



Carlos Sato Baraldi Dias

Estudo de vórtice magnético em nanopartículas para aplicações em hipertermia magnética

CAMPINAS

2014



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Física Gleb Wataghin

CARLOS SATO BARALDI DIAS

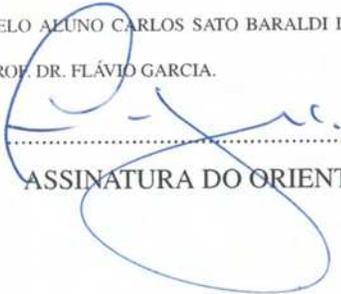
**Estudo de vórtice magnético em nanopartículas para aplicações em
hipertermia magnética**

Tese apresentada ao Instituto de Física Gleb Wataghin da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Ciências

Orientador: Prof. Dr. Flávio Garcia

Coorientador: Prof. Dr. Kleber Roberto Pirota

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO CARLOS SATO BARALDI DIAS, E ORIENTADO PELO PROF. DR. FLÁVIO GARCIA.


.....
ASSINATURA DO ORIENTADOR

CAMPINAS

2014

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Física Gleb Wataghin
Valkíria Succi Vicente - CRB 8/5398

D543e Dias, Carlos Sato Baraldi, 1983-
Estudo de vórtice magnético em nanopartículas para aplicações em
hipertermia magnética / Carlos Sato Baraldi Dias. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Flávio Garcia.
Coorientador: Kleber Roberto Pirota.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Física
Gleb Wataghin.

1. Vórtices magnéticos. 2. Nanopartículas magnéticas. 3. Hipertermia
magnética. I. Garcia, Flávio. II. Pirota, Kleber Roberto, 1973-. III. Universidade
Estadual de Campinas. Instituto de Física Gleb Wataghin. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Engineering of magnetic vortex nanoparticle for magnetic
hyperthermia

Palavras-chave em inglês:

Magnetic vortex

Magnetic nanoparticle

Magnetic hyperthermia

Área de concentração: Física

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Flávio Garcia [Orientador]

Andris Figueiroa Bakuzis

Fernando Luis de Araujo Machado

Mônica Alonso Cotta

Daniela Zanchet

Data de defesa: 08-08-2014

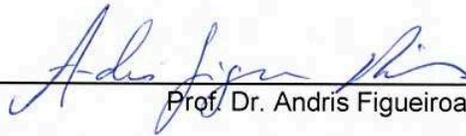
Programa de Pós-Graduação: Física

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA TESE DE DOUTORADO DE **CARLOS SATO BARALDI DIAS – RA: 023341** APRESENTADA E APROVADA AO INSTITUTO DE FÍSICA “GLEB WATAGHIN”, DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, EM 08 / 08 / 2014.

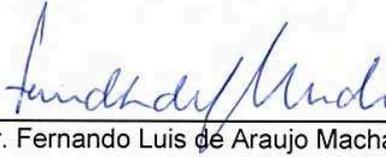
COMISSÃO JULGADORA:



Prof. Dr. Flavio Garcia
Orientador do Candidato - CBPF



Prof. Dr. Andris Figueiroa Bakuzis – UFG



Prof. Dr. Fernando Luis de Araujo Machado – UFPE



Profa. Dra. Monica Alonso Cotta – DFA/IFGW/UNICAMP



Profa. Dra. Daniela Zanchet – IQ/UNICAMP

Resumo

Durante este trabalho, estudamos a viabilidade de uma nova classe de partículas magnéticas otimizadas para a hipertermia magnética e que denominamos VIP (*Vortex Iron oxide Particle*). Estas partículas são compostas de óxidos de ferro (magnetita ou maghemita) e assumem a forma de nanorings ou nanotubos. Tal morfologia confere às partículas um comportamento magnético peculiar, fruto de seu estado magnético denominado vórtice. Graças a este estado magnético, estas partículas possuem uma resposta para hipertermia superior, se comparadas aos SPIONs (*Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles*) tradicionalmente usados para este fim, atendendo os pré-requisitos para aplicações biomédicas (baixa toxicidade e remanência). Os experimentos realizados no trabalho se focaram em duas linhas principais. Na primeira, avaliamos o desempenho das VIPs para hipertermia magnética em um ambiente *in vitro*. Neste experimento, avaliamos tanto a citotoxicidade das partículas quanto os mecanismos que promovem a morte celular. Estes resultados mostraram que as VIPs não são citotóxicas. Além disso, observamos também que o tamanho e a forma das partículas permitem que estas sejam internalizadas, promovendo um processo de hipertermia magnética muito eficiente. De fato, o experimento de hipertermia *in vitro* mostrou que as VIPs são capazes de alcançar um alto grau de seletividade, matando principalmente as células que internalizam as VIPs minimizando o aquecimento do meio celular e reduzindo assim o dano às células vizinhas. Na segunda linha, trabalhamos no desenvolvimento de uma VIP recoberta com material antiferromagnético (AFM), cujo desempenho para hipertermia magnética seria superior ao da própria VIP testada nos experimentos *in vitro*. Desenvolvemos um extenso estudo teórico fundamental, baseado em simulações micromagnéticas, que permitiram prever muitos dos fenômenos que seriam observados experimentalmente. No entanto os experimentos para a síntese da VIP@AFM não foram completamente finalizados, impossibilitando maiores conclusões sobre o sistema simulado.

Sendo assim, acreditamos que os resultados alcançados no projeto promoveram o desenvolvimento de partículas magnéticas otimizadas para hipertermia magnética. Tanto por mostrar sua viabilidade, quando testados *in vitro*, quanto por promover o conceito da VIP@AFM como um próximo passo para o aprimoramento desta classe de partículas.

Abstract

In this work, we studied the feasibility of a new class of magnetic particles named as Vortex Iron oxide Particle or VIP and specifically designed for magnetic hyperthermia. Those iron oxide (magnetite or magnetite) particles have a ring shape morphology that grants them a very specific magnetic configuration know as vortex state. This magnetic configuration would grant a superior hyperthermia response when compared to the traditional Superparamagnetic Iron Oxide Particle (SPION) without compromising biomedical requirements as low cytotoxicity and lack of magnetic remanence. The experiments presented on this work explored two main paths. The first one evaluated the VIP performance *in vitro*. We were able to assess both the cytotoxicity of the particle as to observe the killing mechanism. The results showed that the VIPs are not cytotoxic and that the size and shape of the particle may promote the internalization of those particles, resulting on a very efficient magnetic hyperthermia. With the *in vivo* experiment, we notice a high degree of selectivity, thanks to the cell internalization, that preserved the surrounding cells. In the second research path, we further developed the concept of a VIP, by creating a core-shell structure where the VIP would be coated by an antiferromagnetic (AFM) material and improving the magnetic hyperthermia response. However, the experiments for the development of the VIP@AFM were not completed. Although we were able to complete a study based on micromagnetic simulations, the experiments intending to fabricate the VIP@AFM were not fully successful, preventing any further conclusion about this system. In any case, we believe that the results achieved on this project represent an important contribution to the development of magnetic hyperthermia specific particles.

Sumário

1.1	Magnetismo na matéria	7
1.1.1	Interação de troca	10
1.1.2	Anisotropia magnética	11
1.1.3	Paredes de domínio e domínios magnéticos	16
1.2	Introdução ao nanomagnetismo	18
1.2.1	Superparamagnetismo	18
1.2.2	Histerese de Stoner-Wohlfarth	23
1.2.3	Vórtice magnético	25
1.3	Ferrofluidos e a Relaxação de Brown	28
1.3.1	Relaxação de Brown	28
1.3.2	Tempo de Relaxação Efetivo	30
1.4	Hipertermia magnética em partículas	31
1.4.1	Perda por Susceptibilidade	31
1.4.2	Perdas Histeréticas	34
1.4.3	Perdas por Viscosidade	36
2.1	Óxidos de Ferro e Ferritas	37
2.1.1	Óxidos de Ferro	37
2.1.2	Ferritas	38
2.2	SPIONs e testes clínicos	39
2.3	Otimização e modificação de SPIONs	41
2.3.1	Funcionalização e recobrimento	41
2.3.2	Morfologia	43
2.3.3	Anisotropia magnética	43
2.3.4	Interação dipolar entre partículas	46
2.3.5	Sobre o significado do SAR	48
2.4	Desenvolvimento de novas partículas	49

2.4.1	Nanoanéis e Nanotubos para hipertermia magnética	50
2.4.2	Hipertermia Magnética e <i>Exchange Bias</i>	52
3.1	Object Oriented MicroMagnetic Framework (OOMMF)	56
3.2	Simulação de uma partícula de magnetita	57
3.2.1	Nanodisco vs Nanoanel: a importância do furo	58
3.2.2	Diagrama de Fase: morfologia e vórtice magnético	60
3.3	Dinâmica e Histerese Magnética	70
3.3.1	Histerese estática da partícula	70
3.3.2	Histerese dinâmica da partícula	73
3.3.3	Estados metaestáveis	74
3.4	Anisotropia de interface em partículas	75
4.1	Síntese de partículas magnéticas	79
4.1.1	Síntese das partículas de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	79
4.1.2	Redução das partículas de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ em Fe_3O_4	83
4.1.3	Oxidação das partículas de Fe_3O_4 em $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	84
4.1.4	Impregnação química e formação da ferrita de CoFe_2O_4	85
4.2	Recobrimento de partículas por AFM	88
4.2.1	Deposição de AFM por <i>Sputtering</i>	88
4.2.2	Nanoestruturas de hidróxidos	90
4.3	Fluxograma e nomenclatura das amostras sintetizadas	92
5.1	Microscopia eletrônica de varredura (SEM)	95
5.2	Microscopia eletrônica de Transmissão (TEM)	97
5.2.1	Imagem por <i>Dark Field</i> ou Campo Escuro	98
5.2.2	Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS)	98
5.2.3	Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)	99
5.3	Absorção de raios-X (XAS)	100
5.4	Difração de pó ou (XPD)	102
5.5	Magnetometria	103
5.6	Hipertermia Magnética	105
5.7	Teste de Citotoxicidade	107
5.7.1	Hipertermia <i>in vitro</i>	108
5.8	Citometria de Fluxo	109
5.9	Microscopia Ótica de Fluorescência Confocal	112

6.1	Morfologia	115
6.2	Caracterização química e estrutural	117
6.2.1	Partículas de magnetita	117
6.2.2	Partículas de ferrita de Co	122
6.3	Medidas de Hipertermia Magnética	124
6.4	Testes <i>In Vitro</i> das VIPs	129
6.4.1	Citotoxicidade das VIPs	129
6.4.2	Hipertermia <i>in vitro</i>	131
6.4.3	Microscopia Ótica	135
6.4.4	Considerações finais	138
6.5	Recobrimento de VIP1 por AFM	140
6.5.1	Resultados obtidos com a deposição por <i>sputtering</i> em pó	140
6.5.2	Resultados para recobrimento com Nanoestruturas de hidróxidos	141

Referências Bibliográficas

151

Agradecimentos

Primeiramente quero agradecer à minha família, que durante todos estes 30 anos de preparação, sempre estiveram ao meu lado. Devo dizer que, meu pai, minha mãe e minha irmã, foram os responsáveis pelo o que sou hoje, e por isso, os responsáveis por este trabalho. Eles estiveram ao meu lado sempre que precisei, e mesmo estando completamente a parte dos feitos aqui apresentados, nunca duvidaram da qualidade e dedicação materializada nestas páginas. Agradeço também a meus tios e primos que também contribuíram para esta caminhada, em especial aos meus tios Paulo e Mú, e Sérgio e Mariko que me ajudaram na reta final deste trabalho.

Agradeço a minha namorada, Solange Tamara da Fonseca, cujo relacionamento iniciou junto com esta tese, mas com certeza irá perdurar por muitos outros anos. Agradeço pela paciência e por ter termos cultivados juntos nosso amor pela dança de salão. Graças a sua companhia, mantive o ímpeto de seguir em frente, pois independente dos problemas que teria no trabalho, sabia que podia voltar para o aconchego de seus abraços.

Agradeço também a meu orientador, Dr. Flávio Garcia do CBPF, que mesmo depois de muitas divergências (saudáveis!!) nunca deixou de ter minha admiração. Reconheço a grande sorte que tive em poder trabalhar com ele, e agradeço muito a oportunidade que ele me deu quando mais precisei. Sei que foi graças a esta, que a exatos 2 anos e meio pude recomeçar meu caminho em direção a minha carreira como cientista. Devo agradecer também ao meu coorientador Prof. Dr. Kleber Pirota do IFGW - Unicamp, que também me acolheu e apoiou este trabalho. Também não posso deixar de agradecer ao Prof. Dr. Heberton Wender da UFMS e ao Dr. Mateus Cardoso do LNLS - CNPEM, que juntos com meu orientador, idealizaram os primeiros passos deste projeto, e que, de certa forma, também foram coorientadores em sua própria maneira.

Agradeço ao Dr. Adelino Coelho, pesquisador do LPCM na Unicamp, que com sua paciência e experiência me ensinou a operar o Magnetômetro SQUID, mas também me passou inúmeras e preciosas dicas dos bastidores de um laboratório. Quero Agradecer também aos demais técnicos, funcionários e pesquisadores da Unicamp e do LNLS que sempre estiveram disponíveis para me ajudar, seja tomando um café ou atendendo às minhas perguntas e ideias nem sempre convencio-

nais. Destes, destaco os membros do grupo EUV Dayane Chaves, Gustavo Rodrigues e Horácio Moraes; membros do LQU Simone Betim e Tamires Piva; os pesquisadores Dr. Júlio Criginski Cezar, Dra. Daniela Coelho de Oliveira e Dr. Narcizo Marques de Souza Neto; que diariamente colaboraram com este trabalho.

Agradeço aos meus amigos, que nestes quatro anos se multiplicaram. Neles encontrei companheiros não só profissionais, mas principalmente cúmplices para fugir (rapidamente) do trabalho e voltar revigorado. Destaco minha amiga Talita de Mello Hanchuck, doutoranda do LNBio, que me ensinou como realizar experimentos biológicos e permitiu que este trabalho alcançasse o sucesso; Meu amigo Ricardo Reis, companheiro de laboratório, que sempre me ajudou nas minhas medidas de magnetometria. Aos demais amigos os quais me orgulho em dizer que são tantos que não caberiam nestas páginas deixo meu obrigado e o desejo de continuar traçando meu caminho com vocês ao meu lado.

Por fim, agradeço ao CNPq pelo apoio financeiro durante todo o projeto de doutorado. A Fapesp pelos projetos 2011/18647-5, 2011/17402-9 e 2011/21954-7 pelos quais fui beneficiado. Agradeço ao LNLS, LNBio, LNNano e ao CNPEM pelo apoio técnico. Agradeço a Unicamp e ao IFGW pelo programa de pós graduação que me permitiu alcançar e concluir este trabalho.

Pensar sempre de modo honesto e sincero.
Treinar dentro dos preceitos do verdadeiro caminho.
Conhecer outras formas de arte, não só a militar.
Entender os caminhos que regem as outras profissões.
Saber avaliar vantagens e desvantagens em cada situação.
Ter a capacidade de enxergar a verdade em fatos e coisas.
Perceber com a mente o que não pode ser visto pelos olhos.
Estar sempre atento aos detalhes.
Não fazer nada que seja inútil.

Gorin No Sho
Miyamoto Musashi

Lista de Figuras

1.1	Representação de uma histerese ferromagnética.	9
1.2	Susceptibilidade Paramagnética, Ferromagnética e Antiferromagnética.	10
1.3	Campo desmagnetizante.	12
1.4	Representação de cargas não compensadas e anisotropia de forma.	13
1.5	Curva de superfície da energia magnetocristalina para o ferro, cobalto e níquel. . .	14
1.6	Representação do modelo de emphExchange Bias.	15
1.8	Representação da parede de Bloch.	16
1.7	Linhas de campo para para um sistema de múltiplos domínios magnéticos.	17
1.9	Partícula de Stoner-Wohlfarth.	19
1.10	Perfil de energia de uma partícula de SW com campo aplicado a 60°	20
1.11	Representação da histerese de um superparamagneto.	21
1.12	Histereses calculadas segundo o modelo de SW para diferentes valores de ϕ	24
1.13	Histerese calculada segundo o modelo de SW considerando um conjunto de partículas aleatoriamente orientadas.	25
1.14	Variação da coercividade como função do tamanho de uma nanopartícula.	26
1.15	Arranjo de spins em um vórtice magnético.	27
1.16	Representação da histerese de um vórtice magnético.	27
1.17	Tempos de relaxação para diferentes partículas esféricas de magnetita.	31
2.1	Equipamento para tratamento clínico de hipertermia magnética, adaptada do trabalho de Jordan <i>et al.</i> ^[79]	40
2.2	Resultados obtidos no trabalho de Liu <i>et al.</i> ^[84]	42
2.3	Resultados obtidos no trabalho de Noh <i>et al.</i> ^[30]	44
2.5	Resultados obtidos no trabalho de Lee <i>et al.</i> ^[78]	45
2.4	Resultado obtido no trabalho de Lee <i>et al.</i> ^[78]	46
2.6	Resultados obtidos no trabalho de Martinez-Boubeta <i>et al.</i> ^[89]	47
2.7	Resultados obtidos no trabalho de Branquinho <i>et al.</i> ^[92]	48

2.8	Representação do sistema desenvolvido por Kim <i>et al.</i> ^[37]	49
2.9	Resultados obtidos por Kim <i>et al.</i> ^[37]	49
2.10	Resultados obtidos por Jia <i>et al.</i> ^[32]	51
2.11	Resultados obtidos no trabalho de Jia <i>et al.</i> ^[32]	51
2.12	Resultados obtidos no trabalho de Fan <i>et al.</i> ^[95]	52
2.13	Resultados obtidos no trabalho de Sort <i>et al.</i> ^[36]	53
3.1	Termos da equação de LLG.	57
3.2	Dimensões e orientação da partícula simulada.	58
3.3	Simulação de partícula com e sem furo	59
3.4	Figura do estado denominado Plano.	62
3.5	Figura do estado denominado Mz.	62
3.6	Figura do estado denominado Vórtice.	63
3.7	Figura do estado denominado Bamboo.	63
3.8	Figura do estado denominado 2xVórtice.	64
3.9	Gráfico de Energia vs H para uma partícula de $ExtD = 120$ e $IntD = 10$	65
3.10	Diagrama de fase para uma partícula cilíndrica.	66
3.10	Diagrama de fase para uma partícula cilíndrica.	67
3.10	Diagrama de fase para uma partícula cilíndrica.	68
3.10	Diagrama de fase para uma partícula cilíndrica.	69
3.11	Fluxograma para simulação da Histerese Estática.	71
3.12	Histerese Estática simulada para uma partícula de $H = 75$ nm, $ExtD = 95$ e $IntD = 35$	72
3.13	Histerese Estática simulada para um conjunto de partículas aleatoriamente orientadas.	72
3.14	Fluxograma para simulação da Histerese Dinâmica.	73
3.15	Histerese Dinâmica simulada para uma partícula de $H = 75$ nm, $ExtD = 95$ e $IntD = 35$	74
3.16	Histerese Dinâmica simulada para uma partícula de $H = 60$ nm, $ExtD = 85$ e $IntD = 25$	75
3.17	Distribuição do Campo de <i>Bias</i> simulado para uma VIP.	76
3.18	Curvas de histereses simuladas para uma partícula de $H = 60$ nm, $ExtD = 85$ e $IntD = 25$	77
3.19	Histerese Estática simulada para um conjunto de nanopartículas aleatoriamente orientadas sujeita ao campo \vec{H}	77
4.1	Microscopia de varredura de partículas esféricas de hematita.	80

4.2	Coordenação do ferro.	80
4.3	Ligação bidentada entre ion $H_2PO_4^-$ e um par de coordenação simples.	81
4.4	Esquema representativo de como a variação de fosfato determina a forma da nanopartícula de hematita.	82
4.5	Autoclave desenvolvida para reação hidrotérmica	83
4.6	Partículas de Hematita	83
4.7	Reator tubular & Partículas de Magnetita.	84
4.8	Partículas de Maghemita.	85
4.9	Imagem de TEM e EELS de Hema6@NiO.	86
4.10	Instrumentação para deposição em pó.	89
4.11	Hema3 recoberto com nanopartículas de $CoOH$	90
4.12	Fluxograma das Sínteses.	93
5.1	Dimensões da partícula.	96
5.2	Histogramas medidos para hema1.	96
5.3	Imagem de campo claro da partícula hema6Ni.	97
5.4	Imagem de campo escuro e espectros de EELS.	99
5.5	Imagem de campo escuro e espectros de EDS.	100
5.6	Geometria de transmissão usada para medidas de XAS.	100
5.7	Espectros padrões do ferro.	101
5.8	Parâmetros da Lei de Bragg.	102
5.9	Difratograma dos óxidos de ferro usados para refinamento Rietveld.	103
5.10	Curva de magnetização das amostras hema1r, hema3r e hema6r	104
5.11	Equipamento <i>Ambrell Easy Heat 4.2 kW</i> de hipertermia.	105
5.12	Simulação do campo gerado pelo Equipamento de Hipertermia.	106
5.13	Curva de aquecimento do sistema adiabático e não adiabático.	106
5.14	Placa de 96 poços usada nos experimentos de citotoxicidade.	108
5.15	Montagem experimental utilizada para experimento de hipertermia <i>in vitro</i>	109
5.16	Esquemático mostrando um citômetro de fluxo.	110
5.17	Exemplo de medidas obtidas no citômetro de fluxo.	111
5.18	Esquema óptico de um microscópio confocal.	112
6.1	Microscopia eletrônica de varredura de hema1, hema3 e hema6.	115
6.2	Evolução das 3 dimensões da partícula com a concentração de íons fosfato.	116
6.3	XANES e XPD de partículas de magnetita.	118

6.4	Diagrama de fase para uma partícula sintetizada.	121
6.5	Histerese simulada para as partículas hema1r, hema3r, hema6r.	122
6.6	Imagem de TEM e EELS de hema6rCo.	123
6.7	Curva de magnetização da amostra hema6rCo.	124
6.8	Foto do ordenamento das partículas denominado <i>needles</i>	125
6.9	Medidas de SAR.	126
6.10	SAR e Magnetização de saturação Vs Amostras.	128
6.11	SAR normalizado pela Magnetização de saturação Vs Amostra.	128
6.12	Resultado dos testes de citotoxicidade	129
6.12	Resultado dos testes de citotoxicidade.	130
6.13	Exemplo de medidas obtidas no citômetro de fluxo: fluorescência do PI.	132
6.14	Exemplo de medidas obtidas no citômetro de fluxo: SSC vs FSC.	133
6.15	Resultados do experimento de Hipertermia <i>in vitro</i>	134
6.16	Imagens de fluorescência e transmissão obtidas por microscopia confocal.	136
6.16	Imagens de fluorescência e transmissão obtidas por microscopia confocal.	137
6.17	Imagens de TEM e EDS de VIP@IrMn.	142
6.18	Histerese medida a 300 K para a amostra VIP1 e VIP1@CoO.	143
6.19	Histerese a 20 K normalizada por M_s para a amostra VIP1 e VIP1@CoO.	144

Lista de Tabelas

1	Pré-requisitos de partículas magnéticas para uso em hipertermia magnética	2
1.1	Relaxação de Néel de partículas de Cobalto, adaptado de Coey ^[38]	24
2.1	Propriedades magnéticas dos principais óxidos de ferro usados no trabalho.	39
4.1	Direções cristalina de hematita e número de coordenação por nm ² . ^[74]	81
4.2	Propriedades magnéticas dos principais óxidos de ferro usados no trabalho.	88
4.3	Resumo de amostra usadas no trabalho.	92
6.1	Dimensão, em nanômetros, das amostras sintetizadas.	117
6.2	Medidas de magnetometria feita para as diferentes partículas.	120
6.3	Relação entre as nomenclaturas usadas para as partículas de interesse.	122
6.4	Tempo de relaxação calculado para as partículas esféricas de raio igual ao raio de giro de hema6rCo.	127
6.5	SAR a 313 kHz calculado segundo a (1) e normalizado pela magnetização de saturação respectiva.	127
6.6	Resumo dos valores calculados da porcentagem de massa <i>M</i>	140
1	Pré-requisitos de partículas magnéticas para uso em hipertermia magnética	145

Introdução

Nas últimas décadas, o câncer tem se tornado uma das principais causas de morte em todo o mundo. Por conta disto, tornou-se alvo de muitas pesquisas, sobretudo no que se refere ao desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico e tratamento^[1-3]. Neste cenário, a nanotecnologia vem tendo papel destacado, principalmente, no que diz respeito ao estudo e desenvolvimento de nanopartículas com propriedades específicas para estas finalidades. Algumas das principais aplicações que vêm sendo vislumbradas para estas nanopartículas no tratamento de câncer são^[4-7]: a funcionalização de superfície visando seu emprego como contraste no diagnóstico por imageamento^[8-10]; técnicas de tratamento utilizando nanopartículas como vetor para o carreamento de drogas (*drug delivery*)^[11, 12]; e, de particular interesse neste trabalho, seu uso em técnicas de tratamento por hipertermia (superaquecimento) do tecido tumoral^[13, 14].

Genericamente, a hipertermia consiste em aquecer o corpo ou região que se deseja tratar^[15, 16]. Sua eficácia origina-se da maior debilidade a altas temperatura das células e do tecido tumoral, as quais sofrem morte celular a $\sim 40^\circ\text{C}$ ^[17], ao passo que, células e tecidos saudáveis podem resistir a temperaturas tão altas quanto 44°C ^[17]. No entanto, a hipertermia apresenta uma série de efeitos colaterais, os quais podem ser minimizados concentrando a região de aquecimento àquela de interesse, poupando o tecido ao redor^[18]. Dessa forma, um rigoroso controle sobre os mecanismos de aquecimento potencializaria a aplicação da hipertermia como tratamento.

Neste contexto, a hipertermia magnética surge como uma excelente alternativa. Esta tem por base o fato de nanopartículas magnéticas, quando sujeitas a um campo magnético alternado, liberarem calor. Com isso, sua vetorização via, por exemplo, funcionalização de sua superfície ou o direcionamento por meio de campos magnéticos apropriados, permite um aquecimento bem localizado, mitigando os efeitos colaterais. Conseqüentemente, uma intensa busca de materiais magnéticos visando este tipo de estratégia tem ocorrido nos últimos anos^[19, 20]. A maioria dos estudos têm focado no desenvolvimento de nanopartículas cada vez mais eficientes e com controle fino da quantidade de calor absorvido.

O calor produzido pelas nanopartículas magnéticas se expressa na forma da grandeza deno-

minada *Specific Loss Power (SLP)* ou *Specific Absorption Rate (SAR)*^{*}, que é definida como a potência W gerada pela nanopartícula, normalizada pela massa de nanopartícula m :

$$SAR = \frac{W}{m} = \frac{1}{m} \left(\frac{dQ}{dt} \right) = C \frac{m'}{m} \left(\frac{dT}{dt} \right), \quad (1)$$

onde, C é a capacidade calorífica ($Jg^{-1}K^{-1}$) do conjunto (nanopartícula + solvente), m' é a massa deste mesmo conjunto e $\frac{dT}{dt}$ é a taxa de variação da temperatura (T) em função do tempo (t). Em outras palavras, o valor de SAR é uma medida direta da taxa de aquecimento $\frac{dT}{dt}$ que a nanopartícula é capaz de fornecer. Sendo assim, para fins clínicos, quão maior for a eficiência da nanopartícula (quanto maior esta taxa) menor a dose (ou massa) de nanopartículas administrada ao paciente, minimizando efeitos colaterais relacionados à administração de nanopartículas em excesso.

Evidentemente, para fins de aplicações biomédicas, outros critérios devem ser respeitados, principalmente no que diz respeito à biocompatibilidade, citotoxicidade, assim como, algumas características magnéticas. Resumidamente, devemos buscar um material que consiga contemplar ao menos os seguintes pré-requisitos:

Tabela 1 – Pré-requisitos de partículas magnéticas para uso em hipertermia magnética

- I Biocompatibilidade e baixa citotoxicidade, para fins de aplicação biomédica^[6];
- II Baixa remanência magnética, para que a interação dipolar entre as partículas não cause aglomeração, evitando entupimento e/ou trombose;
- III Baixo campo magnético de saturação, possibilitando o tratamento com campos magnéticos biocompatíveis. De forma quantitativa, isto se resume no produto $H \cdot f < 5 \times 10^9$ A/ms^[13, 21–24];
- IV Alto **SAR**, minimizando a dose ministrada para o tratamento, e que, como será visto neste trabalho, dependem de inúmeros fatores com forma, propriedades magnéticas, composição e recobrimento da partícula

^{*}Uma tradução livre seria: Taxa de Absorção Explícita.

Atualmente, as nanoestruturas que satisfazem estes pré-requisitos e que vêm sendo estudadas para fins de aplicação em hipertermia são os chamados *Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles* ou simplesmente SPIONs.

Neste trabalho, propomos uma nova classe de nanopartículas de óxido de ferro, a qual denominamos *Vortex Iron oxide Particles* ou VIP. Estas partículas, na forma de nanoanéis, se apresentam num estado magnético peculiar, conhecido como vórtice, e têm como vantagem alto SAR, preservando os requerimentos necessários às aplicações biomédicas.

No que diz respeito ao pré-requisito I, sobre biocompatibilidade e baixa citotoxicidade, nanomateriais compostos de óxido de ferro, como os próprios SPIONs, já são extensivamente estudados e possuem uma boa biocompatibilidade e baixa citotoxicidade^[25–28]. Logo, espera-se que as nanopartículas propostas no trabalho também compartilhem destas mesmas características. Já o pré-requisito magnético III, de baixo campo magnético de saturação, é, dentre os materiais magnéticos comumente encontrados, amplamente satisfeitos pelos óxidos de ferro, em especial a magnetita.

Em relação ao pré-requisito II, a escolha do estado de vórtice como estado fundamental da nanopartícula visa explorar o fato das linhas de campo magnético nestes sistemas serem confinadas dentro da partícula, gerando uma estrutura que não possui polos magnéticos e, portanto, não apresenta interação dipolar entre as nanopartículas.

Por fim, em relação ao pré-requisito IV, veremos ao longo do trabalho que a escolha do estado de vórtice também explora um mecanismo de aquecimento chamado perda histerética^[29], mais eficiente^[30] que o mecanismo de aquecimento presente nos SPIONs, ou seja, perda por susceptibilidade^[29].

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi compreender o comportamento das VIPs, sob a luz de um candidato para aplicações em hipertermia magnética. O comportamento magnético das VIPs foi simulado utilizando uma abordagem micromagnética. As simulações permitiram a confecção de um diagrama de fase magnético como função das dimensões das VIPs sintetizadas, e também, o estudo dinâmico destas partículas com a simulação das histereses estática (ou DC*) e dinâmicas para frequências típicas usadas em hipertermia (300kHz). Os resultados encontrados, corroboraram o estudo feito por Yang *et al.*^[31] em um sistema semelhante de nanoanéis de magnetita. A síntese das partículas seguiu o trabalho desenvolvido, dentre outros, por Jia *et al.*^[32] e a caracterização morfológica e química mostrou que as VIPs sintetizadas estão de acordo com os trabalhos

*O termo DC refere-se a *Direct Current*.

encontrados na literatura.

Porém, a magnetometria das VIPs sintetizadas não foi capaz de confirmar o estado de vórtice magnético, o que, de certa forma, foi previsto pelas simulações feitas. A partir deste ponto, o projeto assumiu duas linhas de trabalho distintas.

Na primeira linha, preocupou-se com o estudo citotóxico e a viabilidade biomédica (pré-requisito I) das VIPs como sintetizadas: mesmo com a resposta magnética aquém do ideal, as medidas de hipertermia feitas nas VIPs mostraram um resultado superior aos SPIONs convencionais. Logo, foram realizados estudos de citotoxicidades em células de mamíferos. Estes estudos mostraram que as VIPs sintetizadas não apresentavam citotoxicidade. Em seguida testes de hipertermia *in vitro* mostraram que, de fato as VIPs como sintetizadas, potencializam a morte celular quando expostas ao campo magnético alternado.

Na segunda linha, preocupou-se em manipular a resposta magnética das VIPs com o intuito de melhorar ainda mais o SAR das partículas (pré-requisito IV). Como a eficiência na geração de calor das VIPs depende da área do seu ciclo de histerese magnético revisamos inúmeros trabalhos com possíveis estratégias para uma adequada manipulação do ciclo de um sistema magnético ordinário, os quais poderiam ser aplicados aos vórtices^[33–35]. Uma destas seria o acoplamento da VIP com um material antiferromagnético (AFM), dando origem ao fenômeno conhecido por *exchange bias*, e que no trabalho de Sort *et al.*^[36] foi usado para um aumento na área do ciclo histerético. A partir destes trabalhos vislumbramos uma VIP recoberta com um AFM, a qual denominamos VIP@AFM, que foi primeiramente simulada mostrando que de fato esta partícula teria um SAR maior que sua contrapartida sem AFM. Porém, a síntese de uma VIP@AFM não foi completamente possível, com apenas alguns resultados preliminares e pouco conclusivos.

Esta tese está dividida em 8 capítulos abordando cada qual os seguintes temas: No Cap. 1 veremos os fundamentos teóricos necessários para compreensão dos fenômenos magnéticos que regem a hipertermia magnética. Serão apresentados os mecanismos responsáveis pela perda da energia magnética na forma de calor responsável pelo SAR de um partícula.

No Cap. 2, iremos contextualizar as partículas sintetizadas na literatura atual. Apresentaremos os principais trabalhos que contribuíram para o desenvolvimento da hipertermia magnética. Dentre eles destacamos o trabalho de Kim *et al.*^[37] que inspirou o cerne deste trabalho e nos inspirou a estudar as VIP, e o trabalho de Sort^[34–36] que nos motivou a usar o fenômeno de *Exchange Bias* para aprimorar a eficiência das VIPs.

Em seguida, no Cap. 3 serão apresentadas as simulações micromagnéticas usadas para compreensão da dinâmica de um estado de vórtice magnético. Veremos como as partículas sintetizadas podem ser simuladas e iremos contextualizar o projeto de uma VIP do ponto de vista micromagnético, expondo principalmente os prerequisites morfológicos que culminam na formação do vórtice magnético e suas limitações. Além disso, discutiremos os motivos que nos levaram a recobrir a partícula com material antiferromagnético e veremos como isso pode potencializar o SAR.

Depois, no Cap. 4 discutiremos os meios utilizados para sintetizar as partículas simuladas no Cap. 3. Discutiremos os processos físico-químicos que regem o crescimento das partículas e quais as diferentes rotas adotadas para síntese das diversas partículas estudadas no trabalho. Veremos também alguns procedimentos para o recobrimento das partículas por material antiferromagnético.

No Cap. 5, discutiremos as principais técnicas experimentais que foram utilizadas neste trabalho. Assim como os detalhes que permitiram a realização dos experimentos.

Por fim, no Cap. 6, fecharemos os estudos de viabilidade das partículas sintetizadas avaliando desde a sua morfologia à sua toxicidade em células de mamíferos. Veremos de que forma a morfologia única da partícula permitiu não só a formação do vórtice magnético, como também, uma eficiência para hipertermia magnética superior aos SPIONs convencionais. Além disso, apresentaremos alguns dos resultados no que concerne o recobrimento das VIP por antiferromagnético.

Finalmente, nos Cap. 7 e Cap. 8 discutiremos brevemente os resultados encontrados neste trabalho e quais as perspectivas de maior interesse para o trabalho apresentado.

1 Introdução ao nanomagnetismo

Na última década, a pesquisa em materiais nanoparticulados, impulsionou o desenvolvimento de novas tecnologias. Tais materiais, com dimensões características menores que 100 nm, são comparáveis ao tamanho de algumas moléculas ou até a um vírus, mas principalmente ao comprimento de muitas interações fundamentais da física da matéria condensada. Sendo assim, o nanomagnetismo abriu uma nova e complexa gama de fenômenos magnéticos que até hoje é estudada abrangendo cada vez mais aplicações tecnológicas.

A origem destes novos fenômenos, de forma simplificada, pode ser atribuída a uma série de fatores tais como: (i) dimensões nanométricas comparáveis ao comprimento típico de fenômenos magnéticos, como paredes de domínio ou da interação de troca em átomos^[38]; (ii) quebras da simetria de translação dos átomos, o que poderá alterar a densidade de estados eletrônicos, gerar sítios com coordenação (número de vizinhos) reduzida ou frustrações^[39]; (iii) razão de área por volume elevada, o que potencializa efeitos de interface principalmente no acoplamento de diferentes materiais; (iv) maior susceptibilidade a flutuações causadas pela ativação térmica^[39].

Neste capítulo, iremos apresentar os principais aspectos que afetam o comportamento magnético do material e como isto se reflete nos fenômenos macroscópicos observados. Estudaremos de forma resumida quais os desdobramentos fenomenológicos causados pela redução do tamanho de uma partícula magnética à escala nanométrica, e como o seu retorno ao tamanho macroscópico, afeta suas propriedades.

1.1 Magnetismo na matéria

A compreensão do nanomagnetismo inevitavelmente requer o conhecimento do magnetismo convencional. Desta forma, definimos o dipolo magnético \vec{m} como a quantidade magnética elementar e a magnetização \vec{M} como a manifestação macroscópica da média volumétrica de um conjunto

de \vec{m} . Esta unidade elementar pode ser atribuída a cada átomo individualmente. Este momento possui duas contribuições fundamentais, o momento magnético orbital (resultado do movimento orbital dos elétrons ao redor do núcleo atômico) e o momento magnético de spin* dos elétrons. O ordenamento e o comportamento coletivo destes momentos determina o estado magnético do material, em especial o paramagnetismo, ferromagnetismo, antiferromagnetismo e o ferrimagnetismo.

No paramagnetismo de Curie, a energia térmica disponível ao sistema impedirá que eles interajam fortemente entre si, o que faz com que os momentos magnéticos assumam uma orientação aleatória dentro do material. Com a aplicação de um campo magnético \vec{H} , surgirá uma tendência em alinhar os momentos magnéticos que irá competir com a agitação térmica dos momentos. No regime de campo baixo, podemos assumir que a magnetização será uma função linear do campo aplicado:

$$\vec{M} = \chi \vec{H}, \quad (1.1)$$

onde a constante de proporcionalidade χ , denominada susceptibilidade magnética, varia com a temperatura T de acordo com a Lei de Curie:

$$\chi = \frac{C}{T}, \quad (1.2)$$

onde a constante de Curie C depende do material.

Um outro tipo de ordenamento magnético, o ferromagnetismo, não pode ser explicado somente pela presença dos momentos magnéticos e sua interação dipolar. Em uma tentativa de explicar o fenômeno, Pierre Weiss desenvolveu o conceito de um campo molecular, intrínseco ao material e que, para temperaturas ordinárias, seria capaz de ordenar os momentos magnéticos. Seguindo os mesmos moldes do modelo do paramagnetismo de Curie, este campo molecular competiria com a flutuação térmica, mantendo os momentos magnéticos alinhados. Com isso, é possível definir uma temperatura T_C ou temperatura de Curie, a partir da qual a flutuação térmica é alta o suficiente para sobrepor ao efeito do campo molecular. A partir desta temperatura, o material assume o estado paramagnético. Sendo assim, acima desta temperatura crítica teremos o mesmo comportamento linear para a susceptibilidade. Desta forma, obtemos a lei de Curie-Weiss:

*O termo spin é originário do inglês, mas já foi incorporado à língua portuguesa com o significado: momento angular intrínseco de uma partícula.

$$\chi = \frac{C}{T + T_C}. \quad (1.3)$$

Paralelamente, Weiss também introduziu o conceito de domínio magnético^[40]. Com este conceito, Weiss explicou o motivo pelo qual um pedaço de ferro não apresenta necessariamente magnetização espontânea. Este conceito descreve a existência de regiões dentro do material, denominadas de domínios magnéticos, dentro dos quais os momentos magnéticos \vec{m} se alinham e formam uma magnetização \vec{M}_s espontânea. No entanto, cada um destes domínios terá sua magnetização \vec{M}_s apontando para diferentes direções. Desta forma, a soma macroscópica \vec{M} das magnetizações de cada domínio poderia assumir desde valores nulos até M_s .

Infelizmente, como a magnetização macroscópica é dada pela soma dos diversos domínios magnéticos que podem compor a amostra, ela não traz informações desses componentes (distribuição de domínios). De fato, energeticamente falando, uma amostra massiva* apresenta uma infinidade de composições na distribuição dos domínios fornecendo o mesmo valor de M .

De qualquer forma, a variação da magnetização M como função do campo aplicado H é uma das ferramentas mais importantes no estudo de materiais magnéticos. Na Fig. 1.1, temos um esboço da curva M vs H onde definimos algumas grandezas de interesse neste trabalho, estas são: a Magnetização de saturação M_s , que é a magnetização da amostra quando os domínios estão todos alinhados formando um único domínio; a Magnetização Remanente M_r que é a magnetização da amostra a campo zero; e o Campo coercivo H_c que é o campo necessário para anular a magnetização remanente.

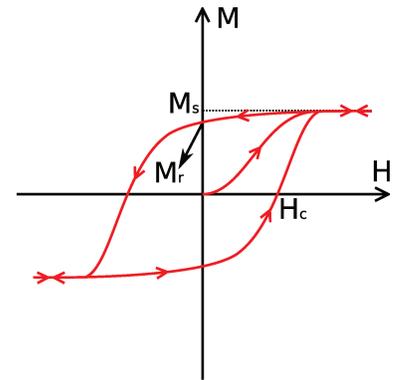


Figura 1.1 – Representação de uma histerese ferromagnética.

Outros dois ordenamentos magnéticos, conhecidos como antiferromagnetismo e o ferrimagnetismo, os momentos magnéticos se acoplam antiparalelamente. Seguindo o conceito de campo molecular introduzido por Weiss, estes dois ordenamentos equivalentes seriam fruto da sobreposição de duas redes cristalinas^[41] com campos moleculares antiparalelos. Porém, no ferrimagnetismo, os momentos magnéticos de uma das redes é diferente da outra rede, criando momentos descompensados responsáveis por uma magnetização resultante. Esta magnetização resultante se comporta, macroscopicamente, de forma semelhante à magnetização observada no ferromagnetismo, respon-

*O termo equivalente a massivo em inglês seria *bulk*.

dendo a um campo magnético na mesma forma histerética mostrado na Fig. 1.1. Além disso, assim como no ferromagnetismo, existe uma temperatura de Curie ou T_C , quando a agitação térmica supera os campos moleculares de ambas as subredes, e marca a transição do ferrimagnetismo para o paramagnetismo.

Já no caso do antiferromagnetismo, as campos moleculares são idênticos e por isso não existe magnetização resultante ou resposta magnética macroscópica, ou seja, a magnetização de saturação de um antiferromagneto é zero. Além disso, este ordenamento também apresenta uma temperatura crítica, quando agitação térmica supera o campo molecular, que marca a transição para o paramagnetismo, e esta temperatura é denominada temperatura de Néel ou T_N .

Por fim, neste dois ordenamentos, a susceptibilidade segue a lei de Curie-Weiss mostrada abaixo:

$$\chi = \frac{C}{T + \theta_p}, \quad (1.4)$$

onde θ_p pode ser determinado segundo a curva mostrada na Fig. 1.2.

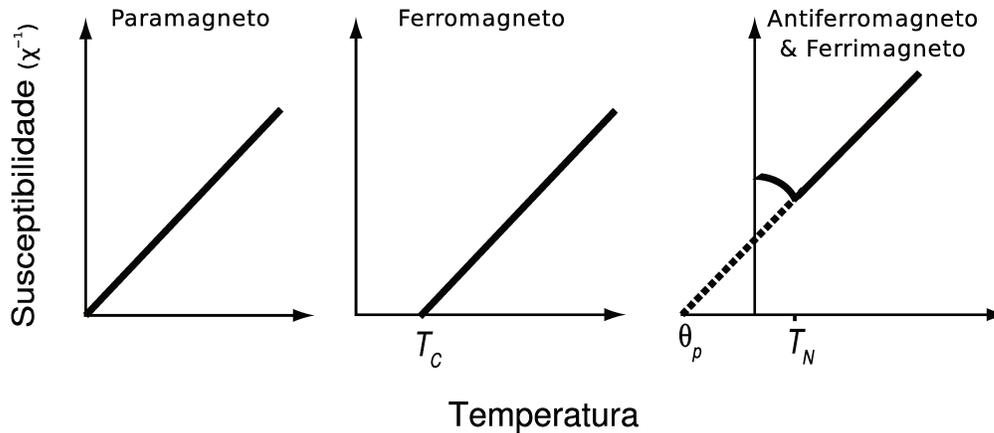


Figura 1.2 – Figura adaptada de^[38] comparando a susceptibilidade de um paramagneto, um ferromagneto e um antiferromagneto.

1.1.1 Interação de troca

O modelo de Weiss representou um grande salto na compreensão dos fenômenos magnéticos, no entanto a teoria não esclarece a origem do campo molecular. Com o advento da física quântica^[42], a origem do campo molecular pode ser finalmente atribuída à chamada interação de

troca. Em 1928^[43], Heisenberg usou o princípio quântico da exclusão de Pauli para explicar de forma microscópica o ferromagnetismo. Ele mostrou que a origem do campo molecular proposto por Weiss é uma consequência conjunta da interação coulombiana entre dois elétrons, cuja energia depende da distância entre eles, e do princípio de exclusão de Pauli. O cálculo quântico feito por Heisenberg, resumiu a dinâmica de interação coulombiana entre os dois elétrons na constante \mathcal{J} e mostrou que para dois elétrons o acoplamento entre eles pode ser descrito pela hamiltoniana:

$$\mathcal{H}_{troca} = -\mathcal{J} \vec{S}_1 \cdot \vec{S}_2 = -\mathcal{J} S_1 S_2 \cos(\theta), \quad (1.5)$$

onde S_1 e S_2 são os spins dos elétrons e θ é o ângulo entre eles.

Consequentemente, o valor do ângulo θ , juntamente com o sinal de \mathcal{J} irá mostrar qual o ordenamento de spin tem a menor energia. Se $\mathcal{J} > 0$, o mínimo de energia será quando o ângulo θ for igual a zero, e teremos um acoplamento ferromagnético. Para $\mathcal{J} < 0$, o mínimo de energia será quando o ângulo θ for igual a 180° e resulta no acoplamento antiferromagnético.

Este hamiltoniano de Heisenberg (1.5) também mostra que a interação de troca é de curto alcance, existindo apenas entre elétrons cuja função de onda tem alguma sobreposição. Se pensarmos em átomos dentro de uma rede cristalina, esta interação ficará restrita aos primeiros vizinhos do átomo e com elétrons pouco localizados, como os elétrons 3d dos metais de transição. Este tipo de interação é conhecida como troca direta.

1.1.2 Anisotropia magnética

Vimos anteriormente que os momentos magnéticos podem assumir um comportamento coletivo e que, no caso dos ferromagnetos, isto se manifesta macroscopicamente na magnetização do material. Porém, o comportamento de uma amostra magnética em resposta a um campo externo não é necessariamente isotrópico. Dependendo da forma do material, estrutura cristalina ou até da presença de elementos em sua interface, este apresentará certas direções na qual a magnetização será mais facilmente alinhada. Isto, em termos energéticos, significa que existe um custo energético associado a diferentes direções, logo, podemos identificar direções onde a energia é mínima, e que caracterizam os chamados eixos de fácil magnetização.

A origem distinta destes diferentes eixos contribuirá para uma anisotropia resultante, fruto da soma de cada um destes. Ademais, agregando este conceito à teoria de domínios magnéticos pro-

posta por Weiss, veremos os domínios magnéticos deverão se alinhar a estes eixos de anisotropia. De forma prática, podemos identificar o eixo de anisotropia como a direção em que a amostra atinge a saturação com mais baixo campo, também denominada de eixo de fácil magnetização. Neste trabalho, há interesse particular nas anisotropias de forma, magnetocristalina e uma específica de interface denominada de *Exchange Bias*, sendo assim estas serão brevemente apresentadas a seguir.

Anisotropia de forma

A principal interação magnética de longo alcance é a interação dipolar, e por isso é a principal responsável pela anisotropia de forma de um material. Em um objeto magnetizado, a densidade de energia devido a esta interação dipolar, a energia magnetostática E_d , será dada por^[44]:

$$E_d = -\frac{\mu_0}{2} \vec{M} \cdot H_d, \quad (1.6)$$

onde H_d é o campo desmagnetizante integrado sobre o volume do objeto. Para entender a origem do campo desmagnetizante, podemos usar o conceito de cargas descompensadas ilustrado na Fig. 1.3. Neste conceito, a distribuição de dipolos magnéticos atômicos dentro do material ferromagnético faz com que para cada polo sul de um dipolo exista um polo norte adjacente para compensá-lo, a exceção dos dipolos magnéticos na superfície. Estes dipolos superficiais terão apenas um polo compensado, o que resulta no outro descompensado. Por fim, esta configuração criará o equivalente matemático a uma distribuição de cargas magnéticas (norte a sul) distribuídas na superfície do material que geram o campo desmagnetizante.

