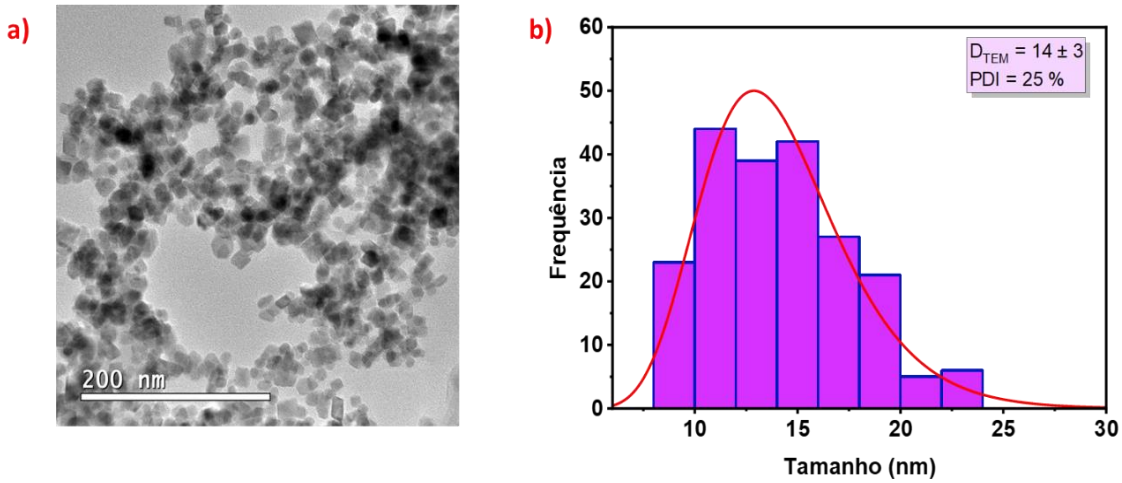


Fonte: Autoria própria.

A análise quantitativa indica que o valor de D_{TEM} foi de 14 ± 3 nm (**Figura 19b**), enquanto o tamanho médio de cristalito pelo método de Scherrer mostrou um valor de 12 nm. Apesar disso, o índice de polidispersividade foi de 25% (**Figura 19a**), indicando um sistema mais polidisperso do que o obtido em balão de três bocas observado para a amostra AM_SFH.

Em comparação, a síntese em frasco de reação apresentou partículas maiores, mas também polidispersividade maior, bem como a presença de formatos facetados e hastes, sugerindo haver a presença de outros óxidos de ferro em menor quantidade, como maghemita e goethita. A maghemita apresenta difratograma e espectro FTIR semelhantes aos da magnetita, por outro lado, a goethita apresenta bandas alargadas entre 800 e 1000 cm^{-1} que podem ter sido mascaradas pela banda de sulfato presente na superfície das partículas. Apesar de a maghemita não interferir nos resultados de hipertermia magnética, a goethita dissipa o calor absorvido pelas partículas magnéticas (magnetita e maghemita) e limita ou restringe a aplicação das nanopartículas produzidas. Assim, a presença de outros óxidos em concomitância ao produto esperado não é desejada.

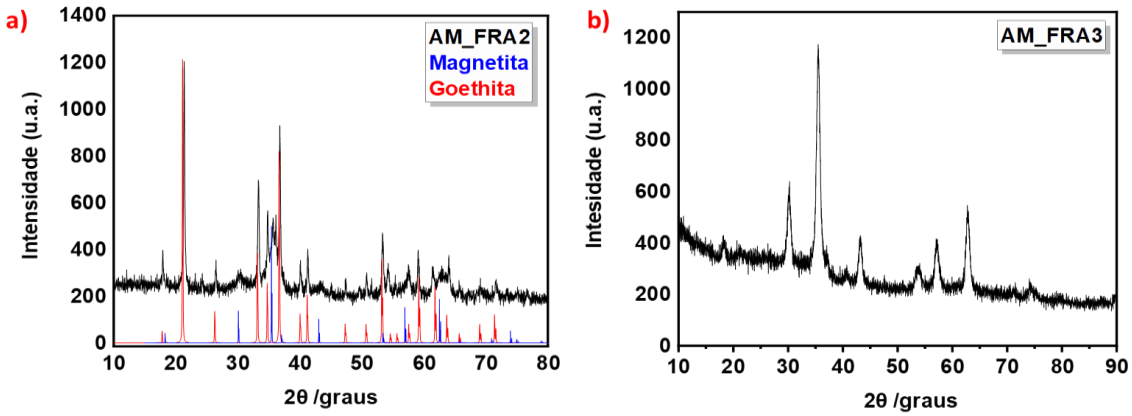
Figura 19 – Microscopia eletrônica e histograma da amostra AM_FRA1



Fonte: Autoria própria.

Dessa forma, a fim de avaliar a possibilidade de diminuição de interferentes no produto desejado, a amostra AM_FRA2 foi produzida com uma razão ferro-sulfito 0,5 vezes menor que AM_FRA1 e a amostra AM_FRA3 com uma razão de 0,5. A **Figura 20a** apresenta o difratograma da amostra AM_FRA2, em que se observa a correspondência a dois óxidos de ferro, magnetita e goethita, em maior proporção em relação à AM_FRA1. Na **Figura 20b**, a amostra AM_FRA3 apresenta maior correspondência à magnetita. O fato pode ser explicado pela diminuição proporcional de íons ferro que não conseguem ser reduzidos durante o processo apresentado pela **Equação 12** e consequente diminuição da produção de goethita, que é formada a partir do excesso de íons Fe^{3+}.

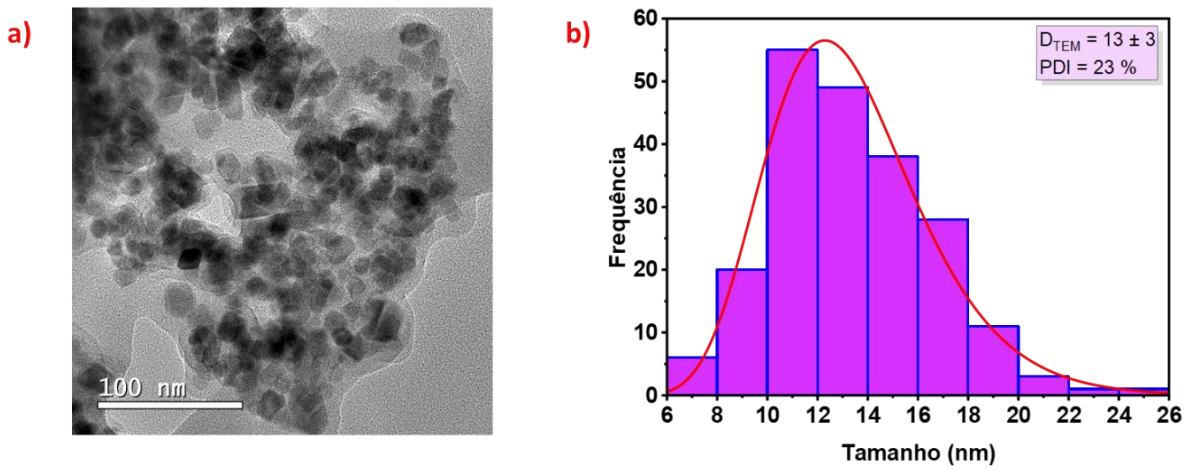
Figura 20 – Difratometria de raios X para as amostras AM_FRA2 e AM_FRA3



Fonte: Autoria própria.

A análise por microscopia eletrônica somente foi possível para a amostra AM_FRA3, pois AM_FRA2 foi insuficiente para tal. O que se observa na **Figura 21a** é a presença majoritária de partículas esféricas, o que se esperava para a amostra em questão. A parte b da figura indica o valor médio de 13 ± 3 nm para as partículas contabilizadas, o que corrobora o valor médio do tamanho de cristalito obtido pela equação de Scherrer (12 nm), sugerindo um sistema composto por monocristais. Além disso, apresenta um valor aceitável de polidispersão (23%), que indica haver homogeneidade de tamanho e forma das partículas produzidas.

Figura 21 – Microscopia eletrônica e histograma da amostra AM_FRA3



Fonte: Autoria própria.

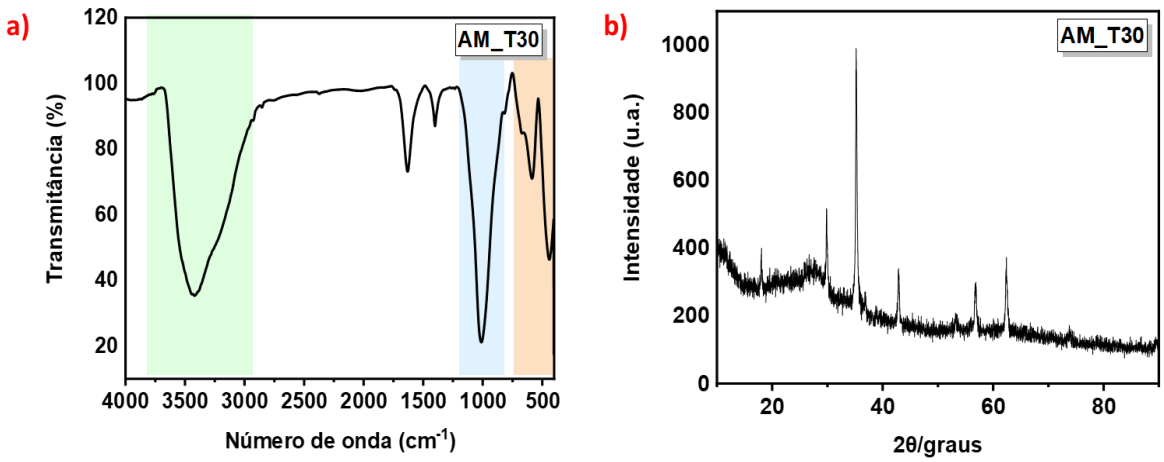
4.3 Temperatura

Há relatos que indicam que em sínteses aquosas em temperaturas abaixo de 100 ºC, óxidos de ferro são formados com morfologia granular fina arredondada (< 0,1 µm), cúbica ou cristais octaédricos.[12] Tais indícios dificultam a interpretação dos resultados obtidos em termos de semelhanças entre a magnetita e a maghemita, sendo que possuem os mesmos picos cristalográficos e morfologias semelhantes (magnetita frequentemente se apresenta esférica, mas pode ser identificada em formato cúbico, bem como se encontram as partículas de maghemita). Por outro lado, análises por espectroscopia no infravermelho permitem diferenciar suas estruturas. No entanto, sínteses em que se aplicam temperaturas mais próximas à 100 °C (para sínteses *overnight*) sugerem a formação de partículas mais homogêneas e em direção à formação de magnetita, principalmente.[12] Deve-se ao fato de que o maior tempo de síntese em altas temperaturas permite melhor amadurecimento das partículas como proposto por Ostwald. O mecanismo principal de crescimento de cristais em suspensões ocorre devido à diferença de energia entre superfícies curvas, explicado pela equação de Thomson-Freundlich. Partículas maiores consomem as menores, as quais possuem maior solubilidade que resulta em um gradiente de concentração de soluto no meio de reação. Em seguida, íons dissolvidos se dispersam para regiões de menor concentração de soluto e o crescimento das partículas ocorre pela reprecipitação dos íons.[50]

Assim, para avaliar a diferença de produto obtido entre sínteses *overnight* com temperaturas diferentes, a amostra AM_T30 foi produzida. O DRX da amostra AM_T30 (**Figura 22b**) apresenta reflexões características da fase magnetita, corroborando às correspondências apresentadas anteriormente. No entanto, o espectro FTIR (**Figura 22a**) apresenta bandas adicionais além das atribuídas à magnetita identificadas na região destacada em laranja. A intensa banda ao redor de 1020 cm^{-1} (destacada em azul), sugere ser uma sobreposição das bandas referentes aos grupos sulfatos presentes na superfície das nanopartículas e a presença de uma fase de oxihidróxido de ferro. Nesta região, a fase goethita (α-FeOOH) não apresenta bandas vibracionais características, mas sua fase isoestrutural γ-FeOOH (lepidocrocita) possui uma banda fina e intensa atribuída a deformação no plano de grupos hidroxilas estruturais (δ-OH). Uma segunda banda devido à mesma vibração

pode ser observada na região ao redor de 1350 cm^{-1}.[12] No DRX da amostra pode ser observado um halo de difração na região de 28° em 2θ. Nesta região seria esperado uma das reflexões mais intensas da fase lepidocrocita. Os dados de DRX sugerem que a fase lepidocrocita pode estar com baixa cristalinidade comparativamente às intensidades de difração observadas para a fase magnetita.

Figura 22 – Em a) espectro FTIR e b) difratograma de raios X e da amostra AM_T30

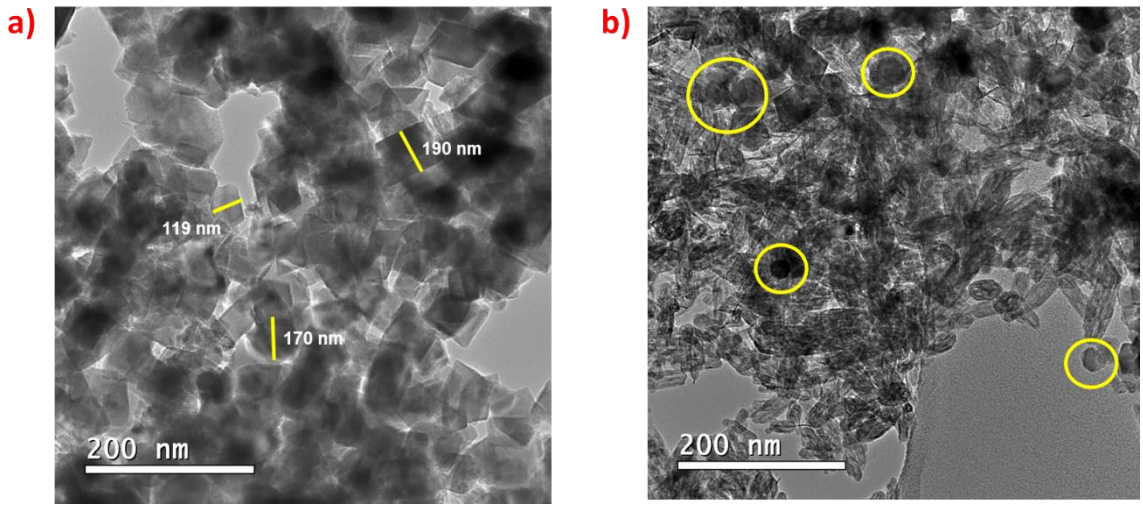


Fonte: Autoria própria.