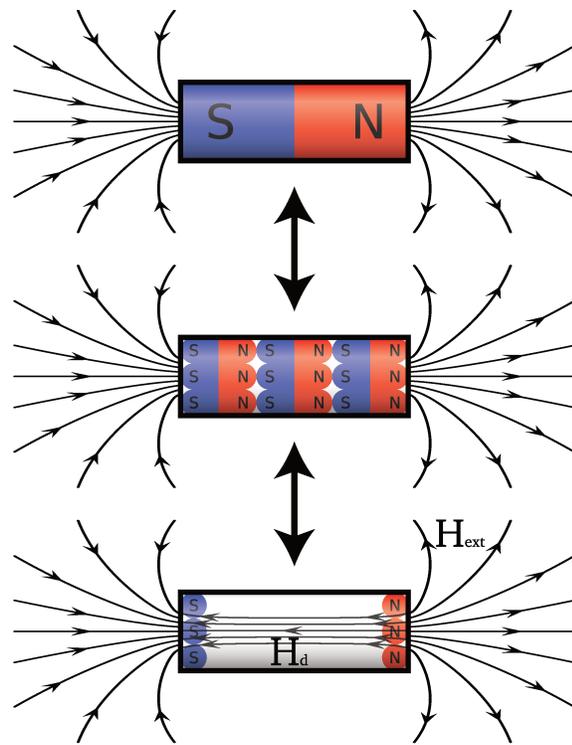


Figura 1.3 – Representação das cargas magnéticas descompensadas e do campo H_d .

Tendo este conceito em mente, podemos imaginar duas possíveis configurações para os momentos magnéticos no interior do objeto mostrados na Fig. 1.3: na Fig. 1.4a os dipolos estão orientados perpendicularmente ao eixo maior do objeto; no caso da Fig. 1.4b os momentos estão

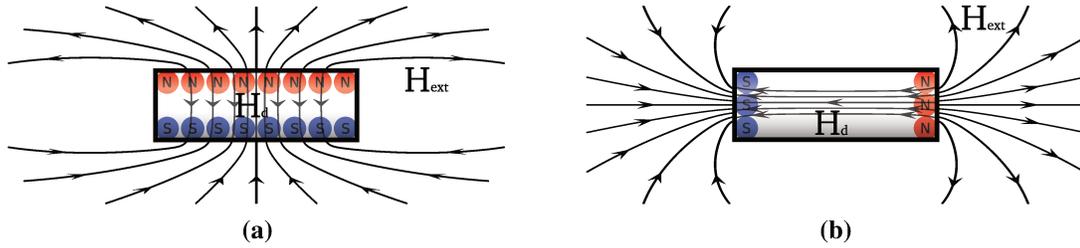


Figura 1.4 – Representação de cargas não compensadas para duas possíveis polarizações. Figura (a) e (b) a polarização é respectivamente perpendicular e paralela ao eixo maior do objeto.

alinhados paralelamente ao eixo maior do objeto (mesma configuração da Fig. 1.3).

Podemos observar que na configuração da Fig. 1.4a existem mais cargas magnéticas descompensadas o que cria um campo H_d mais intenso que o da Fig. 1.4b. A minimização da energia E_d (equação (1.6)) para estes dois casos irá favorecer a condição ilustrada na Fig. 1.4b. Analogamente, esta é o mesmo efeito que faz a magnetização se alinhar ao eixo de uma agulha, e permanecer no plano para um disco.

Anisotropia magnetocristalina

Outro termo de anisotropia descreve a dependência da orientação magnética com relação aos eixos de simetria da rede cristalina do material. A origem da anisotropia magnetocristalina vem da influência do campo cristalino sobre os orbitais dos elétrons. No caso dos metais de transição, o magnetismo se deve aos orbitais 3d. Como estes não são esféricos^[45, 46], eles deverão se alinhar com os eixos de simetria da rede cristalina. Sendo assim, a estrutura cristalina influencia o momento orbital dos elétrons. Por fim, o momento de spin e o momento orbital dos elétrons estão acoplados através da interação spin-órbita^[42], fazendo com que o alinhamento do momento orbital se traduza em um alinhamento do momento magnético atômico.

Cálculo de primeiros princípios da anisotropia pode ser realizado, porém esse resultado é pouco prático^[44], sendo assim, o método mais comum de determinar esta componente é através de expressões fenomenológicas. As expressões da energia, segundo as diferentes simetrias, são^[38]:

$$\text{Uniaxial: } E_K = K_1 \sin^2 \theta, \quad (1.7)$$

$$\text{Hexagonal: } E_K = K_1 \sin^2 \theta + K_2 \sin^4 \theta + K_3 \sin^6 \theta K'_3 \sin^6 \theta \sin^6 \phi, \quad (1.8)$$

$$\text{Tetragonal: } E_K = K_1 \sin^2 \theta + K_2 \sin^4 \theta + K'_2 \sin^4 \theta \cos 4\phi + \quad (1.9)$$

$$+ K_3 \sin^6 \theta K'_3 \sin^6 \theta \sin^6 4\phi, \quad (1.10)$$

$$\text{Cúbica: } E_K = K_1(\alpha_1^2 \alpha_2^2 + \alpha_2^2 \alpha_3^2 + \alpha_3^2 \alpha_1^2) + K_2(\alpha_1^2 \alpha_2^2 \alpha_3^2), \quad (1.11)$$

onde K são as constantes de anisotropia do material e α são os cossenos diretores com relação aos eixos do cristal*. Na Fig. 1.5, temos as superfícies da energia magnetocristalina: em (a) anisotropia uniaxial; em (b) anisotropia cúbica com $K_1 > 0$; e em (c) anisotropia cúbica com $K_1 < 0$. As linhas tracejadas representam os eixos de fácil magnetização nos quais a magnetização deve se alinhar espontaneamente.

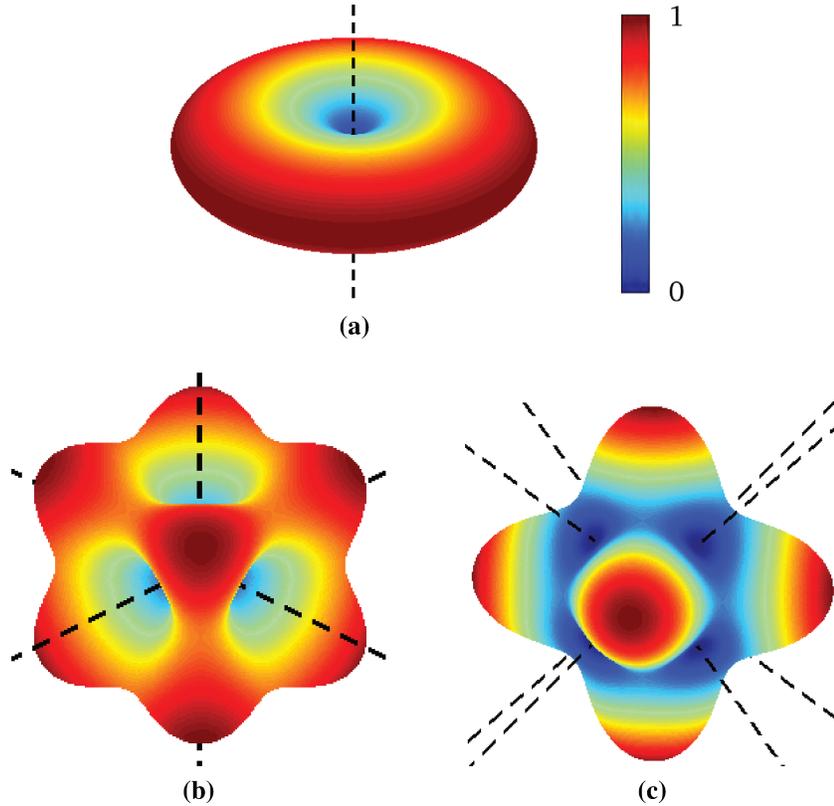


Figura 1.5 – Curva de superfície da energia magnetocristalina: (a) uniaxial; (b) cúbica com $K_1 > 0$; e (c) cúbica com $K_1 < 0$. As cores representam o valor normalizado de energia e as linhas tracejadas os eixos de fácil magnetização.

*Embora não esteja explícito, o termo principal para a anisotropia cúbica também é do tipo $K_1 \sin^2 \theta$.

Anisotropia de interface por *Exchange Bias*

Em 1956, Meiklejohn e Bean reportaram: “A new type of magnetic anisotropy has been discovered which is best described as an exchange anisotropy. This anisotropy is the result of an interaction between an antiferromagnetic material and a ferromagnetic material.”^[47]. E desde então, inúmeras tecnologias já exploram o fenômeno, porém somente recentemente é que um entendimento básico e quantitativo pôde ser alcançado^[48–50].

Este tipo de anisotropia acontece em diversos tipos de sistemas, desde nanopartículas como o observado por Meiklejohn e Bean^[47], sistemas multicamadas diversos^[51] ou qualquer estrutura com uma relação de área por volume elevada^[34, 52]. Trata-se de um efeito que ocorre na interface do material antiferromagnético (AFM) com o material ferro(ferri)magnético (FM). Para entender o fenômeno, podemos assumir que o AFM apresenta uma anisotropia infinita ($K_{AFM} \rightarrow \infty$) e que se acopla ao FM. Desta forma, o AFM impõe uma anisotropia adicional ao FM que desloca sua curva de magnetização. Um modelo simples que permite a compreensão do fenômeno é uma estrutura composta por uma bicamada FM/AFM ideais, onde na interface é suposto um acoplamento FM entre elas. Na Fig. 1.6, temos uma representação de como o acoplamento na interface entre os dois materiais desloca o ciclo de histerese.

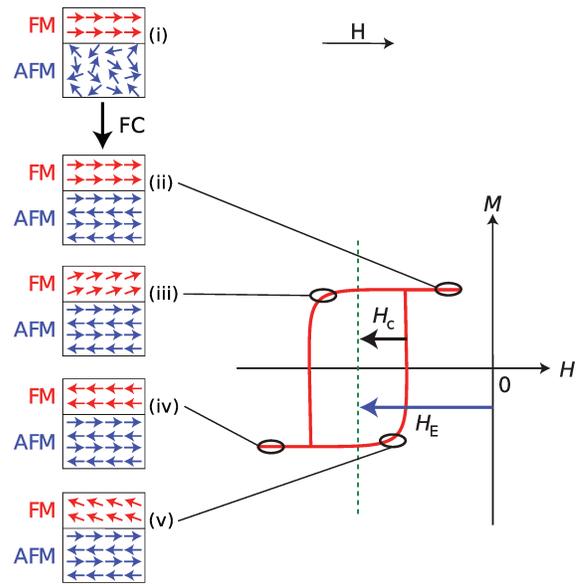


Figura 1.6 – Representação do modelo de Exchange Bias: Histerese de uma bicamada FM/AFM ideal, inicialmente em (i) a bicamada é preparada com um FC, no instante (ii) os momentos magnéticos do FM estão saturados para campos positivos; em (iii) a anisotropia imposta pelo AFM desfavorece a mudança na magnetização; em (iv) os momentos magnéticos do FM estão saturados para campos negativos; e em (v) a anisotropia imposta pelo AFM favorece a mudança na magnetização.

Nesta figura, vemos a representação da histerese de uma bicamada FM/AFM ideal. Tipicamente, no estudo de multicamadas do tipo FM/AFM, a temperatura de Curie do FM é superior à temperatura de Néel do AFM. Com isso, é possível impor o sentido do deslocamento H_E mostrado na Fig. 1.6 através de um resfriamento com campo (também do inglês *Field Cooling* ou FC*). Inicialmente, acima de T_N e abaixo de T_C , a aplicação do campo irá impor uma magnetização ho-

*Embora muitos termos técnicos tenham tradução do inglês, é comum adotar a sigla original da língua inglesa. Para estes casos, usarei o termo em português, porém a sigla em inglês previamente definida, como neste exemplo.

mogênea ao FM, instante (i). Ao resfriarmos abaixo de T_N , o AFM se ordenará, e devido a quebra de simetria imposta pelo FM assumirá o ordenamento imposto pelo campo aplicado, passando de (i) para (ii).

Mantendo o sistema abaixo da T_N do AFM, iniciamos a varredura do campo onde, em (ii), os momentos magnéticos do FM permanecem saturados na direção do campo inicial. À medida que o campo diminui, a interação de troca na interface cria uma anisotropia adicional que aumenta o campo necessário para a inversão da magnetização. Isto se deve ao alinhamento dos spins do AFM na interface, que não são afetados pelo campo externo, mas, devido ao acoplamento, criam esta anisotropia no FM. Em (iv), o campo é alto o suficiente para saturar a magnetização do FM na direção oposta à inicial e em (v), a mesma anisotropia mencionada em (iii) diminui o campo necessário para inversão.

Macroscopicamente, a anisotropia criada pelo acoplamento do FM com o AFM durante o FC cria um deslocamento na histerese no sentido oposto ao campo aplicado durante o FC.

1.1.3 Paredes de domínio e domínios magnéticos

A interação dipolar também é responsável pela formação dos domínios magnéticos propostos por Weiss^[40]. Na Fig. 1.7, vemos como a formação de domínios diminui a quantidade de dipolos descompensados e conseqüentemente a energia magnetostática do sistema.

Logo, o surgimento dos domínios magnéticos visa diminuir a energia magnetostática, porém também cria uma região entre os domínios onde os momentos magnéticos devem se alterar para permitir a formação dos domínios. A esta região damos o nome de parede de domínio. Na Fig. 1.8, temos a ilustração para uma parede de Bloch de 180°.

Esta mudança na orientação dos momentos magnéticos não pode ser feita de forma abrupta pois o custo energético devido a interação de troca seria muito elevado. A energia de troca impõe um custo energético a qualquer mudança no alinhamento de dois momentos magnéticos vizinhos, ver eq. (1.5). Logo, se houvesse apenas a energia de troca os momentos mudariam de direção em porções infinitesimais resultando em uma parede de largura infinita*.

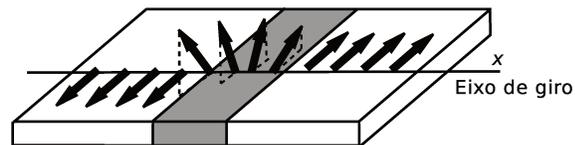


Figura 1.8 – Representação dos momentos magnéticos para uma parede de Bloch. Figura adaptada de Coey^[38].

*Isto se traduziria em uma parede de domínio limitada pelas dimensões do objeto.

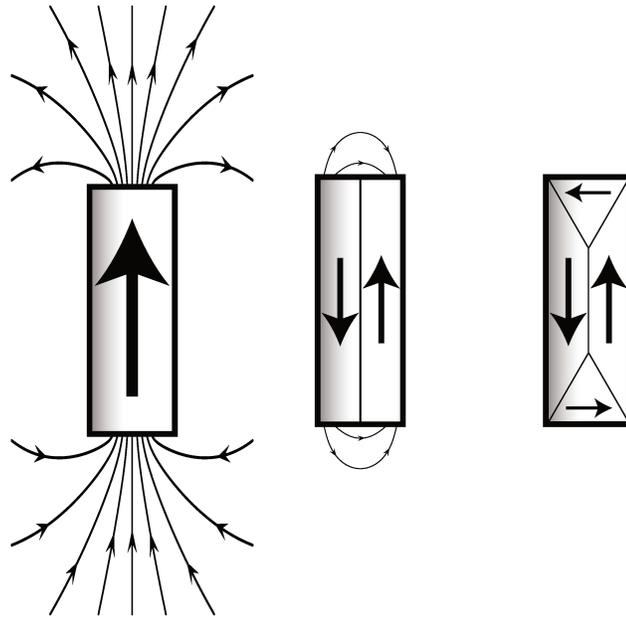


Figura 1.7 – Linhas de campo para um sistema de múltiplos domínios magnéticos.

Por outro lado, em um sistema com anisotropia uniaxial, a energia magnetocristalina é mínima em ambos os extremos da parede, com os momentos magnéticos alinhando-se de forma antiparalela, ver Fig. 1.5a. Dentro da parede de domínio, os momentos magnéticos terão de assumir direções fora do eixo de anisotropia o que representa um custo energético. Sendo assim, se houvesse apenas a energia de anisotropia os momentos mudariam de direção de forma abrupta resultando em uma parede com largura nula.

Com isso, a formação de uma parede de domínio depende da competição entre a energia de troca e a energia de anisotropia, o que se resume na equação que quantifica a energia despendida para formação de uma parede de Bloch de 180° :

$$\delta = 4\sqrt{AK_1}, \quad (1.12)$$

onde A é a constante de rigidez de troca, que reflete a energia de troca necessária em mudar o sentido dos momentos magnéticos. Logo a competição dos termos de energia explicitado em (1.12) e na (1.6), da energia magnetoestática, define quais as dimensões quando é favorável a formação de domínios magnéticos. Ou seja, se a energia para formação da parede for maior que a energia magnetoestática, não teremos a formação de domínios magnéticos. Por outro lado, se a energia para formação for menor, teremos a formação de domínios magnéticos, e a largura da parede de domínio será dada por:

$$\delta = \pi \sqrt{\frac{A}{K_1}}. \quad (1.13)$$

Neste mesmo contexto, também podemos definir outra grandeza como o comprimento de troca ou do inglês *exchange length* (l_{ex}), dado pela expressão^[53]:

$$l_{ex} = \sqrt{\frac{A}{K_1}} = \sqrt{\frac{2A}{\mu_0 M_s^2}}, \quad (1.14)$$

que define a largura das mudanças na orientação dos momentos magnéticos dentro do material. Trata-se de uma grandeza que define o menor comprimento que um domínio magnético pode assumir.

1.2 Introdução ao nanomagnetismo

Ao apresentarmos os conceitos nas seções anteriores, não nos preocupamos em definir quais as dimensões do material magnético. Em verdade, assumimos até agora que, quaisquer que fossem, as dimensões do objeto seriam ordens de grandeza maior que as interações magnéticas apresentadas.

Nesta seção, iremos ver as consequências de reduzir as dimensões de materiais magnéticos a escalas comparáveis, ou até inferiores, às dimensões típicas de paredes de domínio dadas por (1.13). Como vimos, o mecanismo dominante para materiais massivos é a interação dipolar. Devido a isto, a energia magnetostática proporciona a formação de domínios magnéticos.

No entanto, a energia magnetostática é proporcional ao volume do material e, para sistemas nanométricos, ela perde sua importância em relação a outras contribuições, como a energia de anisotropia, anisotropia da superfície e a interação de troca.

1.2.1 Superparamagnetismo e o efeito da temperatura

O superparamagnetismo (SPM) é observado em nanopartículas ferromagnéticas (ou ferrimagnéticas) cujos diâmetros são tão diminutos que fazem da energia magnetostática menor que aquela necessária para a formação de uma parede de domínio. Logo, a nanopartícula apresentará um único domínio magnético ao longo do eixo de anisotropia.

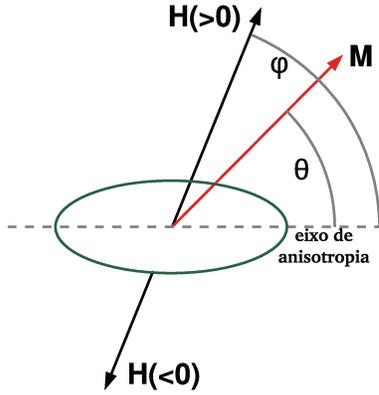


Figura 1.9 – Representação da partícula de Stoner-Wohlfarth (SW): θ é o ângulo entre o campo \vec{H} e o eixo de anisotropia da partícula; ϕ é o ângulo entre o campo \vec{H} e a magnetização \vec{M} .

atômicos e a densidade de energia da nanopartícula sob a ação de um campo magnético externo será dada por^[54]:

$$E(\theta, \phi) = \underbrace{K_{eff}V \sin^2(\theta)}_{\text{Anisotropia}} - \underbrace{\mu_0 M_s H \cos(\theta - \phi)}_{\text{Zeeman}}, \quad (1.15)$$

onde θ e ϕ estão definidos segundo a Fig. 1.9, K_{eff} é a constante de anisotropia efetiva da partícula e que pode depende de todas as anisotropias do material. Aqui, para simplificar o entendimento do problema, aproximamos por uma anisotropia uniaxial. Normalizando a (1.15) pela energia térmica $K_B T$:

$$\frac{E(\theta, \phi)}{K_B T} = \zeta \sin^2(\theta) - \xi \cos(\theta - \phi), \quad (1.16)$$

onde $K_B = 1,38 \times 10^{-23}$ J/K é a constante de Boltzmann^[55] e os parâmetros $\zeta = K_{eff}V/K_B T$ e $\xi = \mu_0 M_s H/K_B T$ são adimensionais.

Analisando a relação (1.16), observamos que a orientação dos macrospins de uma partícula de SW depende apenas de sua anisotropia. No caso da anisotropia uniaxial, esta dependência impõe um estado fundamental duplamente degenerado, ou seja, o estado de menor energia será quando o macrospin estiver alinhado ao eixo de anisotropia e a magnetização em dois sentidos, $\theta = 0^\circ$ ou $\theta = 180^\circ$ (ver Fig. 1.9). Quando aplicamos um campo externo a degenerescência é quebrada como

*Esta configuração também é equivalente a uma nanopartícula esférica, sem anisotropia de forma, e com uma anisotropia magnetocristalina uniaxial.

mostrada na Fig. 1.10. A medida que o campo se intensifica este satura a partícula e faz com que o macrospin se alinhe em sua direção. Na Fig. 1.10, vemos o perfil de energia como função do ângulo θ e do campo aplicado, escrito em termos de ξ , para um ângulo $\varphi = 60^\circ$ e $\zeta = 1$.

Como definido na Fig. 1.10, E_1 e E_2 são os dois mínimos de energia degenerados, em campo nulo. A barreira energética que separa estes mínimos ($\Delta E = E_3 - E_{1,2}$) é dado por $K_{eff}V$. No SPM esta barreira ΔE pode ser comparável a energia térmica do sistema $K_B T$. Caso $K_B T > \Delta E$ a mudança na polarização do macrospin entre E_1 e E_2 torna-se termicamente ativável, fazendo com que o macrospin sofra inversões espontâneas. Conseqüentemente, para uma janela de tempo longa o suficiente, a média da magnetização do sistema será nula.

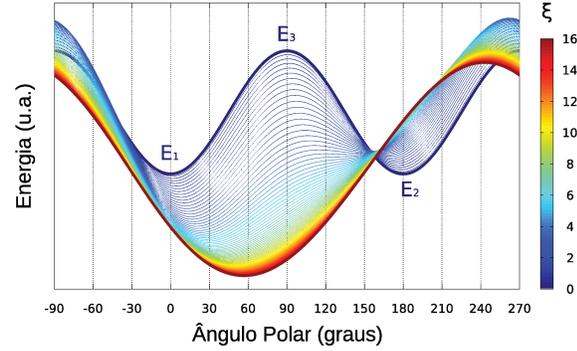


Figura 1.10 – Perfil de energia de uma partícula de SW com campo aplicado a 60° e $\zeta = 1$ como função de θ e ξ . Todas as curvas apresentadas foram normalizadas para não prejudicar a escala, sendo assim, suas amplitudes não devem ser comparadas.

O tempo em que o macrospin inverte é uma grandeza estatística e pode ser calculada para N partículas, cada uma podendo estar ou no estado E_1 ou no E_2 . Definimos duas populações n_1 e n_2 ($N = n_1 + n_2$), respectivas às energias E_1 e E_2 . Neste contexto, o processo termicamente ativado de inversão faz com que os elementos da população n_1 possam transitar para n_2 e vice versa. A variação no número de elementos em cada população dn será proporcional ao tempo. Definindo uma constante ν como a frequência com que as transições acontecem, a variação dn da população n pode ser definida como:

$$dn_1 = n_2 \nu dt - n_1 \nu dt, \quad (1.17)$$

$$dn_2 = n_1 \nu dt - n_2 \nu dt, \quad (1.18)$$

lembrando que a magnetização é proporcional à diferença $M \propto n_1 - n_2$. A subtração de (1.18) em (1.17) descreve a evolução temporal da magnetização:

$$dM = -2\nu M dt \Rightarrow M = M_0 \exp[-2\nu t]. \quad (1.19)$$

Desta equação, definimos o tempo de relaxação de Néel $\tau_N = 1/2\nu$, e por se tratar de um processo clássico, a frequência das transições será proporcional à estatística de Boltzmann: $\nu = \nu_0 \exp\left[-\frac{E_3 - E_{1,2}}{k_B T}\right]$, logo, definimos τ_N como:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left[\frac{\Delta E}{k_B T}\right] = \tau_0 \exp\left[\frac{K_{eff} V}{k_B T}\right]. \quad (1.20)$$

Esta expressão é conhecida como lei de Néel-Arrhenius^{[39]*}. Ela descreve a variação do tempo de relaxação de Néel como função da barreira $K_{eff} V$ e da temperatura. A constante τ_0 é da ordem de 1 GHz e se relaciona à frequência de ressonância ferromagnética do campo desmagnetizante^[38].

A partir do tempo de relaxação de Néel, podemos definir o estado de superparamagnetismo ao comparar o tempo de relaxação com a janela de tempo de medida t_m . Medidas macroscópicas, como magnetometria, possuem uma janela de medida da ordem de $t_m = 100$ s. Medidas microscópicas, como espectroscopia Mössbauer ou ressonância magnética nuclear (*Nuclear Magnetic Resonance* ou NMR), a janela de medida é da ordem de 10^{-9} s a 10^{-7} s. Logo, se o tempo de relaxação τ_N for menor que t_m , a magnetização irá decair a zero antes que a medida aconteça e a partícula estará no regime superparamagnético. Se, por outro lado, o contrário for verdade ($\tau_N > t_m$), as partículas estarão no estado bloqueado, e uma magnetização diferente de zero será observada.

A temperatura de bloqueio T_b pode ser calculada para $\tau_N = 100$ s e $\tau_0 = 10 \times 10^{-9}$ s:

$$T_b \approx \frac{K_{eff} V}{25 k_B}. \quad (1.21)$$

Ela é necessariamente menor que a temperatura de Curie do material que compõe as partículas.

Na Fig. 1.11, temos uma representação esquemática da curva de magnetização de partículas no regime superparamagnético. Nela, é possível observar que o conjunto de partículas

não é capaz de manter uma magnetização, e seu comportamento em função do campo magnético não apresenta histerese. Este mesmo comportamento é observado em materiais paramagnéticos e por isso podemos afirmar que: um conjunto de partículas superparamagnéticas se comporta, ma-

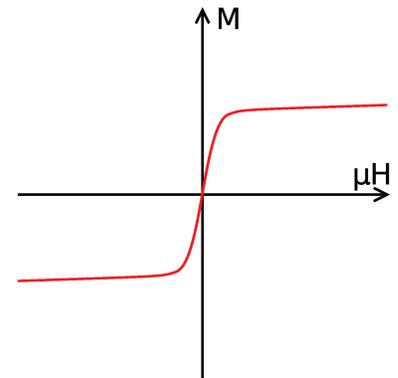


Figura 1.11 – Representação da histerese de um superparamagneto.

*A teoria completa da equação de Néel-Arrhenius pode ser vista no trabalho de 1963 de Brown^[56, 57].

croscopicamente, tal e qual um paramagneto convencional, porém com a diferença de possuir um momento magnético elementar que não é o atômico, mas a soma de todos os momentos atômicos que formam a partícula, ou seja, o macrospin.

Isto confere ao sistema superparamagnético um momento magnético efetivo três ordens de grandeza maior que dos materiais paramagnéticos convencionais, um campo de saturação extremamente baixo (não mais que poucas dezenas de Oe) e uma magnetização de saturação igual a do material em sua forma massiva.

Função de Langevin

O cálculo analítico da curva mostrada na Fig. 1.11 pode ser feito assumindo uma temperatura suficientemente alta, tal que $K_B T$ seja muito maior que ΔE . Desta forma a anisotropia da partícula pode ser ignorada ($\zeta \rightarrow 0$). Isto implica em uma magnetização que pode assumir qualquer orientação, e por isso pode ser tratada como um paramagneto clássico, descrito pelo modelo de Langevin.

Sendo \hat{z} o eixo de anisotropia e $\vec{H} = H\hat{z}$ o campo magnético aplicado, a energia magnética será dada por:

$$\varepsilon = -\vec{m} \cdot \vec{B} = -\mu_0 m H \cos(\theta), \quad (1.22)$$

onde θ é o ângulo entre \vec{m} e \hat{z} . A probabilidade de um dado momento magnético (\vec{m}) apontar para uma determinada direção é proporcional ao fator de Boltzmann (1.23):

$$P(\varepsilon) = A \exp \left[\frac{\varepsilon}{K_B T} \right], \quad (1.23)$$

onde A é uma constante de normalização. Considerando $\int A \exp \left[\frac{\varepsilon}{K_B T} \right] ds = N$, para um sistema de N macrospins:

$$A = \frac{Nx}{4\pi \sinh(x)}, \quad (1.24)$$

x sendo uma grandeza adimensional definida como:

$$x = \frac{\mu_0 m H}{k_B T}. \quad (1.25)$$

O momento magnético médio na direção do campo ($\langle \mathfrak{M}_z \rangle$) será dado por:

$$\begin{aligned} \langle \mathfrak{M}_z \rangle &= \frac{\int m A \exp\left[\frac{\varepsilon}{K_B T}\right] ds}{N} \\ &= 4\pi \sinh(x) \int_0^{2\pi} \int_0^\pi m \cos(\theta) \exp\left[\frac{x \cos(\theta)}{K_B T}\right] d\theta d\phi \\ &= m \left(\coth(x) - \frac{1}{x} \right). \end{aligned} \quad (1.26)$$

Finalmente, define-se a função \mathfrak{L} de Langevin como:

$$\langle \mathfrak{M}_z \rangle = m \mathfrak{L}. \quad (1.27)$$

Esta função descreve a forma pela qual o momento magnético deve acompanhar o campo magnético aplicado. Para campos magnéticos pequenos, a função de Langevin pode ser aproximada por $\mathfrak{L} \approx x/3$, com isso, a susceptibilidade de um conjunto de n macrospins por metro cúbico será $\chi = n \langle \mathfrak{M}_z \rangle / H$:

$$\chi = \frac{\mu_0 n m^2}{3 K_B T} = \frac{C_{spm}}{T}. \quad (1.28)$$

No limite para campos elevados, os macrospins estão saturados e a função de Langevin pode ser aproximada por $\mathfrak{L} \approx 1 - 1/x$.

1.2.2 Histerese de SW e o efeito do tamanho

Na seção anterior, foi discutido como a temperatura pode afetar a magnetização de pequenas partículas (ferri)ferromagnéticas. Na equação (1.20), mostramos a relação entre temperatura e tempo de resposta do sistema usado para definir os limites do SPM. No entanto, ainda não foi explorado os efeitos da barreira de energia ΔE .

Na ausência do campo magnético, ΔE é proporcional ao seu volume. Logo, a partir de (1.20),

podemos calcular um volume crítico $V_{spm}(T)$ de uma partícula para o qual a partícula fica bloqueada. Usando $t_m = 100$ s e $\tau_0 = 10^{-9}$ s:

$$V_{spm} \approx \frac{25K_B T}{K_{eff}}, \quad (1.29)$$

na Tabela 1.1 temos alguns valores de temperatura e raio de partículas de cobalto e seus valores respectivos de τ_N ^[38].

Tabela 1.1 – Relaxação de Néel de partículas de Cobalto, adaptado de Coey^[38].

Raio (nm)	Temperatura (K)	Tempo de relaxação τ_N
3,5	260	332 s
3,5	300	10 s
3,5	340	0,6 s
3,5	380	76 ms
3,0	300	1,9 ms
4,0	300	223 h
5,0	300	1×10^{12} anos

Como os experimentos deste trabalho foram realizados em temperatura ambiente, iremos assumir que o fenômeno de bloqueio das partículas é exclusivo do efeito de tamanho das partículas, ou seja, da altura da barreira de potencial $K_{eff}V$.

Seguindo o formalismo da equação (1.16) para partículas bloqueadas, teremos uma resposta magnética histerética descrita no modelo de Stoner-Wohlfarth. Este modelo é um dos modelos analíticos mais simples a apresentar histerese, e descreve a magnetização da mesma partícula de SW (Fig. 1.9) discutida no § 1.2.1, porém bloqueada.

Novamente, na ausência de campo teremos os dois estados degenerados como mostrados na Fig. 1.10, porém neste caso a partícula está bloqueada. Para o caso particular, no qual φ é zero, ou seja, o campo é aplicado ao longo do eixo de anisotropia, os macrospins, ao se alinharem com o campo, irão para o mínimo energético E_1 . Depois disto, mesmo a campo nulo, os macrospins permanecerão no estado E_1 . Para inverter a magnetização, e migrar os macrospins para E_2 , é

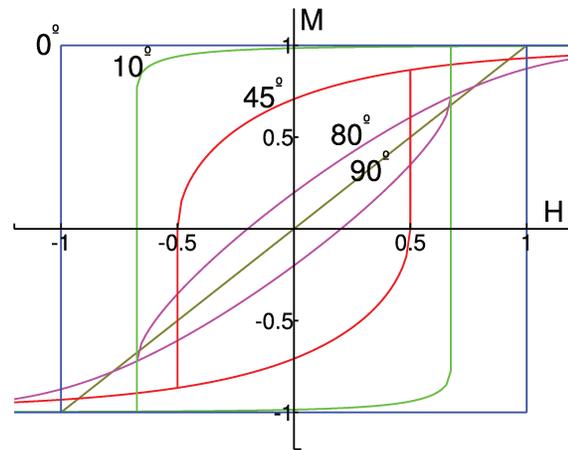


Figura 1.12 – Histereses calculadas segundo o modelo de SW para diferentes valores de ϕ .

necessário saturar a amostra no sentido oposto. Este processo cria uma histerese quadrada que é mostrada em uma das curvas na Fig. 1.12.

No caso em que ϕ é 90° o campo é aplicado perpendicularmente ao eixo de anisotropia. Com a retirada do campo os momentos se redistribuirão igualmente entre os estados E_1 e E_2 , o que não resulta em histerese. Na Fig. 1.12, são mostradas as diferentes curvas de histerese calculadas para diferentes valores de ϕ .

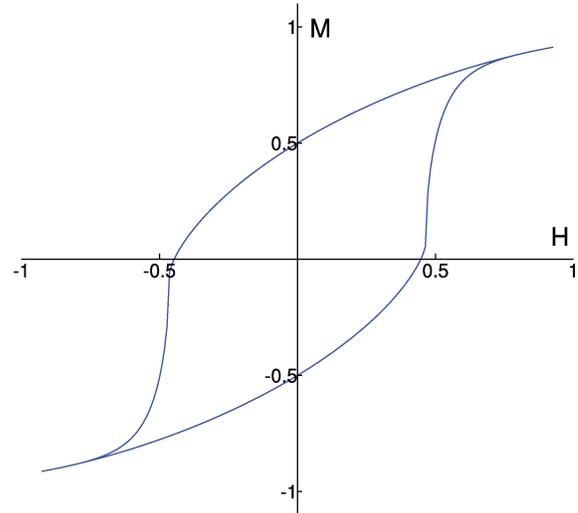


Figura 1.13 – Histerese calculada segundo o modelo de SW considerando um conjunto de partículas aleatoriamente orientadas.

Para um conjunto de partículas aleatoriamente orientadas teremos a histerese normalizada mostrada na Fig. 1.13. Esta pode ser interpretada como uma aproximação da resposta magnética, normalizada pela magnetização de saturação, que seria observada em uma amostra real de partículas. Tais partículas teriam de apresentar uma baixa polidispersão e interação dipolar entre partículas desprezível. A remanência deste conjunto de partículas seria 0,5 e a coercividade 0,482.

1.2.3 Vórtice magnético

Além de bloquear os momentos atômicos, o aumento no tamanho da partícula também pode promover um rearranjo na configuração dos spins. Na medida em que a partícula cresce, a energia magnetostática começa a sobressair promovendo o rearranjo que destrói a configuração de monodomínio a fim de diminuir o campo desmagnetizante.

Na Fig. 1.14, adaptada de Guimarães^[39], temos uma curva que descreve o efeito do tamanho na coercividade da partícula. Na região azul, estão representadas as partículas superparamagnéticas descritas em § 1.2.1. Em seguida, na região vermelha, o aumento da partícula faz com que ela fique bloqueada e comece a apresentar o comportamento histerético, descrito em § 1.2.2. Na região verde, a partícula já está tão grande que a energia magnetostática se impõem completamente forçando a formação de domínios magnéticos dentro da partícula. Finalmente, na região amarela o tamanho da partícula inviabiliza o estado monodomínio, mas também não favorece a formação de domínios. Logo, nesta região intermediária, temos a formação de um estado de vórtice, que mini-

miza a energia magnetostática fazendo com que a coercividade caia, mas não quebra a partícula em domínios magnéticos*.

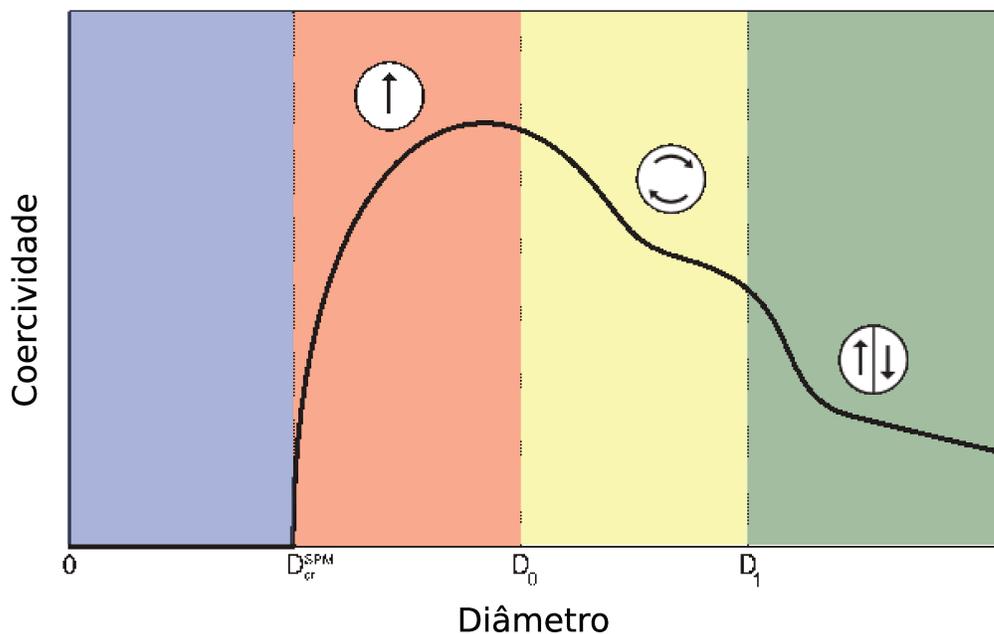


Figura 1.14 – Gráfico adaptado de Guimarães^[39]: Variação da coercividade como função do tamanho de uma nanopartícula: em azul regime superparamagnético; em vermelho regime superparamagnético bloqueado, em amarelo regime de vórtice magnético; e em verde regime de multidomínio magnético.

O surgimento deste estado intermediário, denominado vórtice, pode ser interpretado como a primeira parede de domínio imposta pela energia magnetostática, pois na formação do vórtice, a partícula tem dimensões da ordem da largura da parede. Esta configuração de spins é principalmente encontrada em nanodiscos, mas também podem ser encontradas em nanopilares ou partículas que tenham uma seção circular ou elíptica.

No caso de nanodiscos apresentando vórtice magnético como estado fundamental, a anisotropia de forma do disco faz com que a magnetização fique contida ao plano do disco (exceto próximo ao centro da seção, como veremos a seguir), o qual definimos como plano (x,y) . Isto acontece devido ao balanço energético entre a anisotropia de forma e de troca que faz com que os momentos magnéticos circulem ao redor do eixo \hat{z} , confinando o fluxo magnético dentro da partícula. No entanto, os momentos magnéticos próximos ao centro do disco, apresentariam um ângulo entre estes muito grande[†], o que implicaria em um custo energético que aumenta na medida que nos

*É preciso ressaltar que o estado de vórtice depende de uma morfologia bem específicas e nem sempre pode acontecer.

[†]De fato, exatamente no centro do vórtice, se os momentos permanecessem no plano, haveria uma descontinuidade com momentos magnéticos antiparalelos^[58].

aproximamos do centro da partícula. Para minimizar a energia, os momentos magnéticos próximos ao centro circulam para fora do plano, criando o chamado núcleo do vórtice e representado na Fig. 1.15.

A formação do núcleo diminui o ângulo entre os momentos magnéticos e faz com que a magnetização varie suavemente ao longo do vórtice, com isso a energia de troca é minimizada: *The vortex structure has no pole, no net magnetization and no stray field, but with a cost in the exchange energy*^[59].

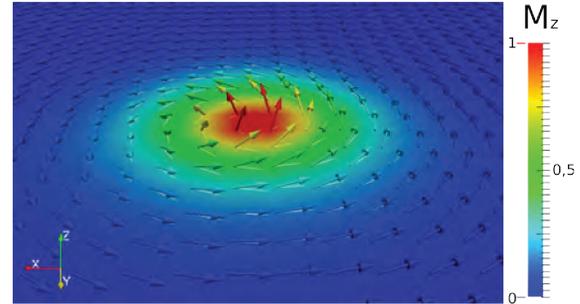


Figura 1.15 – Arranjo de spins em um vórtice magnético.

Na Fig. 1.15, temos a representação dos momentos magnéticos em uma configuração de vórtice com destaque para seu núcleo. As setas representam a orientação dos momentos magnéticos e o esquema de cores é proporcional à componente m_z (fora do plano) dos momentos.

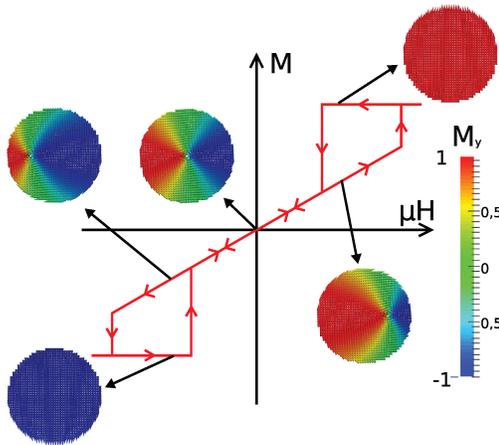


Figura 1.16 – Representação da histerese de um vórtice magnético.

Este sistema apresenta uma histerese magnética peculiar, mostrada na Fig. 1.16. Nesta, temos uma representação da histerese medida ao longo da direção \hat{y} , que corresponde a uma direção de fácil magnetização do vórtice (paralela ao plano (x, y)) e a distribuição dos momentos magnéticos correspondentes a diferentes regiões da histerese.

Inicialmente, na ausência de campo externo ($H = 0$), o vórtice mantém as linhas de campo contidas dentro da partícula, resultando em uma magnetização nula. À medida que o campo aumenta, o núcleo do vórtice se desloca na direção perpendicular àquela a qual o campo está sendo aplicado ($+x$ neste caso), criando um aumento linear da magnetização. Após o núcleo atingir a borda da partícula ele é aniquilado resultando em um salto abrupto da magnetização. A partir deste ponto, a partícula está praticamente saturada, assumindo portanto, uma configuração de monodomínio. Partindo da saturação, a medida que o campo é removido, o núcleo do vórtice reaparecerá fazendo com que magnetização tenha um

novo salto, a partir do qual o vórtice é recomposto e a magnetização volta ao regime linear*. Infelizmente, não existe modelo analítico para descrever a histerese representada na Fig. 1.16, e por isso este sistema costuma ser estudado através de simulações micromagnéticas^[34, 60–63].

1.3 Ferrofluidos e a Relaxação de Brown

Até o momento, estudamos o comportamento magnético de partículas esferoides isoladas, o que seria equivalente a um sistema de partículas retidas em uma matriz sólida. Nos parágrafos seguintes, serão apresentados alguns dos conceitos que regem a dinâmica da magnetização de um ferrofluido, ou seja, partículas magnéticas suspensas em um fluido. Para tanto, iremos assumir, a princípio, a mesma partícula de SW bloqueada (§ 1.2.2) com anisotropia uniaxial grande se comparada à energia térmica e também ao campo magnético aplicado. Isto implica que para qualquer campo aplicado, a partícula deverá girar sobre seu eixo sem alterar sua polarização, em outras palavras, a partícula se comportará de forma análoga a uma agulha de bússola. Além disso, não iremos considerar a interação dipolar entre as partículas e o líquido no qual elas estão suspensas será aproximado por um fluido newtoniano[†].

1.3.1 Relaxação de Brown

Partículas suspensas em um fluido apresentarão um tipo de movimento aleatório conhecido como movimento Browniano. Este tipo de movimento é fruto da colisão entre a partícula e as moléculas que compõem o fluido. Partindo de um conjunto de partículas magnéticas alinhadas, o movimento browniano das partículas fará com que a magnetização do sistema diminua ao longo do tempo, seguindo a perda na coerência entre as partículas.

Em um campo magnético uniforme, a translação das nanopartículas não deve afetar a magnetização resultante, logo apenas o movimento Browniano de rotação das partículas será responsável pela diminuição na magnetização. Sendo assim, apenas a direção do momento magnético da partícula será responsável pela magnetização, que pode ser descrito pela posição angular do momento sobre uma casca esférica. Seguindo este raciocínio, iremos modelar o comportamento coletivo

*A curva descrita não é geral para todo vórtice magnético, mas sim para a aplicação que se busca neste trabalho. Para maiores detalhes, ver referência^[39].

†Um fluido newtoniano pode ser definido como aquele cujo tensor de viscosidade não varia com sua taxa de cisalhamento^[64].

de infinitas partículas idênticas como a difusão bidimensional da direção dos momentos magnéticos sobre uma casca esférica. Partiremos assim da segunda equação de Fick^[64] para uma difusão bidimensional:

$$\frac{\partial}{\partial t}\Phi = D\nabla^2\Phi, \quad (1.30)$$

onde Φ descreve a distribuição estatística dos momentos magnéticos e D é a constante de difusão deste sistema. Como a difusão se dá sobre uma casca esférica, Φ será função do ângulo sólido Ω e do tempo t . Com isso podemos assumir a solução em harmônicos esféricos descrita genericamente por:

$$\Phi(\Omega, t) = \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l A_{ml}(t)Y_{ml}(\Omega), \quad (1.31)$$

onde A_{ml} é a solução da parte temporal e Y_{ml} é o harmônico esférico e solução da parte angular. Como a solução do laplaciano de harmônicos esféricos é:

$$\nabla^2 Y_{ml}(\Omega) = -l(l+1)Y_{ml}(\Omega), \quad (1.32)$$

substituímos (1.32) em (1.30):

$$\frac{\partial}{\partial t} \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l A_{ml}(t)Y_{ml}(\Omega) = -D \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l l(l+1)A_{ml}(t)Y_{ml}(\Omega). \quad (1.33)$$

Em seguida, por ortogonalidade dos harmônicos esféricos $Y_{ml}(\Omega)$, podemos analisar cada termo do somatório separadamente de forma que :

$$\frac{\partial}{\partial t} A_{ml}(t) = -Dl(l+1)A_{ml}(t), \quad (1.34)$$

o que implica na solução mostrada em (1.35):

$$A_{ml}(t) = \exp[-Dl(l+1)t]a_{ml} = \exp\left[\frac{-t}{\tau_B}\right]a_{ml}, \quad (1.35)$$

onde a_{ml} é uma constante a ser determinada pelas condições de contorno e $\tau_B = [Dl(l+1)]^{-1}$ é

definido como tempo de relaxação de Brown, portanto:

$$\Phi(\Omega, t) = \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l \exp\left[\frac{-t}{\tau_B}\right] a_{ml} Y_{ml}(\Omega). \quad (1.36)$$

Analisando somente o tempo de relaxação de Brown, a partir da primeira solução não trivial para $l = 1$, teremos a (1.37):

$$\tau_B = \frac{1}{2D}. \quad (1.37)$$

Finalmente, considerando a relação de Stokes-Einstein para uma esfera de raio R rotacionando em um líquido de viscosidade η ^[64], $D = \frac{k_B T}{8\pi\eta R^3}$ ^{*}, temos a equação (1.38) para o tempo de relaxação de Brown:

$$\tau_B = \frac{4\pi\eta R^3}{k_B T} = \frac{3\eta V}{k_B T}, \quad (1.38)$$

que define o tempo da perda de magnetização devido somente ao movimento Browniano das partículas no fluido.

1.3.2 Tempo de Relaxação Efetivo

Para um sistema composto por partículas superparamagnéticas suspensas em um fluido, devemos considerar que ambos os mecanismos de relaxação: o de Néel, descrito na equação (1.20); e o de Brown, descrito na equação (1.38); estarão presentes. Por serem processos independentes[†] e que ocorrer paralelamente, devemos definir um tempo de relaxação efetivo τ calculado pela fórmula:

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_B} + \frac{1}{\tau_N}. \quad (1.39)$$

Com isso, observamos que, apesar de serem independentes, a contribuição predominante para o tempo efetivo será a do tempo de relaxação mais curto. Na Fig. 1.17 (adaptada de Rosensweig^[65]), temos um gráfico mostrando a evolução dos tempos de relaxação efetivos, de Brown (τ_B) e de

^{*}O raio e volume da esfera na forma como foram apresentados referem-se ao raio de giro hidrodinâmico, o que em muitos casos é maior que o raio efetivo da partícula.

[†]Uma simples mudança de referencial isola um dos processos: para o referencial da partícula teremos apenas a relaxação de Néel.

Néel (τ_N), de uma partícula superparamagnética de magnetita (Fe_3O_4), como função do seu raio. Observe como o tempo efetivo τ acompanha o tempo de relaxação mais curto, a exceção para um raio em torno de 7,5 nm, onde as dinâmicas de Brown e Néel são comparáveis.

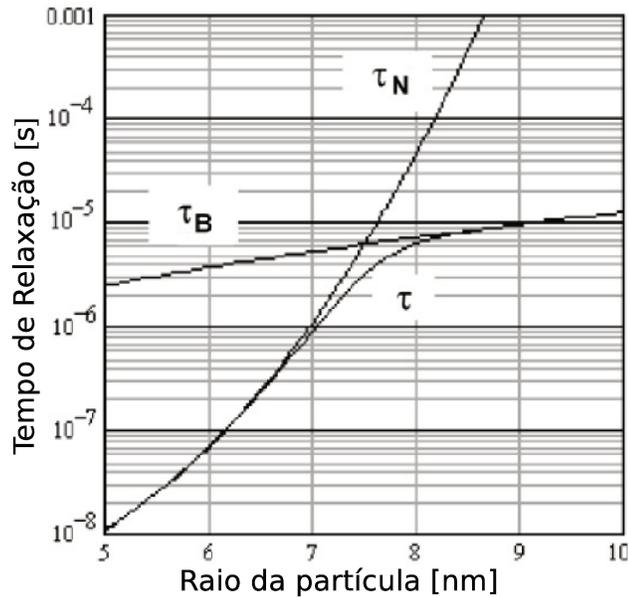


Figura 1.17 – Gráfico adaptado de Rosensweig^[65] mostrando como os tempos de relaxação de Brown (τ_B), de Néel (τ_N) e o tempo de relaxação total (τ) de uma partícula esférica de magnetita variam com o raio desta.

1.4 Hipertermia magnética em partículas

Como o intuito do trabalho é o uso de partículas magnéticas para a entrega de calor, ainda nos resta formalizar os processos por trás da geração de calor por parte de um conjunto de partículas suspensas em um fluido, quando submetidas a um campo magnético alternado. Nas seções anteriores, apresentamos um pouco da teoria para descrever a magnetização destas partículas em suspensão, mas sempre sob a ação de um campo magnético estático. Nesta seção, finalizaremos a teoria deste trabalho com uma descrição dos três processos responsáveis pela perda da energia magnética na forma de calor.

1.4.1 Perda por Susceptibilidade

O primeiro processo, denominado Perda por Susceptibilidade, acontece em sistemas de partículas superparamagnéticas suspensas em um fluido. O principal modelo que descreve este tipo

de sistema é conhecida como Teoria da Resposta linear, ou do inglês *Linear Response Theory* (LRT)^[65].

Partindo da primeira lei da termodinâmica, a variação da energia interna dU será função da variação de calor δQ e do trabalho δW realizado no sistema: $dU = \delta Q + \delta W$. A variação do campo magnético $d\vec{B}$ cria um trabalho na forma $\delta W = \vec{H} \cdot d\vec{B}$, onde \vec{H} é o campo efetivo do sistema. O calor gerado em ciclo fechado será dada por $\delta Q = H dB$, substituindo $B = \mu_0(H + M)$ e integrando por partes, temos a relação:

$$\Delta Q = -\mu_0 \oint M dH. \quad (1.40)$$

Isto nos mostra que a variação de energia interna devido à variação do campo aplicado é igual a área do ciclo de histerese magnética no plano $(\mu_0 H, M)$. Logo, para um processo cíclico de frequência f , definimos a potência total dissipada ou *SAR* pela equação:

$$SAR = \Delta Q f. \quad (1.41)$$

Para o cálculo de ΔQ , será assumido um campo aplicado senoidal descrito por $H = H_0 \cos(2\pi ft)$ e uma magnetização proporcional ao campo na forma $M = \chi H$, onde χ é a susceptibilidade magnética do material. Porém, por se tratar de um sistema dinâmico, devemos assumir também a existência de uma componente fora de fase proporcional ao atraso na resposta da magnetização à mudança no campo. Matematicamente, assumimos χ como uma grandeza complexa do tipo $\chi = \chi' + i\chi''$ e assim reescrevemos o campo aplicado e a magnetização como:

$$\begin{aligned} H &= \Re[H_0 \exp(2\pi ft)], \\ M &= \Re[H_0(\chi' + i\chi'') \exp(2\pi ft)]. \end{aligned} \quad (1.42)$$

Substituindo estas grandezas em (1.40), temos variação de energia dada por:

$$\Delta Q = \mu_0 \pi H_0^2 \chi''. \quad (1.43)$$

Nota-se que apenas χ'' contribui para a variação da energia, e por isso é denominado compo-

nente de perda da susceptibilidade. Finalmente, substituindo (1.43) em (1.41), a potência dissipada total será dada por:

$$SAR = \mu_0 \pi H_0^2 \chi'' f. \quad (1.44)$$

Para definir ambas as componentes da susceptibilidade (χ' e χ'') do material, vamos considerar que a relaxação da magnetização é linear^[66], sendo assim, teremos a relação:

$$\frac{\partial M(t)}{\partial t} = \frac{1}{\tau} (M_0(t) - M(t)), \quad (1.45)$$

onde M_0 é a magnetização de equilíbrio calculada da mesma forma que na equação (1.42): $M_0 = \Re[H_0 \chi_0 \exp(2\pi f t)]$; χ_0 é a susceptibilidade de equilíbrio calculada pela definição de susceptibilidade ($\chi = \frac{\partial M}{\partial H}$) aplicada à teoria de Langevin: $\chi = \frac{\partial}{\partial H} [m\mathcal{L}]$; e τ é o tempo de relaxação efetivo definido a partir dos processos de Brown e Néel, apresentados anteriormente.

Substituindo estes valores e resolvendo (1.45), temos a susceptibilidade como função do tempo de relaxação τ e a frequência f :

$$\chi = \frac{\chi_0}{1 + i2\pi f \tau} \Rightarrow \begin{cases} \chi' = \chi_0 \frac{1}{1 + (2\pi f \tau)^2} \\ \chi'' = \chi_0 \frac{2\pi f \tau}{1 + (2\pi f \tau)^2} \end{cases}, \quad (1.46)$$

logo, o SAR será dado por:

$$SAR = \mu_0 \pi H_0^2 \chi_0 f \frac{2\pi f \tau}{1 + (2\pi f \tau)^2}. \quad (1.47)$$

Nesta equação, verificamos que para $\tau f \rightarrow 0$, $SAR \rightarrow 0$, seria o equivalente a varrer o campo a uma frequência muito baixa. Em outras palavras, isto significa efetuar uma medida DC o que resulta no ciclo de histerese superparamagnético mostrado na Fig. 1.11, que não tem histerese, e por isso, $\Delta Q = 0$.

Para entender melhor a diferença entre a medida DC e AC em uma amostra superparamagnética, podemos deduzir (1.47), reescrevendo (1.42)^[67]:

$$H = H_0 \cos(2\pi ft), \quad (1.48)$$

$$M = H_0(\chi' \cos(2\pi ft) + \chi'' \sin(2\pi ft)) = |\chi|H_0 \cos(2\pi ft + \alpha), \quad (1.49)$$

onde α é a fase que descreve o atraso da magnetização com relação ao campo aplicado dada por $\sin(\alpha) = \frac{2\pi f\tau}{\sqrt{1+2\pi f\tau}}$ e $|\chi| = \frac{\chi_0}{\sqrt{1+2\pi f\tau}}$. Podemos notar que estas equações são as equações paramétricas de uma elipse no plano (H, M) . Para o plano $(\mu_0 H, M)$, a área da elipse em função dos parâmetros discutidos será dado por (1.50):

$$A_{elipse} = \mu\pi H_0^2 |\chi| \sin(\alpha) = \pi H_0^2 \chi_0 \frac{2\pi f\tau}{1 + (2\pi f\tau)^2}, \quad (1.50)$$

que, substituindo em (1.41), resulta na mesma equação mostrada em (1.47) e, novamente, para o limite $\tau f \rightarrow 0$ teremos uma elipse de área nula, coerente a um sistema superparamagnético. Para o caso quando $\tau f = 1$, a área da elipse será máxima e a energia gerada também. Interpretação que devemos fazer é que a elipse encontrada representa uma resposta dinâmica do sistema superparamagnético. Ou seja, caso o campo aplicado tenha uma frequência alta o suficiente o sistema superparamagnético não terá tempo de relaxar e acompanhar o campo, resultando assim em uma histerese. No entanto, ainda é preciso ressaltar que a elipse de (1.50) não é uma solução analítica do ciclo de histerese dinâmico do sistema superparamagnético^[68, 69], mas sim uma aproximação devido à hipótese de resposta linear da susceptibilidade imposta pelo modelo LRT.

1.4.2 Perdas Histeréticas e o limite do LRT

O segundo processo de perda de energia magnética na forma de calor é o que chamamos de Perdas Histeréticas e, diferentemente das perdas por Susceptibilidade, o processo é definido para partículas bloqueadas. Os resultados encontrados para τ_N , equação (1.20), e τ_B , equação (1.38), assim como o gráfico da Fig. 1.17, mostram o quão rápido o tempo de Néel cresce em comparação ao tempo de Brown. De fato, se calcularmos o raio hidrodinâmico crítico de Brown, usando $\tau_B = 100$ s; temperatura 300 K; e viscosidade da água $\eta(300\text{ K}) = 8,903\text{ Pa s}^{[70]}$; teremos um raio crítico de $\approx 3\mu\text{m}^*$.

*Este é um valor teórico e é mostrado apenas para comparação. Uma partícula com estas dimensões não é estável em água.

Porém, um equipamento de hipertermia trabalha com campos alternados de frequências na ordem de centenas de kHz, o que nos dá um período da ordem de 10^{-5} s. Nestas condições para $\tau_B = 1 \times 10^{-5}$ s, o raio crítico da partícula é ≈ 15 nm, o que, em termos de τ_N , implica em uma partícula no regime ferromagnético.

Dentro do escopo deste trabalho, iremos trabalhar com nanopartículas da ordem de 100 nm. Logo, podemos assumir que tanto o mecanismo de Néel quanto o de Brown estão bloqueados, ou seja, além de estar no regime ferromagnético a partícula não tem liberdade para girar dentro do fluido. Sendo assim, para esta partícula completamente bloqueada, teremos duas possíveis consequências: na mais trivial, o campo aplicado não é intenso o suficiente e por isso não é capaz de mudar a magnetização das partículas, conseqüentemente não teremos mudança na energia interna do sistema e dissipação de calor; ou, o campo é intenso o suficiente para mudar a magnetização das nanopartículas criando uma rotação coerente dos momentos magnéticos como descrito no modelo de Stoner-Wohlfarth (§ 1.2.2)*.

Para um conjunto de partículas orientadas de forma aleatória, teremos a histerese mostrada na Fig. 1.13, cuja área pode ser calculada pelo modelo de SW na forma da relação^[67]:

$$A_{SW} = 1.92K_{eff}. \quad (1.51)$$

Como podemos notar, este resultado é independente da maneira com que varremos o campo aplicado, e por isso, é observável em medidas de magnetometria DC.

Por fim, devemos ressaltar que a equação (1.51) se aplica a um conjunto de partículas de SW. No entanto, muitos sistemas, como os vórtices magnéticos, apresentam ciclos de histerese muito mais complexos e não necessariamente têm uma solução analítica. Felizmente, o tipo de processo por trás das perdas Histeréticas são independentes da variação do campo*, que por sua vez, pode ser quantificada experimentalmente por medidas de magnetometria DC.

*Embora o modelo de SW não considere efeitos termicamente ativados a aproximação $f \rightarrow \infty \Rightarrow T = 0$ K somado a energia de anisotropia de uma partícula de ≈ 15 nm, faz do modelo de SW uma boa aproximação^[22].

*Se pensarmos na magnetização na forma como em (1.42), as perdas Histeréticas são descritas pela componente $\Re[\chi]$.

1.4.3 Perdas por viscosidade

O terceiro e último processo de perda de energia magnética na forma de calor é denominado perda por Viscosidade. Ele não é inerente ao material e está mais vinculado às características específicas do meio líquido e outros fatores experimentais. Este tipo de perda tenta descrever processos associados a imperfeições no campo aplicado, característica tipicamente ignoradas pelos outros processos apresentados. Porém, do ponto de vista experimental estas imperfeições são inevitáveis e devem ser consideradas.

Sabendo que o campo aplicado não é uniforme, existirão regiões onde o gradiente de campo magnético criará uma força sobre a partícula. Com isso, a partícula deverá transladar pelo fluido, dissipando calor devido ao atrito entre sua superfície e o fluido. Diferentemente da dinâmica de Brown apresentada, o fluxo ao redor da partícula nestas condições será turbulento. O que, infelizmente, torna uma solução analítica através da mecânica dos fluidos inviável.

Ao mesmo tempo, é de se esperar que em condições reais de aplicação, ou seja, dentro de um sistema *in vivo*, a partícula não tenha todos os graus de liberdade de translação. Dentro de um tecido, as nanoestruturas acabam agregadas às células de alguma forma, e por conta disso, ficam confinadas, no que diz respeito a possibilidade de translação^[71, 72]. Com isso, embora possa ser um mecanismo complementar à geração de calor, dificilmente ele será reprodutível a ponto de ser explorado de forma efetiva.

2 *Revisão bibliográfica e o Estado da Arte*

No capítulo anterior, descrevemos os princípios fundamentais para a compreensão dos fenômenos que regem este trabalho. Nestas próximas seções, iremos apresentar alguns dos principais trabalhos encontrados na literatura atual e destacar quais as principais estratégias que estão sendo utilizadas para otimizar e viabilizar o uso da hipertermia magnética como tratamento.

2.1 **Óxidos de Ferro e Ferritas**

Os SPIONs são as principais partículas utilizadas para hipertermia magnética, eles são compostos principalmente por óxidos de ferro magnéticos como magnetita e maghemita. Paralelamente, outros compostos magnéticos, conhecidos como ferritas, constituem uma classe de materiais com grande versatilidade e diferentes respostas magnéticas que permitem a confecção de partículas mais eficientes e otimizadas que os SPIONs.

2.1.1 **Óxidos de Ferro**

O ferro está presente na história humana desde a antiguidade, seu nome deriva do latim *ferrum* e é quarto elemento mais abundante encontrado no planeta. Além de sua grande importância industrial, quando na forma metálica, este elemento também tem grande importância em inúmeros processos biológicos. Ele é encontrado em todas as células de mamíferos, ligado a inúmeras proteínas encontradas no sangue e tecidos. As proteínas da classe das porfirinas se ligam ao ferro, denominadas proteínas hemo, incluem a hemoglobina e a mioglobina e são as responsáveis pelo transporte de oxigênio pelo sangue, e correspondem a 2/3 (em massa) de todo o ferro presente no corpo humano^[73].

Na natureza, encontramos cerca de 16 tipos diferentes de óxidos de ferro^[74], estes são compos-

tos constituídos apenas por átomos de ferro ligados a átomos de oxigênio e/ou hidróxidos (OH). Dentre eles destacamos:

Hematita, que apresenta a fórmula química $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, é a forma mais abundante e antiga de óxido de ferro conhecida. É amplamente encontrada em rochas e no solo, e apresenta uma cor vermelha como o sangue (do grego *haima* = sangue) quando na forma de pó. Já na forma cristalina assume uma coloração cinza metálica, e é considerada uma pedra semi preciosa.

Magnetita, que apresenta a fórmula química Fe_3O_4 . Trata-se de um mineral preto ferrimagnético, contendo ambos os estados de oxidação Fe^{2+} e Fe^{3+} . É o principal mineral magnético encontrado na natureza e o principal constituinte das chamadas pedras-ímãs (ou do inglês *loadstone*). Na China antiga, este mineral era esculpido na forma de uma colher e compunha um dispositivo magnético que sempre aponta para o sul. Também é encontrado, na forma de nanopartículas, em organelas específicas, cujo propósito é a percepção sensorial de campos magnéticos^[38, 39].

Maghemita, que apresenta a fórmula química $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Possui a mesma composição química da hematita, mas estrutura cristalina da magnetita. Por conta disto, recebeu o nome de maghemita, construído a partir dos nomes MAGnetita e HEMatita. Ocorre naturalmente pela oxidação gradual dos íons Fe^{2+} encontrados na magnetita, quando esta fica exposta as intempéries. Apresenta uma coloração ocre e retorna à fase cristalina da hematita quando aquecida acima de 800 K.

2.1.2 Ferritas

As ferritas são materiais ferrimagnéticos cerâmicos desenvolvidos na década de 1930^[75] a partir dos óxidos de ferro hematita e magnetita. A maioria das ferritas segue a estrutura spinel de fórmula AB_2O_4 , e neste sentido a magnetita seria uma ferrita onde $A \equiv \text{Fe}^{2+}$ e $B \equiv \text{Fe}^{3+}$. A composição dos diferentes íons A e B determina as propriedades magnéticas do material. Dois bons exemplos são: a ferrita de manganês MnFe_2O_4 que tem uma anisotropia de apenas -3 kJ/m^3 , ou seja, é um magneto mole que satura a campos baixos e apresenta uma histerese pequena; já a ferrita de cobalto CoFe_2O_4 , tem uma anisotropia de 290 kJ/m^3 , o que se reflete em um campo de saturação elevado e um amplo ciclo de histerese, ou seja, é um magneto extremamente duro. Ambos os compostos possuem a mesma estrutura cristalina e diferem apenas na composição do íon $A = \text{Mn}, \text{Co}$.

Na Tabela 2.1*, temos um resumo das principais características maciças dos materiais magnéticos que compõem as partículas sintetizadas neste trabalho.

* T_C da maghemita é estimado, pois a maghemita retorna à hematita se aquecida além de 800 K.

Tabela 2.1 – Propriedades magnéticas dos principais óxidos de ferro usados no trabalho.

Nome	Fórmula	Estrutura	Propriedades Magnéticas		
Hematita	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Corundum (Al_2O_3)	AFM (Canted)	$T_N = 960\text{ K}$	$M_s = 2,5\text{ kA/m}$
Magnetita	Fe_3O_4	Spinel (MgAl_2O_4)	Ferrimagnético	$T_C = 860\text{ K}$	$M_s = 480\text{ kA/m}$
Maghemita	$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Spinel (MgAl_2O_4)	Ferrimagnético	$T_C = 985\text{ K}$	$M_s = 430\text{ kA/m}$
Ferrita de Co	CoFe_2O_4	Spinel (MgAl_2O_4)	Ferrimagnético	$T_C = 790\text{ K}$	$M_s = 450\text{ kA/m}$

2.2 SPIONs e testes clínicos

Na literatura, podemos destacar inúmeros trabalhos que já utilizam partículas magnéticas em diversas aplicações biomédicas^[7] como contraste em imagens de MRI^{[9]*} e/ou CT[†], *drug delivery*^[11] e hipertermia magnética^[13, 14].

O principal tipo de partícula até então utilizado, tem sido os chamados SPIONs. Esta classe de partículas consiste em nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro magnético (Fe_3O_4 , $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ e/ou FeO) recobertas por moléculas orgânicas como Dextran^[76]. Originalmente concebidas como agentes de contraste para MRI, esta classe de partículas é, atualmente, a única aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA)^[13, 77] e comercializadas^[76].

Dentro deste contexto, o uso da hipertermia magnética como tratamento tem se desenvolvido em duas principais linhas de pesquisa: a primeira foca no uso dos SPIONs em testes *in vivo* e clínicos para o desenvolvimento de protocolos de tratamento, testando também hipertermia magnética em conjunto com procedimentos de quimioterapia e radioterapia; a outra linha procura desenvolver partículas mais eficientes que os SPIONs, ou seja, com um SAR cada vez mais elevado.

Testes *in vivo* de partículas magnéticas têm se tornado cada vez mais corriqueiros para o desenvolvimento de possíveis alternativas aos SPIONs^[13, 78]. Estes testes, em sua maioria, utilizam principalmente ratos, que não só permitem avaliar a eficácia da combinação nanopartículas/campo magnético, como também a biocompatibilidade da nanopartícula empregada.

No entanto, apenas os SPIONs são aprovados para testes em humanos. Atualmente, existe apenas um protótipo^[79], localizado na *Charité Medical School* (Campus *VirchowKlinikum*, em Ber-

*Do inglês *Magnetic Resonance Imaging* ou Imageamento por ressonância magnética.

†Do inglês *Computed Tomography* ou Tomografia computadorizada.

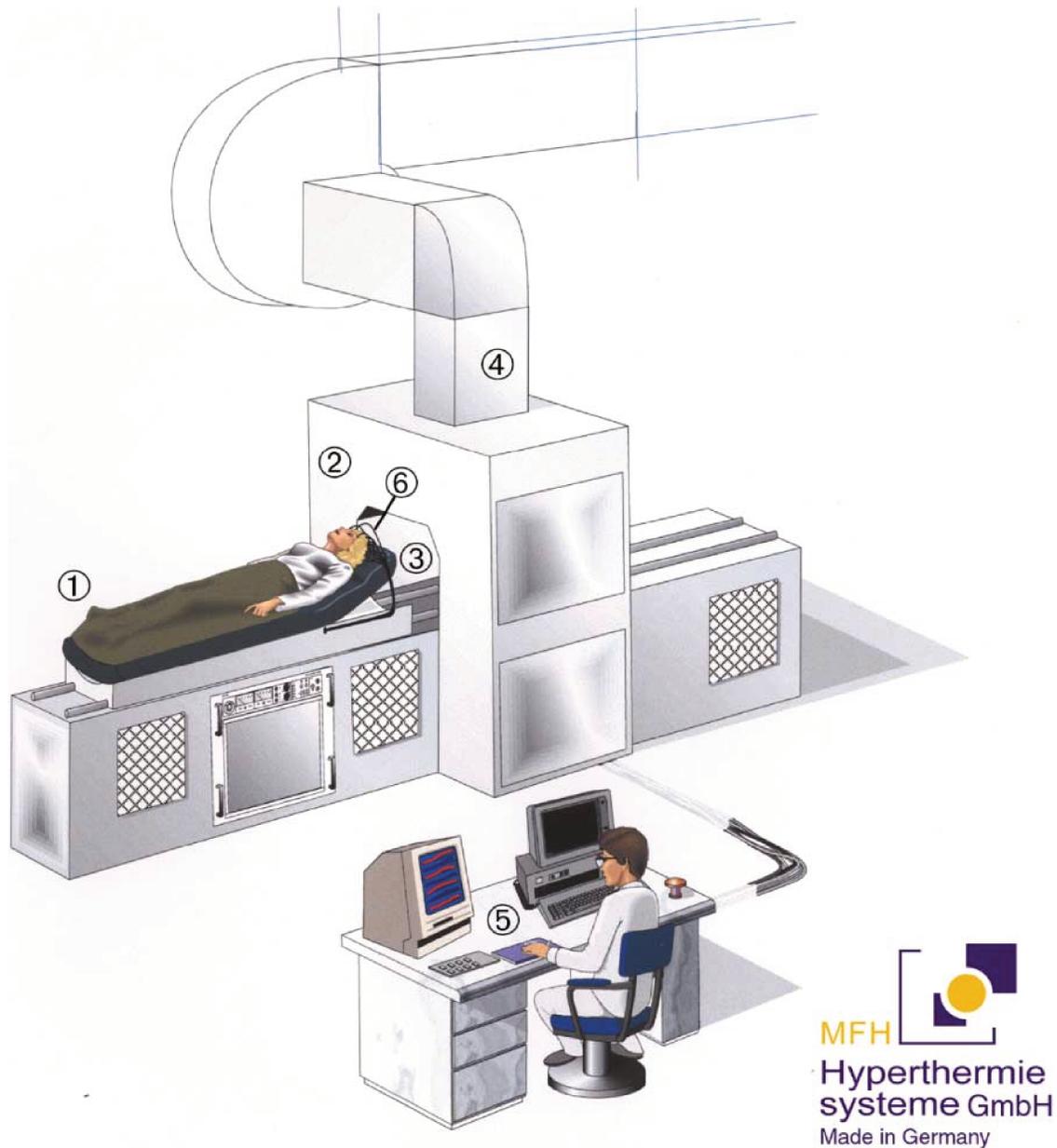


Figura 2.1 – Figura adaptada de Jordan et al.^[79]. Esquema do primeiro protótipo para testes clínicos de hipertermia magnética (MFH Hyperthermieysteme GmbH, Berlin, Germany). O Campo magnético AC é aplicado perpendicularmente à direção axial do paciente (1). A bobina (2) opera a uma frequência de 100kHz com uma abertura de 30-50cm (3). A intensidade do campo pode ser ajustada de 0 a 15kA/m. O sistema é resfriado a ar (4). Abertura, campo magnético, temperatura e outros parâmetros são monitorados remotamente (5). A temperatura na região de tratamento é medida diretamente por um termômetro óptico implantado no paciente.

lim), desenvolvido e dedicado ao tratamento de câncer por hipertermia magnética (Fig. 2.1). Os primeiros testes clínicos foram feitos por Johannsen *et al.*^[80], em 2005, para o tratamento de câncer de próstata e, desde então, os resultados obtidos em outros testes clínicos^[7, 81, 82] têm se mostrado promissores.

Paralelamente, o desenvolvimento de protocolos conjuntos que combinam a hipertermia magnética com outros tratamentos convencionais, como a quimioterapia e radioterapia^[7], tem alcançado resultados ainda mais expressivos. Neste contexto SPIONs modificados tem sido testados, em conjunto com a quimioterapia e como carregadores de drogas^[11]. Estes SPIONs, quando sujeitos ao campo magnético, liberam a droga por processos termicamente ativados fazendo com que, graças ao aquecimento localizado, absorção da droga pelo tecido tumoral seja mais eficiente, criando assim uma sinergia entre hipertermia magnética e quimioterapia^[7, 79].

2.3 Otimização e modificação de SPIONs

O motivo para a ampla utilização dos SPIONs foi, e ainda é, seu caráter superparamagnético, e que confere a partícula uma remanência magnética nula, que satisfaz o pré-requisito II discutido na Introdução. O principal mecanismo de aquecimento deste sistema é a perda por susceptibilidade descrito pelo LRT (§ 1.4.1), que vem sendo amplamente discutido^[67, 68, 83].

Os trabalhos a seguir foram selecionados principalmente por seus resultados experimentais em otimizar as principais características do sistema superparamagnético encontrado nos SPIONs, e que resultou no aprimoramento do SAR.

2.3.1 Funcionalização e recobrimento

Embora o recobrimento e funcionalização de nanopartículas tenham outras finalidades (como alterar a afinidade química ou até mesmo aprimorar a biocompatibilidade), no trabalho de Liu *et al.*^[84], os autores investigaram seu efeito sobre o SAR. Para isso, eles funcionalizaram a superfície de uma série de SPIONs de magnetita com diferentes diâmetros (9, 19 e 31 nm) e recobertas com moléculas de PEG (ou Polietilenoglicol) com pesos atômicos distintos (2000, 5000 e 20000 Da). O resultado é mostrado na Fig. 2.2 para uma medida feita com um campo cuja amplitude é 27 kA/m e a frequência 400 kHz.

Segundo os autores, a variação drástica observada para a nanopartícula de 31 nm, quando fun-

cionalizado com PEG 2000Da e 5000Da, se deve a aglomeração e estabilização da partícula. Em outras palavras, um PEG de pelo menos 5000Da, cria uma repulsão estérica entre as partículas suficiente para estabilizá-las e impedir a interação dipolar entre estas. Desta forma, impede-se a aglomeração das partículas, deixando-as mais livres para relaxar através do mecanismo de Brown, o que por fim aumenta o SAR.

Já a tendência observada quando se varia o tamanho da nanopartícula (mantendo-se a mesma cadeia polimérica) foi o aumento do SAR com o raio da partícula. Isto foi interpretado como decorrência direta de que quanto maior a partícula, maior a anisotropia magnética. Logo, o ciclo de histerese dinâmico fica mais largo, resultando no aumento do SAR.

Finalmente, a diminuição do SAR observado ao se aumentar a cadeia polimérica (considerando um mesmo tamanho de partícula) foi interpretado como resultado do aumento do raio de giro da partícula e do conseqüente aumento no tempo de relaxação de Brown. O que por fim acaba por diminuir a contribuição do movimento browniano na geração de calor.

Porém, a abordagem sugerida neste trabalho é criticada na literatura^[67, 68]. Neste caso, a escolha de se investir no mecanismo de Brown como forma de otimizar o SAR do nanocomposto é fortemente criticada devido à inevitável diferença entre o meio aquoso (onde se faz a medida) e o meio *in vivo*, no qual se almeja aplicar o nanocomposto. Além da viscosidade diferente, elementos como a chamada corona de proteína^[85] e a membrana celular^[86–88] irão bloquear a dinâmica de Brown. De qualquer forma, a conclusão de que é preciso estabilizar e aumentar a distância entre partículas deve ser considerada no desenvolvimento de futuras nanopartículas.

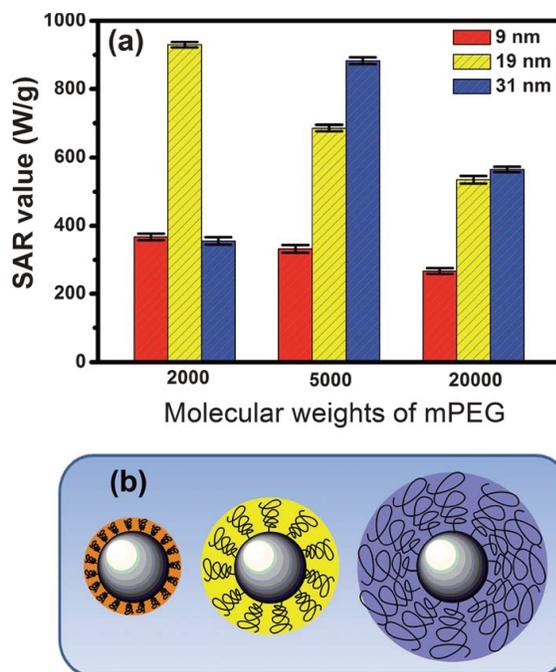


Figura 2.2 – Figura adaptada de^[84]. (a) Resultados obtidos para as combinações de tamanho e funcionalização por PEG. (b) Representação do efeito na mudança do raio de giro da partícula para diferentes cadeias de PEG.

2.3.2 Morfologia

Nos trabalhos realizados por Noh *et al.*^[30], Guardia *et al.*^[23] e mais recentemente por Martinez-Boubeta *et al.*^[89], nanopartículas cúbicas de óxido de ferro foram sintetizadas e comparadas com nanopartículas esféricas. Esta morfologia nova não alterou o fato destas serem partículas monodomínio, como os SPIONs, no entanto, a magnetização de saturação da nanopartícula cúbica acabou sendo maior.

Este resultado é mostrado na Fig. 2.3. Na Fig. 2.3(a) temos uma imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão ou do inglês TEM (*Transmission Electron Microscopy*) da nanopartícula cúbica, de lado 18 nm. Os detalhes da microestrutura podem ser observados na Fig. 2.3(c) de TEM em alta resolução. Fig. 2.3(b) é apresentada uma imagem de TEM de nanopartículas esféricas de diâmetro 22 nm. Na imagem (d), temos a curva de magnetização medida a temperatura ambiente em um equipamento SQUID. Nela, observamos que a magnetização de saturação referente às nanopartículas cúbicas é 165 u.a. enquanto que para as esféricas é 145 u.a. O motivo para esta diferença é atribuído ao fenômeno de *spin canting* mostrados nas figuras de simulação para uma nanopartícula cúbica Fig. 2.3(e) e esférica Fig. 2.3(f). Repare, que na nanopartícula cúbica existe um grande número (ilustrados em vermelho) de momentos magnéticos alinhados ao campo B_0 aplicado; já na esférica a maioria dos momentos magnéticos não se alinham completamente ao campo (cores amarela e azul) devido a quebra da simetria na superfície da partícula esférica, que muda a energia magnetostática. Consequentemente, observamos um aumento considerável do SAR em relação ao previamente reportado. Neste trabalho, o SAR observado foi 1900 W/g, quando medido com um campo de 37,4 kA/m de amplitude e a uma frequência de 500 kHz; e 1000 W/g com um campo de amplitude de 22 kA/m e a uma frequência de 325 kHz.

2.3.3 Anisotropia magnética

Também no trabalho de Noh *et al.*^[30], mas principalmente no trabalho de Lee *et al.*^[78], foram desenvolvidas nanopartículas do tipo *core-shell* (caroço-casca*), pois o mesmo combinou diferentes materiais magnéticos para gerar um efeito de sinergia. Dentre as diversas combinações de *core-shell* estudadas, a que obteve o melhor resultado foi uma nanopartícula com núcleo de $CoFe_2O_4$ e casca de $MnFe_2O_4$, mostrada na Fig. 2.5a, pois esta atingiu um valor de SAR de 3886 W/g com um campo de amplitude de 37,3 kA/m e frequência de 500 kHz, o maior encontrado na literatura.

*Neste trabalho, será utilizado o grafo @ na forma *core@shell* para indicar uma partícula do tipo *core shell*.

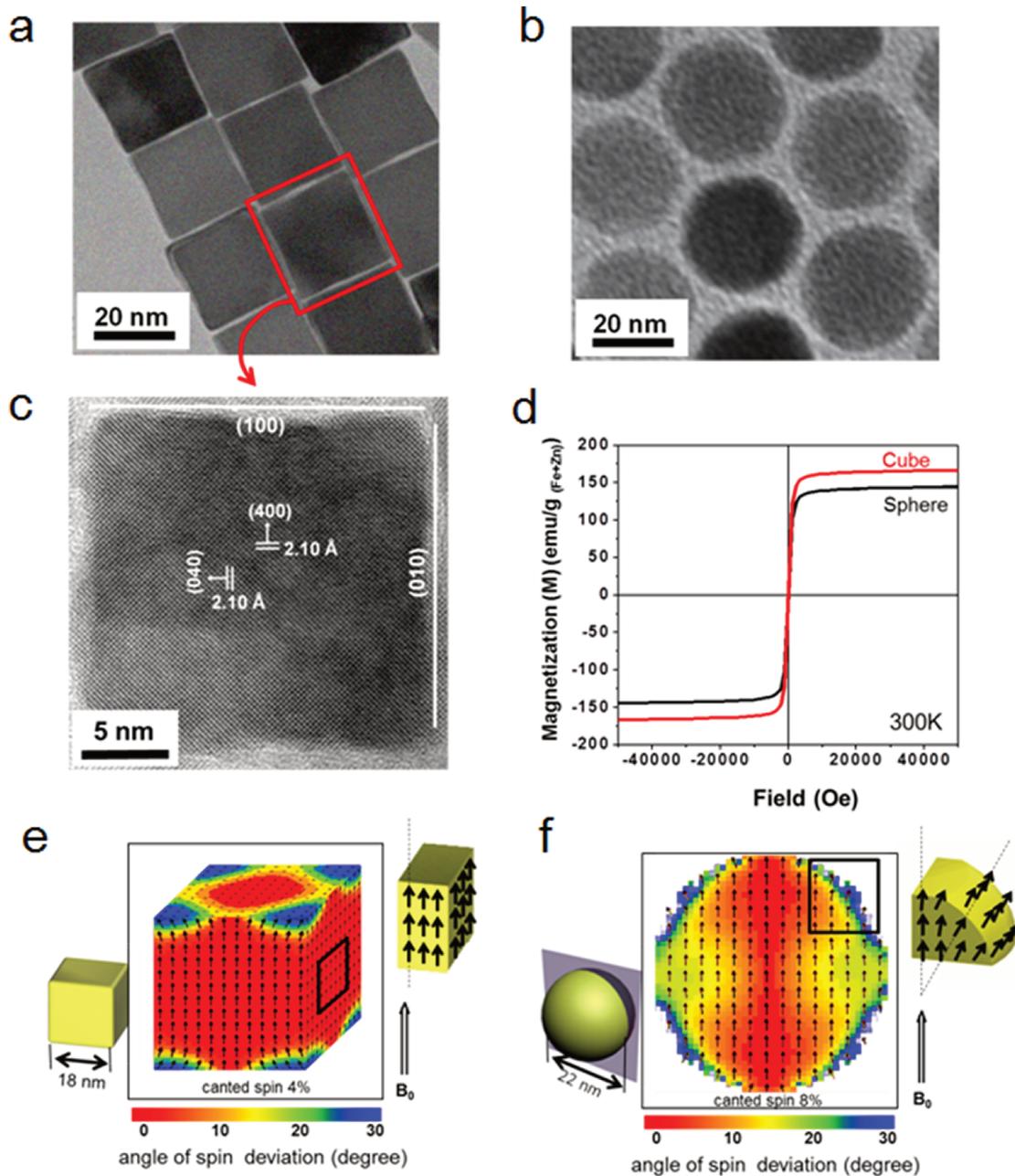


Figura 2.3 – Figura adaptada de^[30]. (a) Imagem de TEM da nanopartícula cúbica (18nm de lado); (c) Imagem de TEM de alta resolução da nanopartícula cúbica; (b) Imagem de TEM da nanopartícula esférica (22nm de diâmetro); (d) Curva de magnetização de ambas as nanopartículas. Simulação micromagnética de uma nanopartícula cúbica (e) e esférica (f).

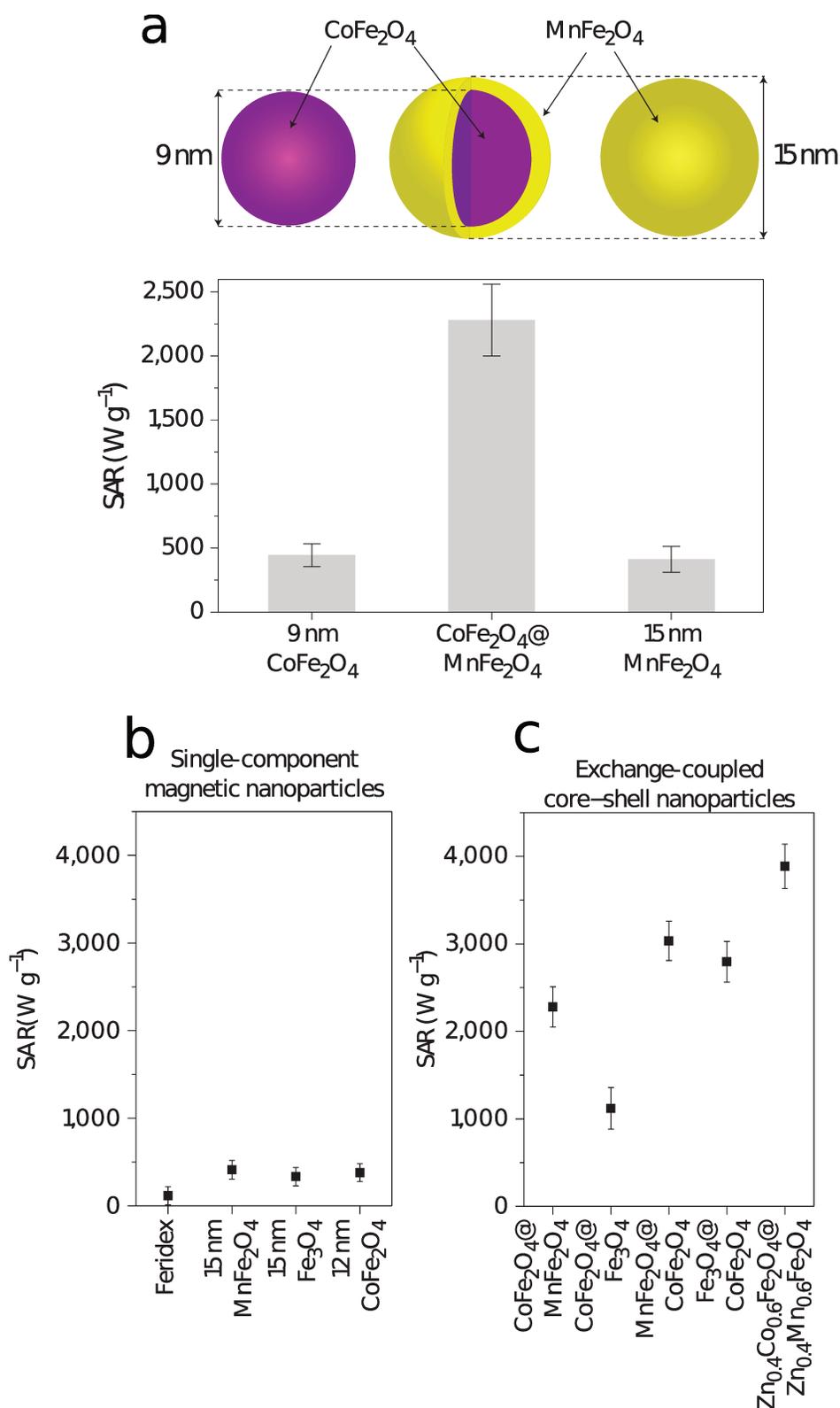


Figura 2.5 – Figura adaptada de^[78]. (a) Esquemático de uma nanopartícula de 15 nm de CoFe₂O₄@MnFe₂O₄ e seu valor SLP ou SAR comparado ao valor de SAR de suas partes: nanopartícula de 9 nm de CoFe₂O₄ e 15 nm de MnFe₂O₄. (b) e (c) valores de SLP ou SAR de partículas de um único componente (Feridex (SPION) e MFe₂O₄; para M=Mn, Fe ou Co), (b) diversas combinações de nanopartículas core-shell (CoFe₂O₄@MnFe₂O₄, CoFe₂O₄@Fe₃O₄, MnFe₂O₄@CoFe₂O₄, Fe₃O₄@CoFe₂O₄, Zn_{0.4}Co_{0.6}Fe₂O₄@Zn_{0.4}Mn_{0.6}Fe₂O₄). Medidas feitas com um campo de 37,3 kA/m a 500 kHz.

A explicação para este resultado é atribuída ao acoplamento entre os dois materiais magnéticos criando um efeito denominado *spring magnet*^[90]. Neste trabalho, explorou-se o fato de que materiais magneticamente duros possuem anisotropia efetiva grande, e, por isso, apresentam um campo coercivo grande. No entanto, estes também costumam apresentar uma magnetização de saturação inferior a dos materiais magneticamente moles. Estes últimos, em contrapartida, possuem uma anisotropia efetiva pequena, e por isso não possuem uma coercividade expressiva. Sendo assim, em um *spring magnet* é criada uma heteroestrutura, onde o magneto duro se acopla magneticamente ao mole, criando uma resposta mista em termos de coercividade e magnetização de saturação. No trabalho de Lee *et al.*^[78], o núcleo do magneto duro ($CoFe_2O_4$) impõe, na interface com o magneto mole ($MnFe_2O_4$), uma anisotropia que resulta em uma histerese mista mostrada na curva em vermelho da Fig. 2.4.

Este trabalho mostrou um controle profundo da histerese do material e de fato representou um marco no desenvolvimento de nanomateriais compostos. Abrindo com isto uma linha inédita que certamente será explorada em futuros desenvolvimentos.

2.3.4 Interação dipolar entre partículas

A literatura apresentada até agora, não discute a interação dipolar entre partículas. No entanto, observamos experimentalmente que isto não é verdade. Quando em solução, a interação dipolar entre as partículas é responsável pela formação de cadeias de partículas^[66, 91]. E já em meios biológicos, estas mesmas partículas são observadas aglomeradas dentro de endossomos ou outro compartimento intracelular^[71, 72].

Curiosamente, não encontramos muitos trabalhos que abordam esta questão. E talvez por isso, não exista um consenso quanto à eficácia da interação dipolar entre as partículas para a contribuição no aumento do SAR. Nos trabalhos de Martinez-Boubeta *et al.*^[89] e Mehdaoui *et al.*^[68], os autores

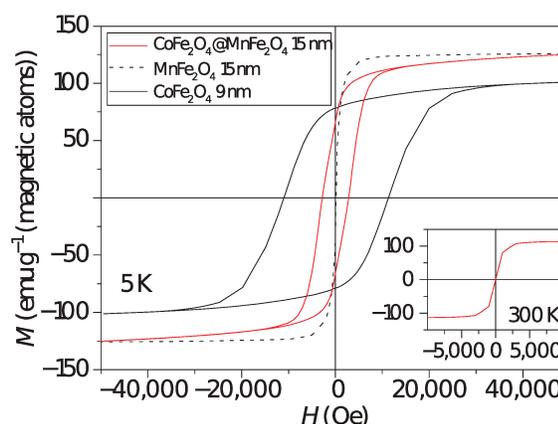


Figura 2.4 – Figura adaptada de Lee *et al.*^[78]. Histerese magnética (em vermelho) medida a temperatura de 5 K nas nanopartículas core-shell de $CoFe_2O_4@MnFe_2O_4$. Para efeito de comparação, também são mostradas as histerese das nanopartículas equivalentes de $CoFe_2O_4$ linha preta cheia e $MnFe_2O_4$ linha preta tracejada.

encontraram evidências de que a interação dipolar contribui para o aumento do SAR. Eles destacam que com a aplicação de um campo magnético, a interação dipolar entre as partículas favorece a formação de uma cadeia de partículas. Esta estrutura cria uma anisotropia uniaxial adicional que deixa a histerese do sistema mais quadrada, aumentando com isto a área da histerese e consequentemente o SAR do sistema.

Na Fig. 2.6, temos os resultados simulados em^[89], que mostram o aumento no ciclo de histerese a baixas temperaturas devido à formação da cadeia de partículas. Além disso, no detalhe, dois ciclos de histerese simulados em altas temperaturas. O ciclo roxo correspondente ao ciclo de uma nanopartícula isolada e o ciclo vermelho correspondente a uma cadeia formada por 10 nanopartículas. Fica claro que a formação das cadeias não só aumenta o ciclo de histerese, como também confere uma estabilidade térmica maior ao sistema.

Ao mesmo tempo, em um trabalho mais recente feito por Branquinho *et al.*^[92], os autores propuseram um modelo que incorpora a interação dipolar entre as partículas ao LRT. O efeito da interação dipolar pode ser quantificado usando a técnica de ressonância magnética eletrônica ou do inglês Electron Magnetic Resonance (EMR), e com isso foi possível obter uma medida macroscópica mais precisa que outras técnicas de microscopia. Neste trabalho, os autores analisaram não só a formação das cadeias de nanopartículas, mas também incluíram no modelo LTR os efeitos da polidispersão das partículas, no qual D_0 é a média e δ_D o desvio padrão; o fator matemático de amortecimento α da equação de Landau-Lifshitz-Gilbert (LLG)^[38]; e o distanciamento entre partículas d_{s-s} .

Os resultados do trabalho são diversos e amplamente discutidos, mas de forma resumida o autor apresenta o que seria uma nanopartícula ideal que resume os resultados do trabalho. Na Fig. 2.7 (a) temos a representação de quatro arranjos possíveis de nanopartículas magnéticas: em (i) as nanopartículas com anisotropia uniaxial têm liberdade para girar e, por isso, podem se alinhar ao campo, porém não interagem entre si para formar cadeias; em (ii) as mesmas nanopartículas não podem

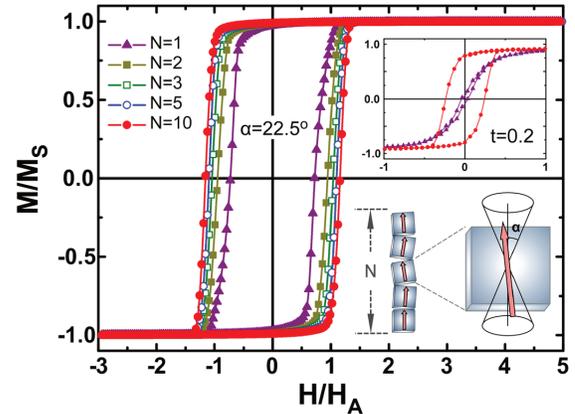


Figura 2.6 – Figura adaptada de Martinez-Boubeta *et al.*^[89]. Histereses simuladas a baixas temperaturas para diferentes cadeias de N elementos. No detalhe, histereses simuladas a alta temperatura, ilustrando a maior estabilidade da estrutura. A figura esquemática mostra que partículas na cadeia têm um ângulo fácil contido em até $\pi/4$ (os cubos são para fins ilustrativos, pois partículas esféricas também podem formar correntes).

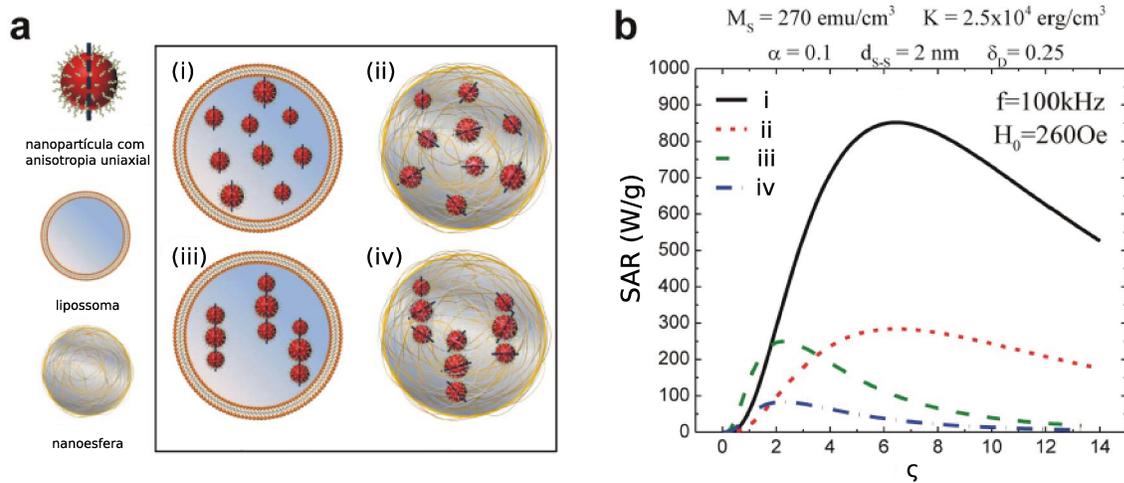


Figura 2.7 – Figura adaptada de^[92]. (a) temos a representação de quatro arranjos de nanopartículas magnéticas: (i) alinhadas e não interagentes; (ii) orientação aleatória e não interagentes; (iii) alinhadas e interagentes; (iv) orientação aleatória e interagentes. (b) SAR como função de ζ para as diferentes configurações mostradas.

rotacionar e por isso assumem uma orientação aleatória com relação ao campo aplicado, novamente nesta configuração as nanopartículas não formam cadeias; em (iii) temos a mesma situação de (i) mas com a formação de cadeias; e em (iv) análoga a (ii) mas com a formação de cadeias. Na Fig. 2.7 (b) temos quais seriam o SLP (ou SAR) para as diferentes configurações mostradas como função de $\zeta = K_{eff}V/K_B T^*$.