A análise por microscopia eletrônica concorda com os apontamentos feitos até o momento. A **Figura 23b** indica a presença de partículas com formato acicular, com maior transparência ao feixe de elétrons, indicando menor cristalinidade. A forma acicular (mais exatamente a forma de agulhas) é tipicamente observadas nas fases de oxihidróxido de ferro(III), incluindo a fase lepidocrocita. A imagem da **Figura 23a**, mostra partículas com formato cúbico, maior contraste ao feixe de elétrons e tamanho ao redor de 180 nm. Essas partículas foram atribuídas à formação da fase magnetita. Com tamanho elevado e maior cristalinidade, a intensidade de difração nos dados de DRX acaba por mascarar a presença da fase lepidocrocita. Como as duas fases apresentam vibrações distintas na região do infravermelho, a presença do oxihidróxido pode ser feita através do espectro apresentado. Portanto, a redução da temperatura, de fato, não favorece a maturação da síntese. Em baixas temperaturas e longos tempos de reação/amadurecimento, os intensos processo de hidrólise alcalina levam

a maior oxidação de espécies de Fe(II) e ao favorecimento de fases do tipo oxihidróxido. Tal processo é, ainda, favorecido pelo menor processo difusional em baixas temperaturas.[54]

Figura 23 – Microscopia eletrônica da amostra AM_T30



Fonte: Autoria própria.

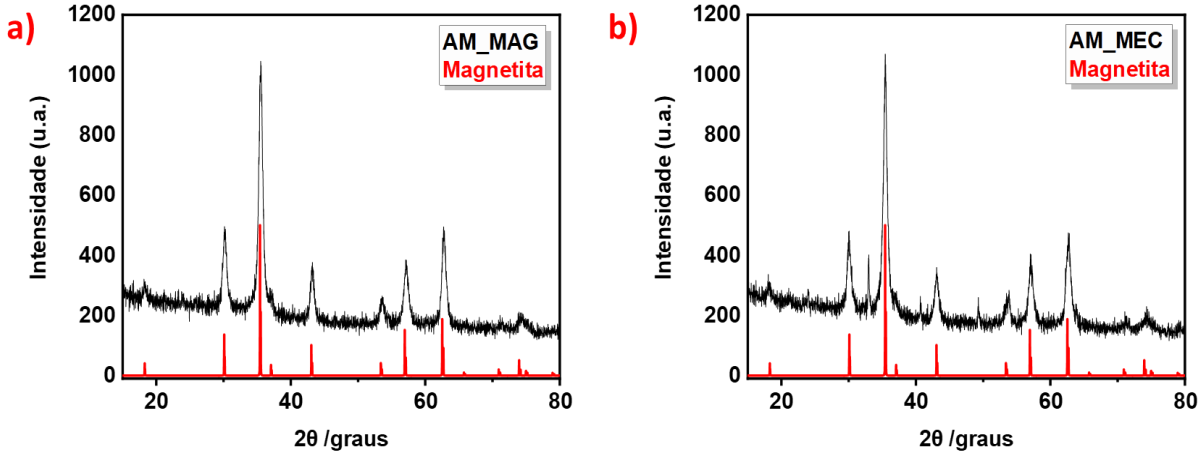
4.4 Tipo de agitação

É fato que a nanotecnologia é uma ciência em avanço, no entanto o que se sabe com certeza é que seu prognóstico se diferencia do mesmo processo realizado em macroescala. Por exemplo, o tipo de agitação utilizada no sistema de síntese aqui proposto pode sugerir o quanto a nanociência vem rompendo com o que já foi consolidado e o que se encontra em fase de desenvolvimento. Nesta etapa a diferenciação entre resultados obtidos por síntese sob agitação magnética e agitação mecânica são elucidados. Apesar disso, por se tratar de partículas magnéticas, conclusões não podem ser sumarizadas sem testes adicionais.

Para tanto, a amostra AM_MAG foi preparada mantendo-se o padrão de síntese observado na seção 3.1. Em concomitância, a amostra AM_MEC também foi preparada para verificar as diferenças entre ambas as sínteses, com agitação magnética e agitação mecânica, respectivamente. A análise por difratometria de raios X (**Figura 24**) indica haver uma pequena diferença nos dados, com o aparecimento de picos de difração em 33°, 41° e 49° em 2θ, os quais impossibilitaram sua

identificação com os padrões da base de dados utilizada, embora sugira alguma correspondência com uma fase conhecida como hidro-hematita ($Fe_2O_3.nH_2O$)[55] com reflexões próximas a estes valores. Pode-se inferir um maior grau de oxidação e possível formação da fase hematita (hidratada) pelo fato de que a síntese sob agitação mecânica permite que a atmosfera não inerte do sistema utilizado aja sobre a solução como um todo, pois a movimentação mecânica é mais ampla e intensa do que a magnética. Assim, o oxigênio em contato com o material precursor da magnetita direciona os processos de oxidação.

Figura 24 – Difratograma de raios X das amostras AM_MAG e AM_MEC

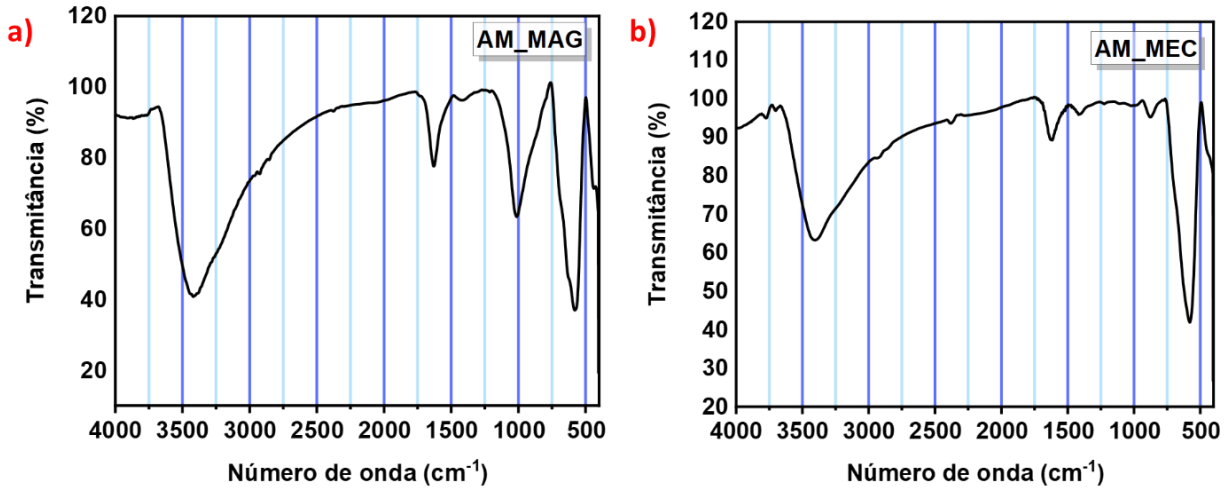


Fonte: Autoria própria.

Ambas as amostras originaram o óxido magnetita, caracterizado por uma banda alargada em torno de 580 cm^{-1} e uma banda menos intensa em 400 cm^{-1}. No entanto, contrariamente ao esperado, a espectroscopia (**Figura 25**) pôde revelar que a agitação mecânica promoveu uma suspensão mais empobrecida de sulfato residual (em torno de 1000 cm^{-1}). Por um lado, o sulfato pode ser considerado um interferente contaminante na amostra, pois não é de se esperar que sua formação seja em tamanha intensidade como vista em AM_MAG; por outro, tais íons podem estabilizar a suspensão para que não haja aglomeração e possível coalescência com o decorrer do tempo, além de evitar a oxidação da superfície das nanopartículas em uma maior extensão. Assim, não é possível concluir claramente a diferença entre os tipos de

agitação avaliados até o momento e testes adicionais necessitam serem realizados para estabelecer se há possíveis diferenças.

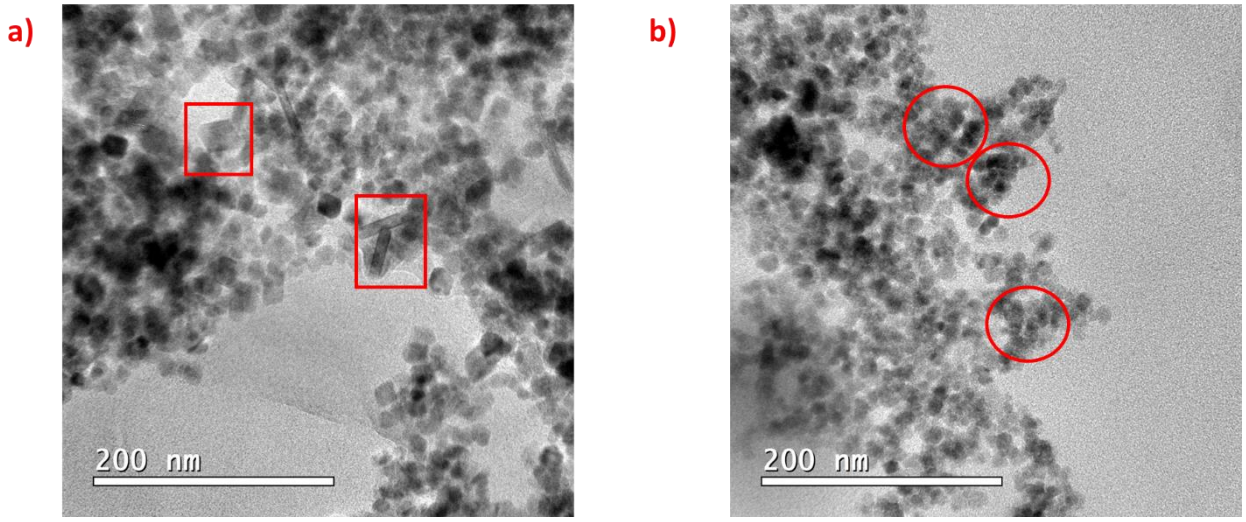
Figura 25 – Em a) espectro infravermelho das amostras AM_MAG e b) AM_MEC



Fonte: Autoria própria.

A análise por microscopia eletrônica apresenta uma diferença entre amostras em termos de composição. Na **Figura 26a** se observa a presença de partículas com morfologia na forma de bastonetes, podendo indicar a sutil presença de goethita na síntese por agitação magnética. A formação e adsorção de íons sulfato na amostra AM_MAG pode ter impedido a redução mais intensa do precursor de ferro, fazendo com que alguns núcleos de goethita fossem formados. Na **Figura 26b**, se observa a formação de *clusters*, muito provavelmente devido à baixa presença de íons sulfato na amostra AM_MEC. A presença de *clusters* também pode estar associada ao preparo da amostra nas grades de cobre utilizadas em análises por microscopia eletrônica, em que após adicionar a amostra que se encontra dispersa em solvente, este é evaporado, resultando na aproximação das partículas. Apesar de poder ser justificado pelo procedimento citado, não se observa o mesmo para a amostra AM_MAG, o que sugere que a menor presença de íons sulfato permitiu, de fato, maior aglomeração de partículas.

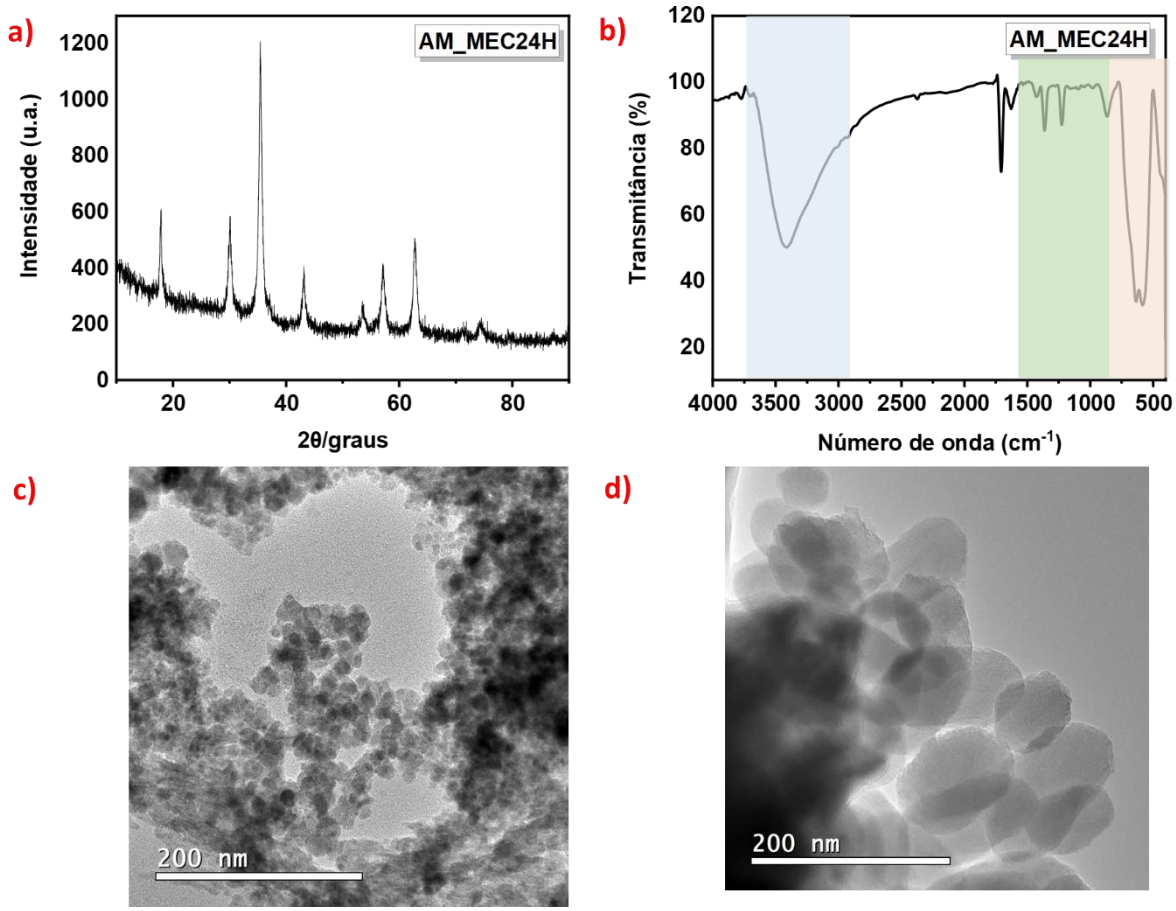
Figura 26 – Microscopia eletrônica das amostras AM_MAG e AM_MEC



Fonte: Autoria própria.