Com isto, os autores mostram que a interação dipolar, na realidade, deve contribuir negativamente para o SAR. Eles também argumentam que os resultados divergentes dos trabalhos anteriores podem ter sido fruto da polidispersão e não da interação dipolar entre partículas.

2.3.5 Sobre o significado do SAR

O leitor já deve ter percebido, e se perguntado, do significado dos números apresentados como valores de SAR. Infelizmente, apesar dos valores de SAR serem evidenciados nos trabalhos da literatura com a representação de uma régua, as condições experimentais de campo e frequência que geram estes valores dificilmente são os mesmos para os diferentes experimentos. Soma-se a este fato, a inexistência de um padrão e, por isso, utiliza-se uma régua, que ao meu ver, é impossível uma comparação direta. No entanto, segundo a revisão levantada, destacamos um SAR de $300 \text{ W/g}^{[24]}$ como uma boa referência que, para o leitor mais iniciante na área, pode ser assumida como o SAR

*Definido segundo a equação (1.16).

máximo para SPIONs convencionais.

2.4 Desenvolvimento de novas partículas

No capítulo anterior, mostramos que o processo de perda por susceptibilidade explorados pelos SPIONs não é único, nem o mais eficiente processo para a liberação de calor. Destacamos também, que partículas em estado de vórtice magnético apresentariam uma eficiência maior, pouco explorada, sem prejudicar nenhum dos pré-requisitos citados.

A proposta de utilizar o vórtice magnético foi primeiramente apresentado por Kim *et al.*^[37, 93], que em seu trabalho sintetizaram microdiscos de 1 a 5 μm de diâmetro feitos de permaloy parcialmente recobertos com ouro e que apresentavam estado de vórtice magnético. Na Fig. 2.8 temos uma representação destes microdiscos funcionalizados com um anticorpo MD-anti-IL13 α 2R e que permitiu às partículas se ligarem de forma seletiva à membrana de células do tipo glioblastoma multiforme (célula cancerígena do cérebro).

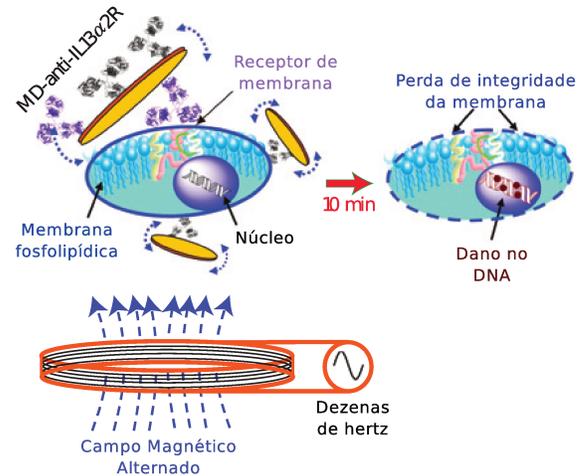


Figura 2.8 – Figura adaptada de Kim *et al.*^[37]. Conceito de morte celular por dano magnetomecânico usando microdiscos em estado de vórtice: Os microdiscos funcionalizados com anticorpo fixam-se à membrana celular. O campo magnético alternado faz os microdiscos oscilarem, o que compromete a integridade da membrana celular.

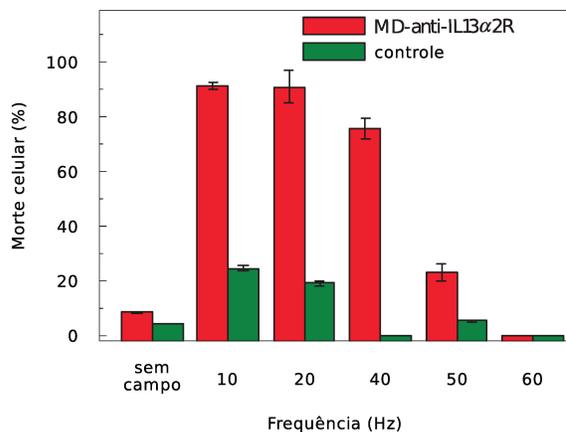


Figura 2.9 – Resultados obtidos no trabalho de Kim *et al.*^[37] mostrando a taxa de morte celular como função da frequência do campo aplicado.

Este sistema de microdiscos mostrou-se muito eficiente, atingindo taxas de morte celular de até 90%, como mostrado na Fig. 2.9. Porém, não foi registrado aquecimento do meio de cultura celular como um todo. Surpreendentemente, além de não apresentar aquecimento, a taxa de morte celular não era constante. Essa taxa apresentava um valor ótimo para frequências de 10 a 20Hz, que depois caía consideravelmente para frequências maiores, tornando-se nula em 60Hz. Este resultado é contrário ao

que se esperaria baseado no conceito de SAR e foi interpretado como um indício de que a morte celular observada não estava vinculada ao dano por aquecimento.

De fato, os autores mostraram que os microdiscos estressam as células em um processo mecânico. Na Fig. 2.9, temos a comparação de duas populações de microdiscos: a população em vermelho representa os microdiscos funcionalizados com o anticorpo MD-anti-IL13 α 2R, desenhados com a finalidade de ligarem a membrana celular dos glioblastomas; já a população em verde representa os microdiscos usados como controle, que não tem afinidade com nenhuma proteína de membrana dos glioblastomas. Logo, é a adesão da partícula à membrana que, junto com o campo magnético, faz o glioblastoma optar pela apoptose.

2.4.1 Nanoanéis e Nanotubos para hipertermia magnética

O trabalho de Kim *et al.*^[37, 93], de certa forma, inaugurou uma nova classe de partículas em estado de vórtice magnético. No entanto, apesar do pioneirismo, vários problemas inerentes à partícula proposta ainda precisam de solução. Dentre eles, Jon Dobson^[93] destacou o tamanho da partícula, que faz com que ela seja facilmente reconhecida e atacada pelo sistema reticuloendotelial* e removendo-as da circulação sanguínea antes mesmo de se fixarem às células alvo. Além disso, partículas deste tamanho seriam prontamente barradas pela barreira hematoencefálica[†]. Outro problema apontado por Dobson, é a presença do níquel na composição dos microdiscos, que prejudica a biocompatibilidade.

Estes problemas nos motivaram a procurar por partículas dentro desta nova classe, mas que não apresentassem os problemas apontados por Dobson^[93]. Em diversos trabalhos da literatura^[32, 94–97], encontramos partículas de óxido de ferro, magnéticas e não magnéticas (Tabela 2.1), que vêm sendo exploradas nas mais diversas aplicações, como por exemplo fotocatalise, demonstrada no trabalho de Wender *et al.*^[98], uma publicação feita durante este trabalho, que compartilha parte da síntese utilizada neste trabalho.

Retomando às partículas de óxido de ferro magnéticas. Este sistema de partículas se destaca por assumir o estado de vórtice magnético em partículas com algumas centenas de nanômetros, características estas, que minimiza os problemas apontados.

*É o sistema constituído por células dotadas de capacidade fagocitária.

†É uma estrutura que protege o sistema nervoso central de substâncias químicas presentes no sangue.

No trabalho feito por Jia *et al.*, os autores sintetizaram, dentre outras, partículas monocristalinas de maghemita na forma de um nanoanel com 50 nm de altura, 160 nm de diâmetro externo e 85 nm de diâmetro interno (os detalhes da morfologia e cinética de crescimento serão mostrados mais adiante no Cap. 4). A medida de magnetometria feita em um conjunto de partículas aleatoriamente orientadas, reproduzida na Fig. 2.10^[32], mostrou que estas partículas apresentaram uma diminuição na coercividade a campo nulo. E isto pôde ser interpretado como consequência do estado de vórtice magnético das partículas.

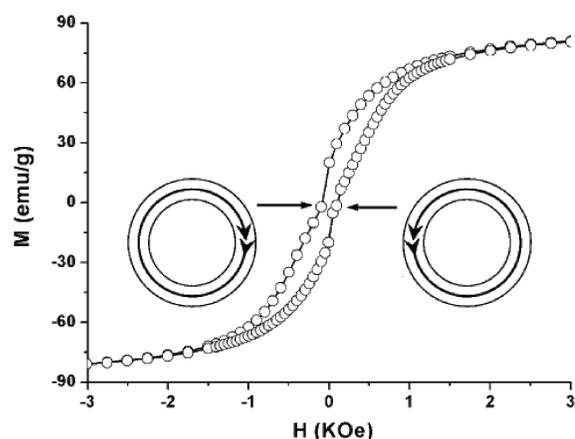


Figura 2.10 – Resultado obtido no trabalho de Jia *et al.*^[32] mostrando o ciclo de histerese de um conjunto de partículas.

E isto pôde ser interpretado como consequência do estado de vórtice magnético das partículas.

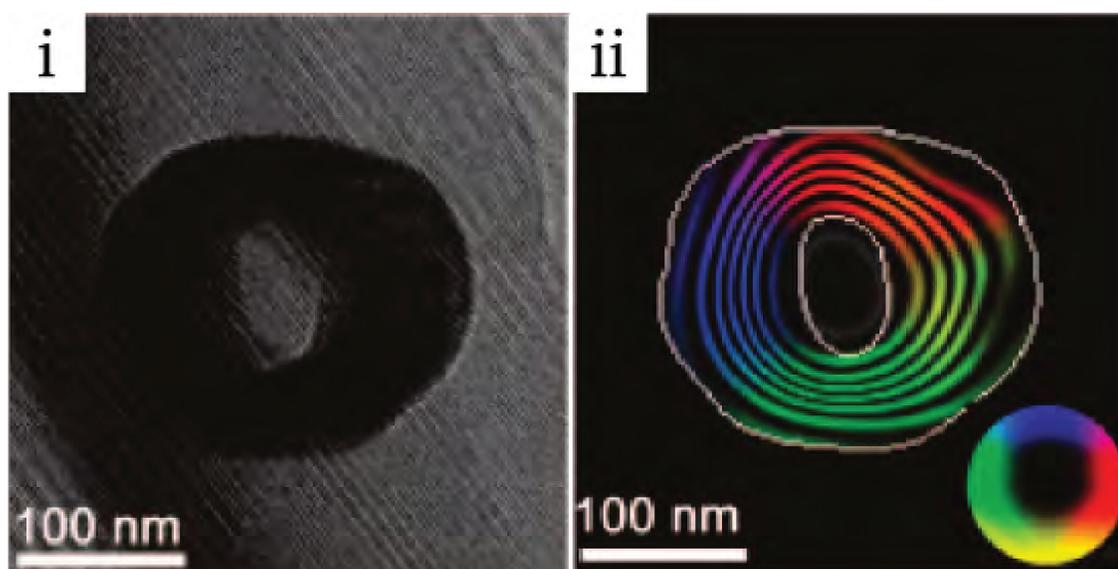


Figura 2.11 – Resultados obtidos no trabalho de Jia *et al.*^[32]. (i) Holografia eletrônica deslocada do eixo óptico de um nanoanel com 50 nm de espessura, 160 nm de diâmetro externo e 85 nm de diâmetro interno. (ii) Linhas de indução do fluxo magnético indicadas pelas cores (vermelho = direita, amarelo = abaixo, verde = esquerda, azul = acima).

Corroborando esta medida, os autores apresentam a microscopia eletrônica mostrada na Fig. 2.11. Nela, uma holografia de elétrons mostrou que o fluxo magnético da partícula fica contido dentro desta, circulando pelo nanoanel.

Dando continuidade ao desenvolvimento destas partículas no trabalho de Fan *et al.*^[95], os autores utilizaram partículas semelhantes às do trabalho de Jia *et al.*^[32] como carregadores de partículas

fluorescentes (*quantum dots*), visando a criação de nanocompósitos para localização óptica e/ou separação magnética. Para tanto, eles agregaram diferentes tipos de *quantum dots* na superfície das partículas magnéticas e obtiveram nanocompósitos com fluorescência em diferentes comprimentos de onda e resposta magnética.

A aplicação direta, mostrada na Fig. 2.12, destas partículas para marcação e posterior separação magnética de células de câncer de pulmão, mostrou que o nanocompósito é eficiente no que concerne a resposta magnética e localização óptica de células.

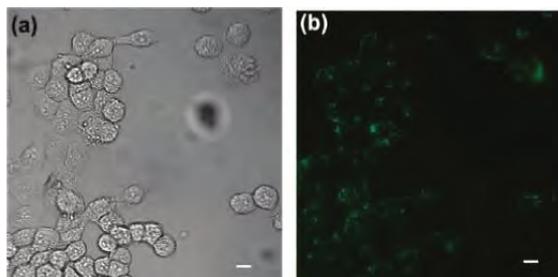


Figura 2.12 – Resultados obtidos no trabalho de Fan et al.^[95]. Microscopia óptica (a) e de fluorescência (b) de células de câncer de pulmão marcadas com o partículas. A barra corresponde a 10 μm .

Sendo assim, fica evidente a potencialidade deste sistema de VIPs e a necessidade de, pela primeira vez, explorar a viabilidade destas partículas para hipertermia magnética. Sendo assim, partiremos do trabalho de Jia et al.^[32] para estudar a viabilidade das VIPs para a hipertermia magnética.

2.4.2 Hipertermia Magnética e *Exchange Bias*

Além de nunca ter sido explorado para hipertermia magnética, o estado de vórtice de uma partícula como a sintetizada por Jia et al.^[32], permite uma abordagem ainda mais original e interessante. Traçando um paralelo ao trabalho feito por Noh et al.^[30] (§ 2.3.3), podemos usar uma estratégia semelhante a feita por Sort et al.^[34–36], que utiliza o fenômeno de *Exchange Bias*, para manipulação e controle da resposta histerética.

Em seus trabalhos, Sort et al. sintetizaram microdiscos com 1 μm de diâmetro e estrutura de multicamadas na forma Tântalo 5 nm/*permalloy** 12 nm/ Irídio/Manganês 5 nm / Platina 2 nm. Com isto, Sort et al. criaram um acoplamento magnético entre o *permalloy* e o Irídio/Manganês, o que lhes permitiu modificar a histerese do sistema variando o processo de FC na preparação da amostra. Na Fig. 2.13, temos as curvas de histerese medidas por Sort et al.^[36]

Nestas dimensões, os discos de *permalloy* apresentam o estado de vórtice, cuja histerese ao longo do plano (x, y) é mostrada pela Fig. 2.13(a). Pelas demais curvas de histerese, evidente, que Sort et al. foram capazes de explorar o *Exchange Bias* para manipular a histerese de um vórtice

*Trata-se de uma liga metálica composta por $Ni_{0,80}Fe_{0,20}$.

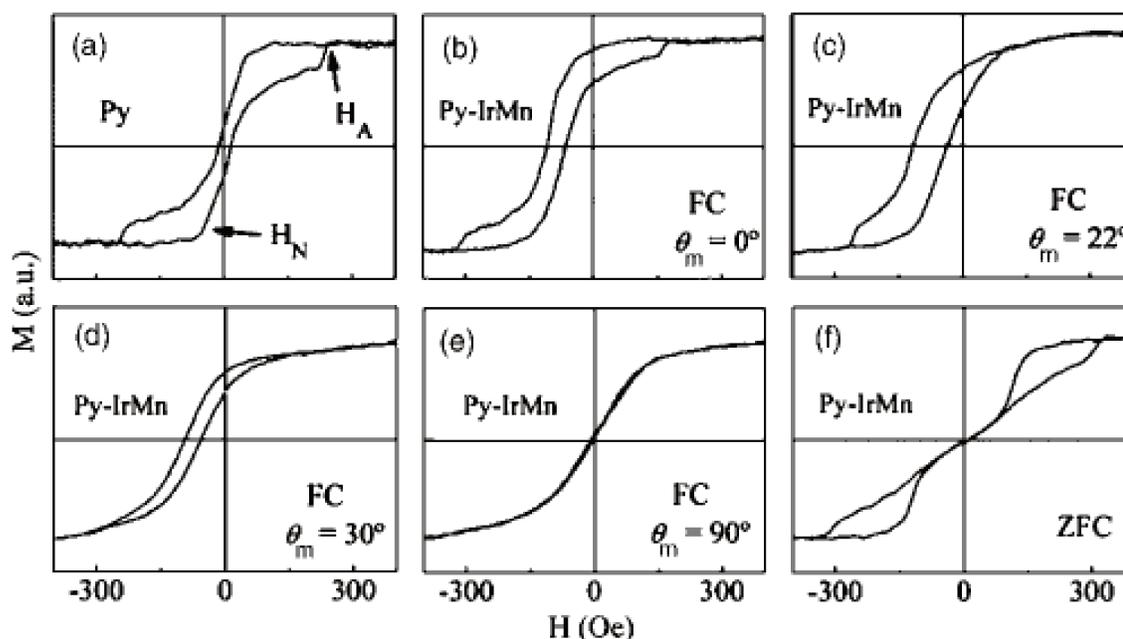


Figura 2.13 – Resultados obtidos no trabalho de Sort^[36]. Curvas de histeres medidas a temperatura ambiente de (a) discos de permalloy; (b-e) discos de permalloy depois de um resfriamento a partir de 550K e medido ao longo de diversos ângulos com relação ao plano do disco ($\theta_m = 0$ degree, 22degree, 30degree, 90degree); e discos depois do ZFC a partir de 550K.

magnético, em especial na curva mostrada na Fig. 2.13(f), onde ele reduz a remanência do estado original de vórtice a zero, aumentando a anisotropia do disco.

Logo, além de avaliar a viabilidade das VIPs para hipertermia magnética, propomos um estudo do efeito do acoplamento de *Exchange Bias* na partícula. Pretendemos com isso, aumentar a anisotropia magnética, e conseqüentemente o SAR da partícula.

3 Simulação micromagnética e o conceito da Vortex Iron oxide Particle (VIP)

No Cap. 1, apresentamos os fundamentos teóricos usados para descrever a hipertermia magnética de partículas em suspensão. Discutimos algumas morfologias que fazem a configuração magnética de uma partícula transitar do estado de monodomínio magnético ao de vórtice magnético, e como isto se reflete no campo coercivo essencial para o pré-requisito II apresentado na Introdução. Destacamos a existência de três mecanismos para a perda de energia magnética pertinentes ao pré-requisito IV de alto SAR: perdas por susceptibilidade, para partículas superparamagnéticas dentro do regime do LTR; perdas histeréticas que, para partículas bloqueadas, pode ser aproximada pela histerese de SW, ou para partículas no estado de vórtice, que podem ser estudadas, por simulação micromagnética; e perdas por viscosidade, que englobam a fenomenologia turbulenta do fluido, mas que, para fins práticos, poderia ser desconsiderada.

Neste capítulo, iremos apresentar os estudos feitos a partir das simulações micromagnéticas desenvolvidas no trabalho, e que permitiram a compreensão da partícula no estado de vórtice magnético desenvolvidas nos diversos trabalhos^[32, 94-97] apresentados no final do Cap. 2. Mais especificamente, iremos contextualizar o projeto de uma VIP do ponto de vista micromagnético, expondo principalmente os prerrequisitos morfológicos que culminam na formação do vórtice magnético e suas limitações. Estes experimentos foram feitos em paralelo com os experimentos de síntese e caracterização e, por isso, muitas das decisões tomadas no capítulo refletem os resultados que serão apresentados nos capítulos seguintes, porém, para fins de exposição, os resultados de síntese e caracterização e serão apresentados nos capítulos que seguem.

3.1 Object Oriented MicroMagnetic Framework (OOMMF)

As simulações usadas para estudar o comportamento das partículas magnéticas foram feitas usando o pacote OOMMF^[99]. Neste pacote, a partícula é aproximada por elementos ortorrômnicos denominado vóxeis*. Dentro do volume de cada vóxel i , assumimos que a magnetização é homogênea e, por isso, aproximamos por um único momento magnético \vec{m}_i . Com isto, calculamos a densidade de energia total (E_{tot}) de cada vóxel e, conseqüentemente da partícula, como função de quatro termos distintos: densidade de energia de troca (E_{ex}); densidade de energia magnetoestática intrínseca (E_d); densidade de energia da anisotropia magnetocristalina (E_k); e densidade de energia Zeeman (E_{zee}).

O calculo da densidade de energia de troca foi feito considerando-se apenas os seis primeiros vizinhos de cada vóxel:

$$E_{ex} = \sum_{j=N}^6 A \frac{\vec{m}_i \cdot (\vec{m}_i - \vec{m}_j)}{R_{i,j}^2}, \quad (3.1)$$

onde A é a rigidez de troca e $R_{i,j}$ é a distância entre os centros dos voxéis i e j ; E_d pode ser calculado segundo a equação (1.6) e, em específico, como o vóxel é ortorrômnico o campo desmagnetizante é calculado segundo a formulação encontrada nos trabalhos de Newell *et al.*^[100] e Aharoni *et al.*^[101]; E_k pode ser calculado segundo as equações (1.7) a (1.11); e E_{zee} , definido na presença de um campo externo \vec{H}_{ext} , corresponde à energia potencial de um corpo magnetizado devido à ação deste campo^[102]:

$$E_{zee} = -\mu_0 \vec{m}_i \cdot \vec{H}_{ext}. \quad (3.2)$$

Por fim, a energia total será dada por:

$$E_{tot} = E_{ex} + E_d + E_k + E_{zee}. \quad (3.3)$$

Quanto à dinâmica da magnetização, ela é descrita pela equação fenomenológica, denominada Landau-Liftshitz-Gilbert (LLG)^[38]:

*No oommf, vóxel é conhecido como *cell* ou célula, no entanto, neste trabalho, preservei o nome célula para ser usado no que concerne os experimentos realizados na biologia.

$$\frac{d\vec{M}(\vec{r},t)}{dt} = \overbrace{-\gamma\vec{M} \times \vec{H}_{eff}}^{\text{Precessão}} + \overbrace{\frac{\alpha}{M}\vec{M} \times (\vec{M} \times \vec{H}_{eff})}^{\text{Amortecimento}}, \quad (3.4)$$

onde γ e α são as constantes giromagnética do elétron e de amortecimento, respectivamente, e \vec{H}_{eff} é o campo efetivo sobre o sistema. Este campo é construído a partir do cálculo variacional da densidade de energia total descrita em (3.3) de forma a minimizá-la*.

Na equação LLG, eq. (3.4), o primeiro termo descreve o movimento de precessão do momento magnético em torno do campo magnético efetivo, mostrado em azul na Fig. 3.1. O segundo termo descreve o fenômeno de amortecimento que faz com que a magnetização alcance o equilíbrio com o campo magnético efetivo, mostrado em verde na Fig. 3.1.

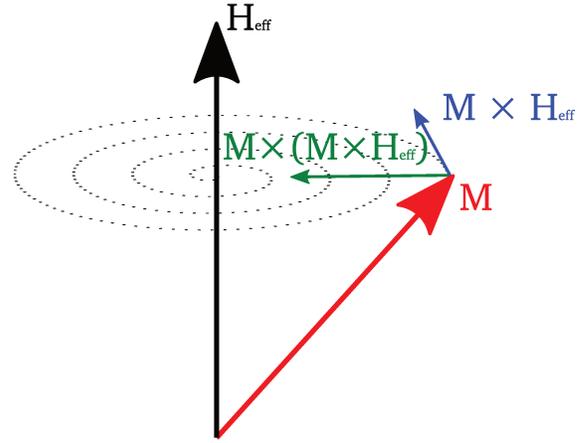


Figura 3.1 – Termos da equação de LLG.

3.2 Simulação de uma partícula de magnetita

Os materiais mais utilizados para confecção de partículas magnéticas para fins de aplicação biomédica são os óxidos de ferro conhecidos como magnetita (Fe_3O_4) e maghemita ($\gamma-Fe_2O_3$). Suas principais vantagens são sua biocompatibilidade e baixa citotoxicidade (pré-requisito I), necessários para uma aplicação *in vivo*. Dentre estes óxidos, a magnetita é a que apresenta melhores características magnéticas como (pré-requisitos III). Sendo assim, optamos nas simulações utilizar as características magnéticas da magnetita.

Para simular uma partícula de magnetita assumimos os seguintes valores^[31, 38, 104]: tamanho de voxel de $5 \times 5 \times 5 \text{ nm}^\dagger$; rigidez de troca (*stiffness*) $A = 13,2 \text{ pJ/m}$; magnetização de saturação $M_s = 485 \text{ kA/m}$; anisotropia magnetocristalina cúbica com a direção \hat{z} definida ao longo do eixo de simetria do cilindro[‡]; constante de anisotropia magnetocristalina $K_1 = -13 \text{ kJ/m}^3$; fator de

*Os detalhes para este cálculo de \vec{H}_{eff} pode ser encontrado no livro de Brown^[103].

[†]Tal valor corresponde ao comprimento de troca $l_{ex} = 4,9 \text{ nm}$ da magnetita.

[‡]A escolha dos eixos de anisotropia respeita as características de síntese da partícula e que será discutida no próximo capítulo.

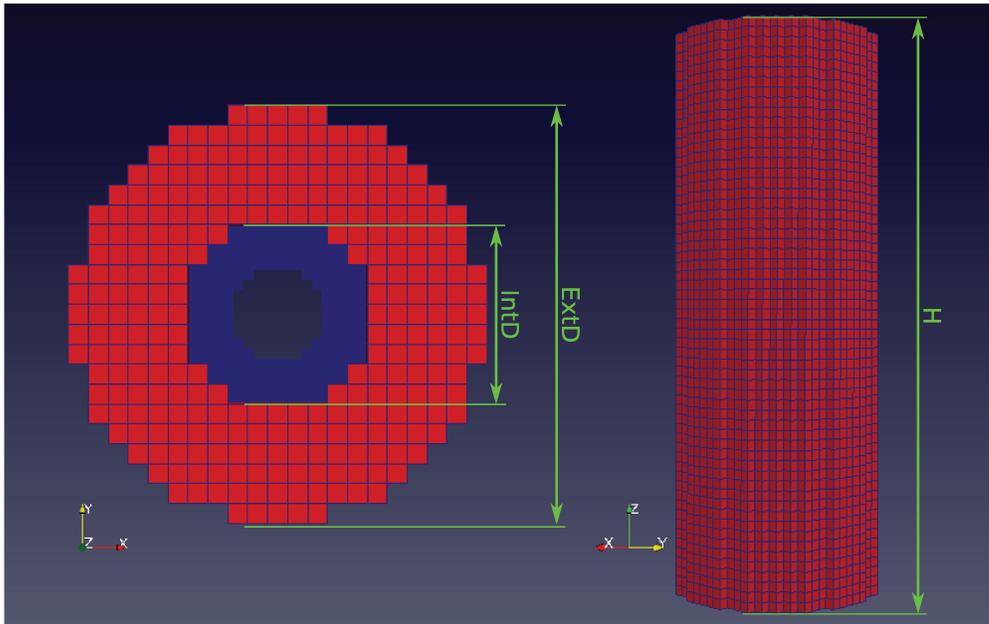


Figura 3.2 – Dimensões e orientação da partícula simulada: Diâmetro Externo ($ExtD$); Diâmetro Interno ($IntD$); e Altura (H). Eixo \hat{z} é coincidente com o eixo de simetria do cilindro.

amortecimento para a equação (3.4) $\alpha = 0,5$ para as simulações estáticas* e $\alpha = 0,01$ para as simulações dinâmicas. Na Fig. 3.2, temos a definição das dimensões da partícula: Diâmetro Externo ($ExtD$); Diâmetro Interno ($IntD$); e Altura (H). Assim como a orientação desta com relação aos eixos $(\hat{x}, \hat{y}, \hat{z})$.

3.2.1 Nanodisco vs Nanoanel: a importância do furo

A princípio, para formação de um vórtice magnético, a partícula poderia ser um cilindro, e assim termos uma seção transversal circular no plano^[39] (x,y) . No entanto, as partículas sintetizadas nos trabalhos revistos^[32, 94–97] têm a opção de apresentarem um furo, de forma a criar um nanocilindro, que modifica a formação do estado de vórtice. Logo, um dos primeiros fatores que observamos durante os estudos da morfologia da partícula foi o efeito devido à existência do furo na partícula.

Na Fig. 3.3, temos a simulação de duas partículas de mesma altura ($H = 300\text{ nm}$) e diâmetro externo ($ExtD = 110\text{ nm}$). A partícula (**A**) tem um furo de $IntD = 40\text{ nm}$, e a partícula (**B**) não tem furo. Em ambos o gráfico sólido mostra uma seção no plano $(\hat{z}, \hat{x} + \hat{y})$ (direção $[110]$) do corpo

*Escolheu-se este valor, pois ele não interfere na magnetização de equilíbrio, logo é possível reduzir o tempo de simulação sem prejudicar a magnetização de equilíbrio.

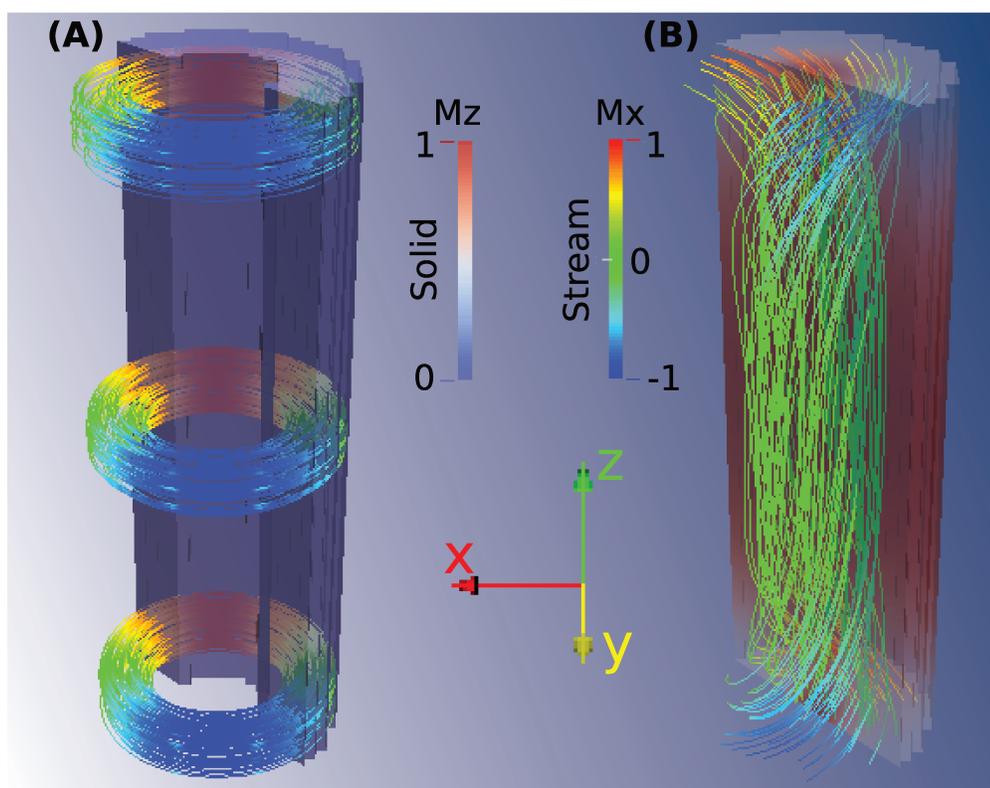


Figura 3.3 – Simulação de partícula com mesma altura ($H = 300\text{ nm}$) e diâmetro externo ($ExtD = 110\text{ nm}$). Na figura (A) esquerda, partícula com furo de $IntD = 40\text{ nm}$ e na figura (B) a partícula sem furo. O gráfico sólido mostra uma secção do contorno da partícula e as cores são proporcionais à componente M_z da magnetização. O gráfico de linhas de fluxo mostra o fluxo da magnetização e as cores são proporcionais a componente M_x da magnetização

da partícula e sua cor é proporcional à componente M_z da magnetização. No gráfico de linhas de fluxo*, vemos o fluxo magnético dentro da partícula em cores proporcionais à componente M_x da magnetização.

É fácil notar que a presença do furo é crítica para a existência de um vórtice magnético. Na Fig. 3.3,(B), o fluxo magnético praticamente não circula em torno do centro da partícula, tanto que, em seu interior a magnetização é majoritariamente na direção \hat{z} . Já na Fig. 3.3(A) o fluxo magnético claramente circula em torno do furo (plano x, y), formando o vórtice magnético.

Este fenômeno é atribuído à existência do núcleo do vórtice, que, como comentado, se forma devido à competição entre a energia de troca e magnetoestática, criando uma região com elevada concentração energética e considerável instabilidade. Por causa disso, se removermos núcleo do vórtice teremos o estado vórtice mais estável^[105, 106], contornando a polidispersão natural esperada em uma amostra real.

3.2.2 Diagrama de Fase: morfologia e vórtice magnético

Para entender as possíveis fases magnéticas e determinar qual morfologia devemos buscar na confecção de uma partícula no estado de vórtice magnético, realizamos uma série de simulações variando os três parâmetros morfológicos ($H, ExtD, IntD$) definidos segundo a Fig. 3.2. Estes resultados foram usados na confecção de um diagrama de fase tridimensional mostrado nas Figuras 3.10.

No procedimento de confecção deste diagrama de fase, para um mesmo trio ($H, ExtD, IntD$) foram simuladas quatro partículas idênticas, mas com diferentes configurações iniciais, e identificadas da seguinte forma:

- InitRand: onde a configuração inicial é tal que os momentos magnéticos \vec{m}_i iniciais da partícula estão aleatoriamente orientados.
- InitMz: onde a configuração inicial é tal que os momentos magnéticos iniciais \vec{m}_i da partícula estão alinhados homogeneamente ao longo de \hat{z} :

$$\vec{m}_i = m_i \hat{z}.$$

*Do inglês *stream plot*.

- **InitMx**: onde a configuração inicial é tal que os momentos magnéticos iniciais \vec{m}_i da partícula estão alinhados homogeneamente ao longo de \hat{x}^* :

$$\vec{m}_i = m_i \hat{x}.$$

- **InitVortex**: onde a configuração inicial é tal que os momentos magnéticos iniciais \vec{m}_i da partícula circulam ao redor do eixo \hat{z} e são todos mantidos no plano, ou seja, é uma configuração de vórtice magnético mas sem o núcleo:

$$\vec{m}_i = m_i \left[\frac{1}{\sqrt{2}} (\hat{x} + \hat{y}) \times \hat{z} \right] = m_i \hat{\phi}.$$

- **InitBamboo**: onde a configuração inicial é tal que os momentos magnéticos iniciais da partícula circulam ao redor do eixo \hat{z} , mas também têm uma componente de igual intensidade fora do plano na direção \hat{z} , ou seja, é uma composição das configurações **InitMz** e **InitVortex**:

$$\vec{m}_i = m_i \left[\frac{1}{\sqrt{2}} (\hat{\phi} + \hat{z}) \right].$$

Partindo destes estados iniciais, a magnetização da partícula era, então, deixada relaxar na ausência de campos magnéticos externo até que a grandeza dm/dt , dada em graus por nanosegundo, calculada para cada vóxel da partícula fosse menor que 1%. Isto corresponde a um meta estado cuja energia é suficientemente próxima da de equilíbrio. Nas Figuras 3.4, 3.5, 3.6, 3.7 e 3.8, temos as representações dos quatro estados magnéticos finais encontrados e usados para composição do diagrama de fase.

*Outra configuração equivalente $\vec{m}_i = m_i \left[\frac{1}{\sqrt{2}} (\hat{x} + \hat{y}) \right]$ (ao longo da direção [110]), também foi simulada para se testar se a discretização da partícula poderia afetar o resultado. No entanto, não se observou nenhum resultado que justificasse o uso extensivo deste estado inicial.

Estado Plano

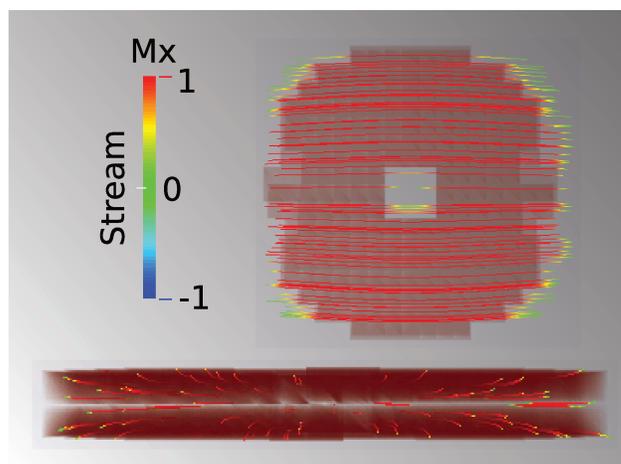


Figura 3.4 – Estado magnético denominado Plano. A magnetização está contida no plano do cilindro na direção \hat{x} . Acima vista superior e abaixo vista lateral. A representação do corpo da partícula está em vermelho e foi feita transparente para melhor visualizar o fluxo magnético no interior da partícula. O gráfico de linhas de fluxo mostra o fluxo da magnetização e as cores são proporcionais à componente M_x da magnetização.

O estado magnético mostrado na Fig. 3.4 é denominado **Plano** e assume uma configuração magnética majoritariamente contida no plano e majoritariamente na direção \hat{x} . No diagrama de fase, é identificada pela cor ciano.

Estado Mz

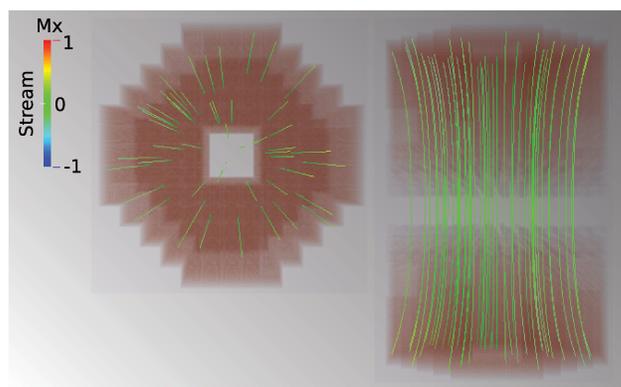


Figura 3.5 – Estado magnético denominado Mz. A magnetização está majoritariamente na direção \hat{z} . A esquerda vista superior e a direita vista lateral. A representação do corpo da partícula está em vermelho e foi feita transparente para melhor visualizar o fluxo magnético no interior da partícula. O gráfico de linhas de fluxo mostra o fluxo da magnetização e as cores são proporcionais à componente M_x da magnetização.

O estado magnético mostrado na Fig. 3.5 é denominado **Mz** e assume uma configuração mag-

nética majoritariamente na direção \hat{z} . Este estado não se mostrou energeticamente viável (Fig. 3.9) e, por isso, não compõe o diagrama de fase mostrado nas páginas 66, 67, 68 e 69.

Estado Vórtice

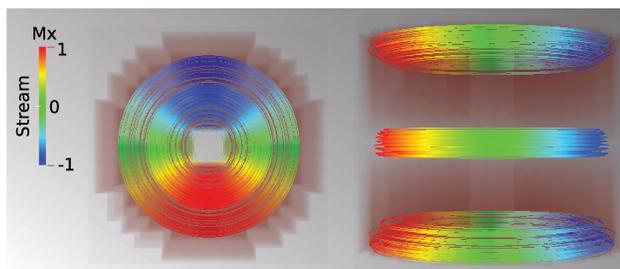


Figura 3.6 – Estado magnético denominado Vórtice. A magnetização está contida no plano do cilindro e circula ao redor do eixo do cilindro. A representação do corpo da partícula está em vermelho e foi feito transparente para melhor visualizar o fluxo magnético no interior da partícula. O gráfico de linhas de fluxo mostra o fluxo da magnetização e as cores são proporcionais à componente M_x da magnetização.

O estado magnético mostrado na Fig. 3.6 é denominado **Vórtice** e assume uma configuração de vórtice magnético, na qual a magnetização fica contida no plano e circula ao redor do eixo do cilindro. No diagrama de fase, é identificada pela cor verde.

Estado Bamboo

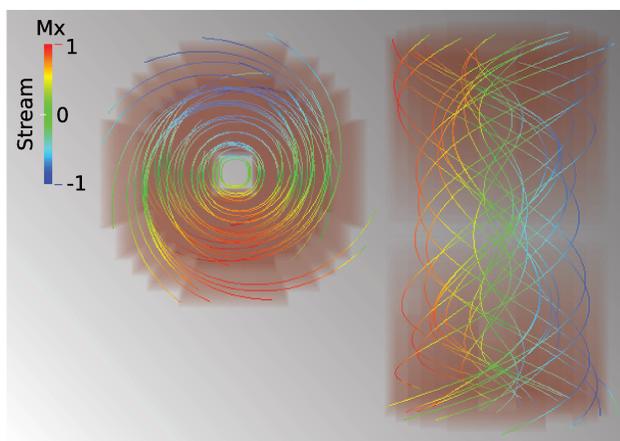


Figura 3.7 – Estado magnético denominado Bamboo. A magnetização não está contida no plano do cilindro mas circula ao redor de seu eixo do cilindro. A representação do corpo da partícula está em vermelho e foi feito transparente para melhor visualizar o fluxo magnético no interior da partícula. O gráfico de linhas de fluxo mostra o fluxo da magnetização e as cores são proporcionais à componente M_x da magnetização.

O estado magnético mostrado na Fig. 3.7 é denominado **Bamboo** e assume uma configuração onde a magnetização não fica contida no plano, mas ainda assim, circula ao redor do eixo do

cilindro. Na meia altura do cilindro, a componente M_z da magnetização assume seu maior valor, mas não chega a ser a principal, pois a magnetização ainda continua a circular ao redor do eixo do cilindro. No diagrama de fase, é identificada pela cor azul.

Estado 2xVórtice

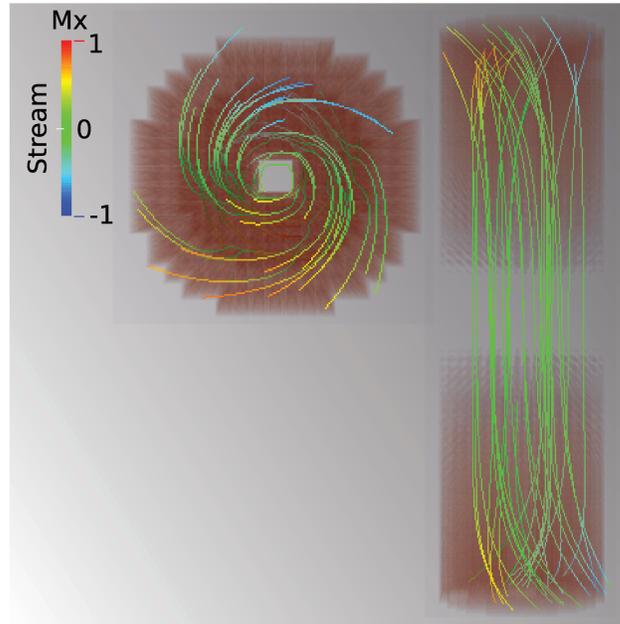


Figura 3.8 – Estado magnético denominado 2xVórtice. A magnetização não está contida no plano do cilindro e circula ao redor de seu eixo apenas nas extremidades. Próximo ao centro do cilindro a magnetização é paralela ao eixo. A representação do corpo da partícula está em vermelho e foi feito transparente para melhor visualizar o fluxo magnético no interior da partícula. O gráfico de linhas de fluxo mostra o fluxo da magnetização e as cores são proporcionais à componente M_x da magnetização.

O estado magnético mostrado na Fig. 3.8 é denominado **2xVórtice** e assume uma configuração onde a magnetização não fica contida no plano e circula ao redor do eixo do cilindro somente em suas extremidades. A meia altura do cilindro, a componente M_z é predominante e a magnetização não circula ao redor do eixo. Esta região pode ser interpretada como uma parede de domínio, pois separa as duas extremidades do cilindro. Embora na Fig. 3.8 ambas as extremidades tenham a mesma circulação, isto não é relevante para o cálculo energético do estado magnético, ou seja, partículas com circulações opostas nas extremidades são equivalentes à partículas com circulações iguais. No diagrama de fase, é identificada pela cor vermelha.

Para otimizar o tempo computacional e a exceção do estado InitRand, cada estado inicial foi desenhado para convergir em algum dos estados finais encontrados após a relaxação. Além disso,

como a simulação feita excluía efeitos térmicos ($T = 0\text{K}$), todos os estados finais mostrados são energeticamente possíveis. Cada um deles correspondendo a um mínimo energético local no espaço de energia. Sendo assim, para determinar o estado predominante em temperatura ambiente, assumimos que dentre os estados finais encontrados somente o estado de menor energia irá prevalecer quando $T = 300\text{K}$.

A existência destes mínimos locais no espaço de energia também foi o motivo que nos levou a simular partículas partindo do estado InitRand. Por não assumir nenhum estado inicial, este estado tem liberdade para convergir para qualquer mínimo local, mesmo um não previsto anteriormente. Sendo assim, caso tivéssemos algum estado final diferente dos mostrados acima acabaríamos, em algum instante, identificando-o. Embora uma única simulação para cada morfologia partindo do InitRand não seja estatisticamente confiável, o fato de em nenhum ponto do diagrama, termos observado um estado final diferente dos mostrados, nos leva a crer que estes estados são de fato os mais estáveis*.

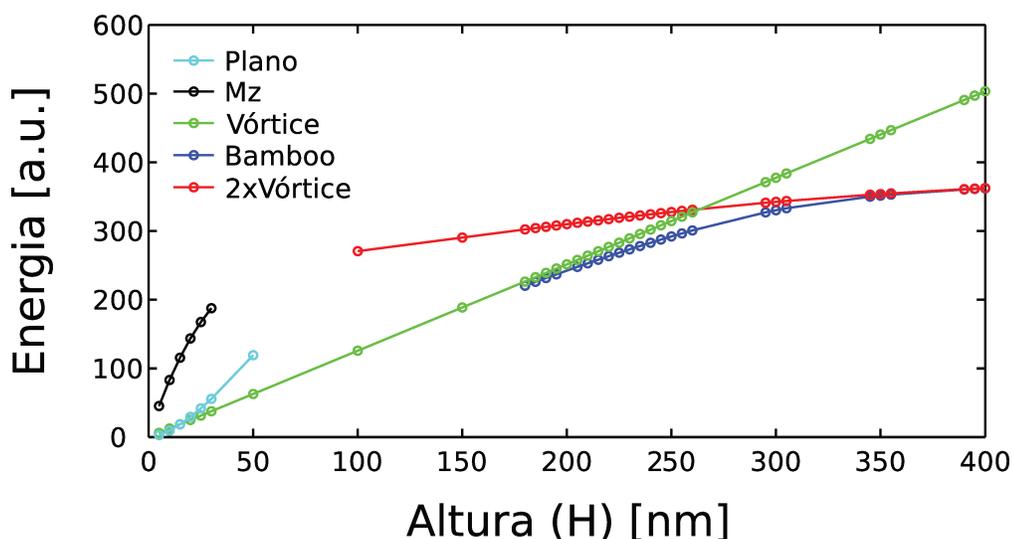


Figura 3.9 – Gráfico Energia vs H para partícula de $ExtD = 120$ e $IntD = 10$ usado para identificar o estado de menor energia usado na composição do diagrama de fase.

Terminado as cinco simulações para cada morfologia, as partículas foram catalogadas e identificadas dentre os estados finais mostrados, para depois serem correlacionadas à energia total calculada pelo pacote OOMMF. Por fim, os valores de energia, $ExtD$, $IntD$ e H foram usados para criar uma série de gráficos como o mostrado na Fig. 3.9

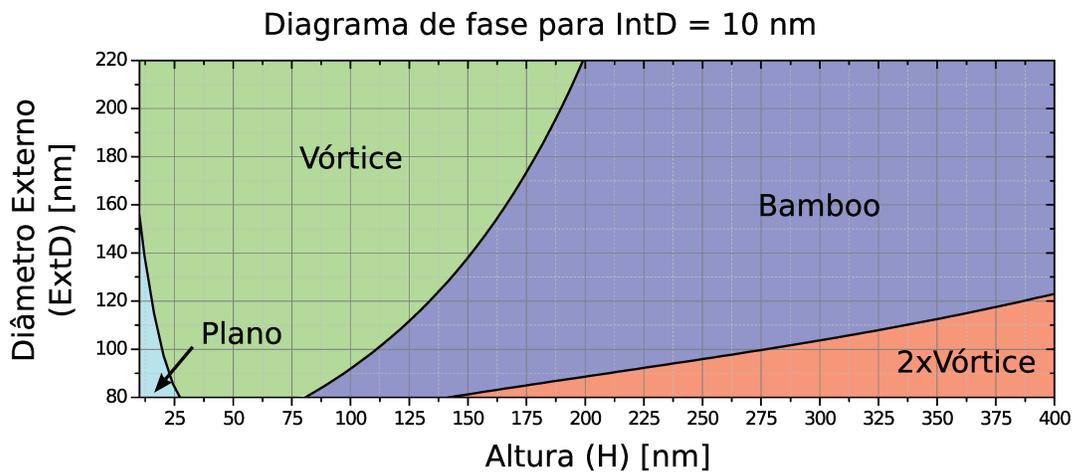
Neste gráfico, identificamos o estado final, ou de menor energia, em uma partícula de $ExtD =$

*De fato, outros estados finais foram encontrados, mas nenhum deles foi consistente para um grupo de $(H, ExtD, IntD)$ e energeticamente mais favoráveis que os mostrados.