Para fins comparativos, uma nova amostra (AM_MEC24H) foi sintetizada a fim de avaliar a interferência da agitação mecânica durante o processo de envelhecimento. O contato contínuo da suspensão com a atmosfera interna do balão pela saída do condensador de Graham resultou em maior oxidação do produto que apresentou coloração marrom escura. Essa fase é associada à formação de maghemita (γ-Fe_2O_3), fase isoestrutural à magnetita, mas composta apenas com íons ferro no estado de oxidação 3+ e com propriedades magnéticas inferiores. Dessa forma, pode-se sugerir que a agitação mecânica é mais eficiente no momento de homogeneização da síntese em relação à agitação magnética, no entanto a formação de *clusters* pode prejudicar sua estabilidade no sentido de aglomerados massivos decantarem na suspensão e apresentarem valores não fidedignos em termos de taxa de absorção de calor.

Figura 27 – Em a) difratograma de raio X, b) espectro infravermelho, c) microscopia eletrônica da nucleação em estágio inicial e d) microscopia eletrônica do produto final da amostra AM_MEC24H



Fonte: Autoria própria.

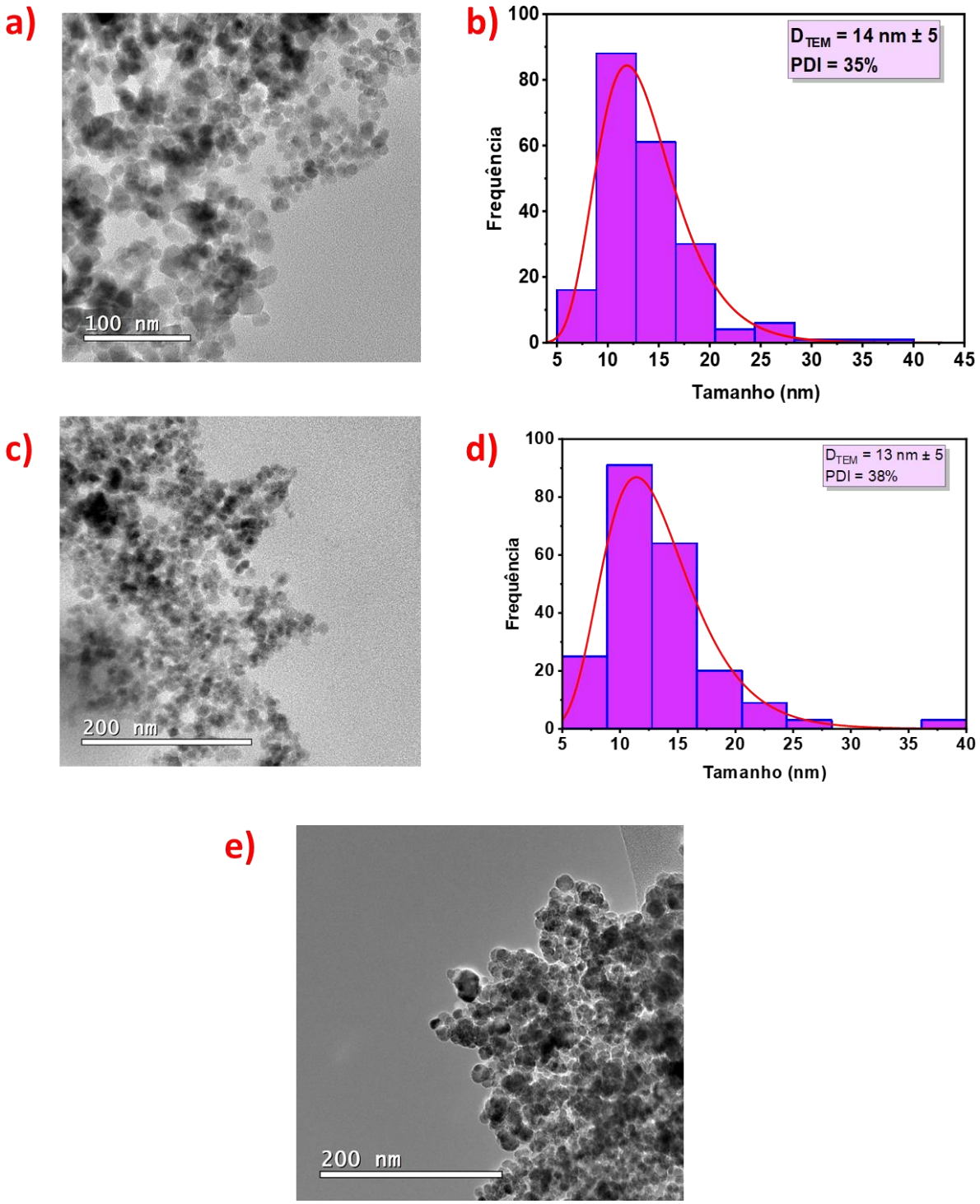
A partir do difratograma (**Figura 27a**), a hipótese crível é a formação de magnetita/maghemita, o que pode ser sugerido pelas análises de microscopia eletrônica. Imediatamente após a adição do complexo ferro-sulfito, uma alíquota foi retirada para tal análise (**Figura 27c**), mostrando uma ampla faixa de tamanho de partículas (elevada polidispersão) e um tamanho médio na faixa de 15-20 nm. Após o período de envelhecimento, a imagem na **Figura 27d**, mostra a formação de nanopartículas esferoidais com tamanho médio ao redor de 70-90 nm. A análise por FTIR (**Figura 27b**) mostra as bandas características da fase maghemita em torno de 630, 580 e 430 cm^{-1} devido aos estiramentos da ligação Fe-O, destacadas em vermelho. Já em torno de 1200 e 1300 cm^{-1} é possível observar duas bandas estreitas e de média intensidade as quais possuem certa correspondência à presença da fase ferrihidrita, mas isso não pode ser afirmado para a amostra.

A amostra apresentou coloração marrom escura, a qual pode ser associada à fase maghemita. Além disso, foi observado uma baixa resposta magnética ao se aproximar a amostra de um ímã, o que não é esperado mesmo para a fase maghemita (com magnetização pouco menor do que a fase magnetita). Desta forma, não é descartada a presença de outros óxidos de ferro na amostra, no entanto, diante das análises discutidas, os resultados sugerem que a fase majoritária é maghemita.

A análise por microscopia eletrônica de transmissão foi realizada para as amostras AM_MAG (**Figura 28a e b**) e AM_MEC (**Figura 28c e d**). Ambas as amostras apresentaram resultados similares em relação ao tamanho médio de partículas e de cristalito (método de Scherrer), inferindo que o tipo de agitação no estágio inicial da formação das nanopartículas não interfere no resultado final.

Pode-se comparar a **Figura 28c** à microscopia eletrônica obtida para uma alíquota retirada imediatamente após a adição do complexo ferro-sulfito ao sistema (**Figura 28e**), que apresenta uma homogeneidade aparente menor, indicando que o processo de envelhecimento favorece a diminuição da polidispersão do sistema, como esperado. Em linhas gerais, pouca informação pode ser obtida em relação ao parâmetro do tipo de agitação, já que ambos revelaram resultados muito similares. No entanto, para evitar o uso de uma atmosfera inerte (*blanket*) durante o tempo de envelhecimento, o sistema deve ser mantido em repouso e sem agitação. Embora a agitação possa favorecer o os processos de dissolução-recristalização no amadurecimento de Ostwald devido a maior taxa difusional, ela causa maior aeração no meio pelo contato entre as partículas e a atmosfera no interior do frasco de reação. Neste processo, os processos oxidativos são intensificados levando à formação da fase maghemita, além de outros óxidos de ferro não-magnéticos como hematita, ferridrita, goethita e lepidocrocita.

Figura 28 – Microscopia eletrônica de transmissão e histograma de tamanho de partículas para as amostras a) e b) AM_MAG e c) e d) AM_MEC. Em e), imagem TEM de uma alíquota da amostra AM_MEC retirada logo após a precipitação e antes do tempo de envelhecimento



Fonte: Autoria própria.

4.5 Controle nos processos de reação

4.5.1. Hidrólise

Os processos de hidrólise de óxidos de ferro ocorrem na presença de água, em que um sal de ferro no estado de oxidação 3+ se dissocia para formar um íon hexaaquoso, como observado na **Equação 13**.[12]

$$FeCl_3 + 6H_2O \rightarrow [Fe(H_2O)_6]^{3+} + 3Cl^- \qquad (13)$$

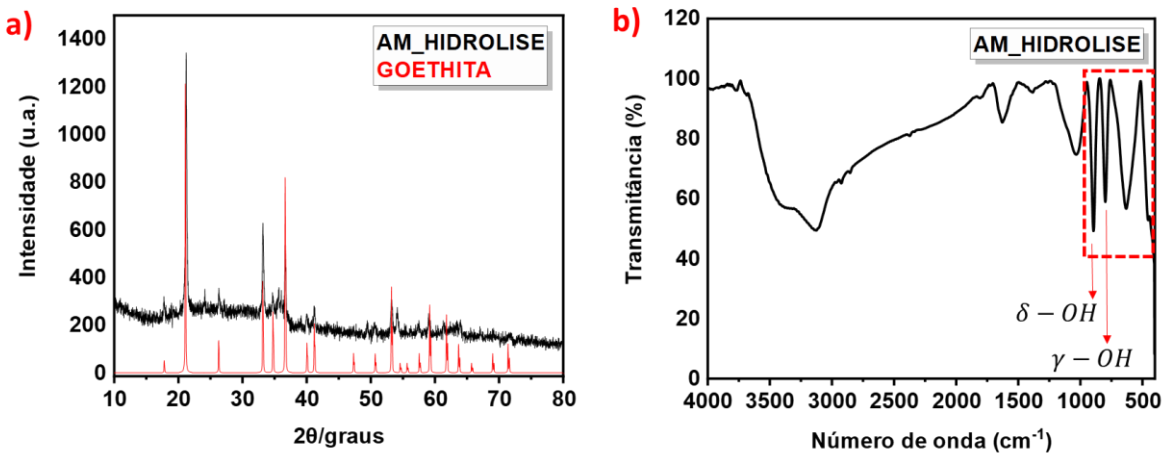
O cátion eletropositivo tem a função de induzir os ligantes H_2O a agir como ácidos e, exceto em pH baixo, ocorre hidrólise, isto é, a desprotonação destes ligantes. O processo é passo a passo, com todos os seis ligantes sendo desprotonados. A hidrólise completa corresponde à formação de um óxido de Fe^{3+} ou oxihidróxido, como observado nas **Equações 14 e 15**.[12]

$$[Fe(H_2O)_6]^{3+} \rightarrow FeOOH + 3H^+ + 4H_2O \qquad (14)$$

$$2[Fe(H_2O)_6]^{3+} \rightarrow Fe_2O_3 + 3H^+ + 9H_2O \qquad (15)$$

É de se esperar que a hidrólise seja induzida pela adição de uma base, por aquecimento ou diluição; tais fatores direcionam a síntese a produtos não desejados e todos eles estão presentes no procedimento padrão aqui apresentado. Assim, para evitar a hidrólise no meio de reação, o precursor de ferro foi solubilizado em ácido. A fim de concluir que na ausência de ácido o sistema aqui proposto tende a formar oxihidróxidos ou óxidos de Fe^{3+}, como delineado pela literatura, a amostra AM_HIDROLISE foi preparada sob as condições padrão já estabelecidas, exceto pela acidificação da solução de cloreto férrico. Na **Figura 29a**, o difratograma de raios X confirma a presença majoritária de um oxihidróxido de ferro, a goethita, de coloração amarelo palha e com correspondência aos planos cristalográficos através do padrão JCPDS 1-401.

Figura 29 – Difratograma de raios X e espectro infravermelho da amostra AM_HIDROLISE



Fonte: Autoria própria.