120 e $IntD = 10$. Novamente, vemos que, graças à presença do furo, não identificamos a formação do estado M_z com mínimo global. Além disso, podemos identificar que o estado Bamboo é a transição do estado Vórtice para o 2xVórtice. De fato, na transição Vórtice para Bamboo o aumento gradual da altura da partícula faz com que a magnetização comece a sair do plano (x, y) . Este processo é máximo no plano transversal à meia altura do cilindro, e quando a magnetização no plano passa a ser paralela ao eixo \hat{z} , dizemos que saímos do estado Bamboo para o estado 2xVórtice. Isto mostra que a transição de um estado para o outro é contínua, e, portanto, difícil de ser identificada.

Nas Páginas 66, 67, 68 e 69 temos os gráficos do diagrama de fase criado a partir do procedimento apresentado.

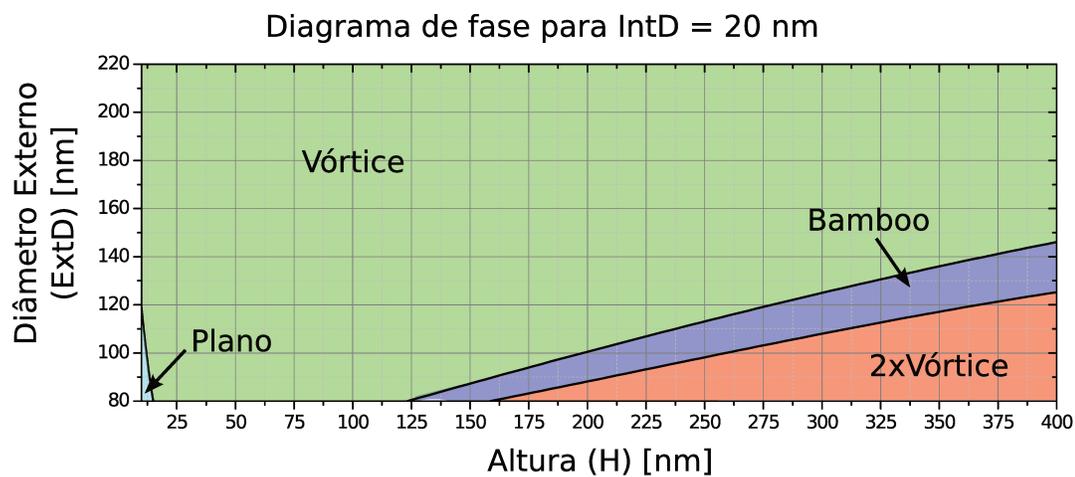
Diagrama de Fase Magnético



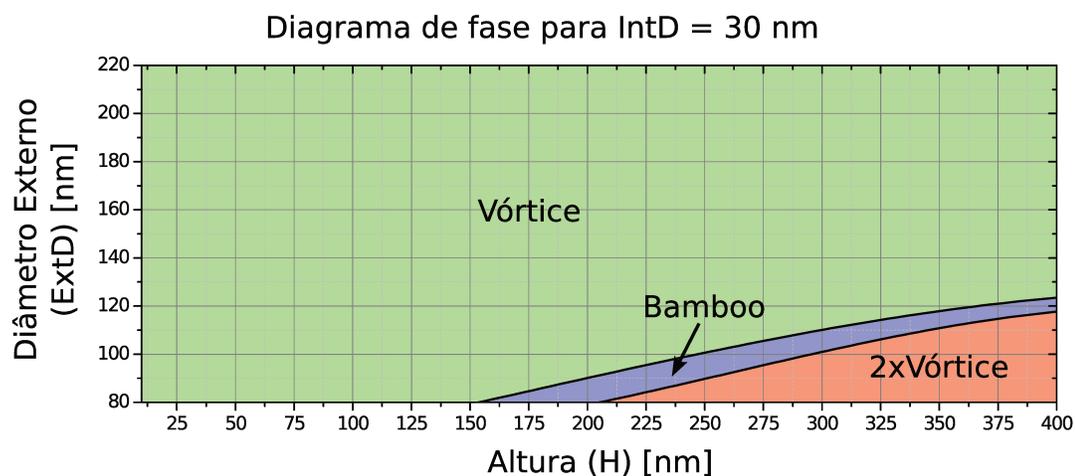
(a) Diagrama de Fase para $IntD = 10$ nm

Figura 3.10 – Diagrama de fase para uma partícula cilíndrica: Em *ciano* o estado Plano (Fig. 3.4; pág. 62); Em *verde* o estado Vórtice (Fig. 3.6, pág. 63); Em *azul* o estado Bamboo (Fig. 3.7; pág. 63); Em *vermelho* o estado 2xVórtice (Fig. 3.8; pág. 64).

Diagrama de Fase Magnético



(b) Diagrama de Fase para $\text{IntD} = 20 \text{ nm}$



(c) Diagrama de Fase para $\text{IntD} = 30 \text{ nm}$

Figura 3.10 – Diagrama de fase para uma partícula cilíndrica: Em *ciano* o estado Plano (Fig. 3.4; pág. 62); Em *verde* o estado Vórtice (Fig. 3.6, pág. 63); Em *azul* o estado Bamboo (Fig. 3.7; pág. 63); Em *vermelho* o estado 2xVórtice (Fig. 3.8; pág. 64).

Diagrama de Fase Magnético (Continuação)

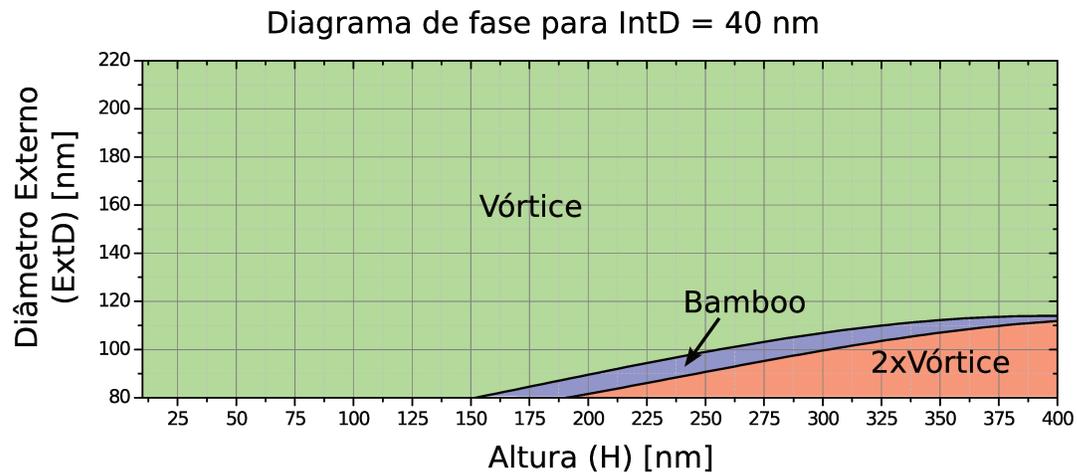
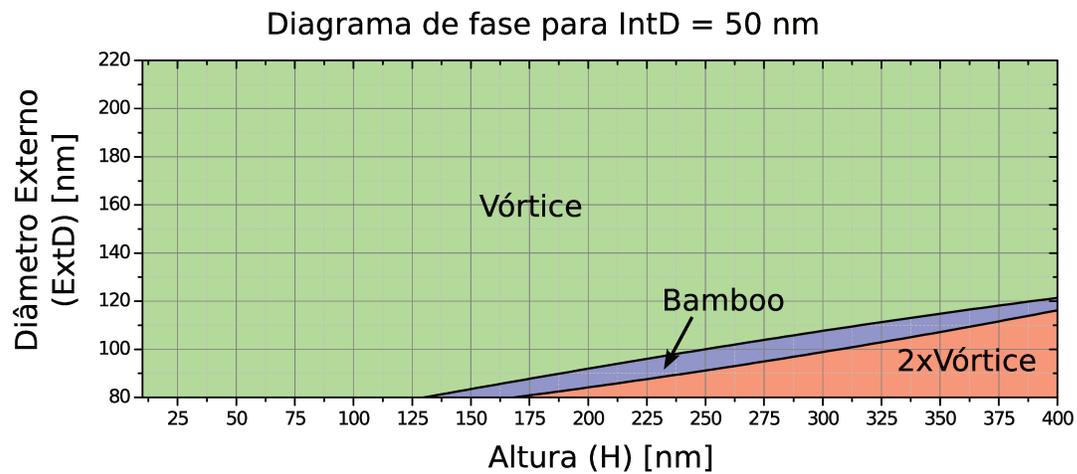
(d) Diagrama de Fase para $\text{IntD} = 40 \text{ nm}$ (e) Diagrama de Fase para $\text{IntD} = 50 \text{ nm}$

Figura 3.10 – Diagrama de fase para uma partícula cilíndrica: Em *ciano* o estado Plano (Fig. 3.4; pág. 62); Em *verde* o estado Vórtice (Fig. 3.6, pág. 63); Em *azul* o estado Bamboo (Fig. 3.7; pág. 63); Em *vermelho* o estado 2xVórtice (Fig. 3.8; pág. 64).

Diagrama de Fase Magnético (Continuação)

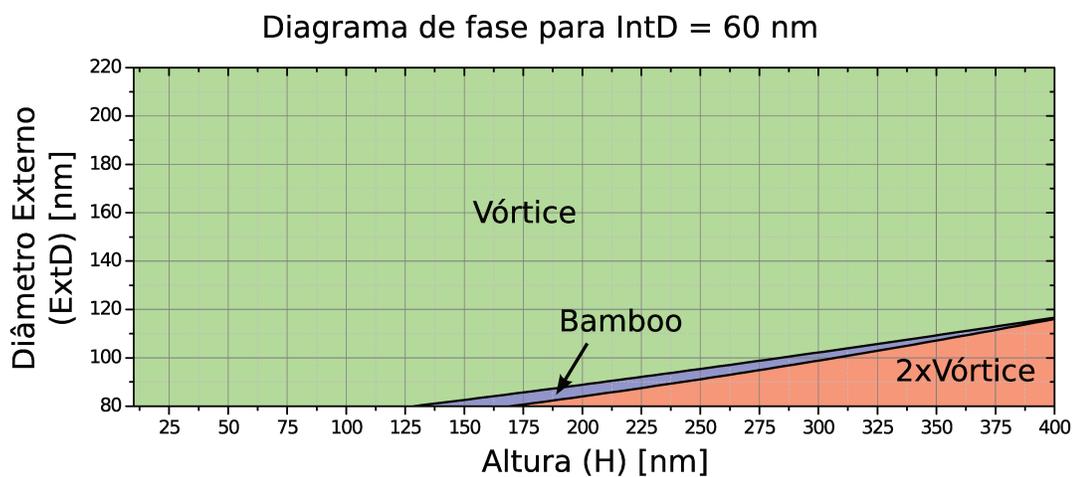
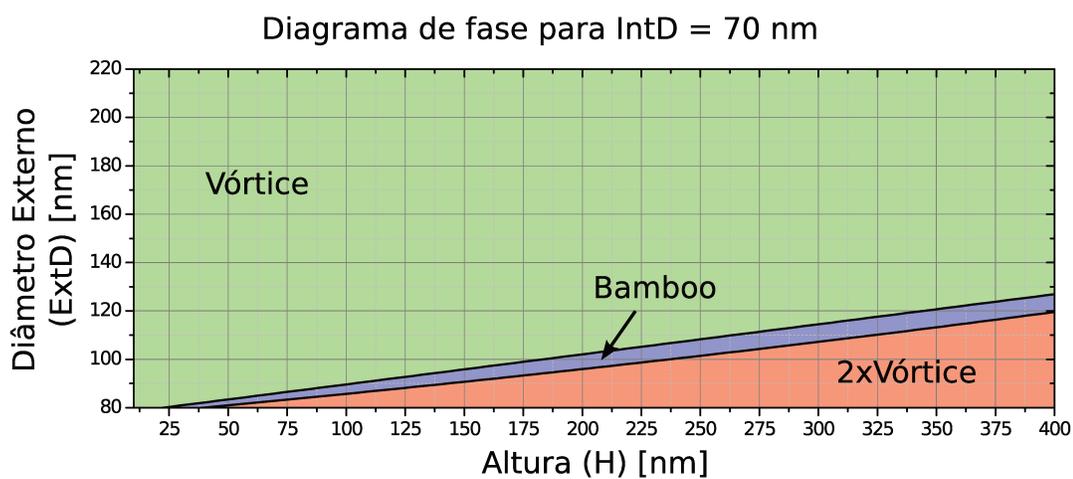
(f) Diagrama de Fase para $\text{IntD} = 60 \text{ nm}$ (g) Diagrama de Fase para $\text{IntD} = 70 \text{ nm}$

Figura 3.10 – Diagrama de fase para uma partícula cilíndrica: Em *ciano* o estado Plano (Fig. 3.4; pág. 62); Em *verde* o estado Vórtice (Fig. 3.6, pág. 63); Em *azul* o estado Bamboo (Fig. 3.7; pág. 63); Em *vermelho* o estado 2xVórtice (Fig. 3.8; pág. 64).

A partir deste diagrama, podemos concluir que a partícula cilíndrica não só pode assumir uma configuração de vórtice magnético como também que, a ausência do núcleo faz do estado de vórtice muito mais favorável. Isto implica nas VIPs cilíndricas terem uma grande versatilidade no que diz respeito à morfologia sem comprometer o estado de vórtice magnético.

3.3 Dinâmica e Histerese Magnética

Na seção anterior, determinamos o estado magnético de equilíbrio das partículas e compomos o diagrama de fase mostrado nas Páginas 66 a 69. Partindo deste diagrama, passamos a estudar a resposta dinâmica de uma VIP, adicionando à simulação anterior um campo magnético externo para simular o ciclo de histerese das VIPs estudadas. O campo magnético foi aplicado nas duas principais direções do cilindro, uma na direção \hat{x} (plano (x, y)) e outra na direção \hat{z} .

Para simular um ciclo de histerese no pacote oomf, o campo aplicado é dividido em estágios que quebram a sua varredura em incrementos discretos. Para cada um destes estágios, a partícula é submetida a um campo externo estático e os momentos magnético são deixados relaxar, tal qual as simulações anteriores.

Dentro de cada estágio, o campo aplicado é mantido constante até que um critério de convergência seja satisfeito. Foram utilizadas dois critérios de convergência neste trabalho. O primeiro, usado nas simulações de histerese estática, monitora a variação temporal da direção dos momentos magnéticos: ou seja caso a grandeza dm/dt (dada em graus por nanossegundo) definida para todos os vóxeis, seja menor que 0,01, a partícula é considerada próxima do equilíbrio e o critério é considerado satisfeito.

O segundo critério, baseado no tempo real da dinâmica, monitora a evolução temporal da partícula e é usado na simulação de ciclos de histerese dinâmicos. Neste caso, é definida uma janela de tempo Δt onde cada estágio irá evoluir segundo a Equação LLG (3.4) até que Δt seja alcançado.

Por fim, uma vez que o critério de convergência do estágio é alcançado, o estágio é dado como terminado e o campo aplicado sofre mais um incremento passando ao seguinte.

3.3.1 Histerese estática da partícula

Nas primeiras análises, simulamos um campo magnético, equivalente à uma medida DC. Esta simulação foi feita variando o campo aplicado de forma quasi estática, e cujo processo é resumido no fluxograma da Fig. 3.11. Inicialmente, a partícula era preparada na configuração do tipo InitVortex e deixada relaxar até o estado de equilíbrio de vórtice.

Em seguida, iniciávamos a simulação do ciclo de histerese, onde cada estágio tinha o critério de convergência $dm/dt < 0,01$. Como não tínhamos interesse na dinâmica, o coeficiente de amor-

tecimento α foi mantido em 0.5, visando reduzir o tempo de simulação de cada estágio. Ao final de cada estágio, a magnetização da VIP era gravada para, quando terminada a simulação, serem confrontados em um gráfico $M \times H$. Na Fig. 3.12, temos uma simulação da histerese DC feita para uma partícula magnética de $H = 75 \text{ nm}$, $ExtD = 95 \text{ nm}$ e $IntD = 35 \text{ nm}$:

Identificamos neste resultado a curva típica de um vórtice apresentada anteriormente. Fica claro que o eixo \hat{z} do cilindro satura com campos mais elevados ($\approx 120 \text{ mT}$) e por isso corresponde ao eixo de difícil magnetização. Além disso, destacamos que nenhuma das duas curvas apresenta coercividade, satisfazendo o pré-requisito II, de baixa remanência.

Como, para fins práticos, utilizamos um conjunto de partículas em suspensão e, portanto, desorientadas, simulamos o que seria a histerese de um conjunto de partículas com $H = 75 \text{ nm}$, $ExtD = 95 \text{ nm}$ e $IntD = 35 \text{ nm}$, aleatoriamente orientadas. Graças à simetria da partícula, conseguimos simplificar a simulação variando apenas o ângulo ϑ entre o eixo \hat{z} da partícula e o campo externo dentro de uma janela de 0 a 90° . Os valores de ϑ adotados foram $0^\circ, 1^\circ, 2^\circ, 3^\circ, 4^\circ, 5^\circ, 10^\circ, 15^\circ \dots 85^\circ, 90^\circ$, perfazendo um total de 23 histereses simuladas. Em seguida, a magnetização das partículas para as diferentes direções de campo foram somadas e normalizadas. O resultado é mostrado na Fig. 3.13.

Novamente, o ciclo total simulado não apresentou coercividade, o que satisfaz o pré-requisito II. Esta simulação é uma boa aproximação das medidas reais de magnetometria DC feitas no magnetômetro SQUID. Mesmo desconsiderando fatores como polidispersão e interação dipolar entre partículas, acreditamos que, de forma qualitativa, uma VIP sintetizada deva assumir um comportamento semelhante ao observado na Fig. 3.13.

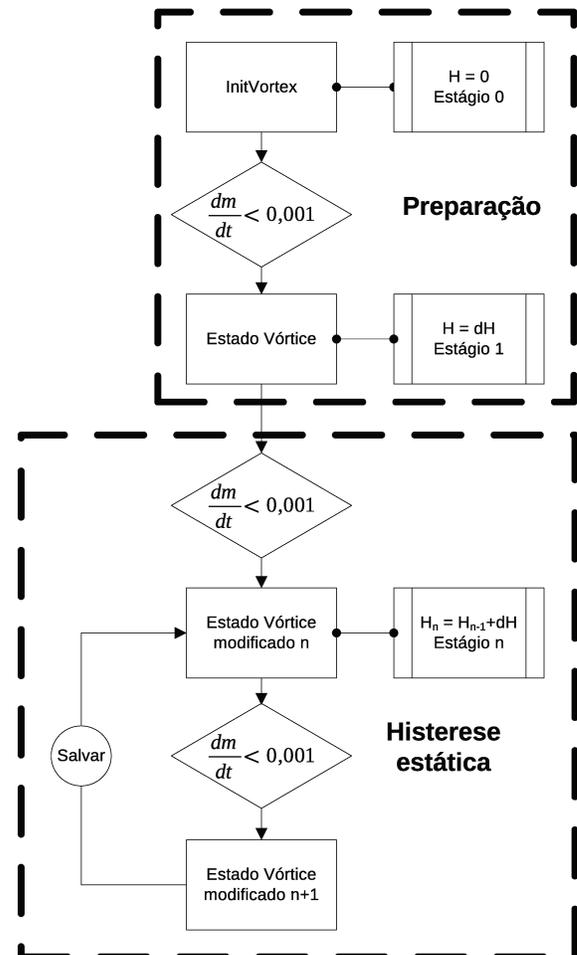


Figura 3.11 – Fluxograma para simulação da Histerese Estática da partícula de magnetita.

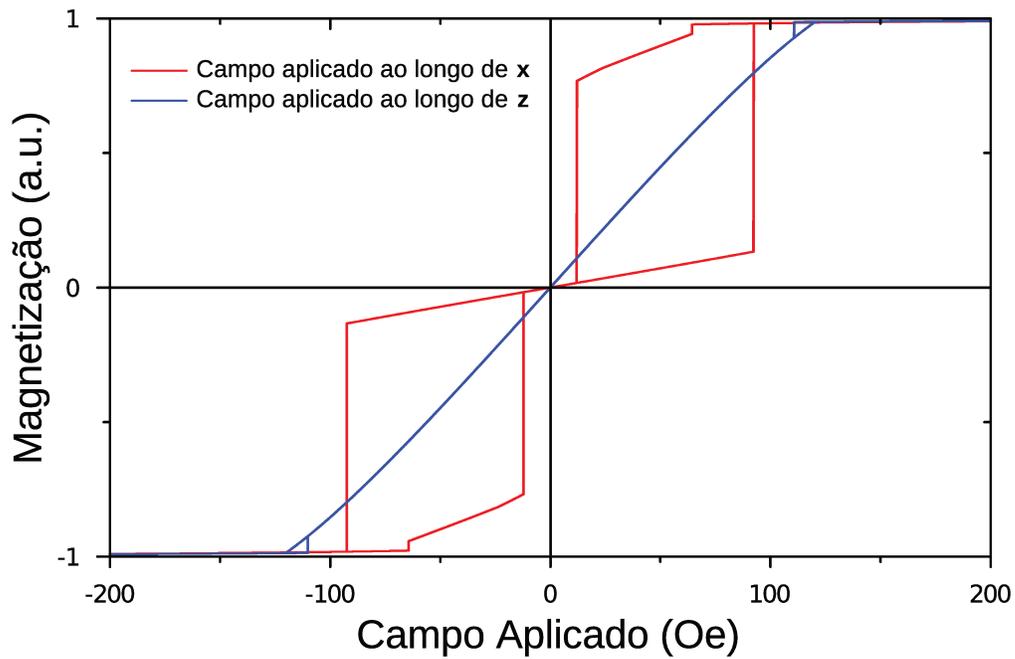


Figura 3.12 – Curva de Histerese Estática para campos aplicados nas direções \hat{x} de fácil magnetização e \hat{z} de difícil magnetização, vermelho e azul respectivamente. Simulação feita para uma partícula de $H = 75$ nm, $ExtD = 95$ e $IntD = 35$.

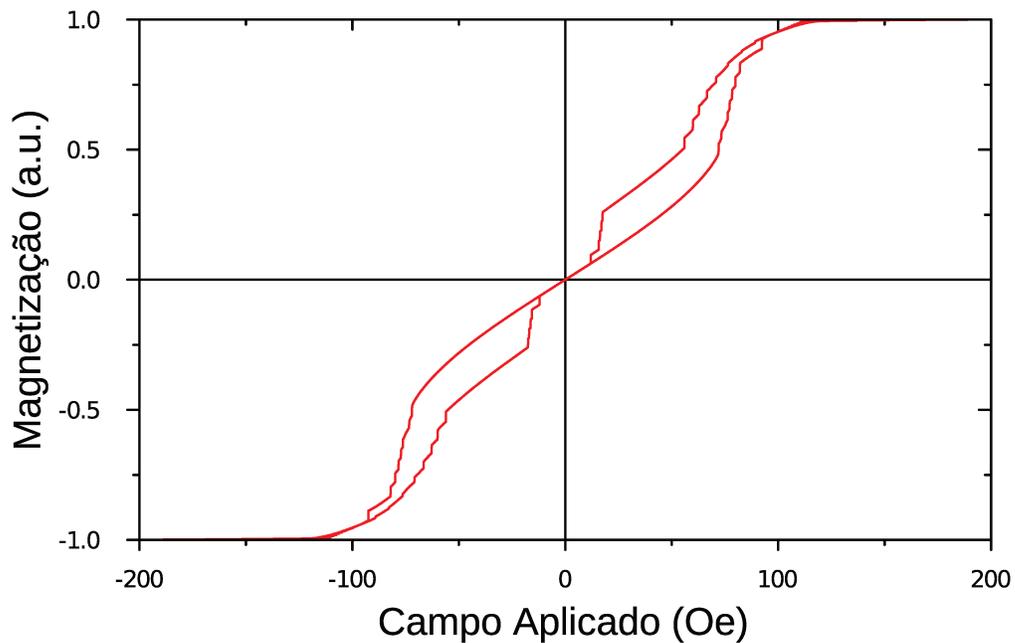


Figura 3.13 – Curva de Histerese estática para um conjunto de partículas aleatoriamente orientadas. Simulação feita para partículas de $H = 75$ nm, $ExtD = 95$ e $IntD = 35$.

3.3.2 Histerese dinâmica da partícula

Neste segundo conjunto de simulações estudamos o comportamento magnético da partícula sob a ação de um campo magnético AC. Para estas simulações, todos os parâmetros da partícula foram mantidos, com exceção do parâmetro de amortecimento da Equação (3.4) de LLG. Redefinido α como sendo 0,01, ou seja, o valor experimentalmente aceito para o caso magnetita.

Além disso, o campo magnético externo simulado foi alterado para acompanhar as condições experimentais de uma medida de hipertermia magnética, isto é, um campo magnético senoidal com amplitude de $\approx 150\text{mT}$ e frequência de 300kHz . Para criar este campo externo dentro do ambiente oommf, utilizamos como critério de convergência de cada passo uma janela de tempo $\Delta t = 3,3 \times 10^{-9}\text{s}$, como representado no novo fluxograma da Fig. 3.14. Dessa forma, a magnetização não necessariamente se acomodava entre os passos, impondo o caráter dinâmico do campo. Na Fig. 3.15, temos uma simulação da histerese AC feita para uma partícula magnética de $H = 75\text{ nm}$, $ExtD = 95\text{ nm}$ e $IntD = 35\text{ nm}$.

Encontramos poucas diferenças entre as curvas da Fig. 3.12 e da Fig. 3.15, estas diferenças são apontadas pela seta e correspondem exatamente à região de transição de uma partícula no estado de vórtice para uma partícula monodomínio. Como estas diferenças são pequenas podemos assumir que a dinâmica da magnetização do vórtice acompanha o campo AC com frequência de 300kHz . Logo, podemos assumir que a histerese medida em modo DC, por métodos de magnetometria, é uma boa aproximação para histerese dinâmica, presente nos experimentos de hipertermia. Por fim, como o tempo computacionais para simular uma histerese DC é menor, optamos por não simular

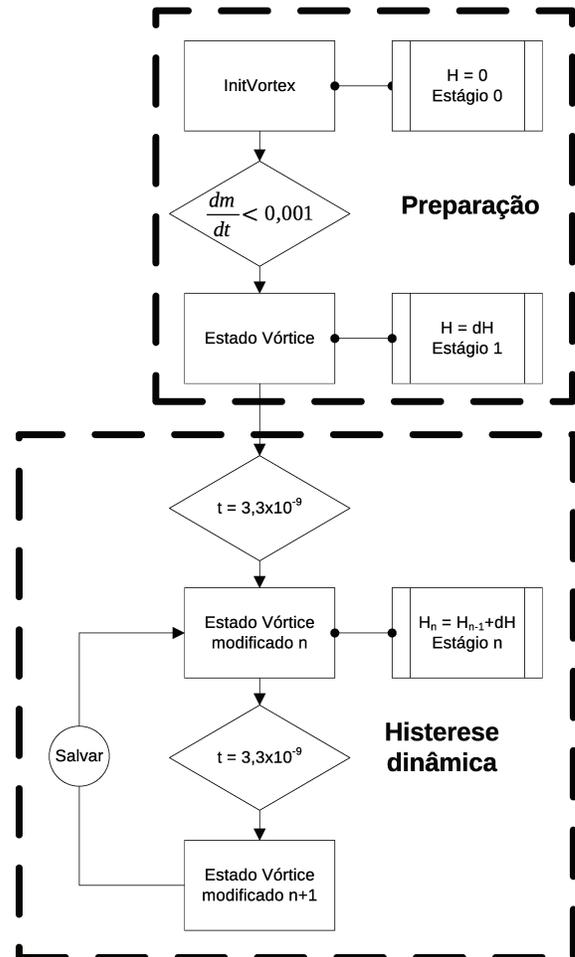


Figura 3.14 – Fluxograma para simulação da Histerese Dinâmica da partícula de magnetita.

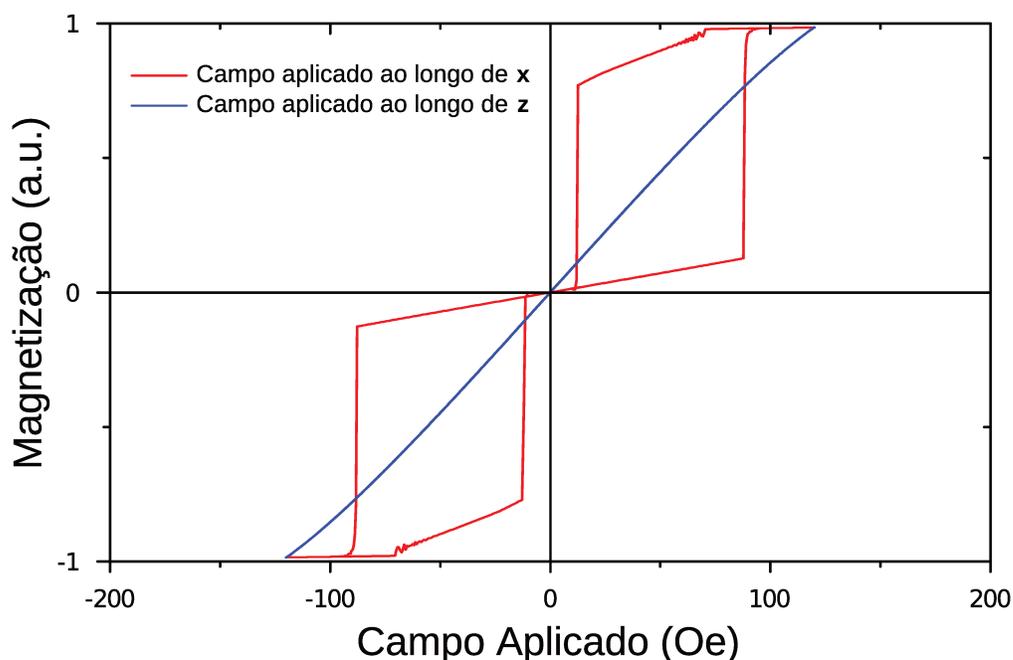


Figura 3.15 – Curva de Histerese Dinâmica para campos aplicados nas direções \hat{x} de fácil magnetização e \hat{z} de difícil magnetização, vermelho e azul respectivamente. Simulação feita para uma partícula de $H = 75$ nm, $ExtD = 95$ e $IntD = 35$.

mais histereses dinâmicas como da forma descrita.

3.3.3 Estados metaestáveis: problemas de reversibilidade

No trabalho de Yang *et al.*^[31], os autores observaram que partículas de magnetita cilíndricas, semelhantes em forma, mas não em tamanho as deste trabalho, podem apresentar problemas de reversibilidade do vórtice magnético. Este mesmo comportamento foi observado durante os nossos estudos dinâmicos de simulação micromagnética.

Embora possamos afirmar que o diagrama de fase é um indicativo do estado de vórtice em uma vasta gama de morfologias, os estudos de histerese mostraram que este estado de vórtice não é necessariamente reversível, ou seja, observamos que depois da saturação com o campo aplicado ao longo do eixo fácil, a partícula não necessariamente retorna ao estado de vórtice. Na Fig. 3.16, vemos um exemplo para uma partícula de dimensões $H = 60$ nm, $ExtD = 85$ nm e $IntD = 25$ nm que não retorna ao estado de vórtice original. As condições da simulação são as mesmas do § 3.3.1 (Fig. 3.12), alterando apenas a morfologia da partícula.

No entanto, não é possível inferir, pelas simulações, a extensão deste efeito na resposta da

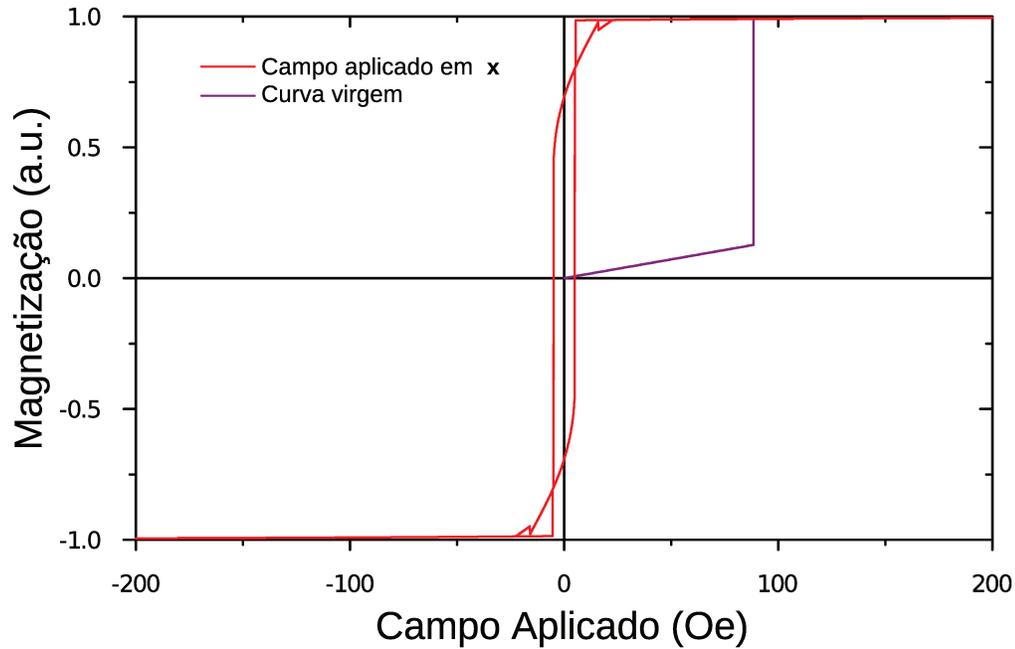


Figura 3.16 – Curva de Histerese Dinâmica para campo aplicado na direção \hat{x} de fácil magnetização em vermelho. Em roxo a curva virgem saindo do estado de vórtice. Simulação feita para uma partícula de $H = 60$ nm, $ExtD = 85$ e $IntD = 25$.

partícula sintetizada e manipulada a 300K. Uma vez que, todas as simulações foram feitas em $T = 0$ K, a partícula ficará sempre presa em estados metaestáveis, independentemente da barreira energética ao redor deste. Devemos ainda destacar que a temperatura ambiente, muitos processos termicamente ativados irão contribuir para a reversibilidade do vórtice.

3.4 Anisotropia de interface em partículas: manipulando a reversibilidade

Como a presença de uma remanência é proibitiva para aplicações *in vivo* (pré-requisito II), assumimos a estratégia de implementar uma camada antiferromagnética recobrendo a partícula como uma possível solução para problema da reversibilidade observado e tornando, desta forma, a VIP ainda mais viável para aplicações *in vivo*.

Conceitualmente, partimos do fato de que o estado inicial da partícula já é o estado de vórtice desejado, o qual, como mostrado no diagrama das Páginas 66 a 69, pode ser naturalmente acessível nas VIPs. Isto permite, ao se criar uma camada AFM ao redor da partícula, explorar o efeito de *Exchange Bias* para manipular a resposta histerética do vórtice da mesma forma que Sort^[34–36]

realizou em seus trabalhos (§ 2.4.2).

Ao resfriar um sistema do tipo VIP@AFM sem a presença de campo (ZFC), o estado de vórtice da VIP seria impresso no AFM pelo acoplamento FM/AFM na interface. Como resultado, mantendo a temperatura abaixo da T_N do AFM, a varredura do campo magnético pode saturar a porção FM da VIP@AFM, mas não irá alterar a impressão do vórtice no AFM. Por conseguinte, teremos na interface uma anisotropia a favor do estado de vórtice que aumenta a reversibilidade da VIP@AFM de volta ao vórtice.

Para simular uma camada de AFM ideal recobrendo a VIP (AFM@VIP), implementamos na simulação original das partículas um Campo de *Bias* (\vec{H}_b) com módulo 40 mT que circula ao redor do eixo \hat{z} da partícula de forma análoga a um vórtice magnético. Este campo existiu apenas nos vóxeis com ao menos uma face em contato com o exterior da partícula, logo, \vec{H}_b é simulado apenas na região de interface da VIP com o AFM.

Na Fig. 3.17, temos um gráfico de vetores que mostra \vec{H}_b circulando ao redor do eixo de uma partícula com $H = 60$ nm, $ExtD = 85$ nm e $IntD = 25$ nm.

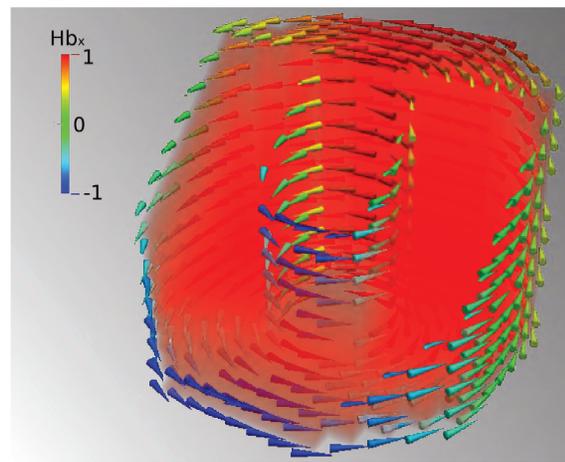


Figura 3.17 – Distribuição de \vec{H}_b em uma VIP. A representação do corpo da VIP está em vermelho; o gráfico de vetores mostra \vec{H}_b e as cores são proporcionais à componente H_{bx} do campo.

Sendo assim, refazendo o protocolo das simulações de histerese estáticas discutidas no § 3.3.1 sobre esta nova partícula, foi possível estudar quais seriam os efeitos do acoplamento de uma VIP com uma camada AFM. Nas primeiras simulações, verificamos o comportamento de uma VIP que apresenta o problema de reversibilidade ao estado de vórtice depois de saturada. Na Fig. 3.18, vemos um exemplo para a mesma partícula simulada na Fig. 3.16 sobre as mesmas condições de simulação com exceção do Campo de *Bias*.

Como esperado, o Campo de *Bias* cria uma anisotropia a favor do estado de vórtice aumentando a reversibilidade da partícula. Além disso, neste caso, a área da histerese é muito maior que do caso não reversível (mostrado na Fig. 3.16). Com isso esperamos que esta nova histerese tenha um SAR consideravelmente maior.

Por outro lado, se analisarmos os efeitos deste acoplamento sobre uma VIP que não apresenta

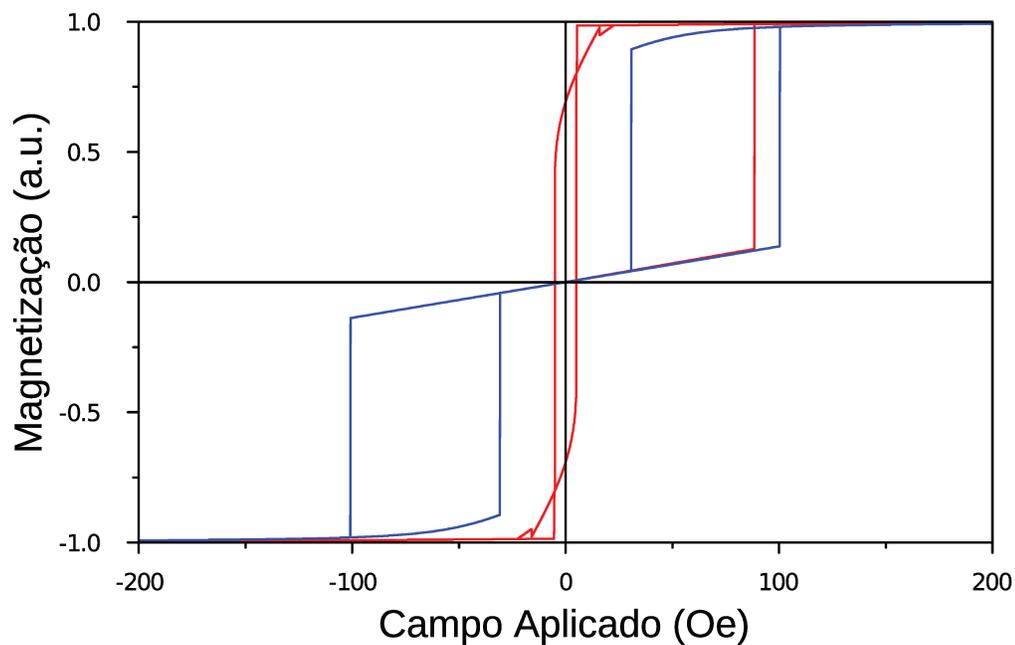


Figura 3.18 – Curvas de histereses simuladas para uma partícula de $H = 60$ nm, $ExtD = 85$ e $IntD = 25$. Em vermelho: partícula original sem o campo \vec{H}_b (Fig. 3.16). Em azul partícula sujeita ao campo \vec{H}_b .

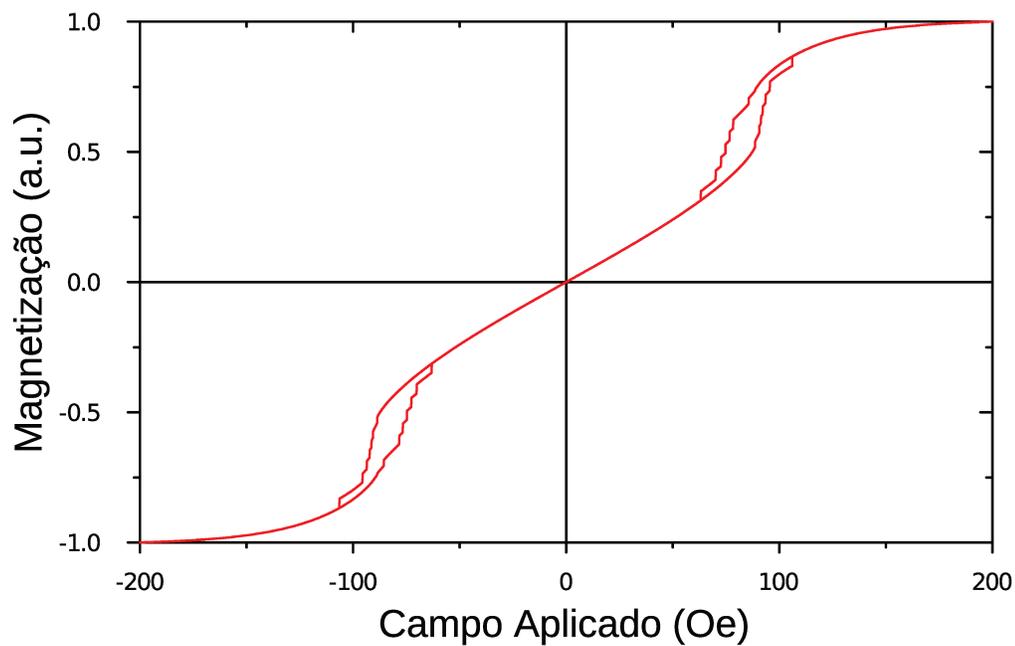


Figura 3.19 – Curva de Histerese estática de conjunto de nanopartículas aleatoriamente orientadas. Simulação feita para nanopartículas de $H = 75$ nm, $ExtD = 95$ e $IntD = 35$ sujeita ao campo \vec{H}_b .

o problema de reversibilidade, iremos observar que a presença do AFM afeta negativamente o SAR da partícula. Na Fig. 3.19, temos a mesma simulação mostrada na Fig. 3.13, mas nesta simulação a partícula também está sujeita ao campo de *Bias* \vec{H}_B .

Neste caso, podemos observar que a presença do AFM afeta a histerese do vórtice de forma a aumentar tanto o campo de aniquilação, quanto o de nucleação do vórtice. Exatamente os mesmos resultados observados por Sort^[35, 36] como indicativo do aumento na anisotropia a favor do vórtice. No entanto, isto faz com que a área da histerese da VIP@AFM seja menor que de sua contrapartida sem EB, reduzindo o SAR da partícula. Além disso, outro fator que não é levado em consideração na simulação e que inevitavelmente deverá prejudicar o SAR da VIP, é a massa do AFM agregado à partícula. Uma vez que o AFM não possui magnetização, a massa de AFM da amostra reduzirá a magnetização de saturação da VIP, e conseqüentemente diminuirá a área da histerese da partícula.

Entretanto, dentre os pré-requisitos mencionados, o II, que trata da baixa remanência, é mais forte que os demais (III e IV) e deve ser priorizado. Além disso, podemos especular que o ganho na histerese ao tornar uma partícula, antes irreversível, em reversível, mais que deve compensar as perdas de desempenho das VIP já reversíveis.

4 Síntese de partículas magnéticas

No Cap. 3 procuramos apresentar as principais características micromagnéticas das partículas sintetizadas. Neste capítulo serão apresentados os diferentes processos que possibilitaram a síntese das partículas, lembrando que os experimentos apresentados neste capítulo foram feitos paralelamente ao capítulo anterior.

4.1 Síntese de partículas magnéticas

Dentre os inúmeros trabalhos^[32, 94–97, 107–111] que sintetizam partículas de óxido de ferro através de rotas hidrotérmicas, destacamos os trabalhos desenvolvidos por Jia *et al*^[32, 94] que descrevem a síntese de partículas de óxido de ferro com formato cilíndrico, usadas neste trabalho.

Em seu artigo, Jia *et al* apresentaram um processo hidrotérmico para crescer partículas monocristalinas de hematita na forma de cilindro. Em seguida, estas partículas são submetidas a um tratamento térmico em atmosfera contendo hidrogênio, que reduz os íons de ferro e a transforma em magnetita. Nesta reação são mantidas as características morfológicas mas a partícula torna-se ferromagnética. Além disso, é possível realizar um outro tratamento térmico, em atmosfera oxidante, que transforma a partícula de magnetita em maghemita, que novamente, preserva a morfologia.

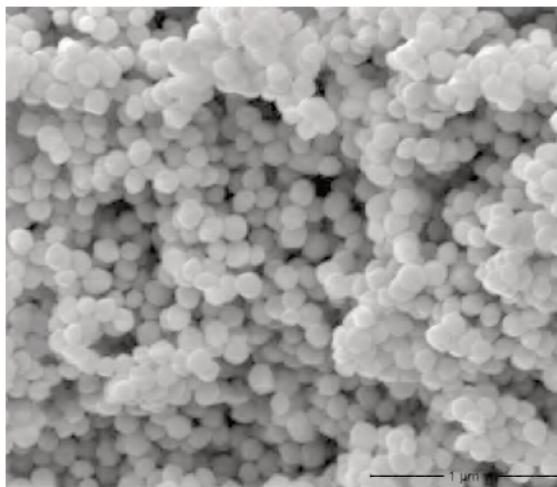
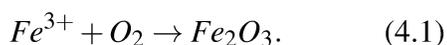
Adicionalmente, utilizamos uma técnica de impregnação química e queima de um precursor metalorgânico de cobalto para transformar as partículas de maghemita em partículas de ferrita de cobalto. Nas seções seguintes, iremos apresentar cada um destes processos em detalhes.

4.1.1 Síntese das partículas de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$

A síntese hidrotérmica utilizada neste trabalho é um processo de cristalização realizado em meio aquoso sob altas temperatura e pressão. Tipicamente, nas condições de altas pressão e tem-

peratura em que ocorrem a reação, os precursores do cristal, embora mais solúveis que o cristal final, são termodinamicamente desfavoráveis. Com isto cria-se durante o processo de cristalização as condições para o crescimento do cristal menos solúvel mas termicamente mais favorável.

Na síntese usada para o trabalho um reator parcialmente preenchido com uma solução aquosa de cloreto de ferro (iii) ($FeCl_3$) é aquecido por 48 horas a $220^\circ C$. Nestas condições os íons de Fe^{3+} em solução reagem com o oxigênio do ar e cristalizam na forma insolúvel de cristais de hematita (Fe_2O_3):



Observamos que esta reação, da forma como descrita, resultaria na formação de partículas esféricas monocristalinas de hematita, como as mostradas na Fig. 4.1.

Figura 4.1 – Microscopia de varredura de partículas esféricas de hematita.

Para alcançar a morfologia de nanocilindro desejada é preciso acrescentar o que pode ser chamado de catalisador de forma, e que acrescenta uma anisotropia no processo de crescimento da nanopartícula. Neste mecanismo, explorado pela primeira vez por Jia *et al.* em 2005^[94], a presença de íons fosfato (PO_4^{3-}) na solução cria uma anisotropia no crescimento do cristal de hematita ao longo de seu eixo c , e com isso consegue-se uma nanopartícula no formato de bastões ou até mesmo cilindros.

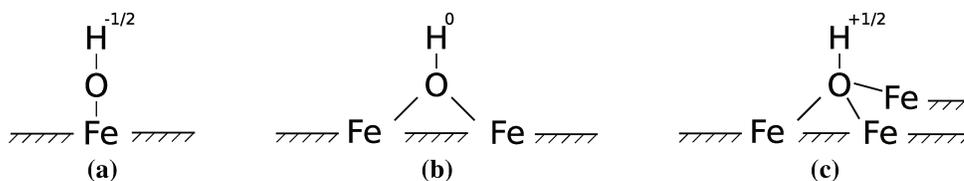


Figura 4.2 – Coordenação do ferro: (a) coordenação simples; (b) coordenação dupla; (c) coordenação tripla.^[74]

Este crescimento anisotrópico é resultado da estrutura cristalina da hematita. Na superfície deste óxido, quando em um meio aquoso, encontramos grupos hidroxilas em três possíveis coordenações com os átomos de ferro na superfície da partícula. Na Fig. 4.2 temos a representação de cada um deles, e na Tabela 4.1 a densidade de área de cada coordenação para alguns planos

Tabela 4.1 – Direções cristalina de hematita e número de coordenação por nm².^[74]

Face	Simple	Dupla coordenações/nm ²	Tripla	Simple pares/nm ²
[100]	5,8	2,9	-	2,9
[110]	5,0	5,0	5,0	2,5
[012]	7,3	-	7,3	3,7
[104]	5,3	5,3	5,3	-
[018]	-	6,3	3,2	-
[113]	4,1	4,1	8,3	2,1
[001]	-	13,7	-	-

cristalinos, e também a densidade de pares de coordenações simples.

Na tabela podemos observar que na direção cristalina (001) não existem hidroxilas de coordenação simples, diferentemente das direções paralelas as eixo 001, como os (100) e (110), onde encontramos também pares de hidroxilas simples. Estes pares são importantes, pois, como a solução de cloreto de ferro apresenta um pH ácido de ≈ 2 , o íon fosfato estará na forma mostrada em (4.2):



Nestas condições, a segunda espécie mostrada em (4.2) é extremamente reativa aos pares de coordenação simples. Tais íons formam uma ligação bidentada, como a mostrada na Fig. 4.3, que limita a dinâmica de crescimento do cristal de hematita fazendo com que ele cresça na forma de um bastão ao longo do eixo *c* (equação (4.1)).

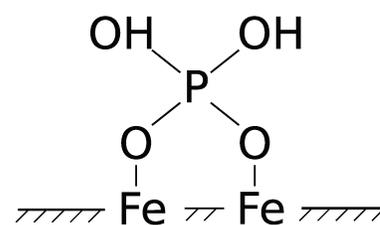


Figura 4.3 – Ligação bidentada entre íon $H_2PO_4^-$ e um par de coordenação simples.

Ao mesmo tempo, nas condições ácidas em que a reação hidrotérmica acontece, existe uma tendência na diluição do cristal, equação (4.3). Esta cinética de diluição é maior nas faces cristalinas ao longo do eixo *c* que por não se ligarem aos íons fosfato estão mais expostas. Para estas faces cristalinas, a cinética (4.4) dos íons fosfato desloca a cinética (4.3) de diluição da hematita para direita, criando o furo ao longo da direção *c*.



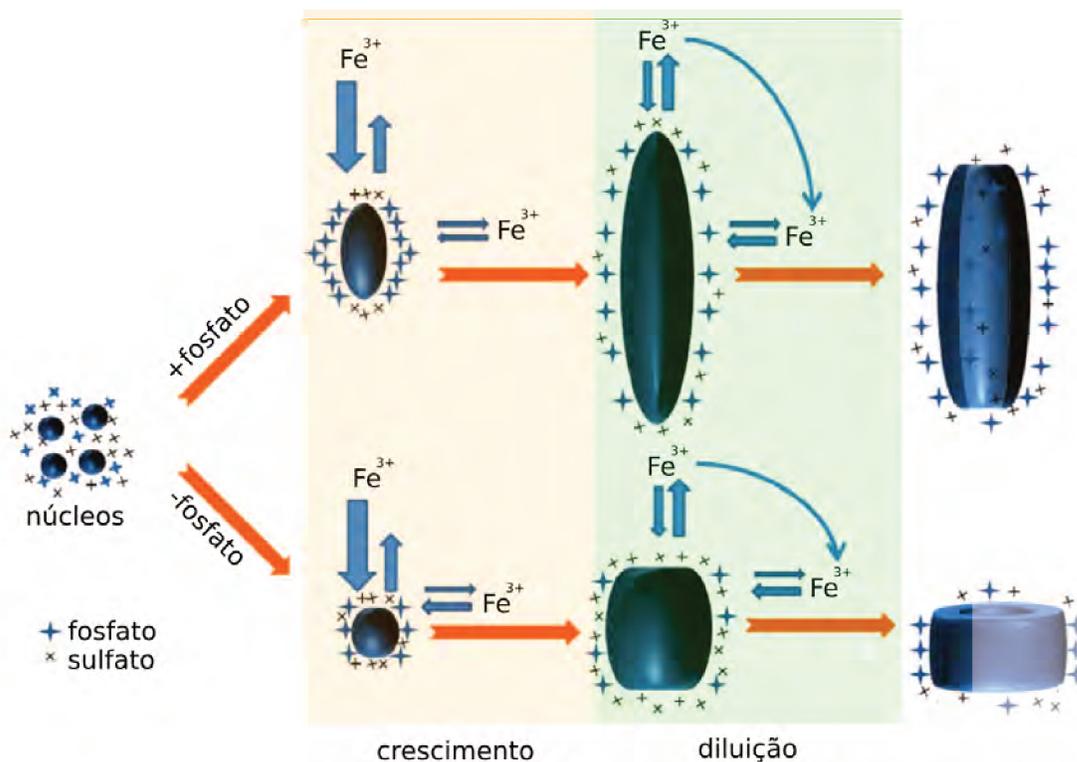
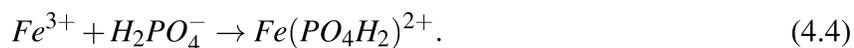


Figura 4.4 – Esquema representativo de como a variação de fosfato determina a forma da nanopartícula de hematita. Adaptado de Jia et al.^[32]



Esta dinâmica como apresentada, a princípio, é suficiente para criar nanotubos de hematita monocristalinos. Porém no trabalho de Jia *et al.* de 2008^[32] acrescenta-se outro íon para desvincular a dinâmica de diluição e formação do furo com a dinâmica de crescimento. Isto é feito com a adição do íon sulfato (SO_4), que também desloca a cinética (4.3) para a direita:



Com isso é possível, controlando a concentração de íons fosfato e sulfato, variar a razão de aspecto da partícula, passando de um nanoanel a um nanotubo, Fig. 4.4:

Procedimento experimental

Na síntese hidrotérmica das partículas de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ realizada no trabalho, partimos de uma solução aquosa com FeCl_3 (0,04M), Na_2SO_4 ($2,2 \times 10^{-3}$ M) e $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (ζ 10^{-4} M), aonde ζ varia de 1 a 6. Em uma autoclave de 100mL, desenvolvida no laboratório para este projeto (Fig. 4.5), são colocados 80mL desta solução. A autoclave é colocada numa estufa para a síntese hidrotérmica, onde a temperatura é mantida a 220°C por 48h.



Figura 4.5 – Autoclave desenvolvida para reação hidrotérmica



Figura 4.6 – Partículas de hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$).

Ao término da síntese hidrotérmica temos a formação do precipitado de partículas de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, que em seguida é lavado com etanol, centrifugado e, finalmente, secado num forno por 2h a 80°C em vácuo de $\approx 10^{-2}$ Torr. Cada reação produz um rendimento da ordem de ≈ 120 mg de partículas na forma de um pó vermelho^[74], como mostrado na Fig. 4.6.

Para catalogar as partículas sintetizadas de acordo com a concentração do sal $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, criamos uma nomenclatura que segue o padrão hema ζ , onde ζ remete a concentração do sal (ver Tabela 4.3).

4.1.2 Redução das partículas de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ em Fe_3O_4

Partindo das partículas de hematita formadas no processo hidrotérmico, é possível por uma reação de redução transformar a hematita em magnetita (Fe_3O_4), a cinética (4.6) resume o processo.



Destacamos que as partículas de magnetita são magnéticas, e por isso, toda manipulação deve ser feita longe de ímãs e de utensílios ferromagnéticos*, além disso, a magnetita não é química-

*Entende-se como utensílios ferromagnéticos: pinças, espátulas, placas de aquecimento com agitadores magnéticos ou qualquer ferramenta de aço.

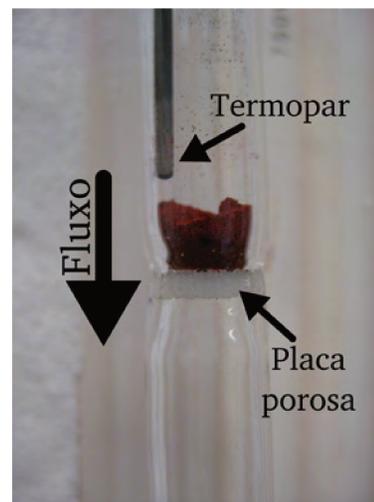
mente estável a altas temperaturas, podendo ser facilmente oxidada.

Procedimento Experimental

As partículas de hematita sintetizadas tal como descrito em § 4.1.1 foram maceradas e condicionadas dentro do reator tubular vertical, também desenvolvido para este trabalho. Dentro do reator existe uma placa porosa, mostrado em detalhes na Fig. 4.7a, que permite a passagem do fluxo de gás, mas retém as partículas contra a placa.

Neste reator tubular as partículas foram submetidas a um tratamento térmico a 420 °C durante 1 h, em fluxo de gás H_2/He 5% a uma taxa constante de 50 ml/min. O fluxo foi mantido durante toda a rampa de aquecimento e resfriamento, garantindo que em nenhum momento as partículas fossem expostas em altas temperaturas à atmosfera oxidante.

Ao término do processo de redução, as partículas alteravam de cor passando do vermelho para o tom preto^[74], como mostrado na Fig. 4.7b. Para manter a nomenclatura do início do processo (hema ζ), as partículas após o processo de redução recebiam o sufixo 'r', ou seja, eram renomeadas como hema ζ r (ver Tabela 4.3).



(a)

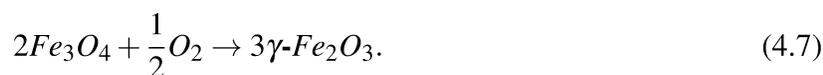


(b)

Figura 4.7 – (a): Reator tubular; (b) Partículas de magnetita (Fe_3O_4).

4.1.3 Oxidação das partículas de Fe_3O_4 em $\gamma-Fe_2O_3$

As partículas de maghemita foram obtidas oxidando-se as partículas de magnetita, segundo a reação mostrada em (4.7).



Procedimento experimental

Para a obtenção de partículas de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) as partículas de magnetita obtidas segundo § 4.1.2 foram oxidadas em uma mufla a 300°C durante 1 h em atmosfera ambiente. Neste processo as partículas obtidas mudavam novamente de cor, passando de preto para o tom ocre^[74], como mostrado na Fig. 4.8.



Figura 4.8 – Partículas de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$).

4.1.4 Impregnação química e formação da ferrita de CoFe_2O_4

No processo de impregnação desenvolvido no trabalho usamos um composto metalorgânico que, a princípio, quando exposto a altas temperaturas em atmosfera oxidante perde a cadeia orgânica, restando apenas o óxido do metal correspondente. No entanto, dada a morfologia cilíndrica da partícula foi possível implementar a impregnação por metalorgânico^[112, 113] em algo mais elaborado.

Na primeira etapa de impregnação a partícula cilíndrica é imersa em um solvente orgânico no qual encontramos também o precursor metalorgânico. Devido ao formato cilíndrico da nanopartícula existe a possibilidade de que o solvente não penetre dentro do furo da partícula. Isto deve ser contornado mantendo-se a solução em um banho de com agitação ultrassônica por alguns minutos.

Em seguida, para recuperar as partículas, a solução é centrifugada para separar o precipitado de partículas impregnadas. Nesta etapa, as partículas estão embebidas em solução de metalorgânico, inclusive dentro do furo do cilindro. Na etapa seguinte, as partículas são lavadas gentilmente com solvente puro, mas sem o banho de ultrassom anterior. Com isto, devido ao efeito de capilaridade, retiramos somente o metalorgânico presente na superfície da partícula, mas não de dentro do furo. Finalmente a partícula é recuperada por centrifugação e levada ao forno para queima.

O produto resultante deste processo é uma nanogota agregada no interior do tubo, que com a queima se condensa em uma nanopartícula do óxido correspondente ao metalorgânico. O processo pode então ser repetido inúmeras vezes para aumentar o tamanho e número de partículas agregadas ao interior do tubo.

Na Fig. 4.9 temos uma imagem de microscopia eletrônica de transmissão feita em uma amostra preparadas a partir de partícula de hematita Hema6 (nanotubo) impregnada com o metalorgânico

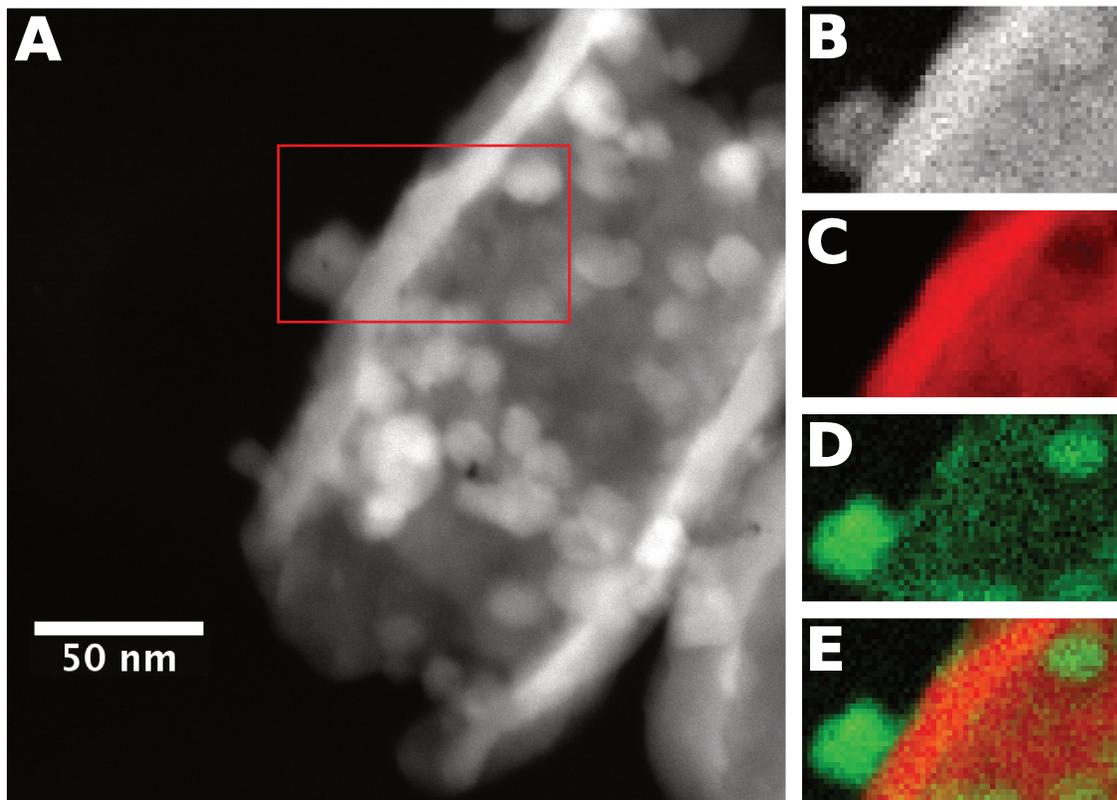


Figura 4.9 – Imagem de TEM e espectroscopia EELS de uma nanopartícula de hematita impregnada com NiO: Imagem A imagem de transmissão em modo HADAAF. A região em destaque mostra a região de interesse aonde foi feita a análise espectroscópica do tipo EELS. Imagem B é proporcional ao sinal da borda K do oxigênio; imagem C é proporcional ao sinal da borda L do ferro; imagem D é proporcional ao sinal da borda K do níquel; e imagem E é a sobreposição das imagens C e D.

Níquel-etilhexanoato (10% - 15%). Nesta figura podemos ver a existência de duas estruturas distintas. Podemos identificar a partícula cilíndrica suporte composta de ferro e oxigênio (hematita) e partículas menores, agregadas à partícula suporte, compostas de níquel e oxigênio (óxido de níquel). Nota-se que a maioria das partículas de níquel estão no interior do tubo de hematita e de fato, ressaltamos que neste quesito a partícula mostrada não é representativa. As nanopartículas fora do tubo representam uma parcela muito pequena das nanopartículas agregadas ao suporte, no entanto, para a análise espectroscópica (EELS) escolhemos a nanopartícula mostrada por permitir a visualização do sinal do níquel sem sobreposição ao do ferro.

No entanto, a dinâmica e os resultados discutidos acima não são válidos se a partícula suporte não for inerte para resistir ao processo de queima junto ao metalorgânico. Isto foi observado para o caso da partícula suporte ser de maghemita $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, que, a princípio, suporta as temperaturas de queima (450 °C em atmosfera oxidante). Porém na presença do metalorgânico Cobalto-acetilacetato, esta combinação acabou criando partículas de ferrita de cobalto, cuja caracterização será discutida mais a frente neste trabalho.

Procedimento Experimental

Para síntese das partículas de hematita recobertas com óxido de níquel (TEM hema6impreg Ni), as partículas de hematita foram suspensas em uma solução de hexano 10% a 15% de Níquel-etilhexanoato. A suspensão era mantida por 30 min em agitação ultrassônica, depois centrifugada e finalmente descartava-se* o sobrenadante.

O precipitado, composto pelas partículas de maghemita impregnada pela solução de Níquel-etilhexanoato, era gentilmente ressuspenso em hexano limpo e centrifugado novamente. Finalmente, o precipitado era levado para mufla a 450 °C durante 20h em atmosfera ambiente, para queima do solvente orgânico e do metalorgânico. Este processo de impregnação seguido de queima foi repetido mais 9 vezes. Diferentemente dos processos anteriores, a impregnação da partícula não alterou a cor do pó de forma significativa.

Para síntese das partículas de ferrita de cobalto, utilizamos o mesmo procedimento para síntese da partícula com óxidos de níquel. A exceção de que a solução de metalorgânico foi hexano 10% de Cobalto-acetilacetato. Destacamos que este processo só foi realizado apenas nas partículas do tipo hema6 e hema6r, e por isso o nome adotado para as amostras foram hema6Ni e hema6rCo,

*Na realidade o sobrenadante pode ser guardado para ser reutilizado durante os vários ciclos.

respectivamente.

4.2 Recobrimento de partículas por AFM

Na tentativa de sintetizar um sistema como o simulado em § 3.4 foram realizados diversos experimentos utilizando a partícula hema1r. Nesta última seção iremos apresentar apenas dois métodos que tiveram resultados preliminares positivos, mas que, infelizmente, não alcançaram o objetivo final proposto. A nomenclatura adotada utilizou o caractere @ para identificar o AFM do recobrimento, logo de forma geral teremos amostras descritas na forma hema1r@AFM. Os materiais AFM estudados e suas características massivas estão resumidas na Tabela 4.2:

Tabela 4.2 – Propriedades magnéticas dos principais óxidos de ferro usados no trabalho.

Nome	Fórmula	Estrutura	Propriedade eletrônica	Propriedade Magnética
Írídio/Manganês	Ir_3Mn	$L1_2 (AuCu_3)$	Metal	$T_N = 960\text{ K}$
Ferro/Manganês	$FeMn$	FCC	Metal	$T_N = 510\text{ K}$
Óxido de Níquel	NiO	$B1 (NaCl)$	Isolante	$T_N = 525\text{ K}$
Óxido de cobalto (ii,iii)	Co_2O_3	Spinel ($MgAl_2O_4$)	Isolante	$T_N = 40\text{ K}$
Óxido de cobalto (ii)	CoO	$B1 (NaCl)$	Isolante	$T_N = 291\text{ K}$

4.2.1 Deposição de AFM por *Sputtering*

A técnica de deposição por *sputtering* já é amplamente difundida e usada na confecção de filmes finos. Suas principais vantagens incluem o baixo custo de operação, o alto grau de reprodutibilidade, além da facilidade de automação. Esta técnica consiste em ejetar átomos de um determinado material, denominado alvo, e permitir que estes átomos se depositem sobre um substrato.

Isto é alcançado dentro de uma câmara de *sputtering*, previamente em vácuo, onde cria-se um plasma do gás de trabalho. Em nossos experimentos o gás utilizado foi o gás inerte argônio. Os íons do plasma são acelerados, por meio de uma diferença de potencial, contra o alvo. Ao se chocarem com o alvo, os íons de argônio transferem momento aos átomos da superfície do alvo que são ejetados. Estes átomos, a depender da pressão de argônio, irão atingir o substrato balisticamente ou chocar-se com os átomos da atmosfera de argônio e difundir até o substrato.

Não só a pressão de argônio pode influenciar na eficiência da deposição, outros fatores como temperatura do substrato; o vácuo limite na preparação da câmara, também conhecido como pressão de base; e a própria potência (Tensão \times Corrente) do plasma; também irão determinar as características do filme fabricado por *sputtering*.

Nos experimentos, o substrato adotado foram as partículas hema1r na forma de pó mantidas a temperatura ambiente; o vácuo limite de $\approx 1 \times 10^{-7}$ Torr em nossa câmara determinou nossa pressão de base; a pressão de trabalho de argônio foi sempre de 3×10^{-3} Torr; e as principais variáveis de deposição foram a potência e o tempo de deposição.

Os principais tipos de filmes finos criados por esta técnica são de materiais que tem uma temperatura de fusão elevada, sejam eles materiais cerâmicos ou ligas metálicas. A composição da deposição é praticamente a mesma da do alvo e em muitos casos, devido ao caráter difusivo da deposição, não são observados efeito de sombra total no substrato. Nos experimentos do trabalho, testamos alvos cerâmicos de óxido de cobalto (ii) (*CoO*) e óxido de níquel (*NiO*); e ligas metálicas AFM de ferro/manganês (*FeMn*) e irídio/manganês (*MnIr₃*).

Instrumentação para deposição em pó

Como mencionado, as partículas são sintetizadas na forma de pó, tornando-as naturalmente compatível com o ambiente de vácuo ou de atmosfera controlada. No entanto, a instrumentação mais convencional para deposição por *sputtering* não prevê um substrato na forma de pó. Usualmente, um equipamento de *sputtering* o alvo fica no fundo da câmara de *sputtering* e o substrato afixado na parte superior, com a face para baixo. Esta geometria é incompatível com a deposição em pó e, conseqüentemente, foi preciso utilizar uma câmara de *sputtering* invertida, onde o substrato fica em seu fundo, voltado para cima como mostrado na Fig. 4.10a.

Além disso, para garantir uma homogeneidade no recobrimento da hema1r pelo AFM, desenvolvemos uma instrumentação composta por um equipamento eletroacústico* como mostrado na Fig. 4.10. Esta instrumentação permite agitar as partículas na forma de pó durante a deposição. Com isto tentávamos criar uma orientação aleatória das partículas ao longo do tempo de deposição, e garantir uma deposição homogênea.

*Construído a partir de um auto falante modificado.

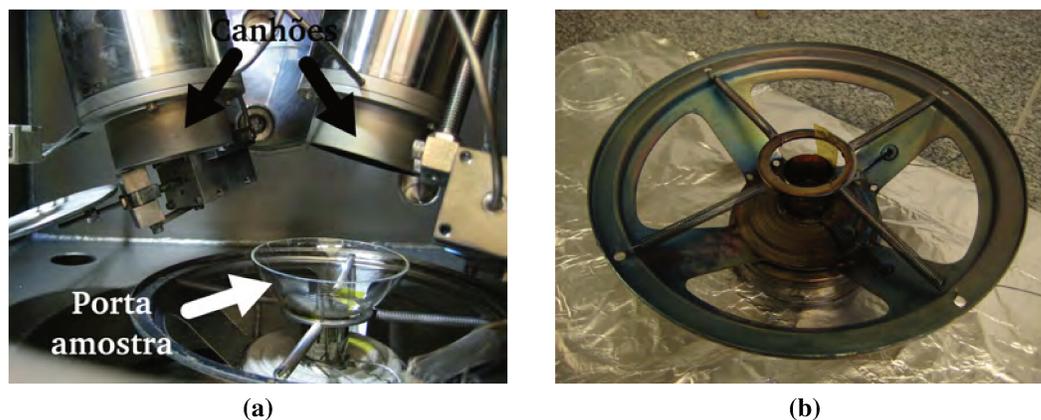


Figura 4.10 – Instrumentação para a deposição em pó: figura (a) foto do interior da câmara de vácuo. Figura (b) foto do dispositivo eletroacústico no qual é colocado o porta amostra*.

Procedimento Experimental

A amostra que será apresentada a seguir, foi sintetizada utilizando um alvo de irídio/mangânese e um substrato composto por partículas hema1r, sob as seguintes condições experimentais: pressão de base de 2×10^{-7} Torr; pressão de argônio de trabalho de 3×10^{-3} Torr; potência de deposição de 200 W; e tempo de deposição de 60 min.

Como a câmara de *sputtering* possui uma janela que permite observar a amostra, a agitação do substrato em pó foi feita com o equipamento eletroacústico (Fig. 4.10b) a frequência variada, otimizando visualmente a frequência e amplitude que alimentava o dispositivo. O porta amostra utilizado foi uma concha de vidro[†], posicionada a uma distância de 8 cm do alvo de irídio/mangânese. Por fim a nomenclatura adotada para esta amostra foi hema1r@IrMn.

4.2.2 Nanoestruturas de hidróxidos

Uma segunda tentativa para crescimento do AFM ao redor das partículas foi feita a partir da deposição de nanopartículas de hidróxidos na superfície da hema1r. O procedimento utilizado foi uma adaptação do utilizado por Wender *et al.*^[95, 98]. Para formar as nanoestruturas de hidróxidos partimos de uma solução de ions Co^{2+} que quando na presença de uma base forte precipita na forma de hidróxido:



[†]Feita a partir do fundo de um balão de vidro de 250 ml.

O hidróxido de cobalto formado ($Co(OH)_2$) não é solúvel e por isto pode precipitar e se impregnar em qualquer superfície. Logo, se durante a reação de precipitação do hidróxido existirem partículas sólidas em suspensão o hidróxido irá impregnar a superfície da nanopartícula^[95, 98]. Na Fig. 4.11 temos uma imagem de SEM mostrando as nanoestruturas de hidróxido de cobalto precipitadas na superfície de partículas hema3.

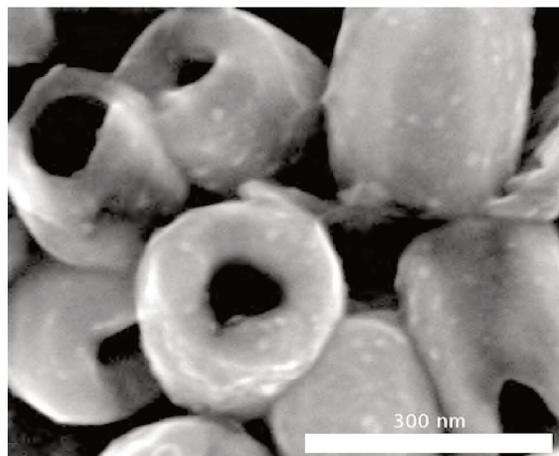


Figura 4.11 – Imagem de SEM mostrando as nanoestruturas de $CoOH$ precipitadas na superfície de partículas hema3.

Para a conversão do hidróxido de cobalto em óxido de cobalto podemos utilizar uma série de tratamentos térmicos^[114], mas que tem como produto final dois tipos de óxidos de cobalto. Para o óxido de cobalto (ii,iii), que tem fórmula Co_2O_3 e temperatura de Néel de 40 K, é preciso aquecer o hidróxido acima de 300 °C em atmosfera oxidante^[73]. Para o óxido de cobalto (ii), que tem fórmula CoO e uma temperatura de Néel de 298 K (16 °C), o hidróxido irá se decompor se aquecido a 168 °C em vácuo^[73].

Dentre estes óxidos, o de maior interesse foi o óxido de cobalto (ii) pois apresenta uma temperatura de Néel próxima a temperatura ambiente. Além disso, como a termólise do hidróxido ocorre a temperatura mais baixa e em vácuo, foi possível realizar os testes em partículas de magnetita.

Procedimento Experimental

Na síntese adicionamos 2,5 ml de solução 0,1 M de $CoCl_2$ à solução inicial contendo 0,01 M de hema1r previamente preparada. Depois de misturada sob agitação constante, a solução foi aquecida até 60 °C. Em seguida, 40 ml de solução 0,1 M de $NaOH$ foi adicionada a conta gotas. Terminada a adição da solução de $NaOH$ a agitação e temperatura foram mantidos por mais uma hora, em seguida, a solução foi centrifugada para separação das partículas, lavada com etanol e centrifugada novamente.

Depois o precipitado seguia para o tratamento térmico, que consiste em um primeiro patamar de duas horas em 80 °C, para secagem, e um segundo patamar de uma hora a 200 °C, para termólise do hidróxido de cobalto. Todo procedimento foi feito em vácuo de $\approx 10^{-2}$ Torr. Por fim a nomenclatura adotada para esta amostra foi hema1r@CoO.

4.3 Fluxograma e nomenclatura das amostras sintetizadas

No decorrer do trabalho foram sintetizadas inúmeras amostras seguindo os processos descritos anteriormente. Na Tabela 4.3 apresentamos um resumo de todas as amostras sintetizadas até o momento.

Tabela 4.3 – Resumo de amostra usadas no trabalho.

Nome	Composição química	Processo de Síntese	Seção
hema1	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Hidrotérmico	§ 4.1.1
hema2	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Hidrotérmico	§ 4.1.1
hema3	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Hidrotérmico	§ 4.1.1
hema4	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Hidrotérmico	§ 4.1.1
hema5	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Hidrotérmico	§ 4.1.1
hema6	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Hidrotérmico	§ 4.1.1
hema1r	Fe_3O_4	Redução	§ 4.1.2
hema2r	Fe_3O_4	Redução	§ 4.1.2
hema3r	Fe_3O_4	Redução	§ 4.1.2
hema4r	Fe_3O_4	Redução	§ 4.1.2
hema5r	Fe_3O_4	Redução	§ 4.1.2
hema6r	Fe_3O_4	Redução	§ 4.1.2
hema6Ni	$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{NiO}$	Impregnação	§ 4.1.4
hema6rCo	CoFe_2O_4	Oxidação & Impregnação	§ 4.1.3 e § 4.1.4
hema1r@IrMn	$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MnIr}_3$	<i>Sputtering</i> em pó	§ 4.2.1
hema1r@CoO	$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CoO}$	Recobrimento hidróxido	§ 4.2.2

E os processos de síntese destas amostras está resumido no fluxograma mostrado na Fig. 4.12.

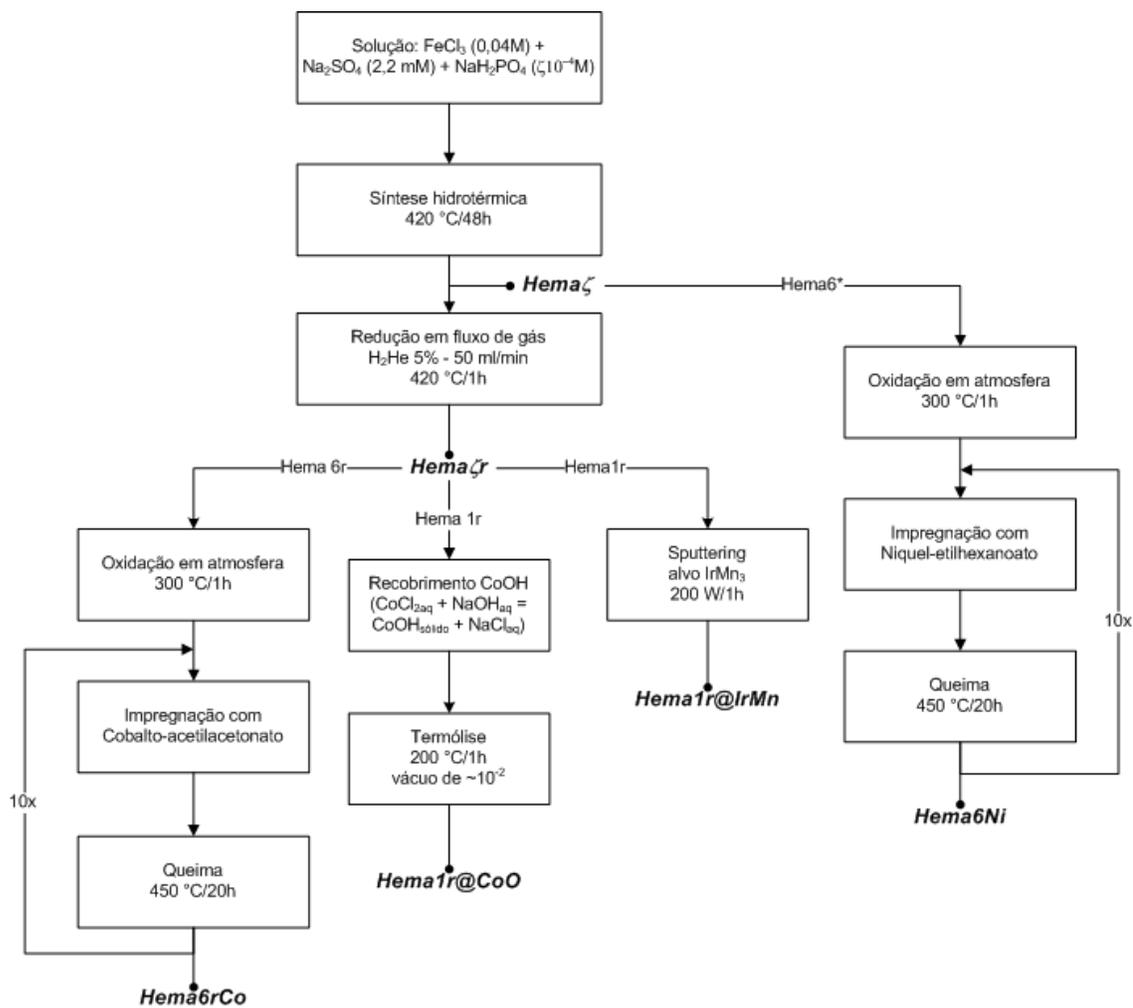


Figura 4.12 – Fluxograma das sínteses realizadas no trabalho, as amostras em *destaque* são as amostras finais usadas no trabalho.

5 *Detalhes experimentais*

Neste capítulo iremos apresentar alguns detalhes importantes sobre a instrumentação utilizada neste trabalho. Discutiremos alguns conceitos de microscopia eletrônica usada principalmente para a caracterização morfológica e estrutural das partículas. Quanto a análise química, utilizamos técnicas de absorção e difração de raios X, que permitiram a compreensão das diversas etapas na síntese das amostras.

No que compete a aplicação das partículas, foram empregados tanto técnicas de magnetometria e quantificação da resposta de hipertermia, como também testes biológicos de citotoxicidade, hipertermia *in vitro* e microscopia óptica confocal.

5.1 **Microscopia eletrônica de varredura (SEM)**

Um microscópio eletrônico de varredura, ou do inglês *Scanning Electron Microscopy* (SEM), é um tipo de microscópio que produz imagens ao varrer um feixe de elétrons focalizado sobre a amostra. Estes elétrons interagem com a amostra e produzem uma série de fenômenos, que podem ser detectados e quantificados. Por fim, com a varredura, é possível criar uma imagem que mostra a distribuição espacial destes sinais detectados.

O microscópio utilizado no trabalho foi um FEI Inspect F50^{[115]*}. Nele os elétrons são gerados por emissão termoiônica, acelerados e focalizados por um conjunto de lentes eletromagnéticas. A varredura é feita por um par de bobinas defletoras que alteram a posição do feixe sobre a amostra. Alcançando uma resolução espacial de até 1,2 nm, com um feixe de elétrons de energia entre 200 V e 30 kV.

Ao incidirem na amostra, o feixe de elétrons primários interage com a amostra e perde energia

*Disponível no Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano - CNPEM).

por diversos processos. Estes processos resultam num espalhamento elástico dos elétrons, emissão de elétrons secundários por espalhamento inelástico ou a emissão de fótons por excitação atômica. As imagens obtidas neste microscópio, foram feitas coletando-se os elétrons secundários em um detector do tipo Everhart-Thornley. À medida que o elétron primário penetra na amostra, ele irá perder sua energia cinética ao interagir com os diversos elétrons presentes na amostra. Cada um destes elétrons, conhecidos como elétrons secundários, absorve apenas uma pequena fração da energia do elétron primário; conseqüentemente, para cada elétron primário são criados inúmeros elétrons secundários que podem ser ejetados para fora da amostra. O número de elétrons secundários que irá sair da amostra e eventualmente chegam ao detector, depende principalmente da topologia da amostra, formando uma imagem que acompanha a textura da região varrida.

Este microscópio foi utilizado para determinar a distribuição no tamanho e forma das partículas do grupo hema ζ (Tabela 4.3). As amostras foram preparadas espalhando uma pequena quantidade de partículas secas sobre uma fita de carbono. As medidas morfológicas foram feitas sobre imagens de microscopia, nas quais medimos a altura H , o Diâmetro Externo $ExtD$ e o Diâmetro Interno $IntD$, definidos na Fig. 5.1, em no mínimo uma amostragem de 300 partículas distintas. Com as medidas compomos um histograma, no qual ajustamos uma gaussiana para determinar a média e o desvio padrão. A Fig. 5.2 mostra um exemplo típico, usado para determinar as dimensões da partícula hema1.

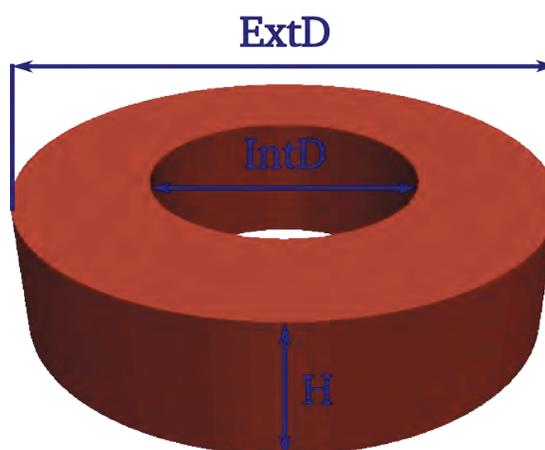


Figura 5.1 – Dimensões da partícula: Diâmetro Externo ($ExtD$); Diâmetro Interno ($IntD$); e Altura (H).

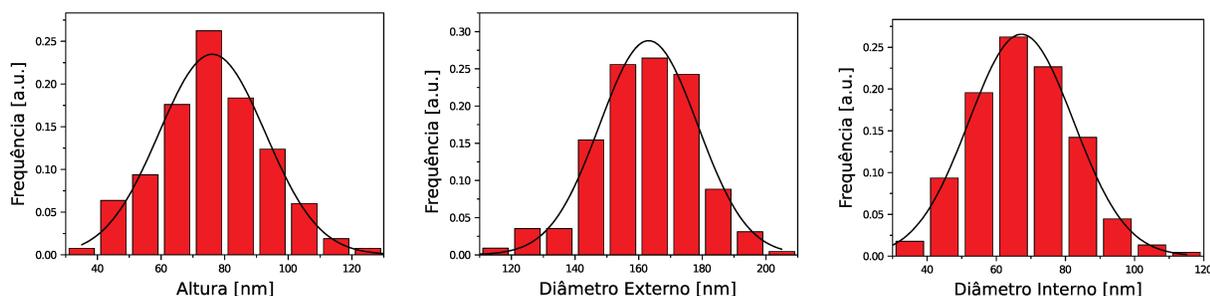


Figura 5.2 – Histograma usado para determinar as dimensões da partícula hema1.

5.2 Microscopia eletrônica de Transmissão (TEM)

Assim como o SEM, a microscopia eletrônica de transmissão, ou do inglês *Transmission Electron Microscopy* (TEM), também utiliza elétrons para iluminar a amostra e alcançar resoluções da ordem de nanômetros. Mas diferentemente de um SEM, no TEM o feixe de elétrons atravessa a amostra analisando a sua espessura, que pode ter algumas dezenas de nanômetros. Nos experimentos realizados utilizamos um JEOL 2100F*.

Em um microscópio de transmissão, a óptica é bem distinta da encontrada em um microscópio de varredura. Os elétrons passam por um conjunto de lentes condensadoras e obturadores que criam uma área uniformemente iluminada, e onde é posicionada a amostra. Por fim, os elétrons atravessam a amostra e são focalizados por lentes objetivas, para formação da imagem de projeção. Neste modo de imagem, denominada campo claro[†] a intensidade é inversamente proporcional ao coeficiente de atenuação eletrônico da amostra. Na Fig. 5.3 temos uma imagem de campo claro da partícula hema6Ni, de onde identificamos, nas laterais da partícula, regiões com maior contraste devido ao formato de cilindro oca da partícula.

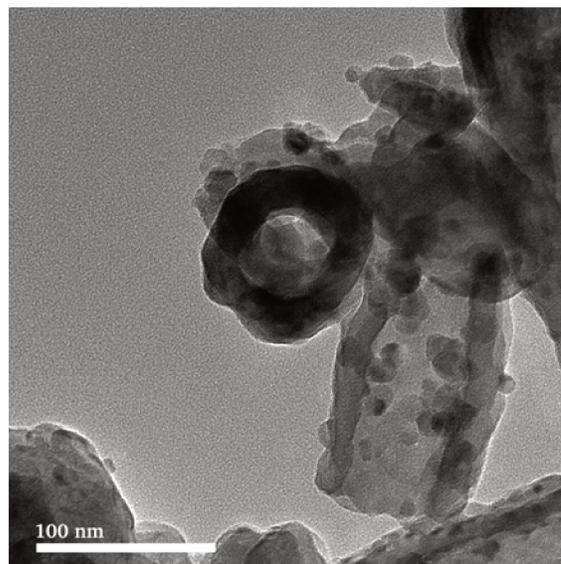


Figura 5.3 – Imagem de campo claro da partícula hema6Ni.

A versatilidade de um TEM é imensa, contemplando uma enorme quantidade de técnicas. Neste trabalho os principais resultados foram obtidos no modo de imagem denominado campo escuro[‡] feito em conjunto com outras duas técnicas espectroscópicas conhecidas como EELS e EDS usadas para determinar a composição química da partícula. As amostras analisadas foram as que tinham o objetivo de serem recobertas com o AFM: hema6Ni, hema6rCo, hema1r@IrMn (Tabela 4.3). Estas foram preparadas suspendendo as partículas em etanol e pingando poucas gotas da solução sobre uma grade de cobre recoberta de carbono.

*Disponível no Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano - CNPEM).

[†]O equivalente em inglês seria *bright field*.

[‡]O equivalente em inglês seria *dark field*.

5.2.1 Imagem por *Dark Field* ou Campo Escuro

Além do modo descrito anteriormente, o microscópio utilizado também pode operar em modo varredura, comumente conhecido como STEM (*scanning TEM*) e que permite alcançar resolução de até 0,2 nm. Neste modo, semelhante ao descrito no § 5.1, o feixe é focalizado em um único ponto da amostra e compõe uma imagem através da varredura sobre a amostra. Uma das técnicas de imageamento que operam este modo é a chamada *High-Angle Annular Dark-Field** (HAADF), que utiliza um detector na forma de anel para detectar apenas os elétrons espalhados, e forma uma imagem de contraste em função do número atômico. Este modo de imageamento foi utilizado para compor imagens da partícula feitas simultaneamente as análises de espectroscopia do tipo EELS e EDS, que em seguida compunham um mapa de composição química da partícula.

5.2.2 Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS)

Ao incidir na amostra, os elétrons podem ser espalhados de forma inelástica, gerando elétrons secundários com energia menor que a do feixe primário. A análise das energias desses elétrons chama-se Espectroscopia da Energia Perdida pelos Elétrons, ou do inglês *Electron Energy Loss Spectroscopy* (EELS). Estas interações inelásticas incluem uma série de fenômenos como excitação de fônons e plasmons ou transições eletrônicas. Dentre estes fenômenos, as transições eletrônicas dos elétrons de caroço são de particular interesse, pois permitiram identificar qual a composição química da amostra na região limitada ao foco do feixe (1 nm). No entanto, a qualidade do sinal de EELS cai consideravelmente para perdas energéticas muito altas, sendo mais apropriado para elementos leves. Nos experimentos os principais elementos observados com esta técnica foram o oxigênio, ferro, níquel e cobalto, encontrados nas amostras hema6Ni e hema6rCo (Tabela 4.3). Na Fig. 5.4 temos a imagem de campo escuro de uma partícula hema6Ni e dois espectros em EELS referentes aos pontos de destaque. Neles observamos as bordas de absorção dos elementos oxigênio, ferro e níquel.

Sendo assim, para cada pixel da imagem de campo escuro, podíamos selecionar a região da borda referente a cada elemento e compor um mapa químico.

*Uma tradução livre seria Campo Escuro em Alto Ângulo.

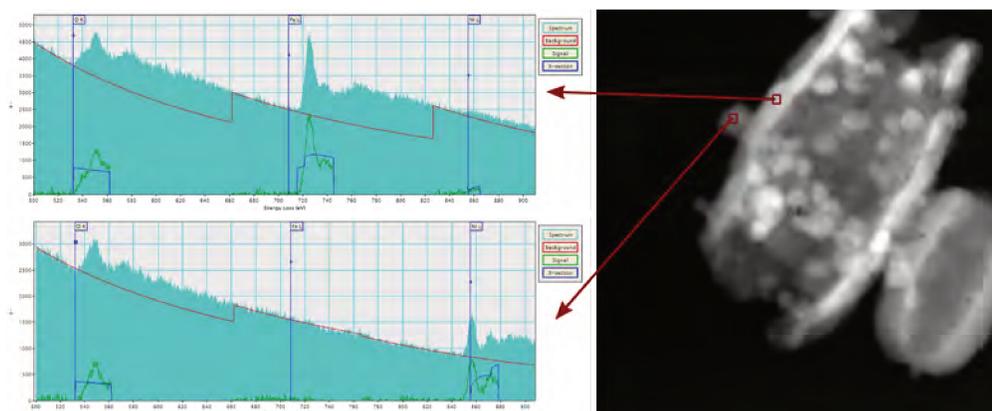


Figura 5.4 – Imagem de campo escuro da amostra hema6Ni e espectros medidos por EELS, gerados automaticamente, de cada ponto em destaque.

5.2.3 Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)

Outra técnica espectroscópica disponível no microscópio JEOL 2100F e utilizada neste trabalho foi a Espectroscopia de Raios-X Dispersiva em Energia, ou do inglês, *Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy* (EDS, EDX ou XEDS). Ela baseia-se na análise do espectro de fluorescência de raios-X emitido por uma amostra previamente excitada pelo feixe de elétrons focalizado sobre a amostra. O número e a energia dos fótons de raios-X são medidos por um espectrômetro dispersivo em energia, e como a energia do fóton é característica de cada elemento, com esta análise é possível determinar a composição química da amostra.

EDS e EELS são consideradas técnicas complementares*, já que o EDS tem um desempenho melhor para elementos pesados, contrário ao que ocorre com o EELS. No entanto, o EDS também não é indicado para análises quantitativas e possui uma resolução espacial pior que a técnica de EELS. Nos experimentos esta técnica foi utilizada para analisar partículas que tivessem irídio em sua composição, ou seja a amostra hema1r@IrMn (Tabela 4.3). Por conseguinte, os elementos observados com esta técnica foram o ferro, manganês e irídio, além do cobre, que compõem o porta amostra e por isso sempre esteve visível nas medidas de espectroscopia.

Sendo assim, para cada pixel da imagem de campo escuro feita simultaneamente, a composição química pode ser avaliada rastreando as linhas características de emissão destes elementos. Na Fig. 5.5 temos um exemplo dos espectros medidos em cada região mostrada, que por fim, foram usados para compor uma mapa químico da partícula.

*Na realidade, EELS é uma técnica muito mais completa, permitindo medir não só composição atômica como a banda de valência, número de coordenação, resposta dielétrica, densidade eletrônica^[116].

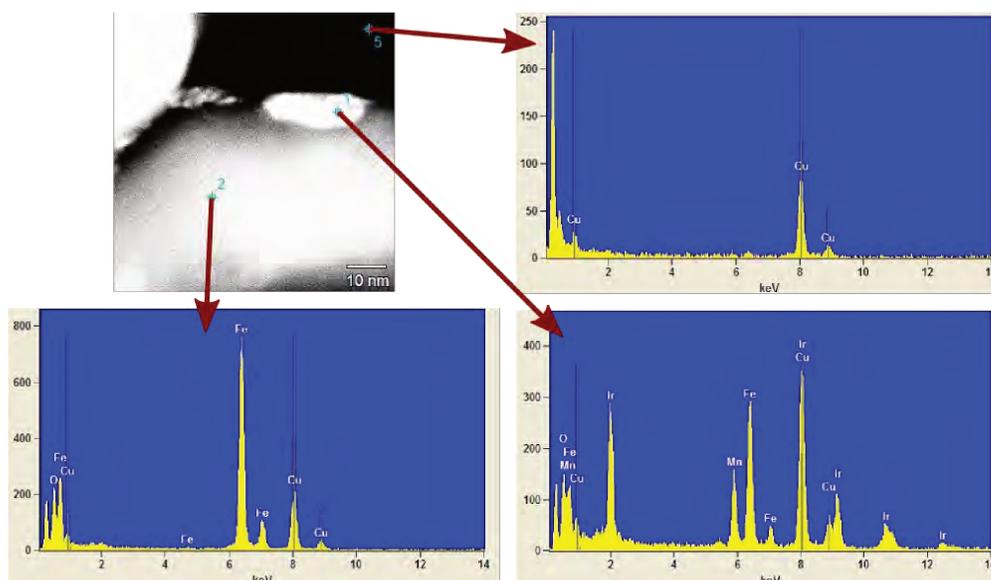


Figura 5.5 – Imagem de campo escuro da amostra hemaIr@IrMn e espectros medidos por EDS, gerados automaticamente, de cada ponto em destaque.