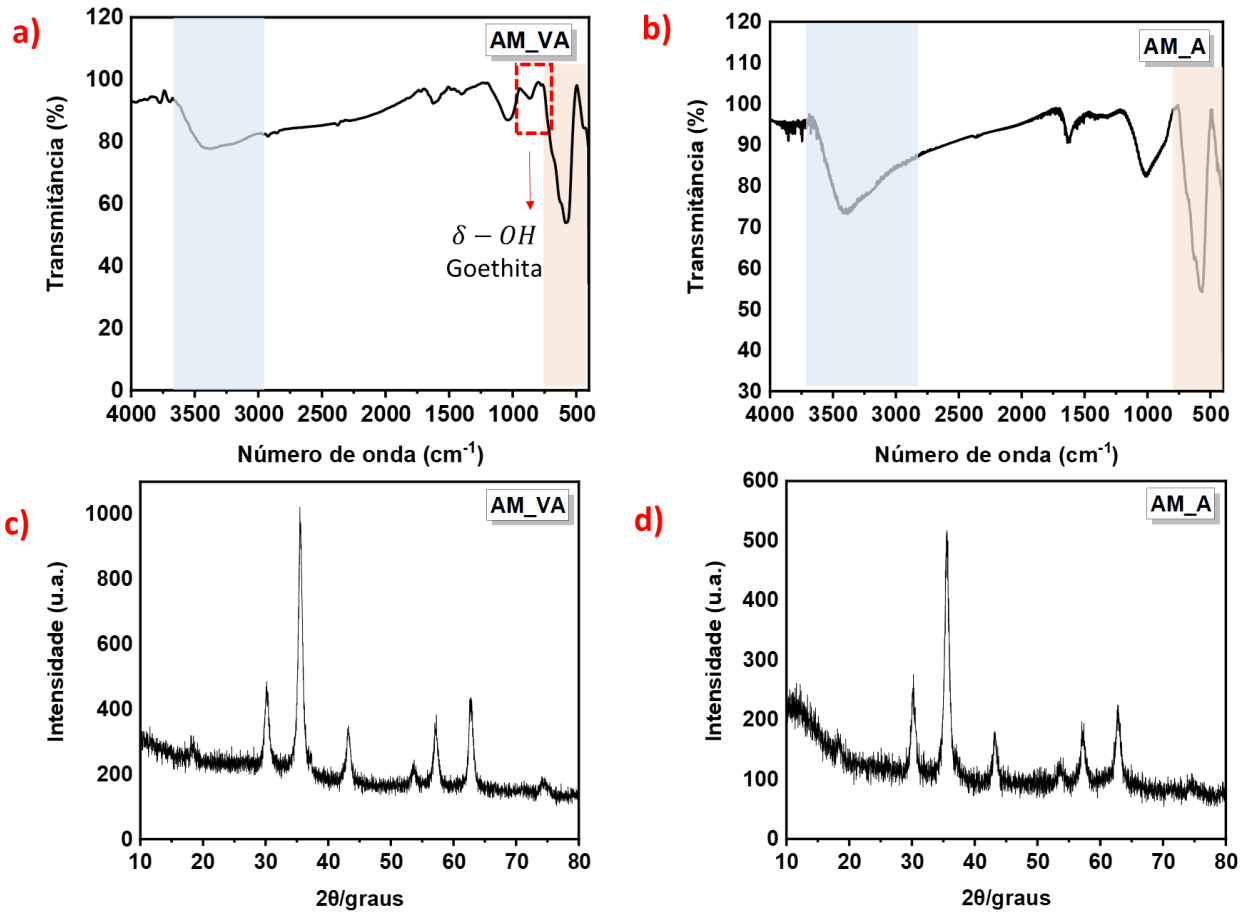
O espectro infravermelho destaca as vibrações para dentro e fora do plano da ligação OH, $\delta - OH$ e $\gamma - OH$, respectivamente em 892 cm^{-1} e 795 cm^{-1}. Partículas com baixa cristalinidade apresentam bandas alargadas, pois sua morfologia e cristalinidade influenciam o estiramento simétrico da ligação Fe-O em torno de 630 cm^{-1}, tal vibração corresponde a um momento transverso; já em 397 cm^{-1} uma vibração antissimétrica na ligação Fe-O se apresenta paralela ao plano [100] e não atua na forma e cristalinidade da partícula.

4.5.2 Intervalo (preparação-injeção) do complexo ferro-sulfito

Um dos fatores que influenciam a produção do material desejado é o intervalo entre a preparação e a injeção no meio de reação do complexo formado entre a solução ácida de cloreto férrico hexahidratado e sulfito de sódio, que segue a **Equação 12**. Imediatamente após a mistura das duas soluções, ocorre a mudança da cor laranja (típica da solução contendo íons férricos) para um vermelho intenso. A coloração vermelha indica a formação do complexo de Fe(III) com os íons sulfito. A composição química exata do complexo não é totalmente estabelecida na literatura e, por isso ele foi chamado como [Fe-SO_3].[18] A coloração vermelha vai gradativamente

mudando para laranja e posteriormente para amarelo, indicando a ocorrência da redução dos íons Fe^{3+} à Fe^{2+} e a oxidação de sulfito à sulfato no meio de reação. Não é possível estabelecer, por via simples, quando o processo redox foi finalizado, se há alguma ocorrência de possível reoxidarão dos íons ferrosos à férricos se a solução for mantida exposta ao ar por longo tempo. Para fins comparativos e avaliar em qual momento a solução do complexo deve ser injetada no meio alcalino, duas amostras foram preparadas para avaliar o produto obtido a partir do complexo de transição (vermelho-amarelo) e do complexo integralmente completo (amarelo), respectivamente AM_VA e AM_A. A **Figura 30** apresenta os difratogramas de raios X e espectros infravermelho das amostras, em que se conclui ter havido a formação dos óxidos maghemita e goethita em AM_VA e magnetita/maghemita em AM_A. O pequeno traço de goethita observado em 30a é devido ao excesso de íons Fe^{3+} que permaneceram em solução pela adição do complexo transiente, o que de acordo com as **Equações 15, 16** e **17** leva à formação de óxidos de Fe^{3+}. Apesar disso, o difratograma indica prevalência de magnetita/maghemita, bem como a coloração da solução final, marrom escura e preta. Em AM_A já se esperava a formação do óxido obtido, a magnetita com prováveis traços de maghemita. Embora em ambas as soluções fosse esperado apenas a obtenção de magnetita, o sistema aberto e, portanto, a atmosfera rica em oxigênio, permite a oxidação das partículas que ficam na superfície, levando-as parcialmente à fase maghemita.

Figura 30 – Difratograma de raios X e espectros infravermelho das amostras AM_VA e AM_A



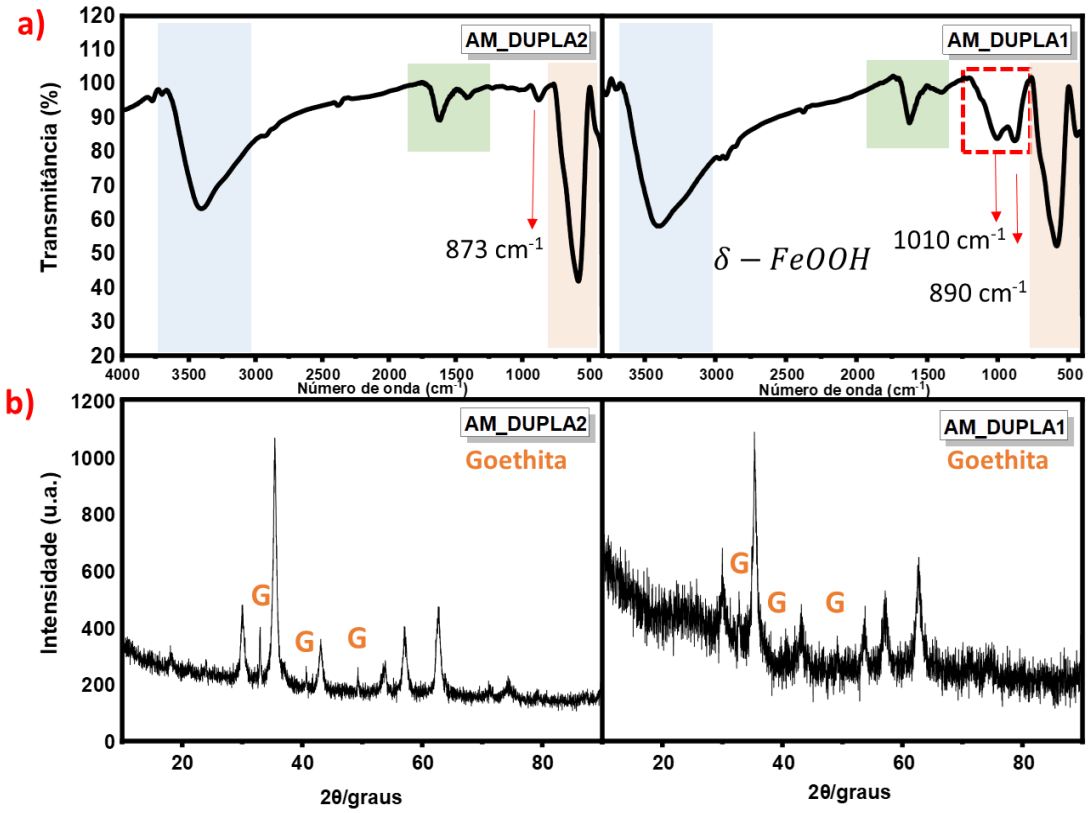
Fonte: Autoria própria.

4.5.3 Dupla injeção do complexo ferro-sulfito

O intuito de desenvolver a síntese por meio de dupla injeção do complexo [Fe-SO_3] é avaliar a hipótese levantada pelo Princípio de Le Chatelier, cujo pressuposto reside no fato de que ao perturbar um sistema, seja por variação de temperatura, pressão, adição ou retirada de reagentes ou produtos, existe um deslocamento na direção com que a reação se processa, o qual se reorganiza através de um novo equilíbrio no meio de reação. Dessa forma, foram propostas duas sínteses nesta etapa, AM_DUPLA1 e AM_DUPLA2. Na primeira amostra, a solução alcalina foi aquecida e o volume adequado de complexo foi adicionado à quente. Passadas

algumas horas, novo volume do complexo foi acrescentado à solução. Em AM_DUPLA2, além de acrescer o complexo após algumas horas, também foi acrescentado volume de NaOH, visando avaliar a diferença na manutenção de um meio alcalino, no qual a NPSPM se desenvolve. Como consequência, pode-se observar através da **Figura 31** que ambas as amostras permitiram a obtenção de magnetita. No entanto, traços de goethita podem ser sugeridos pelo difratograma de raios X, em que as letras G em cor laranja apresentam seus possíveis picos cristalográficos. Concordante à análise por DRX, o espectro infravermelho (**Figura 31a**) confirma a presença do oxihidróxido FeOOH no sistema pelas bandas em 873, 890 e 1010 cm^{-1}. No destaque em laranja, observa-se a presença das bandas de vibração típicas de magnetita em torno de 580 e 400 cm^{-1}.

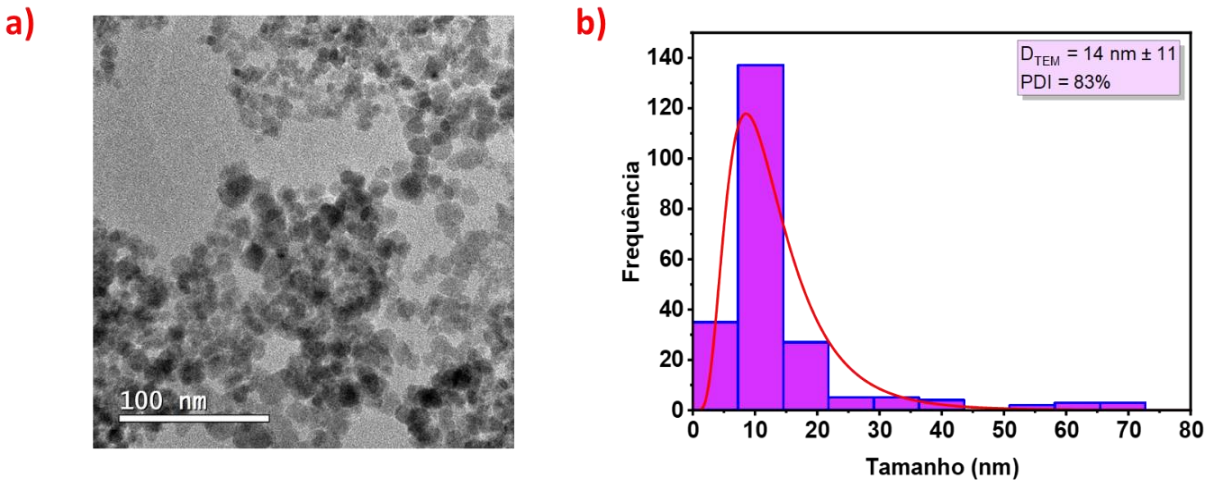
Figura 31 – Difratograma de raios X e espectro infravermelho das amostras a) AM_DUPLA2 e b) AM_DUPLA1



Fonte: Autoria própria.

Por meio da análise por microscopia eletrônica pôde-se notar a presença de partículas esféricas, facetadas e aciculares (goethita), além de apresentarem dimensões distintas, como observado pelo cálculo do índice de polidispersividade na **Figura 32**. O cálculo de tamanho de cristalito médio, obtido pela equação de Scherrer, foi de 13 nm para as duas amostras. A baixa resolução das imagens obtidas para AM_DUPLA2 não permitiu uma análise consistente, bem como não pôde ser desenvolvido o histograma para fins comparativos à AM_DUPLA1. Dessa forma, a **Figura 32** apresenta a amostragem de AM_DUPLA1 e uma imagem representativa por microscopia eletrônica.

Figura 32 – Microscopia eletrônica e histograma da amostra AM_DUPLA1



Fonte: Autoria própria.

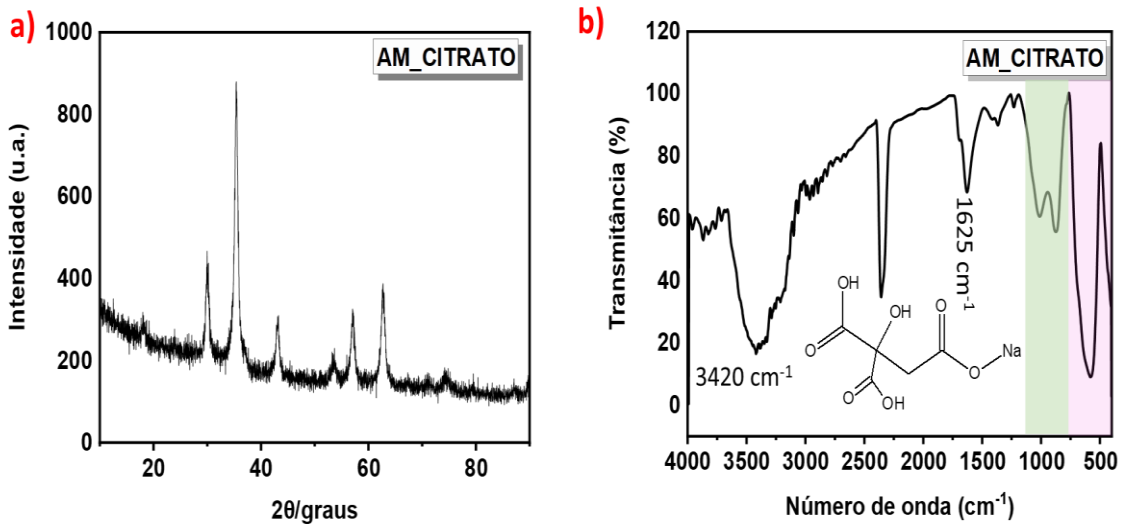
Nota-se que o valor calculado referente ao tamanho médio de partículas foi de 14 nm, valor próximo ao obtido por Scherrer. No entanto, não se pode inferir um sistema de monocristais pois o intervalo de erro, calculado por meio do desvio padrão, se encontra elevado, bem como o PDI em torno de 83%. Tais dados indicam que o sistema se encontra mais polidisperso do que monodisperso, o que interfere nas propriedades desejadas para o material. A dupla injeção foi idealizada com o intuito de permitir o aumento do tamanho das nanopartículas para a faixa desejada, ao redor de 25 nm. O que se esperava era a ocorrência de um processo de heterocoagulação, em que os monômeros recém-formados se depositassem sobre a superfície das nanopartículas já existentes. No entanto, através dos valores de polidispersão e

tamanho obtidos, é possível inferir que ocorreu uma segunda nucleação seguida de crescimento, tanto em novos núcleos como nas partículas existentes. Esse procedimento precisa ser otimizado e explorado, pois parece promissor para promover o aumento do tamanho das nanopartículas.