5.3 Absorção de raios-X (XAS)

Na absorção de raios-X, ou do inglês *X-ray Absorption Spectroscopy* (XAS), é possível determinar inúmeros detalhes microscópicos dos materiais. Nesta técnica um feixe de raios-X incide sobre a amostra com uma energia fixa. A interação entre os fótons e o material causam diferentes fenômenos, entre os quais espalhamento elástico (Thomson) e inelástico (Compton) dos fótons incidentes, liberação de fotoelétrons e elétrons Auger, além da liberação de fótons de fluorescência. Varrendo a energia dos fótons em torno daquela de uma transição eletrônica de uma das camadas de um dos elementos químicos que compõem o material, parte deste feixe incidente será espalhado, transmitido ou absorvido. Sendo assim, é possível correlacionar a cada valor de energia do feixe incidente, o número de fótons que interagiram com o material.

As medidas de XAS utilizadas neste trabalho foram realizadas em geometria de transmissão como esquematizado na Fig. 5.6. Conhecendo a intensidade do feixe incidente sobre a amostra I_0 , a intensidade da radiação transmitida I e a espessura da amostra (x) é possível inferir o quanto de radiação foi absorvida pelo material através da Lei de Beer-Lambert:

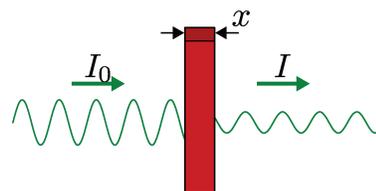


Figura 5.6 – Geometria de transmissão usada para medidas de XAS.

$$\frac{I_t}{I_0} = e^{-\mu(E,\rho)t} \quad (5.1)$$

onde coeficiente de absorção linear μ é função da energia E e da densidade do material ρ . Como o valor μ , quando E está na borda de absorção, é característico de cada elemento, a energia do feixe incidente pode ser ajustada para analisar a vizinhança da borda de absorção do elemento. Com isso a técnica de absorção de raios-X é capaz de fornecer seletividade química, ou seja, ela permite estudar a absorção de raios X de um determinado elemento químico presente no material.

Neste trabalho analisamos somente a região próxima à borda de absorção, com energias ≈ 50 eV em torno da borda; nesta região é possível determinar o estado de oxidação do elemento. Sendo assim, os experimentos de absorção de raios-X próximo à borda, ou do inglês *X-ray Absorption Near Edge Spectroscopy* (XANES), foram realizados. Utilizamos as linhas de luz XAFS1 e XAFS2, localizadas no Laboratório Nacional Luz Síncrotron (LNLS), e analisamos a borda K do ferro (7112 eV) das amostras depois do processo de redução. Com isto procuramos definir a eficiência dos processos de síntese.

As medidas foram feitas varrendo-se a energia de 7035 eV a 7310 eV na geometria de transmissão descrita. A preparação da amostra consistia em suspender ≈ 5 mg de partículas de magnetita na forma de pó em isopropanol, em seguida, a suspensão é filtrada por uma membrana de fluoreto de polivinilideno, ou do inglês *polyvinylidene difluoride* (PVDF), fazendo com que as partículas fiquem retidas na membrana. Para efetuar a medida a membrana é posicionada perpendicularmente ao feixe de raios X (Fig. 5.6), e segundo (5.1) μ será proporcional a:

$$\mu(E, \rho) = \frac{1}{x} \ln \left[\frac{I_0}{I} \right] \propto \ln \left[\frac{I_0}{I} \right] \quad (5.2)$$

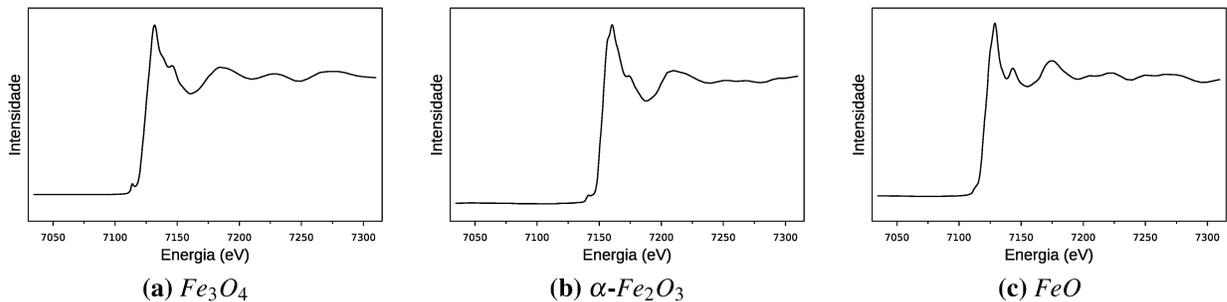


Figura 5.7 – Espectros de padrões medidos durante os experimentos de XAS: (a) padrão de magnetita, (b) padrão de hematita, (a) padrão de óxido ferroso.

Para estimar o estado de oxidação do ferro medimos nas mesmas condições experimentais, além das amostras, padrões dos óxidos de ferro que poderiam estar presentes na amostra, ou seja, magnetita (Fe_3O_4), hematita (Fe_2O_3) e óxido ferroso (FeO). A estimativa da valência do ferro foi realizada por uma combinação linear destes espectros. Para realizar estas análises usamos o pacote Athena^[117] e os espectros padrões são mostrados na Fig. 5.7.

5.4 Difração de pó ou (XPD)

Numa aproximação clássica, ao incidir um feixe de raios X em um sólido, o campo elétrico da onda incidente pode interagir com um elétron deste meio, e forçar a oscilação deste elétron. Consequentemente a oscilação do elétron irá irradiar uma onda eletromagnética com frequência igual ao feixe de raios X incidente. Este processo de espalhamento elástico é conhecido

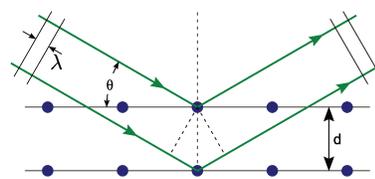


Figura 5.8 – Parâmetros da Lei de Bragg.

como espalhamento Thomson. Adicionalmente, se o sólido for cristalino os átomos, e consequentemente os elétrons, do meio estarão dispostos em um arranjo periódico, isto fará com que o espalhamento Thomson de cada centro espalhador interfira de forma destrutiva na maioria das direções do cristal. À exceção das direções cristalinas determinadas pela lei de Bragg (Fig. 5.8):

$$2d \sin \theta = n\lambda \quad (5.3)$$

onde d é o espaçamento entre dois planos cristalinos; θ é o ângulo entre o plano cristalino e o vetor de propagação da onda incidente; n é um número inteiro; e λ é o comprimento da onda incidente.

Sendo assim, determinando as direções de espalhamento é possível avaliar a estrutura cristalina do material. Para este trabalho, usamos a técnica de Difração de pó, ou do inglês *X-ray Powder Diffraction* (XPD) para analisar a fase cristalina das partículas sintetizadas.

As medidas de difração foram feitas nas amostras do grupo hema η r em um difratômetro de pó Panalytical em geometria Bragg-Brentano, com radiação CuK_{α} (8048 eV) com 2θ variando de 10 - 100° com passo de 0,02° medindo 100s por passo, presente no laboratório de Raios X localizado no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF).

O refinamento dos difratogramas eram realizados através do método Rietveld pelo programa

GSAS-II^[118, 119]. Para ajustar os difratogramas partimos de padrões de difração encontrados na base de dados *Inorganic Crystal Structure Database (ICSD) - FIZ Karlsruhe*. Estes difratogramas correspondiam as quatro fases cristalográficas que poderiam compor a amostra. Estas fases são magnetita (Fe_3O_4), maghemita ($\gamma-Fe_2O_3$), hematita ($\alpha-Fe_2O_3$) e óxido ferroso (FeO).

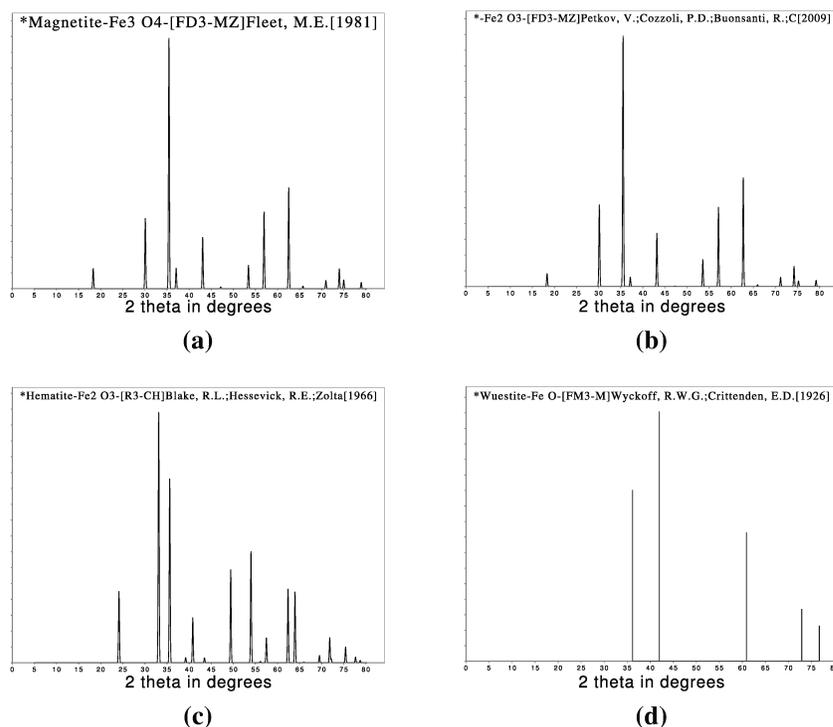


Figura 5.9 – Difratoograma dos óxidos de ferro usados para refinamento Rietveld: (a) difratoograma da fase Fe_3O_4 ; (b) difratoograma da fase $\gamma-Fe_2O_3$; (c) difratoograma da fase $\alpha-Fe_2O_3$; (d) difratoograma da fase FeO .

Destacamos que os difratogramas mostrados em Fig. 5.9a e Fig. 5.9b são muito semelhantes, pois ambos os óxidos têm um estrutura cristalina muito semelhante (simetria espinel invertida). No entanto, como o objetivo deste trabalho não foi o estudo da difração de pó das amostras, o refinamento realizado não se preocupou em diferenciar entre magnetita e maghemita, mas sim apenas confirmar a estrutura espinel presente em ambas as fases.

5.5 Magnetometria

Medidas de magnetometria foram feitas em um Magnetômetro MPMS-5 (*Magnetic Property Measurement System*) da *Quantum Design* no Laboratório de Baixas Temperaturas da Unicamp, em colaboração com o Dr. Adelino Ademar Coelho, pesquisador do LPCM - Laboratório de Preparação e Caracterização de Materiais. Dentro do magnetômetro bobinas supercondutoras criam

um campo magnético estático que magnetiza a amostra colocada em seu interior. Ao oscilar a amostra verticalmente no interior das bobinas supercondutoras, a magnetização da amostra altera a suscetibilidade magnética do meio e induz uma corrente em bobinas captadoras. Esta corrente induzida é proporcional ao momento magnético presente naquela quantidade de amostra e, por fim, é conduzida a um sensor SQUID (*Superconducting Quantum Interference Device*), que converte a corrente em tensão.

Este equipamento foi utilizado para medir a resposta magnética das partículas e verificar o ciclo de histerese magnético de um conjunto de partículas aleatoriamente orientadas. Estas medidas foram realizadas em amostras na forma de pó ligeiramente compactado. Na preparação das medidas, a condição de resfriamento sem campo (ZFC) era antecedida por um *quench* controlado das bobinas supercondutoras, e assim, garantir que não existisse qualquer campo remanente dentro do magnetômetro. Já a condição de resfriamento com campo (FC) era feita com campo de 2 T produzido pelas bobinas supercondutoras. Durante as medidas de magnetização em função do campo, o magnetômetro operou em modo histerese e com ganho do sensor SQUID em modo automático. O campo magnético utilizado nas medidas variou de -5 T a 5 T .

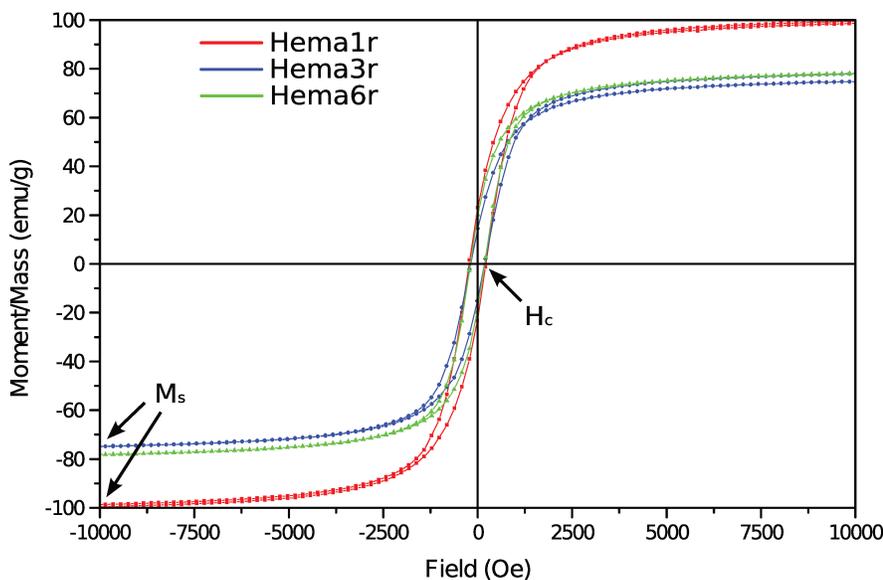


Figura 5.10 – Curva de magnetização das amostras: hema1r, hema3r e hema6r a 300 K.

Para as amostras hema ζ r e hema6rCo, as medidas de magnetometria foram feitas a temperatura ambiente e usadas para avaliar o estado de vórtice e a eficiência no processo de redução, para isto, avaliamos a coercividade H_c e a magnetização de saturação M_s . Na Fig. 5.10 temos as medidas realizadas a temperatura ambiente das amostras hema1r, hema3r e hema6r.

Já para as amostras recobertas com antiferromagnético, hemaIr@IrMn e hemaIr@CoO , as medidas de magnetometria permitiram avaliar a quantidade de material AFM, correlacionando a diminuição da magnetização de saturação com o processo de recobrimento. Para o caso da amostra hemaIr@CoO , também foram realizadas medidas de ZFC e FC para avaliar o deslocamento do ciclo de histerese, este foi avaliado pela relação $\frac{H_c^{(\text{positivo})} + H_c^{(\text{negativo})}}{2}$.

5.6 Hipertermia Magnética

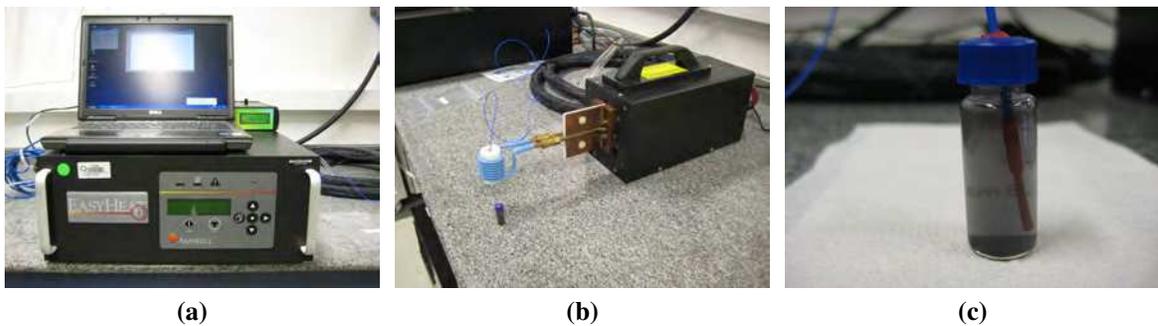


Figura 5.11 – Equipamento Ambrell Easy Heat 4.2 kW de hipertermia. Figura (a) estação de controle, Figura (b) bobina de indução de 8 voltas e dimensões de 37 cm de altura e diâmetro interno de 25,5 cm. Ambos os sistemas dependiam de um fluxo constante de água para resfriamento. Figura (c) frasco e termômetro de fibra óptica usados na medida.

Para avaliar a eficiência das amostras para hipertermia magnética utilizamos um equipamento de indução da marca *Ambrell Easy Heat 4.2 kW* mostrado na Fig. 5.11. Ele consiste em um circuito ressonante composto por uma bobina de 8 voltas resfriada por fluxo de água a temperatura ambiente de dimensões 37 mm de altura, 25,5 mm de diâmetro interno e 39,5 mm de diâmetro externo. Nestas condições a estação de controle (Fig. 5.11a) gera uma corrente alternada com frequência fixa de 313 kHz e corrente I cuja amplitude pode ser variada até 5 A. Conseqüentemente, a intensidade do campo magnético induzido pode ser calculado por:

$$\underbrace{H}_{\text{Sistema CGS}} = \underbrace{\frac{\mu_0 N I}{2 R_m}}_{\text{Sistema Internacional}} * 10^4 \quad (5.4)$$

onde H será o campo induzido dado em Oe, μ_0 é a permeabilidade magnética do vácuo, N é o número de voltas da bobina, I a corrente na bobina e R_m o raio médio da bobina. Quanto à

direção do campo gerado pela bobina, uma simulação feita no programa *Magnet*® 7.4.1* permitiu o mapeamento, mostrado na Fig. 5.12. Nele identificamos que o campo gerado não é homogêneo, principalmente próximo das extremidades da bobina.

As medidas foram feitas em soluções previamente preparadas com 2 mg de partículas suspenso em 2 ml de água, além das VIP sintetizadas. Também medimos um SPION feito em colaboração pelo Prof. Dr. Heberton Wender que serviu para fins de comparação. Esta suspensão era colocada em um frasco de vidro (Fig. 5.11c) no centro da bobina e isolado termicamente por 7 mm de isopor. O termômetro de fibra óptica da marca Optocon era posicionado no centro do frasco, tomando o cuidado para que este não encostasse nas paredes do frasco. As medidas foram feitas com uma resolução temporal de 1 s e de temperatura de $0,1^\circ\text{C}$, aplicando campos de amplitude de 300 Oe e 200 Oe.

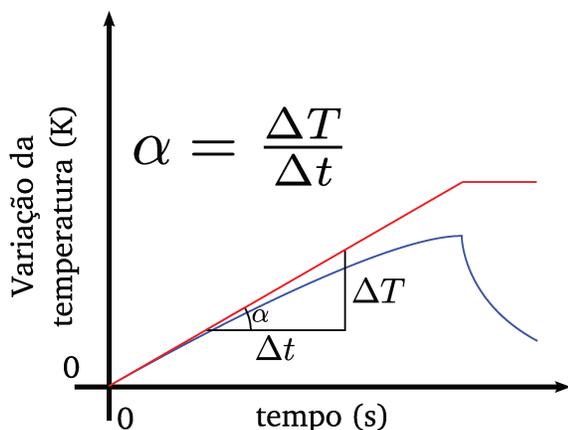


Figura 5.13 – Curva de aquecimento do sistema adiabático (vermelho) e não adiabático (azul).

uma curva experimental como a mostrada em azul. Neste caso, o SAR deve ser calculado próximo ao início da curva de aquecimento, onde a resposta é mais linear, de qualquer forma, deve-se

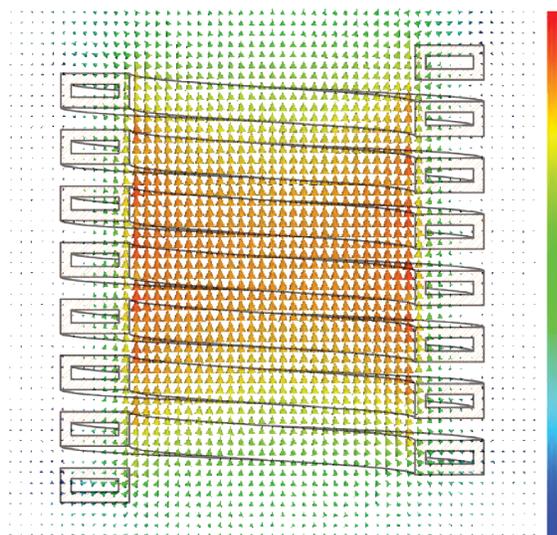


Figura 5.12 – Simulação do campo gerado pelo Equipamento de Hipertermia. A barra de cores corresponde à componente do campo ao longo do eixo da bobina (dado em unidades arbitrárias).

Para quantificar o SAR, a curva de aquecimento registrada pelo termômetro pôde ser corrigida subtraindo-se a temperatura inicial do sistema, e compor o gráfico mostrado na Fig. 5.13. Para um sistema adiabático todo calor gerado pelo campo magnético permaneceria no sistema, resultando em um aquecimento linear (curva vermelha). Nesta condição, o SAR poderia ser calculado substituindo em (1) o coeficiente angular do gráfico. No entanto, como um sistema real nunca é adiabático, teríamos

*Simulação cedida por Priscila Palma Sanchez - Grupo de Ímãs, CNPEM.

lembrar, que o SAR calculado desta forma sempre é subestimado.

Infelizmente, o calor por efeito Joule, gerado por todo o equipamento, e que deveria ser dissipado pelo radiador, era muito grande, e o reservatório de água do radiador aquecia ao longo das medidas. Conseqüentemente a bobina sofria um superaquecimento, que por convecção, causava um aquecimento adicional da solução de partículas. Por conta disso é preciso subtrair da curva de aquecimento da solução de partículas o aquecimento que seria medido em um frasco contendo água pura. Sendo assim, o procedimento adotado consistiu em primeiramente medir o aquecimento de um frasco contendo água pura (medida $T_{H_2O:1}(t)$), em seguida foram realizadas as medidas de todas as amostras (medidas $T_{hema\zeta_r}(t)$), e por fim, medimos novamente o aquecimento de um frasco contendo água pura (medida $T_{H_2O:2}(t)$). A partir das medidas realizadas em água pura, $T_{H_2O:1}$ e $T_{H_2O:2}$, calculamos as duas taxas de aquecimento correspondentes $((\frac{dT}{dt})_{H_2O:1})$ e $((\frac{dT}{dt})_{H_2O:2})$.

Junto com as curvas de aquecimento descritas, no decorrer do experimento, a temperatura do reservatório de água do radiador (Γ) também era monitorada. Com isto, para cada medida de aquecimento ($T_{H_2O:1}$, $T_{hema\zeta_r}$ e $T_{H_2O:2}$) tínhamos a temperatura do reservatório de água do radiador correspondente ($\Gamma_{H_2O:1}$, $\Gamma_{hema\zeta_r}$ e $\Gamma_{H_2O:2}$). Por fim, a taxa de aquecimento $\alpha_{hema\zeta_r}$ usada na correção das medidas $T_{hema\zeta_r}$, pode ser interpolada usando a aproximação linear dos valores $[(\Gamma_{H_2O:1}, \frac{dT}{dt}_{H_2O:1}); (\Gamma_{H_2O:2}, \frac{dT}{dt}_{H_2O:2})]$. Sendo assim, o aquecimento de cada amostra ($T_{hema\zeta_r}(t)$) foi corrigido pelo aquecimento calculado segundo:

$$T_{hema\zeta_r}(t)^* = T_{hema\zeta_r}(t) - \alpha_{hema\zeta_r}t \quad (5.5)$$

com isto calculamos o SAR segundo (1).

5.7 Teste de Citotoxicidade

No teste de citotoxicidade, procuramos avaliar o comportamento celular macroscópico na presença das VIPs sintetizadas. Para este experimento foram utilizadas células de rim embrionário modificadas conhecidas como células HEK (*Human Embriotic Kidney*) ou HEK-293. Em cada ensaio individual, estas células são cultivadas em recipientes plásticos, previamente esterilizados, denominados poços, dentro dos quais elas se proliferam aderidas ao fundo. Nestes poços deve-se garantir também um suprimento de nutrientes específicos, além de um pH neutro. Isto é feito

através de um meio de cultura chamado DME (Dulbecco's Modified Eagle) da Sigma-Aldrich* no qual a célula é mantida imersa. Estes poços são mantidos em uma estufa a uma temperatura de 37°C e o nível de CO₂ na atmosfera em 5%.

Nos experimentos realizados 30 × 10³ células foram incubadas durante 24h dentro da estufa em placas de 96 poços de fundo plano (Fig. 5.14), com um volume final de 200µL de DME em cada poço, para fixação das células à placa. Em seguida o DME dos poços era trocado por outro com uma dada concentração de partículas. Utilizamos concentrações de 0, 1, 5, 10, 20, 30 e 40µg/ml, sendo cada uma repetida três vezes para compor uma triplicata. Em seguida, as placas eram incubadas por mais 12, 24 ou 48h.

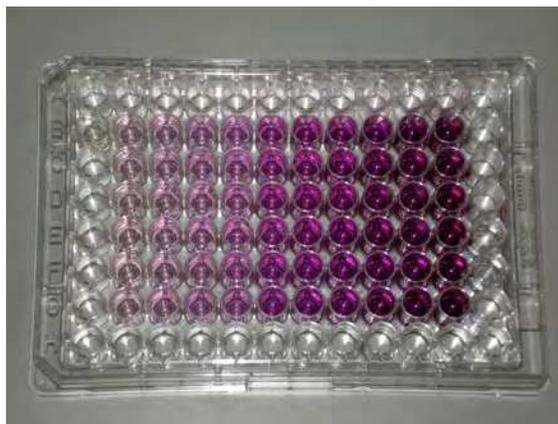


Figura 5.14 – Placa de 96 poços usada nos experimentos de citotoxicidade. A diferença nas cores da cada poço indica diferentes níveis de atividade celular (ou número de células), quanto mais escuro maior a atividade celular.

Por fim, as células eram submetidas a um teste colorimétrico denominado MTS. Este se baseia na biorredução celular do sal 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximethoxyphenil)-2-(4-sulfophenil)-2H-tetrazolio, que quando dentro de células metabolicamente ativas é convertido a *formazan*. O composto *formazan* apresenta uma coloração roxa escura podendo ser interpretado como indicativo da existência de atividade/metabolismo celular. Na Fig. 5.14, a tonalidade mais escura do poço é proporcional à atividade celular, ou número de células vivas no poço. Sendo assim depois de encubadas com as partículas as células eram tratadas com um kit de MTS e quantificadas em um espectrofotômetro capaz de quantificar a transmissão de luz ($\lambda = 490\text{nm}$) através do poço. Como esta luz transmitida é proporcional à viabilidade celular, os valores de transmissão da luz de cada ensaio de uma mesma triplicata compuseram uma média e um desvio. Por fim, o valor da média era normalizado pelo valor correspondente ao grupo controle.

5.7.1 Hipertermia *in vitro*

A fim de avaliar a eficiência das partículas sintetizadas, elaboramos um experimento de hipertermia *in vitro* no qual células do tipo HEK foram incubadas com nanopartículas e depois tratadas

*Composição: 4500mg/L de glicose e L-glutamina, bicarbonato de sódio para pH 7,0, 10% de FBS e 1% de solução penicilina/estreptomicina (10000unidades/mL de penicilina e 10000µg/mL de estreptomicina).

com campo magnético alternado. Para estes testes de hipertermia magnética *in vitro*, 50×10^3 células foram incubadas dentro da estufa em poços individuais cortados de uma placa de cultura de células de 24 poços. Cada poço continha 500 μ L de DME, e as células foram incubadas durante 24h para fixarem ao fundo do poço. Em seguida estas células foram tratadas com as partículas em uma concentração de 100 μ g/ml e deixadas incubar por 24h. Depois, antes de expô-las ao campo magnético, os poços foram gentilmente enxaguados com DME puro para suspender e retirar quaisquer partículas que porventura não tenha aderido às células. Com isto procuramos garantir que somente as partículas que de alguma forma interagiram com as células permanecessem dentro do poço.

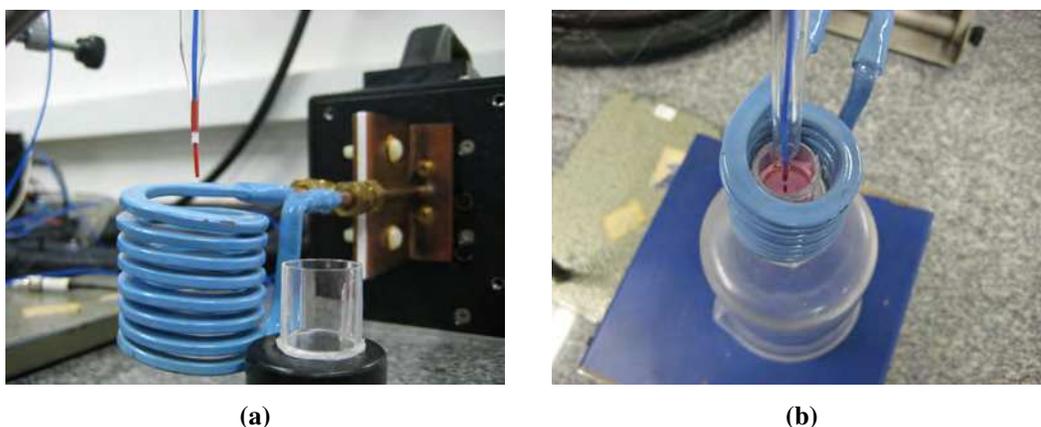


Figura 5.15 – Montagem experimental utilizada para no experimento de hipertermia *in vitro*: em (a) o poço de cultura usado nos experimentos; em (b) foto mostrando uma medida, detalhe para o posicionamento do termômetro monitorando a temperatura do poço.

Finalmente, estes poços puderam ser levados até o equipamento de hipertermia para exposição ao campo magnético com amplitude de 200Oe e frequência de 313kHz. Os valores de campo e frequência foram escolhidos de forma a satisfazer o prerequisite para experimento *in vitro* de $H \cdot f < 5 \times 10^9$ A/ms^[13, 21–24]. Na Fig. 5.15 temos as fotos da montagem experimental para aplicação do campo magnético, onde identificamos principalmente o termômetro colocado em contato com o meio de cultura de célula.

5.8 Citometria de Fluxo

Dentre suas várias aplicações, um citômetro de fluxo permite a contagem de células marcadas com algum marcador fluorescente. Isto é feito analisando o fluidos contendo células em suspensão;

este fluido passa através de um capilar iluminado por um laser. Com detectores posicionados de forma adequada é possível analisar tanto a luz transmitida (do inglês *Forward Scattering* (FSC)) quanto a espalhada (do inglês *Side Scattering* (SSC)) pelas células (ou aglomerados) na medida que estas passam através do laser (ver esquema na Fig. 5.16). Adicionalmente, também é possível analisar a fluorescência de marcadores que porventura tenham sido utilizados para marcar as células.

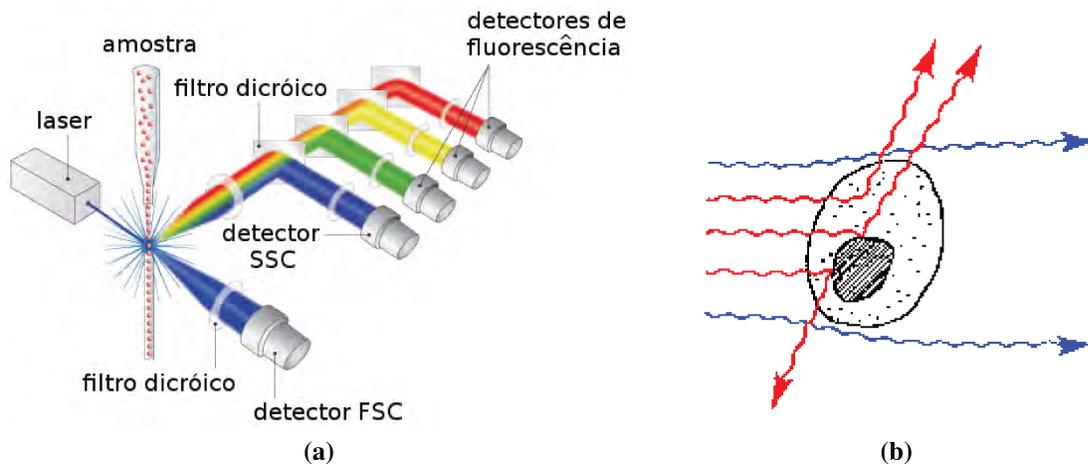


Figura 5.16 – Esquemático mostrando o funcionamento de um citômetro de fluxo. Em (a) o esquemático mostrando o funcionamento do citômetro de fluxo e seus diferentes detectores. Em (b) o esquemático de como uma célula gera os dois principais sinais de luz transmitida em azul e espalhada em vermelho, é possível observar como o sinal da luz transmitida é proporcional ao tamanho da célula e como as estruturas internas de uma célula, como o núcleo, cria mudanças no índice de refração que espalham a luz.

Na Fig. 5.16, temos um esquema mostrando o funcionamento de um citômetro de fluxo, onde na Fig. 5.16a observamos a passagem da amostra pelo capilar e a disposição dos diferentes detectores. O laser azul ilumina o capilar, e a luz é espalhada pelas células que passam através do feixe. A luz transmitida é captada pelo detector FSC, já a luz espalhada é detectada pelo detector SSC. Caso existam moléculas fluorescentes na amostra elas serão excitadas pelo laser, a fluorescência pode ser captada pelos diversos detectores disponíveis no equipamento.

Em 5.16b é representado o mecanismo de espalhamento da luz por uma célula. A luz transmitida, detectada pelo detector FSC, é proporcional ao tamanho da célula, enquanto que, a luz espalhada, detectada pelo detector SSC, é proporcional a complexidade interna de uma célula, uma vez que estruturas internas, como por exemplo o núcleo, geram mudanças no índice de refração que espalham a luz.

Nos experimentos realizados utilizamos apenas o marcador de iodeto de propídio (*Propidium*

iodide ou PI); este permeia a parede celular de células mortas e, portanto, permite distinguir, dentre os eventos registrado no citômetro, o que corresponde às células mortas.

Os resultados do citômetro de fluxo são tipicamente analisados através de gráficos de pontos como os mostrados na Fig. 5.17 que, confrontando os valores medidos entre dois detectores, permite a visualização de populações distintas. Nos experimentos realizados, confrontamos os sinais da fluorescência do marcador PI, denominado PerCP-Cy5-5-A, contra a fluorescência do marcador Isotiocianato de Fluoresceína (*Fluorescein isothiocyanate* ou FITC), denominado FITC-A. No entanto o marcador FITC não foi usado e apenas compõe o gráfico para fins de visualização. De qualquer forma na Fig. 5.17 temos um exemplo típico do gráfico PerCP-Cy5-5-A vs FITC-A medido.

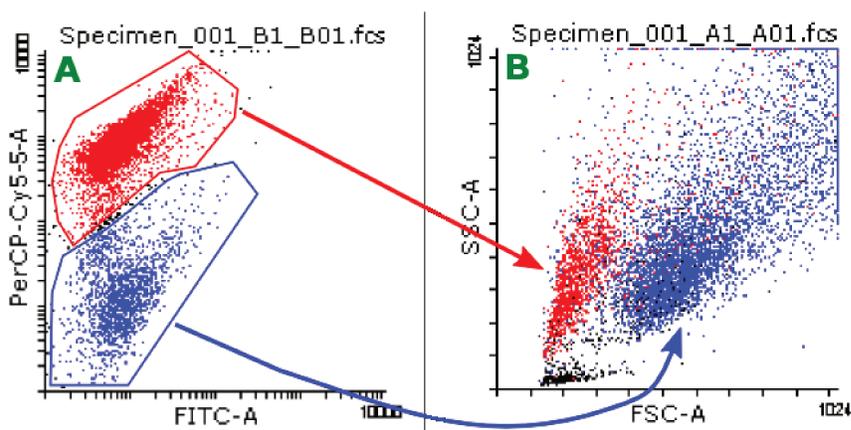


Figura 5.17 – Exemplo de medidas obtidas no citômetro de fluxo. **A** são dados referentes as medidas de fluorescência do PI e **B** se referem as medidas de espalhamento de luz.

No gráfico Fig. 5.17A, PerCP-Cy5-5-A vs FITC-A, podemos facilmente distinguir duas populações. Uma vez que o PI foi usado como marcador de células mortas, é evidente concluir que o grupo com o sinal de PI mais elevado representa o grupo de células mortas. Sendo assim, selecionamos as duas áreas mostradas no gráfico Fig. 5.17A e atribuímos a cada uma as cores vermelha para células mortas e azul para células vivas.

Por fim, é possível estimamos a porcentagem de células mortas pela quantidade de pontos dentro da área vermelha perante o número total de pontos azuis e vermelhos.

Outra análise adotada transfere as populações demarcadas no gráfico Fig. 5.17A para o gráfico Fig. 5.17B, sinal espalhado (SSC-A) vs sinal transmitido (FSC-A). Neste gráfico, observamos que a população de células vermelhas ou mortas apresenta uma granularidade maior que as células vivas. Este resultado será discutido no § 6.4.2.

Novamente, cada ensaio foi feito em triplicata, o que permitiu o cálculo da média e do desvio na porcentagem de células mortas.

5.9 Microscopia Ótica de Fluorescência Confocal

A microscopia de fluorescência confocal é uma técnica amplamente utilizada nos estudos de sistemas biológicos *in vitro*. Trata-se de um aprimoramento da microscopia de fluorescência convencional que resultou em melhorias de resolução e contraste. Esta técnica utiliza marcadores que absorvem a luz de um determinado comprimento de onda e, por conta disto, fluorescem em um comprimento de onda maior. Estes marcadores podem ser construídos de forma a serem seletivos e associarem-se a organelas específicas, permitindo assim a visualização destas.

Em um microscópio convencional de fluorescência a iluminação se dá de forma homogênea fazendo com que toda a amostra fluoresça, inclusive os planos que estão fora do plano focal. No entanto, estes planos não contribuem para a imagem e apenas aumentam o sinal de fundo* da imagem.

Por outro lado, na microscopia confocal, utiliza-se uma fonte de luz focalizada o que determina um ponto no plano focal (Fig. 5.18). Isto concentra a maioria da fluorescência da amostra nesta posição x e y do plano focal, reduzindo o sinal de fundo. Ademais, antes do detetor adiciona-se um *pinhole**, o qual seleciona o plano focal (posição z - representada pela linha tracejada na Fig. 5.18) e bloqueia a fluorescência de elementos fora do plano focal, reduzindo assim ainda mais o sinal de fundo. Com isso apenas um único ponto na amostra

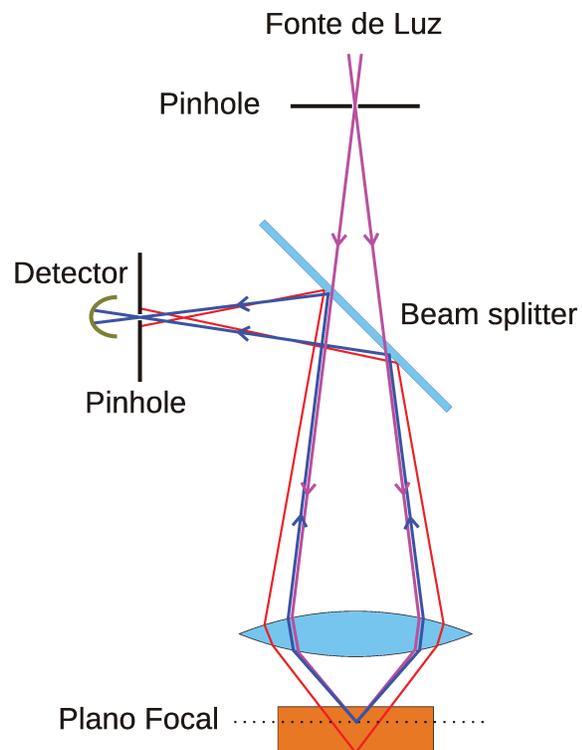


Figura 5.18 – Esquema óptico de um microscópio confocal, o feixe rojo é focalizado na amostra e cria a fluorescência representada pelo feixe azul que é focado através do pinhole e chega ao detector. O feixe vermelho representa uma fluorescência fora do plano focal é barrada pelo pinhole e portanto não interfere na composição da imagem.

*Do inglês *background*.

*Do inglês buraco de alfinete, e refere-se ao elemento óptico que forma a imagem em uma câmera estenopeica.

efetivamente contribui para o sinal no detector. Finalmente a composição da imagem pode ser feita em um sistema de varredura.

Além de imagens de microscopia de fluorescência, também foram feitas imagens de transmissão óptica com um contraste interferométrico conhecido como *Differential interference contrast* ou DIC.

Ao ser iluminado, um objeto transparente não irá alterar a intensidade da luz transmitida, e por isso, não apresentará contraste em uma imagem de transmissão convencional. Porém, para uma amostra composta por diferentes elementos, cada qual com um índice de refração diferente, como por exemplo, uma célula em água, a mudança entre os elementos resultará em um caminho óptico diferente, o que se reflete em uma variação na fase da luz transmitida. Para formar uma imagem DIC, duas ondas coerentes mas com polarizações ortogonais iluminam a amostra e formam duas imagens de transmissão. Estas imagens são levemente desalinhadas (tipicamente em $0,2\mu\text{m}$) mas idênticas. Logo, girando a polarização das imagens de forma a torná-las coincidente, a sobreposição destas criará uma imagem de interferência devido a diferença de fase entre as imagens. Esta imagem de interferência tem um contraste proporcional à variação do caminho óptico da luz transmitida entre os dois pontos distantes de $0,2\mu\text{m}$. Consequentemente teremos uma imagem onde as bordas e contornos terão um contraste superior.

O microscópio confocal utilizado no trabalho foi um microscópio Leica - SP8, disponível no Laboratório Nacional de Biociências (LNBio). Foram utilizados 2 marcadores fluorescentes neste trabalho: O primeiro tem afinidade com o DNA e serve para marcar o núcleo celular. Este marcador se chama DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) e fluoresce em torno de 461 nm (azul). Com isso, selecionando no microscópio esse comprimento de onda e uma janela adequada, é possível fazer uma imagem do núcleo.

De forma análoga, usamos um segundo marcador denominado Mitotracker que se liga à membrana da mitocôndria e fluoresce em torno de 599 nm (vermelho). Sendo assim, selecionando no microscópio esse comprimento de onda e uma janela adequada, podemos fazer imagens de mitocôndria.

6 Engenharia das VIPs para hipertermia

Dando prosseguimento aos detalhes experimentais. Neste capítulo, serão apresentados os resultados experimentais obtidos para as diversas amostras sintetizadas (Cap. 4). Novamente, lembramos que os experimentos apresentados neste capítulo foram feitos paralelamente ao Cap. 3.

Os diferentes conjuntos de partículas mostradas na Tabela 4.3 foram estudadas por distintas técnicas. Seguindo a orientação do LNNano, evitamos ao a manipulação de partículas magnéticas dentro do SEM, logo as partículas não magnéticas de hematita (grupo hema ζ) foram caracterizadas quanto à morfologia. Já as partículas magnéticas de magnetita e ferrita de cobalto (grupo hema ζ r e a hema6Co) puderam ser quantificadas quanto à composição química, magnetometria a eficiência na hipertermia magnética. No entanto, para os experimentos biológicos, dada a complexidade do experimento, optamos por caracterizar apenas as partículas hema1r, hema3r e hema6r

6.1 Morfologia

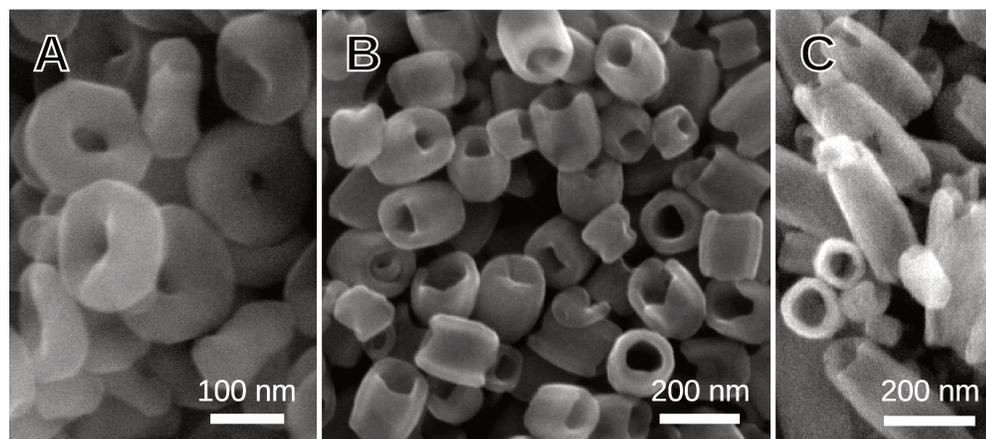


Figura 6.1 – Microscopia Eletrônica de Varredura das partículas sintetizadas. (A) partículas hema1; (B) partículas hema3; (C) partículas hema6.

Para a caracterização morfológica, utilizamos o microscópio de varredura FEI Inspect F50 e a metodologia descritos no § 5.1. Na Fig. 6.1, temos imagens típicas obtidas.

Estas imagens são de partículas de hematita sintetizadas segundo o procedimento discutido em § 4.1.1. A variação da concentração do sal $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ determinou a morfologia da partícula. Foram sintetizadas partículas variando a concentração do sal de $1 \times 10^{-4} M$ à $6 \times 10^{-4} M$, cuja nomenclatura foi hema1 à hema6, respectivamente (Tabela 4.3).

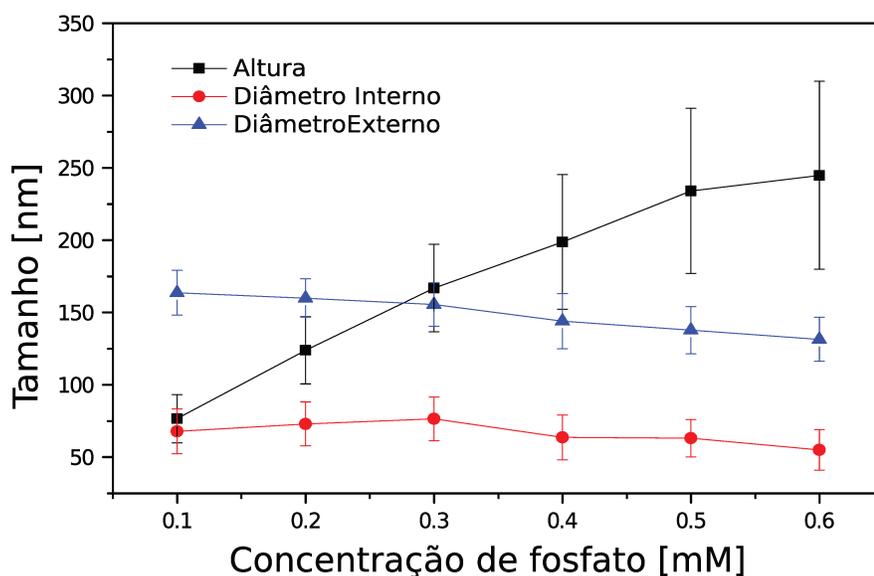


Figura 6.2 – Evolução das 3 dimensões da partícula com a concentração de íons fosfato: Os pontos quadrados e pretos correspondem a altura; pontos triangulares azuis ao diâmetro externo; e redondos vermelhos ao diâmetro interno.

A morfologia das partículas levantada segundo a metodologia descrita permitiu determinar a evolução da morfologia com o aumento da concentração de $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$. Na Fig. 6.2, mostramos as dimensões de todas as partículas sintetizadas. Nos pontos quadrados e pretos mostramos a evolução da altura das partículas com o aumento da concentração de $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$. Já os pontos triangulares azuis e redondos vermelhos mostram, respectivamente, os diâmetro externo e interno. Analisando este gráfico, vemos que a concentração de sal não afeta de forma significativa os diâmetros interno e externo. Por outro lado, vemos que é possível, com a variação da concentração do sal NaH_2PO_4 controlar de forma eficiente a razão de aspecto (Altura/Diâmetro externo) das partículas. Para todas as curvas, as barras de erro correspondem ao desvio padrão retirado da gaussiana ajustada, segundo a metodologia apresentada em § 5.1.

A partir destes resultados passaremos a tratar, principalmente, das amostras hema1, hema3 e hema6, mostradas na Fig. 6.1, por terem as características mais representativas. Suas dimensões

estão resumidas na Tabela 6.1:

- hema1 tem uma altura menor que seu diâmetro externo, ou seja, possui a morfologia de um toroide, ou de um nanoanel;
- hema3 tem a altura da ordem do diâmetro externo, o que se resume em uma razão de aspecto aproximadamente um;
- hema6 tem uma altura maior que o diâmetro externo, ou seja, uma morfologia que se aproxima de um nanotubo;

Tabela 6.1 – Dimensão, em nanômetros, das amostras sintetizadas.