4.5.4 Adição de citrato de sódio

Nesta etapa, a tentativa de adicionar citrato de sódio à solução buscou permitir um recobrimento nas NPSPM durante o processo de síntese objetivando evitar processos de aglomeração e formação de clusters, pois tais fatores resultam em um aumento da partícula de maneira não controlada, interferindo nos objetivos aqui propostos. Após síntese, a amostra AM_CITRATO foi caracterizada por DRX e FTIR (**Figura 33**). Os resultados de DRX indicam a formação de magnetita no sistema e a partir do espectro FTIR nota-se que os íons citrato substituíram os íons sulfatos na superfície das nanopartículas. A substituição dos grupos de superfície pode ser observada através das bandas na **Figura 33b** atribuídas aos modos de estiramento assimétrico (1625 cm^{-1}) e simétrico (1360 cm^{-1}) das ligações COO^- e da banda de estiramento C-H na região de 800 cm^{-1}.[56,57]

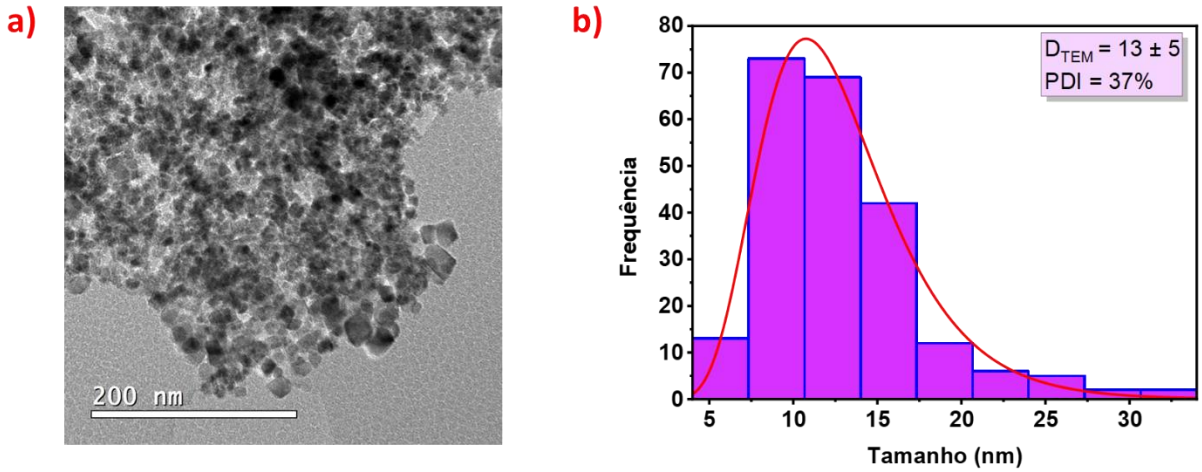
Figura 33 – Difratograma de raios X e espectro FTIR da amostra AM_CITRATO



Fonte: Autoria própria.

Através da microscopia eletrônica apresentada na **Figura 34**, é possível observar a morfologia esférica característica da magnetita, bem como algumas partículas facetadas, que também podem sugerir a mesma. Além disso, seus tamanhos diversos são congruentes ao valor de PDI calculado, 37%, indicando elevada polidispersão. Pela equação de Scherrer o valor de τ foi de 12 nm, o que corresponde ao calculado pelo software ImageJ (13 nm) no procedimento de contagem de partículas.

Figura 34 – Microscopia eletrônica e histograma da amostra AM_CITRATO



Fonte: Autoria própria.

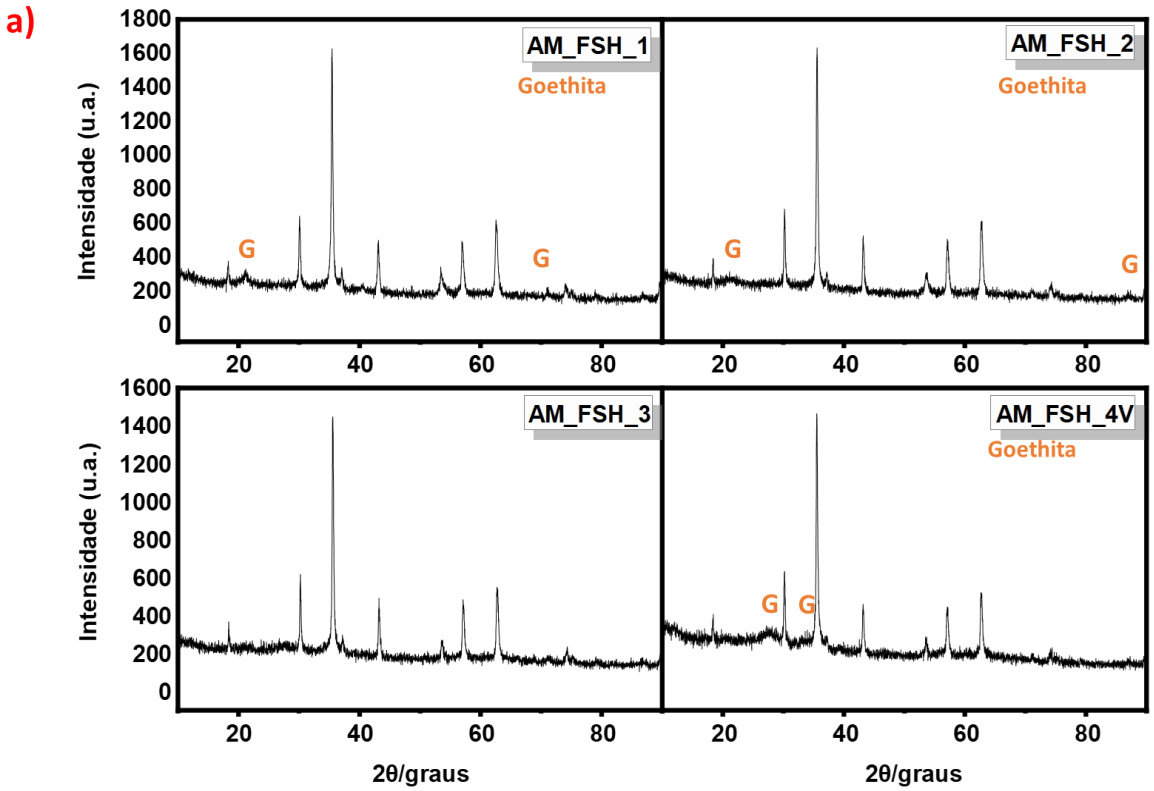
Conclui-se que a adição de citrato ao meio de reação não favoreceu o processo como esperado, tendo sido apenas mais um interferente e contaminante de superfície, pois assim como o sulfato, o citrato também se localiza na superfície da partícula, o que sugeriria o recobrimento das NPSPM, porém, o que de fato se obteve foi um resultado semelhante às outras sínteses desenvolvidas.

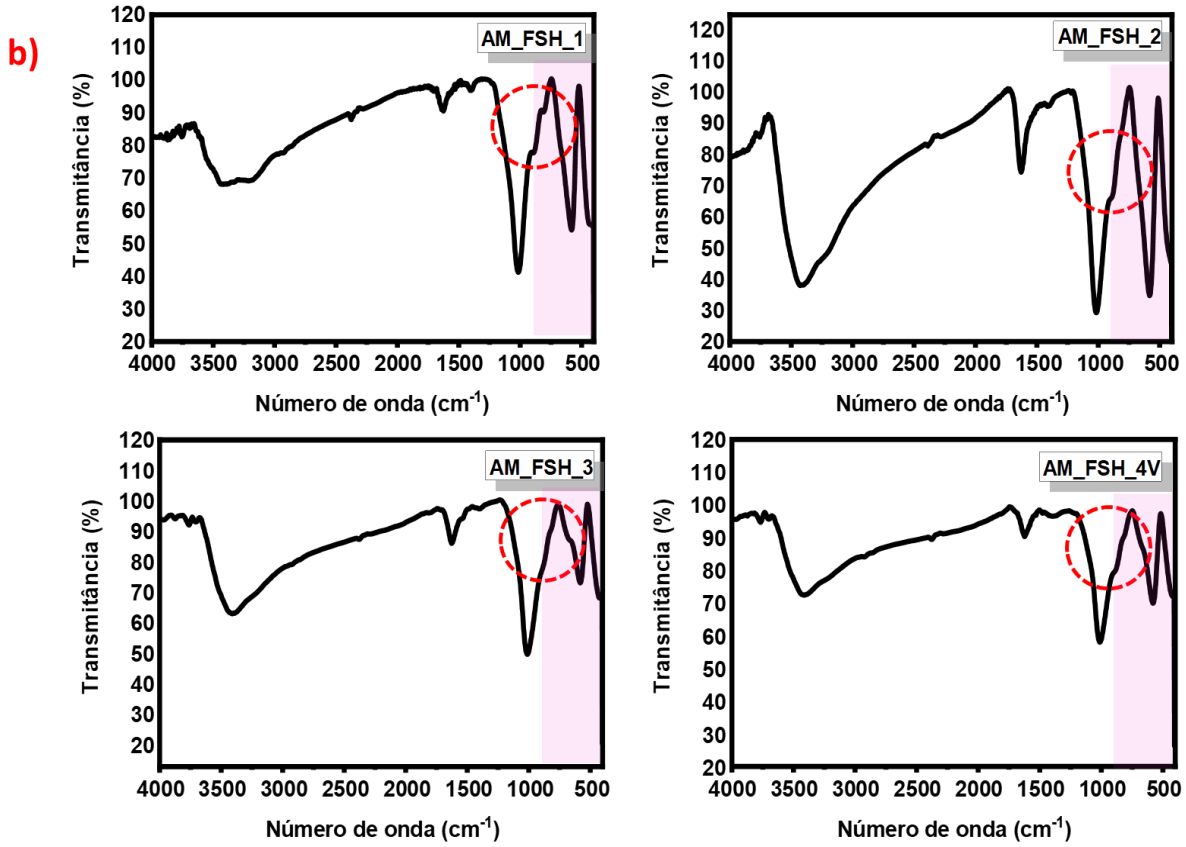
4.6 Adição de álcali gradativa ao sistema

A síntese de NPSPM mostrou-se dificultosa no que tange o aumento controlado do tamanho das partículas, assim, em mais uma tentativa de promover o aumento

desejado, quatro novas sínteses foram propostas com uma modificação significativa ao procedimento padrão apresentado. Nestes testes, o complexo ferro-sulfito foi adicionado ao solvente de reação, aquecido e em seguida a base foi acrescentada, de modo similar ao realizado na amostra AM_FSH, portanto as novas sínteses foram nomeadas de AM_FSH_1, AM_FSH_2, AM_FSH_3 e AM_FSH_4V. As sequências 1, 2 e 3 representaram a triplicata do procedimento experimental, objetivando a repetitividade do resultado, pois mostrou-se favorável nas análises inicias por DRX e FTIR. Já a amostra AM_FSH_4V foi preparada com o intuito de avaliar a obtenção do mesmo resultado em proporção dobrada, isto é, os volumes foram dobrados (em 1, 2 e 3 sequenciais o volume final foi de 40 mL, já em 4V, o volume foi de 80 mL finais). A **Figura 35** mostra os dados de difratometria de raios X e espectro FTIR das amostras supracitadas.

Figura 35 – Em a) difratograma de raios X b) e espectros FTIR das amostras AM_FSH_1, AM_FSH_2, AM_FSH_3 e AM_FSH_4V





Fonte: Autoria própria.

Nota-se que a análise por DRX indica ter havido a formação do produto magnetita e uma pequena fração de goethita em todas as amostras, com exceção da amostra AM_FSH_3. Concordante aos espectros FTIR na **Figura 35b**, todas as amostras apresentam sugestões de FeOOH em seu sistema. Em destaque vermelho pode-se observar os ombros no gráfico em torno de 890 e 790 cm^{-1} indicando as vibrações OH do oxihidróxido de ferro(III).[12]

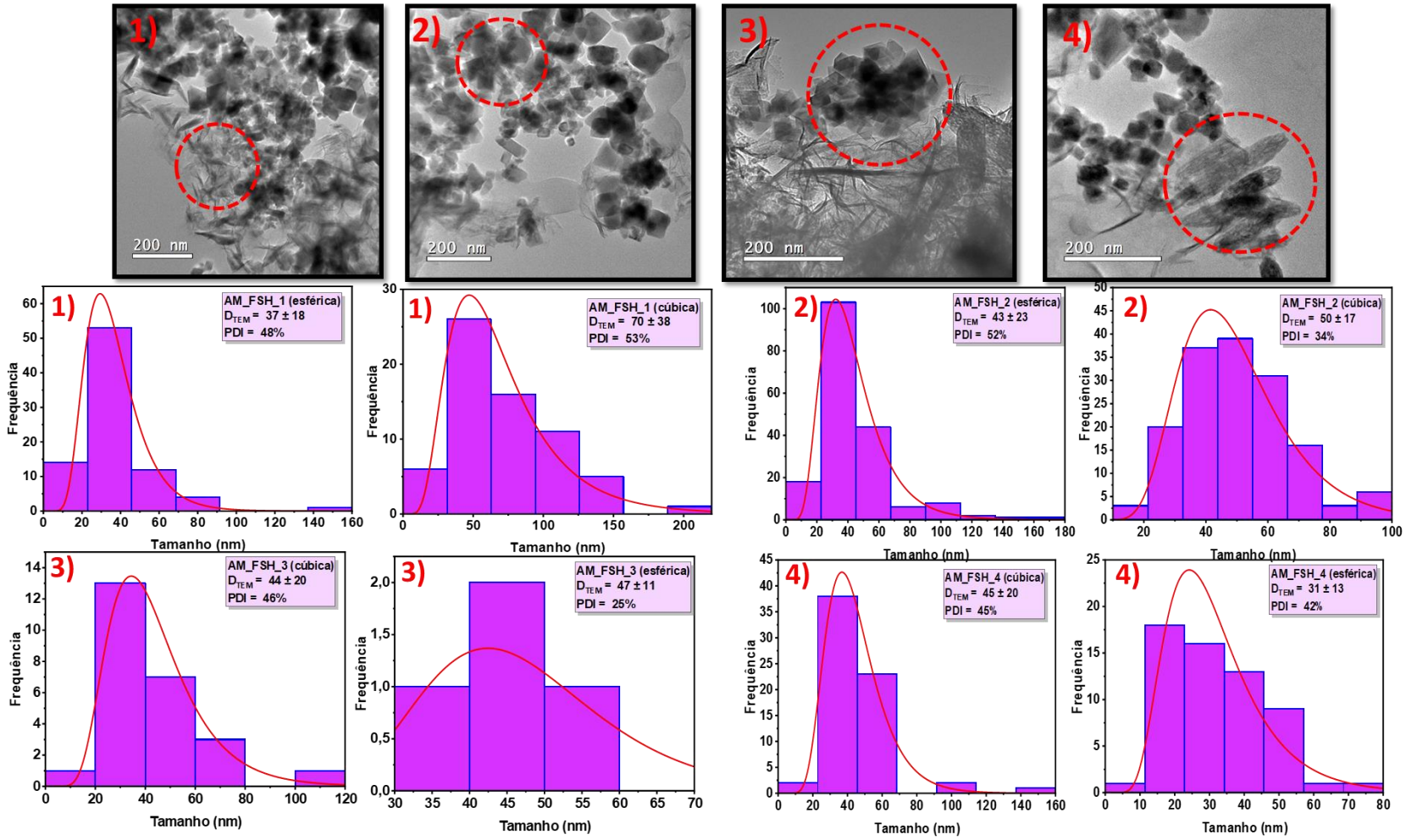
Os valores obtidos de τ para as amostras apresentadas foram 29, 29, 32 e 31 nm, respectivamente para a sequência de amostras mencionada anteriormente. Os dados de tamanho médio de cristalito foram animadores ao que parece ter refletido em um aumento do tamanho das nanopartículas. No entanto, através da análise por microscopia eletrônica (**Figura 36**) pôde-se notar a diversidade em morfologia e tamanho das amostras, seus elevados valores de PDI corroboram à essa análise. Fato a ser observado também é o aparecimento de partículas cúbicas e esféricas atribuídas à fase magnetita, o que impossibilitou a contagem adequada de partículas no sistema, pois o número de NSPSM esféricas não foi suficiente para tal análise. Assim, foram

consideradas para análise o tanto de nanopartículas quanto se pôde contar, no entanto, apenas com fins comparativos.

Os destaques em vermelho apresentam os *clusters* que se encontram em todas as amostras, bem como as partículas aciculares que são características de FeOOH no sistema. O aparecimento da fase goethita pode ser explicado pela forma como se desenvolveu o processo da síntese. Quando o precursor de ferro foi adicionado à água, a diluição levou à menor concentração de ácido clorídrico na mistura. O HCl possui duas funções importantes na reação proposta: (i) permitir que ocorra a reação de redução dos íons Fe(III) a Fe(II) após a formação do complexo com os íons sulfito e (ii) impedir que ocorram reações de hidrólise dos íons Fe(III) em solução para permanecem na forma do complexo hexaaquoférrico ($[Fe(H_2O)_6]^{3+}$) evitando a formação de clusters de ferrihidrita que evoluem para a formação de FeOOH em meio alcalino.

Como a temperatura do meio de reação foi aumentada para 90 °C após a adição do ferro, o meio fracamente acidificado não impediu o início dos processos de hidrólise e condensação, acelerados com o aumento de temperatura. O efeito foi visível pela leve turvação da solução. Com a adição da solução de sulfito, íons Fe(III) livres na solução permitiram a formação do complexo, mas mais uma vez, se acredita que a baixa concentração de ácido tenha interferido na reação de redução e não tenha gerado íons Fe(II) na quantidade estequiométrica desejada para a formação da magnetita. Esses dois fenômenos podem explicar o surgimento da fase goethita, a qual se forma a partir de íons Fe(III) que devem ter permanecido em excesso na solução e, também, como evolução dos processos de hidrólise e condensação de clusters de ferrihidrita em meio alcalino, logo após a adição da base.

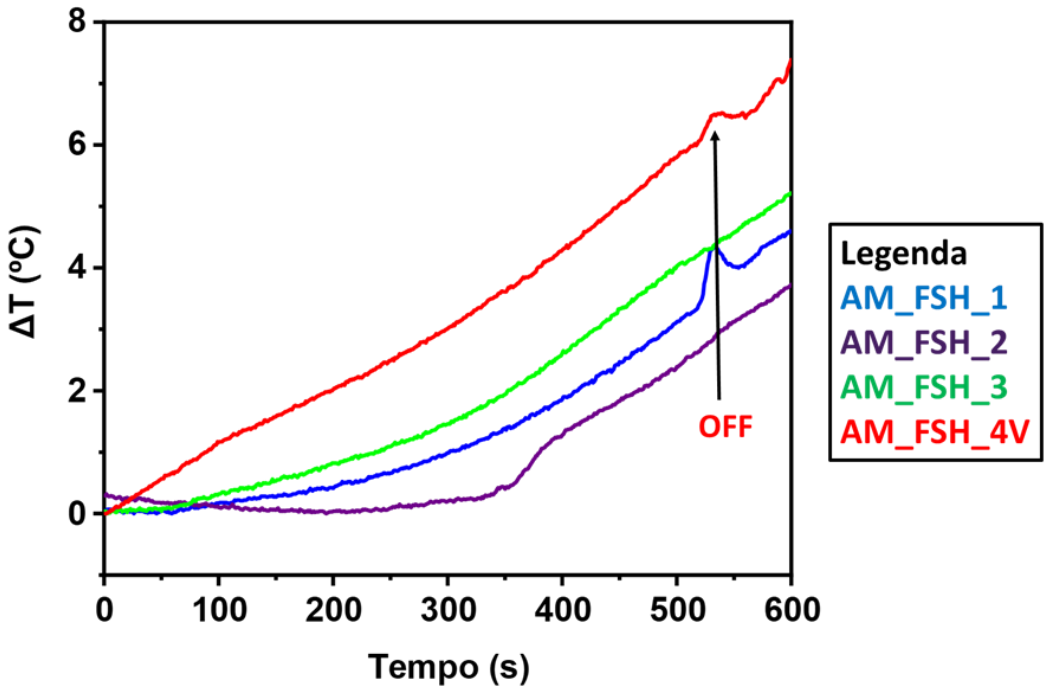
Figura 36 – Microscopia eletrônica e histograma das amostras AM_FSH_1, AM_FSH_2, AM_FSH_3 e AM_FSH_4V



Fonte: Autoria própria.

A partir dos resultados observados, foram conduzidos os estudos de hipertermia magnética a fim de avaliar o potencial das amostras sintetizadas. Dessa forma, medidas de HM foram realizadas com base no comportamento das nanopartículas quando um campo magnético alternado é aplicado. Na **Figura 37** observa-se os resultados de hipertermia (aquecimento) em função do tempo para suspensão de nanopartículas nas concentrações de 5 $mgmL^{-1}$.

Figura 37 - Hipertermia magnética das amostras AM_FSH_1, AM_FSH_2, AM_FSH_3 e AM_FSH_4V em 600 segundos, medida em campo magnético alternado e frequência de 24 mT e 109,6 kHz



Fonte: Autoria própria.

O princípio da hipertermia magnética consiste em aplicar um campo magnético alternado em um fluido magnético que aquecerá a região tumoral e promoverá o desdobramento e agregação de proteínas, danos na membrana celular e ruptura do citoesqueleto celular.[58,59] O microambiente hipóxico e ácido em que o tecido tumoral se desenvolve é altamente sensível à aquecimento, enquanto as células saudáveis ao redor não são danificadas em sua maioria.[58]

Dessa forma, os ensaios foram realizados em solução aquosa utilizando as nanopartículas para otimização dos parâmetros de síntese em relação às

propriedades hipertérmicas, de intensidade de campo alternado e frequência aplicados. A energia necessária para o aquecimento é obtida por acoplamento de radiação eletromagnética e o momento magnético das nanopartículas. De maneira simplificada, a energia é convertida em calor devido às flutuações mecânicas (Brown) e magnéticas (Néel). Para tanto, a taxa de absorção específica ou perda de energia específica (SLP, do inglês *Specific Loss Power*) se relaciona à potência absorvida por unidade de massa do material magnético e pode ser obtida através da **Equação 4**.

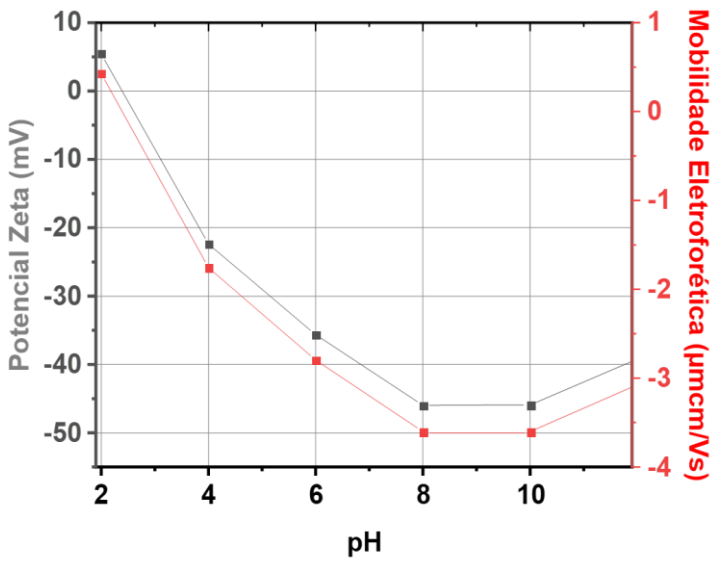
A análise do gráfico de hipertermia permite avaliar a amostra AM_FSH_4V com o melhor desempenho, pois apresentou um aumento de 6°C em 500 segundos. Tais dados, quando associados ao cálculo de SAR auxiliados pelo uso da equação de Lucas-Box, fornecem um indicativo de material adequado ou não para o tratamento por hipertermia. A terapia baseia-se na ideia de que é possível destruir as células cancerígenas malignas por meio destes aquecedores em nanoescala, que se direcionam no sentido de aquecer o alvo até a sua destruição, consequentemente tratando o paciente de dentro para fora.[51] Assim, para minimizar o desconforto do aquecimento prolongado e encurtar o tempo de tratamento de pacientes, as nanopartículas devem aquecer rapidamente e, dessa forma, a SAR deve ser maximizada. [52] Insatisfatoriamente, o valor de SAR calculado para AM_MP foi de 3 Wg^{-1}. A literatura reporta valores entre 29 e 82 Wg^{-1} para ferrofluidos de magnetita similares à produzida, porém em altas frequências (400 kHz e 6,5 kAm^{-1}). Altas frequências, de fato, apresentam melhores resultados, no entanto, existe um limite máximo a que se pode submeter o tecido humano ao aquecimento por tal terapia, assim, novos dados não foram colhidos em frequências mais altas. O equipamento clínico experimental disponível para este tipo de terapia em cânceres apresenta amplitude entre 25 e 30 mT (Magforce Nanoativator, campo máximo de 18 kAm^{-1} ou 226 Oe) e trabalha em frequência fixa de 110 kHz.[53]

Além disso, o baixo valor calculado é justificado pela presença de goethita no sistema, que não responde ao campo magnético (material não magnético), e dissipa o calor produzido pelas nanopartículas de magnetita. Em adição, a baixa estabilidade pôde ter interferido nos resultados de hipertermia magnética, pois em poucos minutos se observou a decantação das nanopartículas no vial utilizado. Dessa forma, para avaliar quantitativamente a estabilidade coloidal do sistema, medidas de determinação

de potencial de superfície e de distribuição de tamanho hidrodinâmico foram conduzidas por potencial zeta e DLS, na concentração 5 mgL^{-1} na presença de NaCl como eletrólito de suporte. Valores acima de ±30 mV são indicativos de excelente estabilidade, acima de ±20 mV indicam boa estabilidade, em torno de ±10 mV, baixa estabilidade e de -5 a 5 mV o sistema apresenta rápida agregação.[52,54,55]

A **Figura 38** sugere que entre os valores de pH de 4 a 12, uma grande carga em superfície é observada, indicando boa estabilidade e repulsão eletrostática entre as partículas. Já em pH 2, apresentam baixa estabilidade e consequentemente rápida agregação. O gráfico de potencial zeta e mobilidade eletroforética em função do pH, indica que em pH neutro (pH igual a 7) a superfície das partículas é carregada negativamente, demonstrando estabilidade e corroborando a finalidade do material, que é a aplicação biológica de suspensões estáveis em pH próximo de 7. No entanto, era esperado que no ponto isoelétrico (IEP) pH_{IEP} a magnetita apresentasse valores entre 6 e 6,8, o que se observa é um pH_{IEP} entre 2 e 3.[2,40] Esse resultado pode ser justificado justamente pela presença da impureza na forma de íons sulfato adsorvidos na superfície das nanopartículas. Embora tratados como impurezas, essas moléculas conferem elevada carga negativa a superfície das nanopartículas, baixando o valor do seu pH_{IEP} e conferindo elevada estabilidade em valores de pH neutro e alcalinos.

Figura 38 – Potencial Zeta e mobilidade eletroforética da amostra AM_FSH_4V

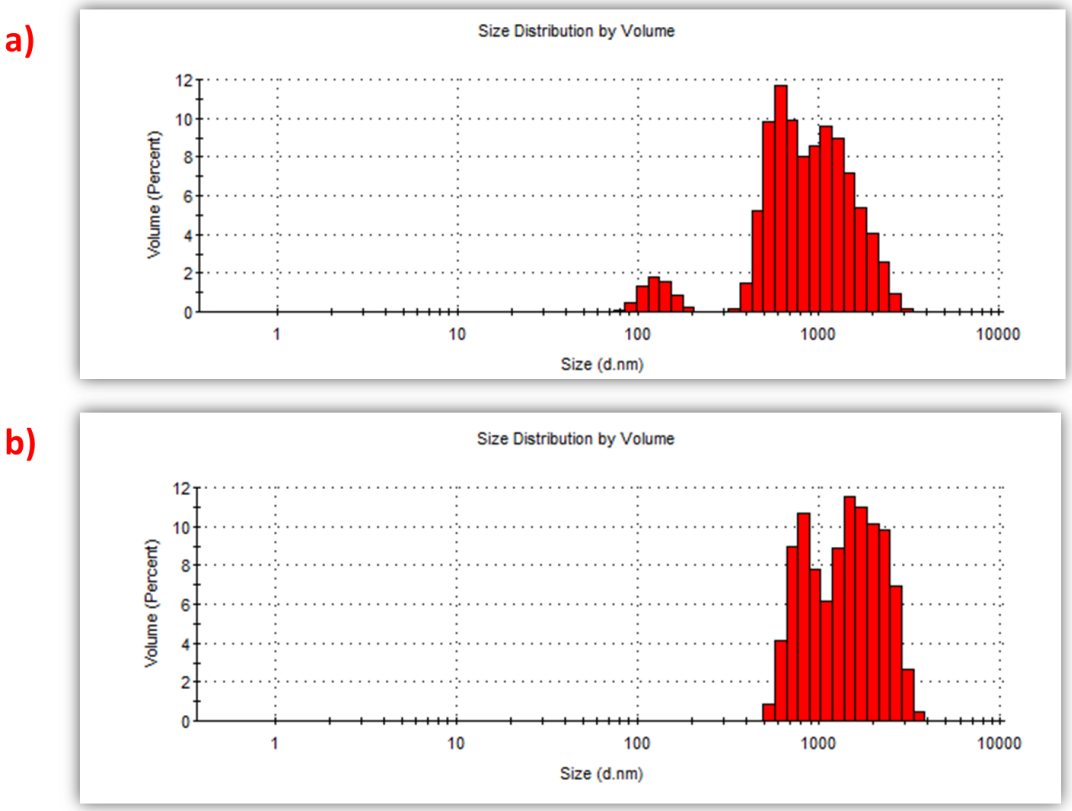


Fonte: Autoria própria.

Os dados de DLS, na **Figura 39**, indicam raios hidrodinâmicos muito maiores em relação ao descrito pela literatura para partículas de tamanhos semelhantes às obtidas,[24] o qual deveria permanecer na faixa de 200 a 300 nm. A distribuição bimodal em a), para um pH igual a 8, indica grupos de partículas de tamanhos diferentes. Em consequência, o índice de polidispersividade (PDI) possui o valor de 0,4, sugerindo um sistema polidisperso (quanto mais próximo ao 1, mais polidisperso). Já a distribuição monomodal em b), para um pH igual a 6, indica grupos de NPSPM de tamanhos similares e, portanto, com um PDI menor, 0,2, sistema mais monodisperso. Tais valores, acima do esperado, podem ser justificados pelo raio de hidratação das partículas, pois o raio hidrodinâmico refere-se ao tamanho efetivo da partícula quando dispersa em um líquido,[56] indicando não apenas o tamanho da partícula sozinha, mas do que há ao seu redor também. Comumente, quando nanopartículas magnéticas são dispersas em meio aquoso sem alguma camada de proteção (recobrimento polimérico ou com grandes moléculas), elas tendem a formar pequenos floculados devido às variações do momento de dipolo magnético, que induzem a formação de outros dipolos e à formação de flocos. Além disso, as medidas foram realizadas após um mês de sua produção, o que pode ter resultado na formação de sistemas floculados mais estáveis, que não são redispersos por simples agitação em banho de ultrassom.

Apesar de resultados satisfatórios de potencial zeta, o resultado ainda não tange o esperado para a finalidade a qual se destinará o material (plataforma teranóstica), mas mostra potencial para aumentar o tamanho de partícula com ajustes nos parâmetros de síntese. Concordante aos ensaios apresentados, a estabilidade visual das NPSPM sintetizadas não coincide com os dados observados acima, sugerindo que as partículas se agregaram formando *clusters* e seu peso final levou-as à decantação. Isso indica ter havido desestabilidade eletrostática que permitiu agregação e não repulsão, como sugerem os dados de potencial zeta e confirma-se pela mobilidade eletroforética. Assim, esses resultados corroboram o baixo valor de SAR obtido.

Figura 39 – DLS em pH 8 a) e pH 6 b) da amostra AM_FSH_4V



Fonte: Autoria própria.

Os resultados aqui apresentados atingiram parcialmente os objetivos propostos inicialmente, demonstrando que a síntese em questão é de difícil trato experimental, principalmente no que tange ao controle nos processos de reação. Assim, para melhor sintetizar e comparar os resultados apresentados, a **Tabela 3** descreve as variações de parâmetros realizadas em cada síntese, valores de D_{TEM}, PDI e τ, bem como a discriminação da presença de óxidos de ferro no sistema.

Tabela 3 – Síntese de dados obtidos acerca das amostras discutidas

Identificação	Variação de parâmetros	D_{TEM}	PDI	τ	Presença de óxido de ferro
AM_FHS	Ordem de adição	-	-	-	Goethita
AM_FSH	Ordem de adição	-	-	-	Ferrihidrita
AM_HFS	Ordem de adição	-	-	-	Ferrihidrita
AM_HSF	Ordem de adição	-	-	-	Ferrihidrita
AM_SFH	Ordem de adição	10±2	21	10	Magnetita
AM_SHF	Ordem de adição	-	-	-	Ferrihidrita
AM_FRA1	Natureza da vidraria	14±3	25	12	Magnetita
AM_FRA2	Natureza da vidraria	-	-	-	Magnetita/ Goethita
AM_FRA3	Natureza da vidraria	13±3	23	12	Magnetita
AM_T30	Temperatura	-	-	-	Goethita
AM_MAG	Tipo de agitação	14±5	35	14	Magnetita/ Goethita
AM_MEC	Tipo de agitação	13±5	38	13	Magnetita/ Goethita
AM_MEC24H	Tipo de agitação	-	-	-	Magnetita/ Goethita/ Maghemita
AM_HIDROLISE	Controle: Hidrólise	-	-	-	Goethita
AM_VA	Controle: Intervalo de oxidação [Fe-SO_3]	-	-	-	Magnetita/ Goethita/ Maghemita
AM_A	Controle: Intervalo de oxidação [Fe-SO_3]	-	-	-	Magnetita
AM_DUPLA1	Controle: Dupla injeção [Fe-SO_3]	14±11	83	13	Magnetita/ Goethita
AM_DUPLA2	Controle: Dupla injeção [Fe-SO_3]	-	-	13	Magnetita/ Goethita
AM_CITRATO	Controle: adição de citrato de sódio	13±5	37	12	
AM_FSH_1 (esférica)	Adição de álcali gradativa	37±18	48	29	Magnetita/ Goethita
AM_FSH_1 (cúbica)	Adição de álcali gradativa	70±38	53	29	Magnetita/ Goethita
AM_FSH_2 (esférica)	Adição de álcali gradativa	43±23	52	29	Magnetita/ Goethita
AM_FSH_2 (cúbica)	Adição de álcali gradativa	50±17	34	29	Magnetita/ Goethita
AM_FSH_3 (esférica)	Adição de álcali gradativa	44±20	46	32	Magnetita/ Goethita
AM_FSH_3 (cúbica)	Adição de álcali gradativa	47±11	25	32	Magnetita/ Goethita
AM_FSH_4V (esférica)	Adição de álcali gradativa	45±20	45	31	Magnetita/ Goethita
AM_FSH_4v (cúbica)	Adição de álcali gradativa	31±13	42	31	Magnetita/ Goethita

Fonte: Autoria própria.

5 CONCLUSÕES

Nota-se através deste trabalho que mínimas variações em sínteses de sistemas nanoparticulados, como dobrar o volume de uma solução ou alterar a ordem de adição dos reagentes no procedimento padrão tangencia alterações que não podem ser explicadas sem estudos minuciosos. A principal conclusão do trabalho é que o estudo mostrou a robustez e reprodutibilidade de uma síntese de nanopartículas de magnetita considerada ambientalmente amigável. Embora o procedimento seja considerado simples, de baixo custo e com mínima geração de resíduos, os resultados mostraram engenhosa complexidade quando parâmetros de síntese foram modificados. Um dos principais objetivos do trabalho não foi atingido, quer seja obter nanopartículas na faixa de 20-25 nm, mas as variações realizadas indicaram caminhos promissores no sentido de alcançar esta meta.

Mudanças na ordem de adição dos reagentes permitiram inferir que a formação do complexo [Fe-SO_3] previamente a precipitação em meio alcalino é de fundamental importância. A redução controlada de íons Fe^{3+} para íons Fe^{2+} ocorre apenas em meio ácido e deve-se esperar até que a cor do complexo, inicialmente vermelho, se torne amarela para realizar a adição no meio alcalino. A ordem de adição complexo na base ou base no complexo não causa efeito pronunciado na formação da magnetita. Entretanto, a acidificação do meio é outro parâmetro importante, garantindo não apenas a redução dos íons metálicos, mas também impedindo processos de hidrólise inicial das espécies de ferro, levando à formação de outros óxidos ou oxihidróxidos não magnéticos. Sistematicamente, a adição do complexo em meio alcalino leva ao tamanho médio de 12 nm para as nanopartículas de magnetita. Por outro lado, a adição da base ao meio diluído contendo o complexo, se mostrou bastante promissora para aumentar esse tamanho médio. Neste sentido, o estudo mostrou a necessidade de correção de acidez da solução diluída do complexo para evitar hidrólise parcial das espécies de ferro em água que levaram a formação de FeOOH juntamente com a fase magnetita.

O tipo de agitação, magnética ou mecânica, não parece interferir no resultado da síntese, mas a agitação deve ser cessada logo após o estágio inicial de nucleação. A continuidade da agitação promove oxidação das nanopartículas devido ao contato com a atmosfera (aberta) no interior do frasco de reação, mesmo com o condensador

de Graham acoplado. O uso de um agente de superfície (citrato de sódio), embora tenha substituídos os grupos sulfatos adsorvidos na superfície das nanopartículas, não apresentou efeito significativo em relação à sua estabilidade coloidal. Ainda, os testes realizados com múltiplas injeções do complexo em diferentes tempos de reação resultaram em novas etapas de nucleação e crescimento e não em processo de heterocoagulação, como esperado. O tempo de amadurecimento de Ostwald, neste caso, não se mostrou efetivo para promover a homogeneização de tamanho, resultando em elevada polidispersão.

Por fim, os resultados indicaram que o tamanho das nanopartículas pode ser aumentado de forma controlada ajustando os parâmetros da síntese realizada para as amostras AM_FSH_3 ou 4V. Os parâmetros que governam as reações de hidrólise iniciais das espécies de ferro devem ser ajustados e controlados para evitar a formação de FeOOH. Este ajuste permitirá aumentar o tamanho das nanopartículas, assim como a sua estabilidade coloidal e intensificar os valores de magnetohipertermia.

6 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

O controle de parâmetros de síntese das amostras AM_FSH_3 e 4V deve ser direcionado à uma análise sistemática por meio de um planejamento fatorial seguido de análise estatística. Variáveis como concentração, temperatura e pH são essenciais nesta avaliação futura, de forma que todas as possibilidades permitidas pelo planejamento sejam realizadas e possam apresentar dados significativos para o aumento do tamanho do sistema de NPSPM. Além disso, as medidas por hipertermia magnética devem ser mais exploradas, variando a concentração das amostras para melhor análise.

REFERÊNCIAS

1 BIRCH, H. **50 ideias de química que você precisa conhecer**. Tradução: Helena Londres. São Paulo: Planeta, 2018. p. 216.

2 MORENO, N. S. **Síntese de nanopartículas de magnetita dopadas com íons terras raras e avaliação das propriedades magneto-ópticas**. Orientador: Laudemir Carlos Varanda. 2020. 91 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

3 BARBOSA, J. S.; FREITAS, M. S. **Uma revisão sobre terapia gênica e seu uso no tratamento de doenças monogênicas**. Orientador: Bruno Damião. 2020. 42 f. Monografia (Bacharelado em Biomedicina) - Faculdade de Americana, Americana, 2020.

4 SILVA, G. C. **Nanotecnologia no tratamento do câncer de mama**. Orientadora: Lívia Cristina dos Santos. 2021. 34 f. Monografia (Bacharelado em Biomedicina) - Fundação Educacional Vale do São Francisco, Iguatama, 2021.

5 SCHWARTZ, D.; CASTELHANO, D. R.; SILVA, T. E. R.; LENHARDT, M. M.; SILVA, B. K. F. Avanços tecnológicos dos organoides cerebrais nas disfunções do neurodesenvolvimento e na ação celular quando exposta a fármacos. *In*: CONGRESSO INTERNACIONAL EM SAÚDE, 8., 2021, **Determinantes sociais, tecnológicos e ambientais em saúde**. Rio Grande do Sul, 2021. p 1–2. Evento online.

6 OLIVEIRA, T. V. **Tecnologias emergentes empregando polifenóis ou imatinibe**: nanotecnologia e impressão 3D. Orientadores: Ruy Carlos Ruver Beck e Diogo André Pilger. 2021. 149 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2021.

7 SIMON, G. **O uso da nanotecnologia aplicada às máscaras de proteção**: uma revisão da literatura. Orientadora: Andrea Cristiane Krause Bierhalz. 2021. 56 f. Monografia (Bacharelado em Engenharia Têxtil) - Centro Tecnológico de Ciências Exatas e Educação, Universidade Federal de Santa Catarina, Blumenau, 2021.

8 TONIDANDEL, D. A. V.; ARAÚJO, A. E. A.; BOAVENTURA, W. C. História da eletricidade e do magnetismo: da antiguidade à Idade Média. **Ver. Bras. Ens. Fís.**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. e4602-2, 2018.

9 VIEIRA, C. A. M. **Efeitos das interações magnéticas entre partículas nas propriedades de bloqueio de nanocristais de ferrita de cobalto**. Orientador: Jérôme Depeyrot. 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Instituto de Física, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

10 SANTOS, H. S. T.; GARDELLI, D. Análise da lei de Biot-Savart em comparação com a força entre elementos de corrente de Ampère. **Cad. Bras. Ens. Fís.**, São Paulo, v. 34, n. 3, p 864-879, dez. 2017.

11 LU, A. H.; SALABAS, E. L.; SCHÜTH, F. Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. **Angew. Chem. - Int. Ed.**, Weinheim, v. 46, n. 8, p. 1222-1244, 2007.

12 CORNELL, R. M.; SCHWERTMANN, U. **The iron oxides**: structure, properties, reactions, occurences and uses. 2. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2003, 695. p.

13 DAS, P.; COLOMBO, M.; PROSPERI, D. Recent advances in magnetic fluid hyperthermia for cancer therapy. **Col. Surf. B Bioint.**, Amsterdam, v. 174, p. 42-55, 2019.

14 CULLITY, B. D.; GRAHAM, C. D. **Introduction to magnetic materials**. 2. ed. New Jersey: Wiley, 2009. 550 p.

15 CALLISTER, W. D.J.; RETHWISCH, D. G. **Materials science and engineering:** an introduction. 2. ed. New York: Wiley, 1991. 1000 p.

16 GUIMARÃES, A. P. **Principles of nanomagnetism**. Berlin: Springer, 2009. 233 p.

17 SANTOS, L. G. **Estudo por técnicas espectroscópicas de propriedades magnéticas e microestruturais de nanopartículas de magnetita em poliamida reciclada**. Orientador: Eduardo Di Mauro. 2017. 65 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Departamento de Física, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

18 QU, S.; YANG, H.; REN, D.; KAN, S.; ZOU, G.; LI, D.; LI, M. Magnetite nanoparticles prepared by precipitation from partially reduced ferric chloride Aqueous Solutions. **J. Col. Interf. Sci.**, Amsterdam, v. 215, n. 1, p. 190-192, 1999.

19 MAMANI, J. B.; MARINHO, B. S.; REGO, G. N. de A.; NUCCI, M. P.; ALVIERI, F.; SANTOS, R. S. dos; FERREIRA, J. V. M.; OLIVEIRA, F. A.; GAMARRA, L. F. Magnetic hyperthermia therapy in glioblastoma tumor on-a-chip model. **Einst. (S. Paulo)**, São Paulo, v. 18, 20 dez. 2019.

20 REGO, G. N. A.; MAMANI, J. B.; SOUZA, T. K. F.; NUCCI, M. P.; SILVA, H. R.; GAMARRA, L. F. Therapeutic evaluation of magnetic hyperthermia using Fe_3O_4 -aminosilane-coated iron oxide nanoparticles in glioblastoma animal model. **Einst. (S. Paulo)**, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 1-9, 2019.

21 SURIYANTO; N. G., E. Y. K.; KUMAR, S. D. Physical mechanism and modeling of heat generation and transfer in magnetic fluid hyperthermia through Néelian and Brownian relaxation: a review. **Biomed. Eng. Online.**, London, v. 16, n. 1, p. 1-22, 2017.

22 INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Como surge o câncer?**. Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: https://www.inca.gov.br/como-surge-o-cancer. Acesso: em 02 maio. 2022.

23 PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Cancer**. Disponível em: https://www.paho.org/pt/topicos/cancer. Washington, 2020. Acesso em: 02 maio 2022.

24 VARANDA, L. C.; JAFELICCI, M.; BECK, W. Magnetic and multifunctional magnetic nanoparticles in nanomedicine: challenges and trends in synthesis and surface engineering for diagnostic and therapy applications .*In*: LASKOVSKI , A. (ed.). **Biomedical Engineering, Trends in Materials Science,** IntechOpen , 2011, p. 397-424, E-book.

25 CHANG, D.; LIM, M.; GOOS, J. A. C. M.; QIAO, R.; NG, Y. Y.; MANSFELD, F. M.; JACKSON, M.; DAVIS, T. P.; KAVALLARIS, M. Biologically targeted magnetic hyperthermia: potential and limitations. **Front. Pharm.**, Lausanne, v. 9, p. 831, 09 ago. 2018.

26 LANIER, O. L.; KOROTYCH, O. I.; MONSALVE, A. G.; WABLE, D.; SAVLIWALA, S.; GROOMS, N. W. F.; NACEA, C.; TUITT, O. R.; DOBSON, J. Evaluation of magnetic nanoparticles for magnetic fluid hyperthermia. **Int. J. Hyperth**, Oxon, v. 36, n. 1, p. 687-701, 2019.

27 LIU, X.; ZHANG, Y.; WANG, Y.; ZHU, W.; LI, G.; MA, X.; ZHANG, Y.; CHEN, S.; TIWARI, S.; SHI, K.; ZHANG, S.; FAN, H. M.; ZHAO, Y. X.; LIANG, X. J. Comprehensive understanding of magnetic hyperthermia for improving antitumor therapeutic efficacy. **Theranost.**, Merboune, v. 10, n. 8, p. 3793-3815,. 2020.

28 MAHMOUDI, K.; BOURAS, A.; BOZEC, D.; IVKOV, R.; HADJIPANAYIS, C. Magnetic hyperthermia therapy for the treatment of glioblastoma: a review of the therapy's history, efficacy and application in humans. **Int. J. Hyperth**, Oxon, v. 34, n. 8, p. 1316-1328, 2018.

29 NIÑO, M. B. **Nanopartículas magnéticas para el tratamiento y diagnóstico del cáncer**. Orientadores: Elena Maria Navarro Palomares e Juan Carlos Villegas Sordo. 2020. 31 f. Monografia (Bacharelado em Medicina) – Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria, Santander, 2020.

30 PERECIN, C. J.; TIRICH, B. M.; NAGAMINE, L. C. C. M.; PORTO, G.; ROCHA, F. V; CERIZE, N. N. P.; VARANDA, L. C. Green aqueous synthesis of water-stable magnetite nanoparticles for magneto-hyperthermia. **Nanosc. Res. Lett**, Amsterdam, v. 627, p. 1-15, 2020.

31 SANTOS, N. M. **Nanopartículas magnéticas biocompatíveis e funcionalizadas com ácido fólico como potencial agente teranóstico no tratamento de câncer via magnetohipertermia**. Orientador: Laudemir Carlos Varanda. 2021. 145 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2021.

32 FALLEIROS, J. P. B.; BRANDL, A. L.; FONSECA, A. R. A. Aplicações da nanotecnologia no diagnóstico e tratamento de câncer. **Nucleus**, Philadelphia, v. 8, n. 1, p. 151-169, 2011.

33 MARTINEZ, G. A. L. **Síntese de nanopartículas magnéticas com elevada magnetização de saturação e estabilidade química**. Orientador: Laudemir Carlos Varanda. 2013. 62 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

34 SUN, S. Recent advances in chemical synthesis, self-assembly, and applications of FePt nanoparticles. **Adv. Mater.**, Weinheim, v. 18, n. 4, p. 393-403, 2006.

35 APEL, M.; HEILEN, U. A. O.; MILTENYI, S.; SCHMITZ, J. CAMPBELL, J. D. M. **Magnetism in medicine**, 2. ed. Berlim: Wiley-VCH, 2007, 617 p.

36 JORDAN, A.; WUST, P.; FÄHLIN, H.; JOHN, W.; HINZ, A.; FELIX, R. Inductive heating of ferrimagnetic particles and magnetic fluids: physical evaluation of their potential for hyperthermia. **Int. J. Hyperth**, Oxon, v. 9, n. 1, p. 51-68, 1993.

37 COSTA, T. C. D. C. **Síntese de nanopartículas de magnetita via decomposição térmica em meio não aquoso**. Orientadores: Carlos Alberto Paskocimas e José Daniel Diniz Melo. 2013. 116 f. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais) - Centro de Ciências Exatas da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

38 SCAPIM, L. C. M.; BORGES, S. B.; PAULA, J. N.; FERREIRA, L. P.; ALMEIDA, P. R. Síntese e caracterização de nanomagnetita pelo processo de coprecipitação**.** **J. Eng. Exact Sci**, Viçosa, v. 3, n. 8, p. 1182–1191, 2017.

39 YADAV, O. P.; PALMQVIST, A.; CRUISE, N.; HOLMBERG, K. Synthesis of platinum nanoparticles in microemulsions and their catalytic activity for the oxidation of carbon monoxide. **Col. Surf. A Phys. Eng. Asp.**, Amsterdam, v. 3, n. 8, p. 131-134. 2003.

40 VARANDA, L. C.; JAFELICCI, M. Self-assembled FePt nanocrystals with large coercivity: reduction of the fcc-to-$L1_0$ ordering temperature. **J. Amer. Chem. Soc.**, Washington, v. 128, n. 134, p. 11062-11066, 2006.

41 WU, W.; WU, Z.; YU, T.; JIANG, C.; KIM, W. S. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. **Sci. Technol. Adv. Mater**, London, v. 16, n. 2, p. 023501, 2015.

42 BAO, J.; GUO, S.; ZU, X.; ZHUANG, Y.; FAN, D.; ZHANG, Y.; SHI, Y.; JI, Z.; CHENG, J.; PANG, X. Polypyrrole-coated magnetite vortex nanoring for hyperthermia-boosted photothermal/magnetothermal tumor ablation under photoacoustic/magnetic resonance guidance. **Front. Bioeng. Biotechno.**, Switzerland, v. 9, p. 1-12, 2021.

43 VERGÉS, M. A.; COSTO, R.; ROCA, A. G.; MARCO, J. F.; GOYA, G. F.; SERNA, C. J.; MORALES, M. P. Uniform and water stable magnetite nanoparticles with diameters around the monodomain-multidomain limit. **J. Phys. D. Appl. Phys**, London, v. 41, n. 13, p. 134003, 2008.

44 HONARY, S.; ZAHIR, F. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems - a review (part 1). **Trop. J. Pharm. Res**, Benin, v. 12, n. 2, p. 255-264, 2013.

45 BECK, W. **Nanopartículas magnéticas metálicas recobertas com óxido de ferro: intensificação das propriedades magnéticas da nanopartícula e funcionalização para aplicação em biomedicina**. Orientador: Laudemir Carlos Varanda. 2011. 97 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

46 RODRIGUES, C. M. V. **Criação de modelo protótipo para aplicação de nanopartículas magnéticas em hipertermia**. Orientadora: Gina Maria Oliveira Vilão de Ramos. 2020. 91 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Computação e Instrumentação Médica) – Departamento de Física, Instituto Superior de Engenharia do Porto, Porto, 2020.

47 BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Maior sistema público de saúde do mundo, SUS completa 31 anos SUS**. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2021-1/setembro/maior- sistema-publico-de-saude-do-mundo-sus-completa-31-anos#:~:text=Dessa%2520forma%252C%2520pode%252Dse%2520dizer,p%25C3%25BAblica%25 20complexa%252C%2520generosa%2520e%2520solid%25C3%25. Acesso em: 02 fev. 2022.

48 VARANDA, L. C.; SOUZA, C. G. S.; MORAES, D. A.; NEVES, H. R.; SOUZA JUNIOR, J. B.; SILVA, M. F.; BINI, R. A.; ALBERS, R. F.; SILVA, T. L.; BECK, W. Size and shape-controlled nanomaterials based on modified polyol and thermal decomposition approaches. A brief review. **An. Acad. Bras. Cienc.**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 4, p. 1-32, 2019.

49 HADADIAN, Y. **Nanopartículas de magnetita dopadas com zinco para fins teranósticos**: magnetoacustografia e hipertermia magnética. Orientadores: Theo Zeferino Pavan e Ana Paula Ramos. 2019. 135 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

50 SILVA, F. B. F. **Estudo da influência dos parâmetros de síntese na preparação de nanopartículas de óxidos magnéticos de ferro por rota solvotérmica**. Orientador: Caue Ribeiro de Oliveira. 2013. 80 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.

51 NAVROTSKY, A. Energetic clues to pathways to biomineralization: precursors, clusters, and nanoparticles. **Proc. Natl. Acad. Sci***,* Washington , v. 101, n. 33, p. 12096-12101, 2004.

52 MATTHEWS, A. Magnetite forrnation by the reduction of hematite with iron under hydrothermal conditions. **Am. Mineral**, Washington, v. 6, p. 927-932, 1976.

53 JOLIVET, J. P.; BELLEVILLE, P.; TRONC, E.; LIVAGE, J. Influence of Fe (II) on the formation of the spinel iron oxide in alkaline medium. **Cla. Cla. Min.**, Switzerland v. 40, n. 5, 1992.

54 PRASAD, P. S. R.; PRASAD, K. S.; CHAITANYA, V. K.; BABU, E. V. S. S. K.; SREEDHAR, B.; MURTHY, S. R. *In situ* FTIR study on the dehydration of natural goethite. **J. As. Ear. Sci.**, Switzerland, v. 27, p. 503-511, 2006.

55 ROCHA, J. M. V. **Toxicidade aguda *in vitro* e *in vivo* (via oral) de nanopartícula de óxido de ferro revestida com citrato (IONPs)**. Orientador: André Almeida Schenka. 2021. 69 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2021.

56 SILVA, M. A. **Processamento e caracterização de magnetita sintética**. Orientador: Prof. Dr. Sidney Nicodemos da Silva. 2017. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais, Belo Horizonte, 2017.

57 QUINTANA, M.; SAAVEDRA, E.; ROSARIO, H.; GONZÁLEZ, I.; HERNÁNDEZ, I.; ESTÉVEZ, F.; QUINTANA, J. Ethanol enhances hyperthermia-induced cell death in human leukemia cells. **Int. J. Mol. Sci.**, Switzerland, v. 22, n. 9, p. 4948, 2021.

58 PERECIN, C. J.; YOSHIOKA, S. A.; OLIVEIRA, A. M.; CHITTA, V. A.; CERIZE, N. N. P. Polímeros para aplicação no tratamento de câncer. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA, Uberlândia, 2014. **Anais** [...]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2014, pp 2703–2706.

59 HARRY POTTER e a câmara secreta. Produção de David Heyman. London: Warner Brothers, 2002. 1 DVD (2h30min), color.