Nome	Altura (nm)	Diâmetro Interno (nm)	Diâmetro Externo (nm)
hema1	76 ± 16	67 ± 15	163 ± 15
hema3	166 ± 30	76 ± 15	155 ± 15
hema6	244 ± 65	54 ± 14	131 ± 15

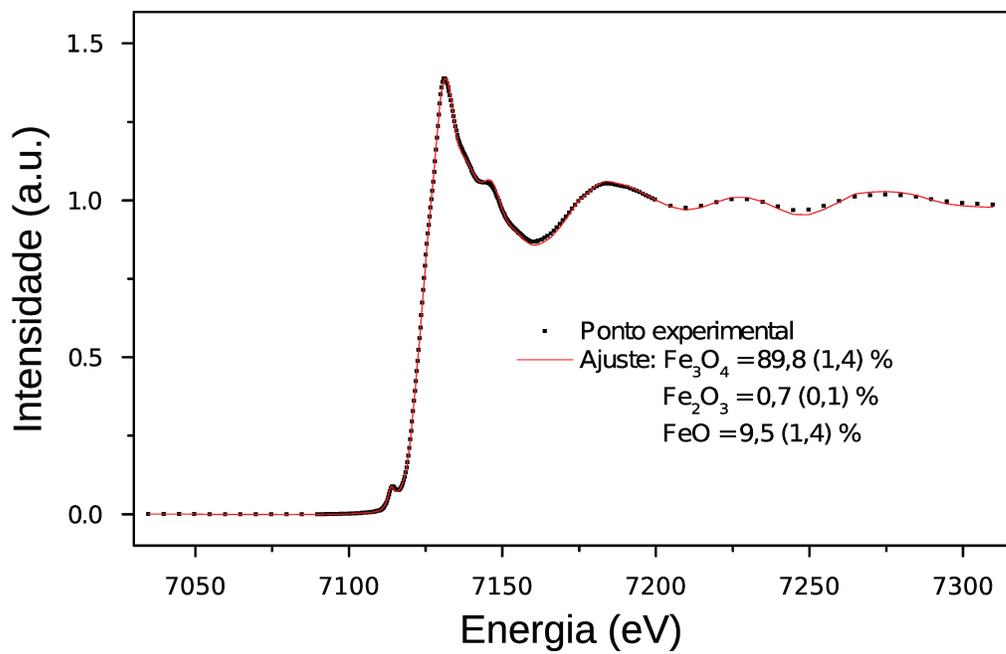
Finalmente, devemos destacar que as medidas foram feitas principalmente nas nanopartículas de hematita, pois, além da maior comodidade em manusear a amostra, é orientação do LNNano, evitar, sempre que possível, colocar partícula magnéticas dentro do microscópio. No entanto, diversos trabalhos que utilizam esta síntese^[32, 96, 97], assim como microscopias realizadas em algumas amostras magnéticas nesta tese sintetizadas, mostram que os processos de redução (§ 4.1.2) e oxidação (§ 4.1.3) não modificam a morfologia da partícula. Logo, destacamos que os resultados de morfologia mostrados podem ser estendidos a todas as partículas magnéticas sintetizadas.

6.2 Caracterização química e estrutural

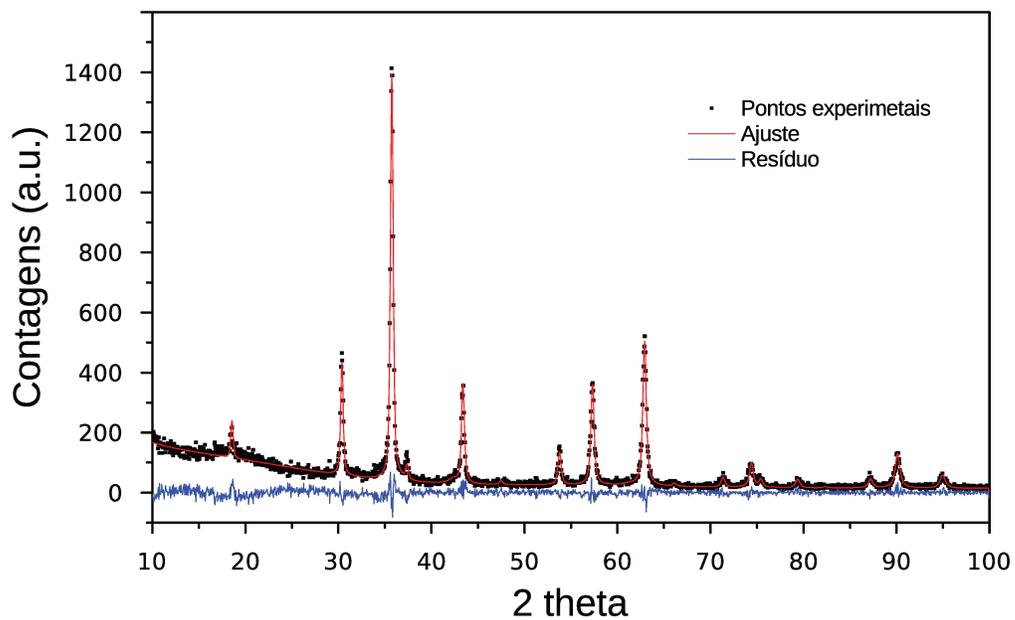
6.2.1 Partículas de magnetita

XANES e XPD

Para determinar a eficiência do processo de redução das partículas de hematita (Fe_2O_3) em magnetita (Fe_3O_4), elas foram caracterizadas quanto à sua composição química através de medidas de XANES e XPD, descritas nos § 5.3 e § 5.4, respectivamente. Na Fig. 6.3, temos uma medida representativa de XANES e XPD para as partículas hema3r sintetizadas.



(a)



(b)

Figura 6.3 – Medidas de XANES (a) e XPD (b) de partículas hema3r.

Na medida mostrada na Fig. 6.3a, o ajuste foi feito a partir da combinação linear dos espectros de padrões. Esta análise indicou que a composição das partículas é majoritariamente de magnetita: 89,8% de magnetita (Fe_3O_4); 0,7% de hematita (Fe_2O_3); e 9,5% de óxido ferroso (FeO).

Na Fig. 6.3b, o difratograma ajustado por refinamento Rietveld^[118, 119] mostra que a estrutura cristalina é de um espinel*, no entanto esta estrutura cristalina é encontrada tanto na magnetita quanto na maghemita. De fato, seria necessária uma análise mais detalhada para distinguir entre os dois óxidos. De qualquer forma, o difratograma mostra, novamente, que o processo de redução é eficiente.

No refinamento realizado, o difratograma da base de dados para magnetita tinha os parâmetros: $a = 8,381\,38\text{ nm}$, $b = 8,381\,38\text{ nm}$, $c = 8,381\,38\text{ nm}$, $\alpha = 90,000^\circ$, $\beta = 90,000^\circ$, $\gamma = 90,000^\circ$. Os valores refinados foram: $a = 8,381\,379\text{ nm}$, $b = 8,381\,379\text{ nm}$, $c = 8,381\,379\text{ nm}$, $\alpha = 90,000^\circ$, $\beta = 90,000^\circ$, $\gamma = 90,000^\circ$ com um $Rwp = 17.00\%$. O qual corresponde a um desvio bom, que confirma a fase espinel.

Por fim, destacamos que estes resultados foram reproduzíveis e semelhantes para todas as partículas de magnetita do grupo hemaζr sintetizadas (Tabela 4.3). Porém, como é uma técnica menos acessível, as caracterizações de rotina para as diversas rodadas de síntese foram feitas por magnetometria. Esta técnica mais acessível permitiu caracterizar quanto à quantidade de magnetita através da medida de sua magnetização de saturação.

Magnetometria

As medidas de magnetometria foram feitas no Magnetômetro MPMS-5 da *Quantum Design* descrito no § 5.5. Na Tabela 6.2, temos o resumo dos valores de campo coercivo (H_c) e magnetização de saturação (M_s) encontrados para cada amostra. Observando a magnetização de saturação, podemos concluir que o rendimento no processo de redução não foi o mesmo para todas as sínteses. No trabalho de Lee *et al.*^[120], a magnetização encontrada para partículas de magnetita foi de 101 emu/g, a mesma magnetização encontrada para a amostra hema1r. Por isso, este valor foi tomado como 100% de magnetita. Também na Tabela 6.2 temos as porcentagens de magnetita para cada amostra sintetizada.

Atribuímos a isto as características da reação em fluxo gasoso utilizada, que no nosso caso

*A fórmula geral para uma estrutura espinel é $(X)(Y)_2O_4$, onde X representa cátions que ocupam posições tetraédricas e Y cátions que ocupam posições octaédricas, como exemplo teríamos o $MgAl_2O_4$.

Tabela 6.2 – Medidas de magnetometria feita para as diferentes partículas.

Nome	Campo Coercivo (Oe)	Magnetização Saturação (emu/g)	% de Fe_3O_4
hema1r	225	102	100
hema2r	208	91	89
hema3r	185	79	77
hema4r	196	76	74
hema5r	190	82	80
hema6r	188	81	79
SPION	4	52	51

é fortemente dependente do grau de compactação da amostra. Além disso, especulamos que a morfologia das partículas também deve ser um fator determinante, mas por não ser o escopo do projeto nenhum estudo sistemático neste sentido foi realizado.

Com relação aos resultados de campo coercivo diferentes de zero, não é possível afirmar a presença de um estado de vórtice magnético. Em contrapartida, considerando as simulações micro-magnéticas, mesmo levando em conta a polidispersão observada, teríamos a formação do estado de vórtice magnético. Na Fig. 6.4, temos uma reprodução de parte do diagrama de fase magnético* que abrange as dimensões das partículas que serão estudadas neste trabalho, ou seja, VIP1, VIP3 e VIP6.

Nesta figura, a área onde estão escritos os nomes das partículas representa o desvio (σ) obtido das análises de tamanho. Como a distribuição nos tamanhos se ajusta a uma gaussiana, cada uma destas regiões representa 68,2% da população total, o que permite afirmar que as partículas estão de fato no estado de vórtice.

Com relação ao problema de reversibilidade discutido em § 3.3.3, foram simuladas as histereses das três partículas sintetizadas (Fig. 6.5).

Sendo assim, acreditamos que a coercividade não nula observada nas medidas de magnetometria pode, em parte, ser devido ao problema de irreversibilidade (§ 3.3.3). Porém, ainda mais relevante para a coercividade, é a existência de partículas não cilíndricas (ou cilindros mal formados) encontrados nas amostras. Estas partículas irregulares, por não terem a morfologia discutida no Cap. 3, não estarão no estado de vórtice magnético e por isso irão apresentar uma coercividade que irá sobrepor a coercividade nula das partículas em estado de vórtice.

*O diagrama completo pode ser visto na Figura 3.10.

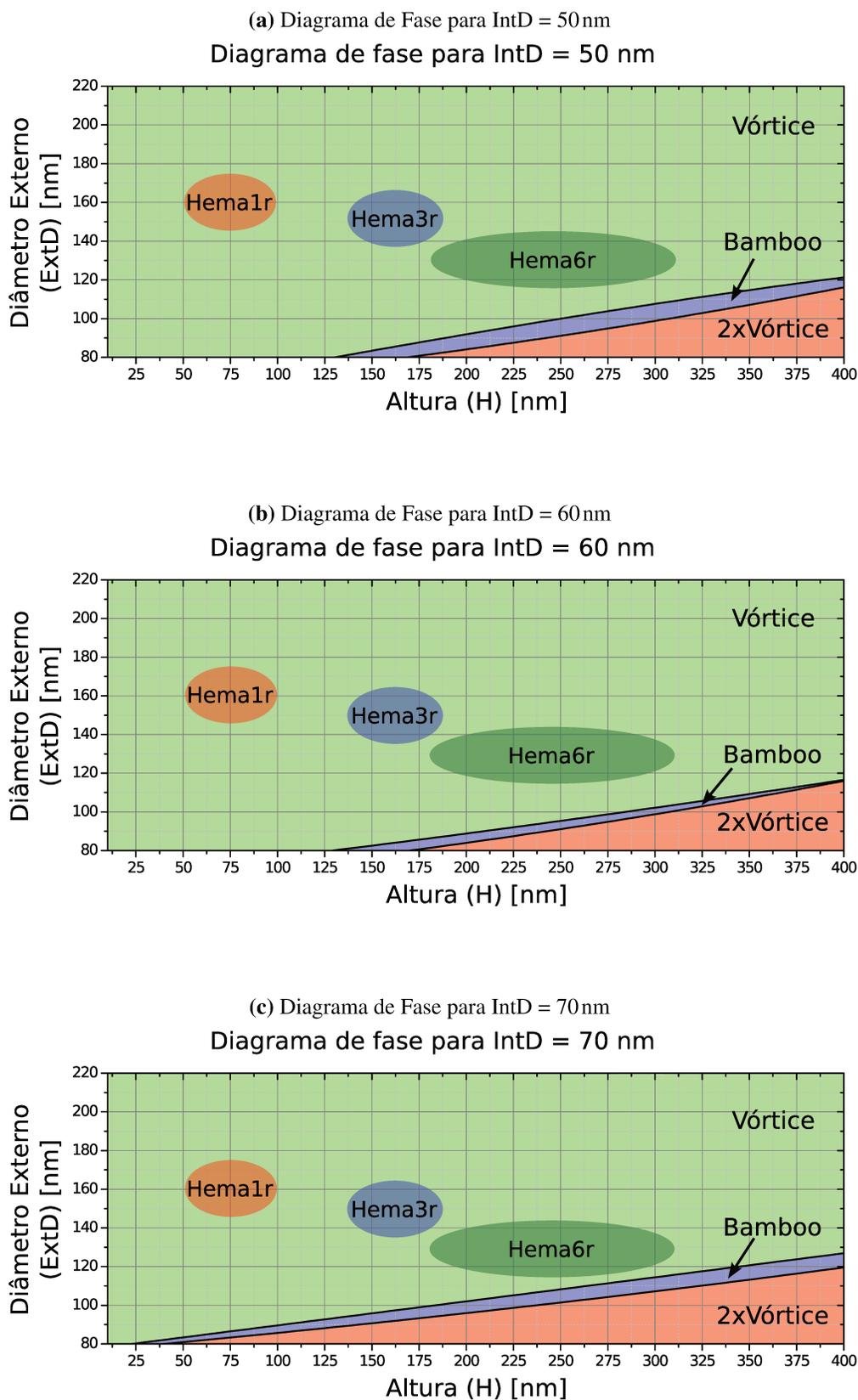
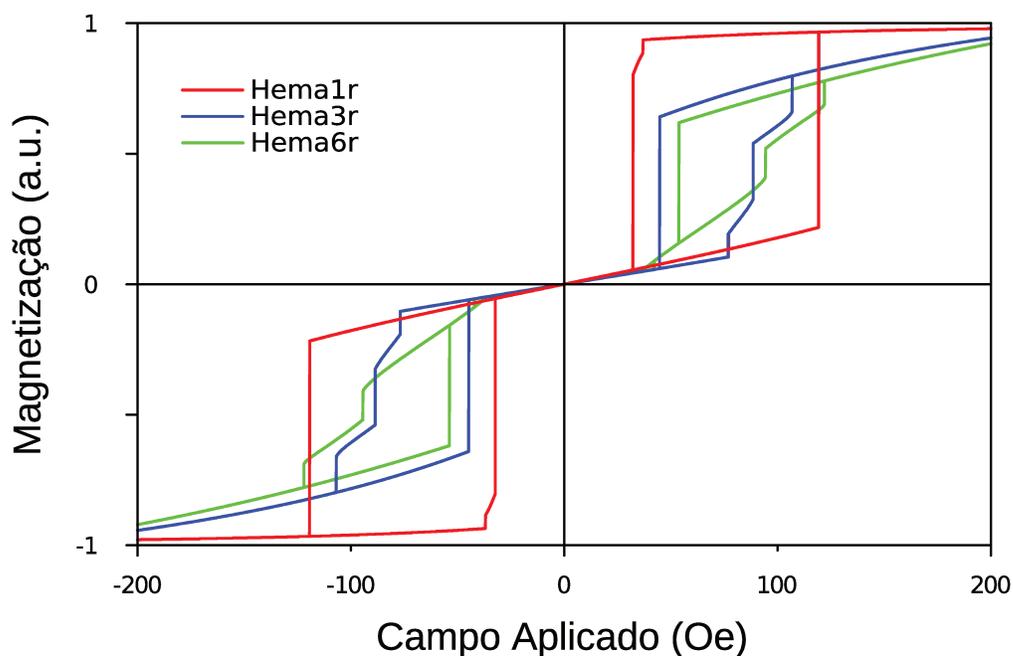


Figura 6.4 – Diagrama de fase para uma partícula sintetizada: Em *ciano* o estado Plano (Fig. 3.4); Em *verde* o estado Vórtice (Fig. 3.6); Em *azul* o estado Bamboo (Fig. 3.7); Em *vermelho* o estado 2xVórtice (Fig. 3.8). As regiões representam o desvio da média na dispersão dos tamanhos medidos para cada partícula.



*Figura 6.5 – Histerese simulada para as partículas **hema1r**, **hema3r**, **hema6r**.*

Por fim, antes de continuarmos nos apoiando nos resultados das simulações, optamos por renomear as partículas de hema ζ r para *Vortex Iron oxide Particles* ou VIP ζ , a fim de enfatizar a propriedade do estado de vórtice. Na Tabela 6.3, temos a relação entre as nomenclaturas das partículas sintetizadas de interesse.

Tabela 6.3 – Relação entre as nomenclaturas usadas para as partículas de interesse.

Nomenclatura Antiga	Nomenclatura Nova
hema1r	VIP1
hema2r	VIP2
hema3r	VIP3
hema4r	VIP4
hema5r	VIP5
hema6r	VIP6

6.2.2 Partículas de ferrita de Co

TEM e EELS

A princípio o processo descrito em § 4.1.3 não tinha o propósito de sintetizar partículas de $CoFe_2O_4$ (§ 4.1.4), porém ao ser analisada no TEM JEOL 2100F, descrito no § 5.2, a partícula

pôde ser caracterizada quimicamente utilizando a técnica de EELS (§ 5.2.2). Na Fig. 6.6, temos as imagens obtidas com o microscópio.

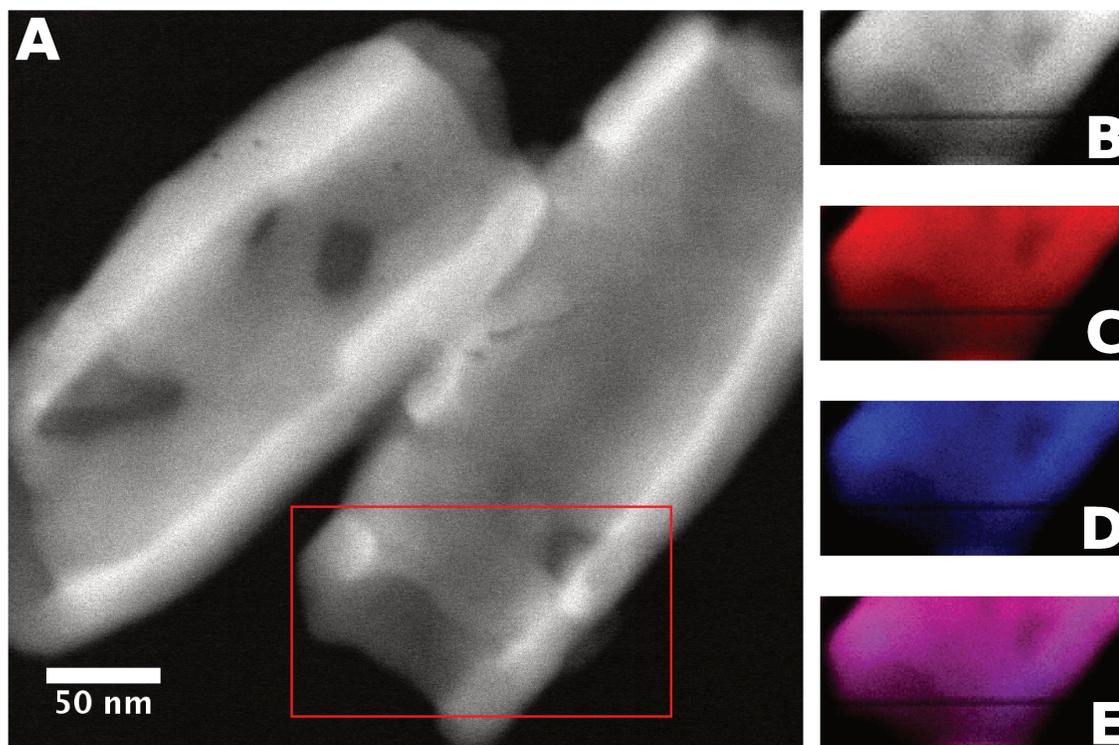


Figura 6.6 – Imagem de TEM e espectroscopia EELS da partícula hema_6rCo : Imagem (A) imagem de transmissão em modo HADAAF. A região em destaque mostra a região de interesse aonde foi feita a análise espectroscópica do tipo EELS. Imagem (B) é proporcional ao sinal da borda K do oxigênio; imagem (C) é proporcional ao sinal da borda L do ferro; imagem (D) é proporcional ao sinal da borda L do cobalto; e imagem (E) é a sobreposição das imagens (C) e (D).

Inicialmente podemos notar na Fig. 6.6:A que a morfologia de tubo é mantida. Além disso, as imagens de espectroscopia (Fig. 6.6:C e D) mostram que tanto o ferro como o cobalto estão uniformemente distribuídos na partícula. Isto indica que o processo de queima do metalorgânico fez com que o cobalto permeasse nas vacâncias da estrutura da maghemita transformando-a em ferrita de cobalto. Evidentemente, isto não é evidência de que a estequiometria esteja correta, porém infelizmente não houve tempo hábil para melhorar a caracterização química. De qualquer forma, espera-se que em uma síntese como esta, se a quantidade de cobalto for mantida abaixo da quantidade estequiométrica, todo o cobalto seja absorvido na formação da ferrita. Logo, é de interesse manter a quantidade de cobalto abaixo do limite estequiométrico para garantir que o excesso de cobalto, não favoreça a formação de partículas agregadas de óxido de cobalto*. Com isso, foi possível modificar a composição química e a resposta magnética destas partículas, ao

*Ver detalhes da síntese discutidos no § 4.1.4.

mesmo tempo que mantivemos a morfologia original.

Magnetometria

No que concerne à resposta magnética da amostra $\text{hema}\alpha\text{rCo}$, esta apresentou uma curva de histerese em temperatura ambiente mostrada na Fig. 6.7. Nela, destacamos o campo coercivo da amostra que é de $H_c = 1769\text{Oe}$, cujo valor é muito superior ao das amostras de magnetita mostradas na Tabela 6.2. Este resultado será discutido no § 6.3 para o entendimento da dinâmica de aquecimento.

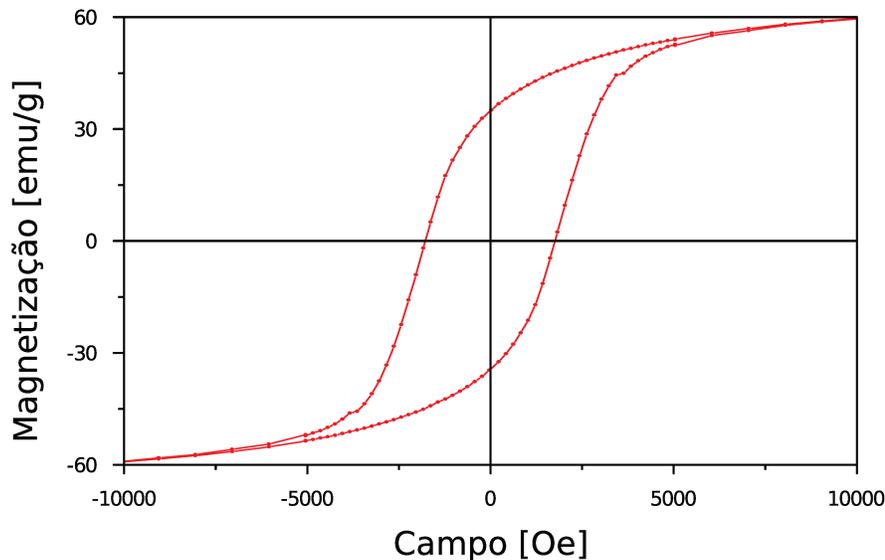


Figura 6.7 – Curva de Magnetização da amostra $\text{hema}\alpha\text{rCo}$ a 300K. Campo coercivo $H_c = 1769\text{Oe}$; Magnetização de saturação $M_s = 66\text{emu/g}$.

6.3 Medidas de Hipertermia Magnética

As medidas de hipertermia magnética foram feitas segundo o procedimento apresentado no § 5.6. Inicialmente, observamos uma dinâmica bem peculiar retratada na Fig. 6.8. Esta foto foi registrada durante uma medida feita sem isolamento térmico e permitiu visualizar o ordenamento das partículas em estruturas que denominamos *needles*.

Estes *needles* se mostraram mecanicamente estáveis e permaneciam mesmo depois que o campo era desligado. Porém, ao agitarmos a solução, estes *needles* se desfazem e as partículas se dispersam. Isto demonstra que existe uma interação dipolar entre as partículas que se mantém

mesmo sem o campo aplicado.

Qualitativamente, sua formação é atribuída à limitação experimental em se criar um campo magnético homogêneo ao longo da direção \hat{z} . Como a altura da bobina utilizada não é grande se comparada a altura do frasco, podemos inferir que o campo apresenta um gradiente radial que deve exercer uma força neste mesmo sentido e, com isto, teremos o deslocamento das partículas em direção a parede do frasco.

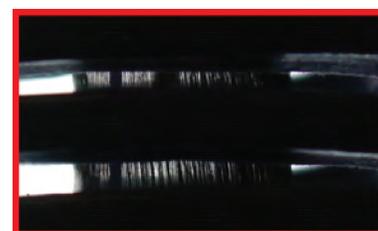
Conseqüentemente, podemos dividir o experimento de hipertermia em dois instantes: o primeiro, devido ao atrito das partículas com a água, podemos inferir que o mecanismo de perda por viscosidade (§ 1.4.3) deverá contribuir para a liberação de calor; o segundo, devido à formação dos *needles*, os graus de liberdade de translação das partículas diminuirão, cancelando o mecanismo de aquecimento por viscosidade, e portanto alterando o SAR (§ 2.3.4).

Na Fig. 6.9, notamos que todas as medidas do grupo de amostras VIP ξ apresentam uma região na qual a curva de aquecimento sofre uma inflexão. Durante o mesmo experimento, quando se registrou a foto da Fig. 6.8, um registro em vídeo da dinâmica permitiu observar que a inflexão na curva de aquecimento está correlacionada à formação dos *needles*. Porém, ao se repetir o experimento com os *needles* já formados, não se observou nenhuma inflexão, o que demonstra, que a mudança na taxa de geração de calor, é devido as perdas por viscosidade. Quanto à interação dipolar, e sua contribuição para o calor, não realizamos nenhum experimento que quantificasse o fenômeno, mas como as curvas de aquecimento mostraram que a contribuição é constante, qualquer contribuição, positiva^[89] ou negativa^[92], foi incorporada ao valor de SAR.

Sendo assim, para efeitos de reprodutibilidade e linearidade, optamos por definir a região linear destacada em azul na Fig. 6.9 como a janela de tempo tomada como referência para o cálculo do SAR. Além das partículas, temos, na Fig. 6.9, as medidas realizadas em água pura, da amostra hema6rCo de ferrita de cobalto e de um SPION feito em colaboração pelo Prof. Dr. Heberton



(a)



(b)

Figura 6.8 – Foto do ordenamento das partículas denominado needles: na Figura (a) foto da montagem experimental sem o isolamento térmico. Figura (b) ampliação da região destacada em (a) na qual é possível ver as needles.

Wender.

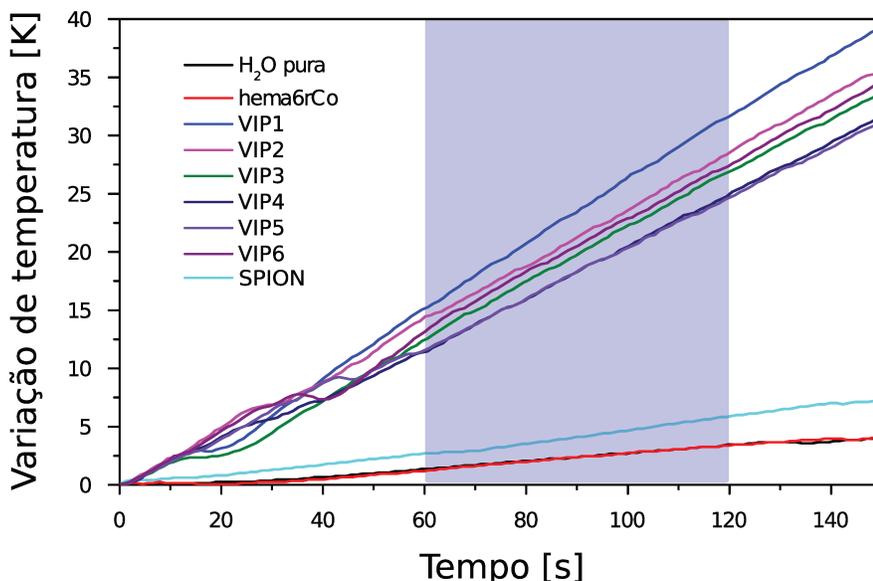


Figura 6.9 – Medidas de SAR das partículas do grupo VIP ξ e da amostra hema6rCo. O campo magnético aplicado foi de 300Oe por 150s.

O resultado que mais se destaca é a grande diferença na curva de aquecimento das amostras do grupo VIP ξ quando comparada ao SPION, mostrando a eficiência das VIPs. Contudo, antes de nos aprofundarmos nas discussões do grupo VIP ξ , podemos ressaltar também o resultado obtido com a amostra hema6rCo, que, como pode ser observado na mesma figura teve uma resposta de aquecimento igual à da água pura, ou seja, não produziu calor.

O interesse nesta medida vem do fato da partícula ter sido confeccionada, mantendo-se todas as características morfológicas, ao mesmo tempo que o material que a compõe ser um magneto extremamente duro. Como a amplitude do campo alternado é muito baixo com relação ao campo coercivo da amostra, podemos supor que não existirão perdas histeréticas significativas. Além disso, devido ao tamanho da partícula, mas principalmente pela histerese observada na medida de magnetometria, podemos afirmar que a partícula hema6rCo está bloqueada, e por isso não pode haver relaxação de Néel. Sendo assim, havendo aquecimento, ele seria decorrente somente da relaxação de Brown da partícula, uma vez que não há mais nenhum outro mecanismo de aquecimento. No entanto, como não houve aquecimento, a partícula hema6rCo também não apresenta relaxação de Brown, isto pode ser entendido se aproximarmos o raio hidrodinâmico* de hema6rCo em (1.38)

*Devido a camada de solvatação o raio hidrodinâmico de uma partícula sempre é maior ou igual ao raio de giro da partícula.

pelo seu raio de giro*. Nesta aproximação, o tempo de Brown fica subestimado, mas este valor calculado (Tabela 6.4) é muito alto e a partícula não tem tempo para relaxar dentro do período de $3,33 \times 10^{-6}$ s do campo magnético.

Tabela 6.4 – Tempo de relaxação calculado para as partículas esféricas de raio igual ao raio de giro de hema6rCo.

Nome	Tempo de Brown (1.38)	Tempo de Néel (1.20)	Tempo efetivo (1.39)
VIP1	1×10^{-02} s	∞	1×10^{-02} s
VIP3	3×10^{-02} s	∞	1×10^{-02} s
VIP6	5×10^{-02} s	∞	1×10^{-02} s

Desta forma, em um ciclo de campo magnético AC, a partícula pode ser considerada bloqueada e não gerar calor por perdas de susceptibilidade. Como a morfologia desta amostra e das VIPs é a mesma, esperamos que nestas últimas também não haja esse mecanismo de perda. Com isso, o resultado de não aquecimento da partícula hema6rCo mostra que todo calor gerado pelas amostras VIP ξ deve ser atribuído somente às perdas Histeréticas.

Retomando, as medidas feitas nas amostras VIP ξ . Na Tabela 6.5, temos um resumo dos valores calculados para o SAR segundo a equação (1) para campos de 300Oe. Na Fig. 6.10, o gráfico mostra os valores de SAR e Magnetização de saturação de cada amostra.

Tabela 6.5 – SAR a 313kHz calculado segundo a (1) e normalizado pela magnetização de saturação respectiva.

Amostra	SAR a 300Oe (W/g)	SAR a 200Oe (W/g)	SAR/ M_s (W/emu)
VIP1	1004	427	9,8
VIP2	836	351	9,1
VIP3	831	368	10,5
VIP4	767	274	10,0
VIP5	738	398	9,0
VIP6	804	401	9,9
SPION	179	83	3,4

Vemos pela Fig. 6.10 que, como esperado, o valor de SAR acompanha a magnetização de saturação da amostra. Logo, como o processo de redução não teve uma eficiência constante em cada partícula, devemos considerar o valor de SAR normalizado pela magnetização de saturação para

*O raio de giro de uma partícula pode ser calculado como o raio da esfera circunscrita à partícula.

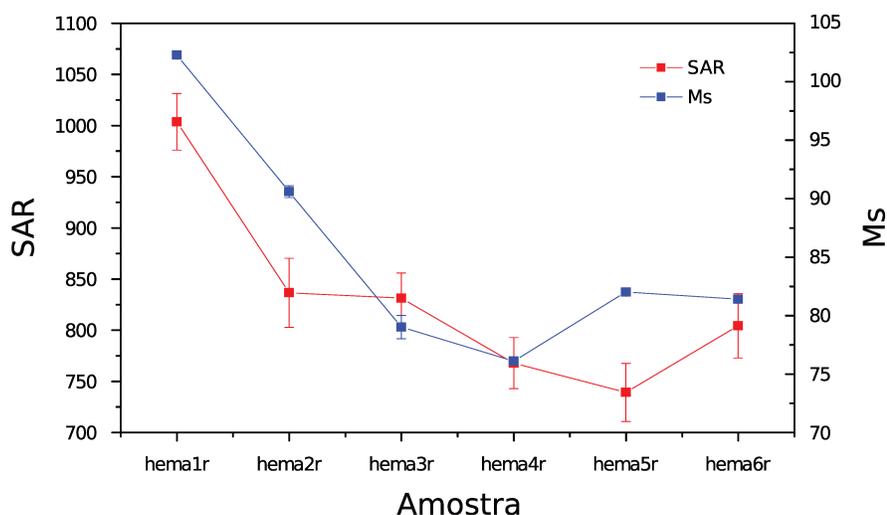


Figura 6.10 – Medidas de SAR a 300Oe das partículas do grupo VIP ζ e suas respectivas Magnetizações de Saturação.

qualquer comparação entre as partículas. Estes valores estão mostrados na Tabela 6.5 e ilustrado na Fig. 6.11.

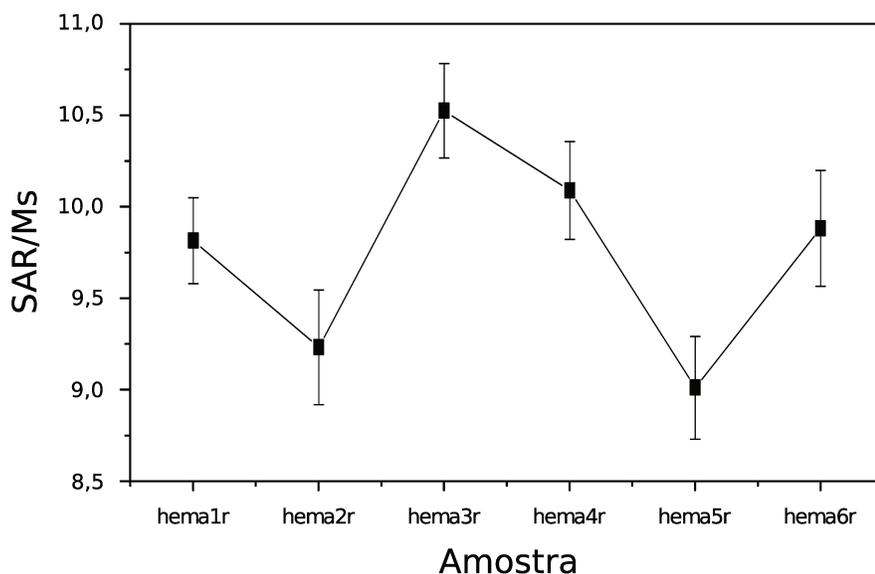


Figura 6.11 – SAR normalizado pela Magnetização de saturação Vs Amostra.

Por outro lado para uma comparação dos resultados de SAR com os resultados encontrados na literatura, devemos considerar o valor absoluto do SAR. Porém, como comentado, devemos enfatizar que em qualquer comparação direta, teremos o problema na falta de coerência nos procedimentos experimentais utilizados para determinar o SAR. Ainda assim, mesmo as partículas sintetizadas estando longe de um ideal otimizado, o valor máximo de $300 \text{ W/g}^{[24]}$ associado a um SPION convencional é consideravelmente inferior ao observado para as partículas do trabalho.

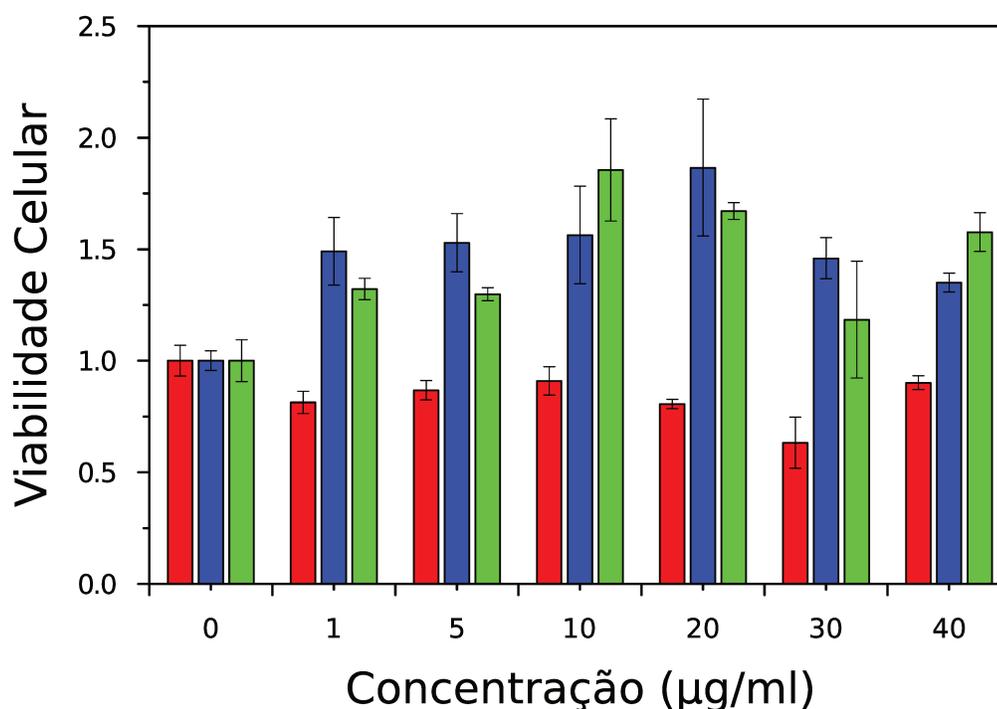
6.4 Testes *In Vitro* das VIPs

Finalizando os estudos de viabilidade das VIPs sintetizadas, realizamos os ensaios em sistemas biológicos para avaliar a citotoxicidade das partículas e os primeiros experimento de hipertermia magnética *in vitro* deste tipo de sistema.

6.4.1 Citotoxicidade das VIPs

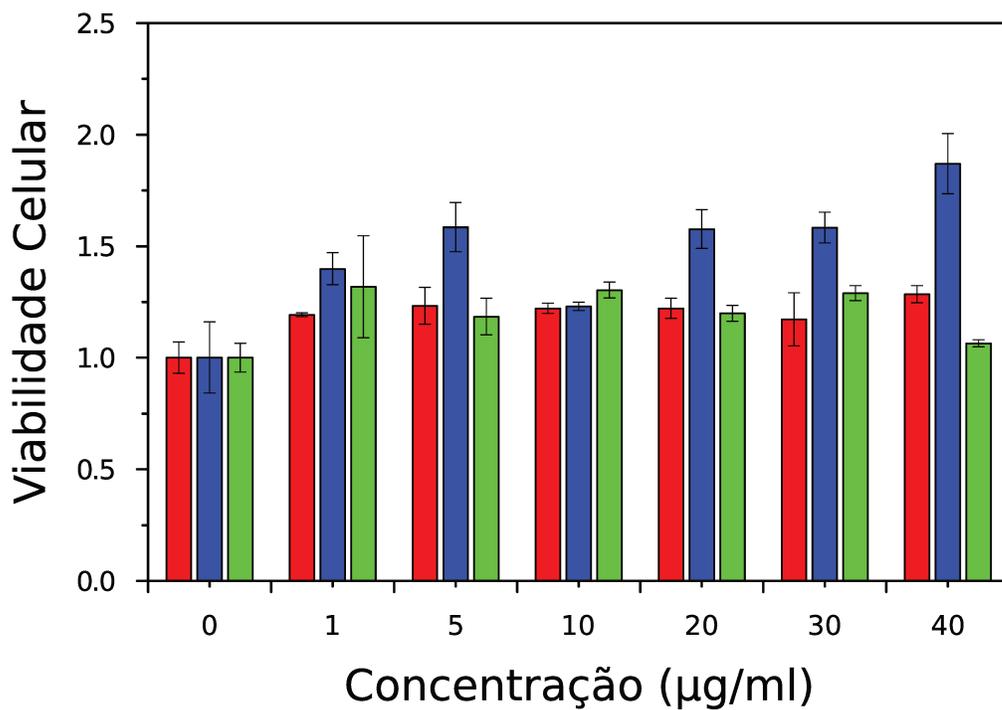
Seguindo o procedimentos discutidos no § 5.7, as Figuras 6.12a, b e c mostram os resultados para 12, 24 e 48 horas de incubação, respectivamente, das três partículas escolhidas (VIP1 em vermelho, VIP3 em azul e VIP6 em verde).

Estes gráficos de barras correspondem à média da triplicata dos ensaios realizados sobre as mesmas condições de concentração e tipo de partículas, ao mesmo tempo. O desvio padrão da média corresponde ao erro no gráfico. Além disso, os valores estão normalizados pelo grupo controle, no qual as células não foram expostas às VIPs (concentração 0 μg de partículas).

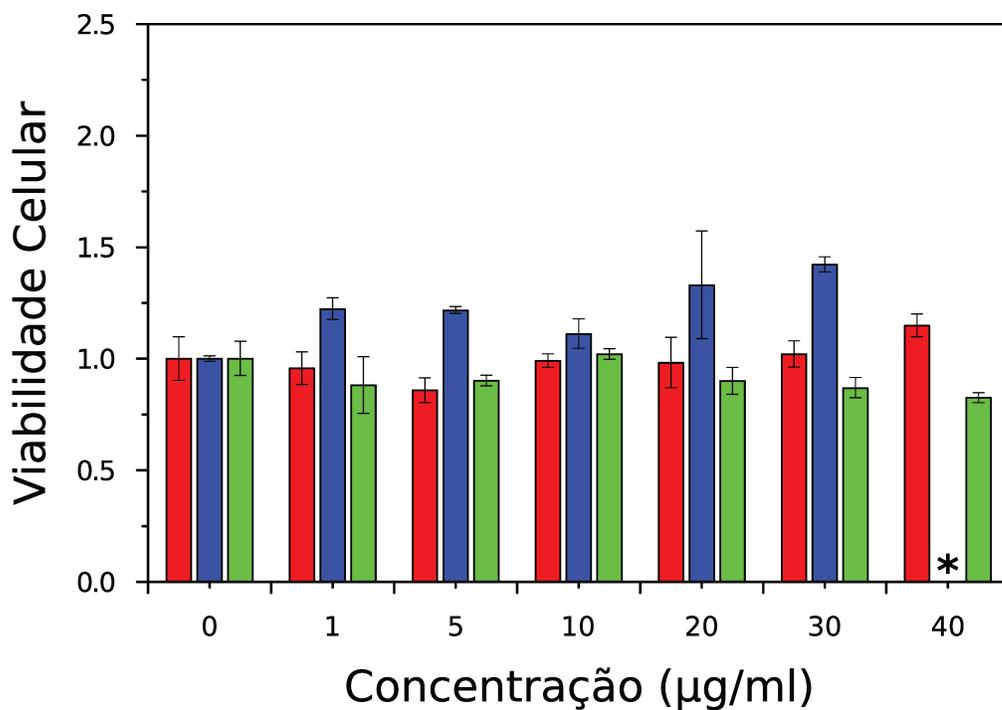


(a) Tempo de incubação de 12 horas

Figura 6.12 – Resultado dos testes de citotoxicidade das três partículas mais relevantes. Nas figuras (a), (b) e (c) as células foram incubadas por 12, 24 e 48 horas respectivamente. O resultado para VIP3 em 48 horas e concentração 40 μg mostrado em (c) foi omitido devido a problemas de contaminação de poço o que inviabilizou a medida.



(b) Tempo de incubação de 24 horas



(c) Tempo de incubação de 48 horas

Figura 6.12 – Resultado dos testes de citotoxicidade das partículas. Nas figuras (a), (b) e (c) as células foram incubadas por 12, 24 e 48 horas respectivamente. O resultado para VIP3 em 48 horas e concentração 40 µg mostrado em (c) foi omitido devido a problemas de contaminação de poço o que inviabilizou a medida.

Os resultados mostrados em Fig. 6.12a não são muito conclusivos devido à grande variabilidade, porém este comportamento pode ser atribuído ao baixo número de células por poço. Ou seja, devido ao curto tempo de incubação, as células não tiveram tempo de se proliferar adequadamente, isto cria uma variação muito grande no sistema e um desvio elevado nas medidas mostrados pelas barras de erro do gráfico. Já os gráficos 6.12b e c indicam que as VIPs não são citotóxicas, principalmente devido ao tempo de incubação mais prolongado, que potencializaria qualquer efeito citotóxico das VIPs testadas.

Este resultado viabiliza as VIPs no que concerne o pré-requisito I. Como comentamos, este resultado era de certa forma esperado. Como as VIPs são compostas por óxido de ferro, assim como os SPIONS, era esperado uma boa biocompatibilidade. No entanto, até que se fizesse o teste, sempre existia possibilidade do tamanho e/ou morfologia das VIPs apresentarem alguma toxicidade e, por isso, futuros testes *in vitro* e *in vivo* devem ser conduzidos.

6.4.2 Hipertermia *in vitro*

Depois de verificar que as partículas testadas não apresentam citotoxicidade relevante, partimos para testes *in vitro* de hipertermia magnética descritos em § 5.7.1.

Ao todo, foram estudados 4 grupos de células, um sendo o grupo controle, que não foi tratado com as partículas, e outros 3 grupos tratados com as 3 VIPs estudadas nos testes de citotoxicidade (VIP1, VIP3 e VIP6). Dentre estes três grupos, foram estudados 4 tempos de exposição ao campo magnético alternado: 0, 100, 300 e 500s. Por fim, ressaltamos que todos os testes foram feitos em triplicata, totalizando 48 poços em um total de 3 h de tempo de máquina em funcionamento*.

A princípio, destacamos que não foi observado aquecimento devido ao campo magnético independentemente do tempo de exposição. De fato, observamos um aquecimento, mas ele foi o mesmo para todas as medidas, inclusive para o grupo controle, que não foi tratado com as partículas. Logo atribuímos este aquecimento à falta de isolamento térmico apropriado, que permitiu a transmissão do calor da bobina por convecção e/ou irradiação, e não ao efeito de hipertermia magnética.

*Somado aos tempos de manipulação dos poços o tempo total do experimento foi de aproximadamente 4h.

Citometria de fluxo, contagem de células mortas

Depois da aplicação do campo magnético as células eram descoladas do fundo de cada poço e tratadas para marcação com iodeto de propídio (*Propidium iodide* ou PI). Este marcador permeia a parede celular de células mortas e foi utilizado como marcador destas. Em seguida, as células em suspensão foram levadas para o citômetro de fluxo descrito no § 5.8.

A análise dos resultados do citômetro foi feita através de gráficos como os mostrados na Fig. 6.13, de acordo com a metodologia discutida na § 5.8. Os gráficos 6.13a e 6.13b são, respectivamente, os resultados de uma das triplicatas do grupo controle e uma das triplicatas do grupo VIP1, submetidos ao campo magnético por 500s. Nestes gráficos, estão confrontados os sinais de fluorescência do PI (PerCP-Cy5-5-A), contra a fluorescência FITC (FITC-A).

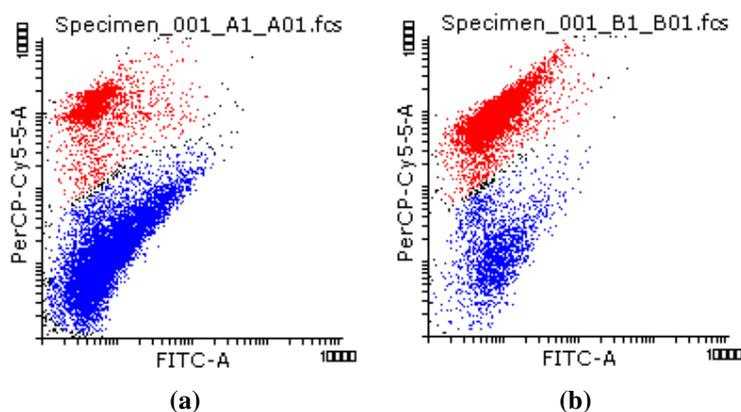


Figura 6.13 – Exemplo de medidas obtidas no citômetro de fluxo. Figuras (a) e (b) são os dados referentes as medidas de fluorescência do PI do grupo controle e do VIP1 submetidas a um campo de 200Oe por 500s, respectivamente.

Seguindo a metodologia (§ 5.8), selecionamos duas populações que foram marcadas com as cores vermelha para células mortas e azul para células vivas. Nos resultados mostrados em Fig. 6.13a e Fig. 6.13b, vemos que, qualitativamente, o número de células mortas é maior na presença da VIP1. Quantitativamente, calculamos a porcentagem de eventos em cada população e determinamos as porcentagens de células vivas e mortas. Finalmente, esta metodologia foi aplicada aos outros 46 poços.

Baseado nestas duas populações, podemos analisar os resultados do confronto entre os sinais espalhado (SSC-A) com o transmitido (FSC-A), mostrados nos gráficos da Fig. 6.14.

Novamente, os gráficos 6.14a e 6.14b se referem respectivamente a uma das triplicatas do grupo

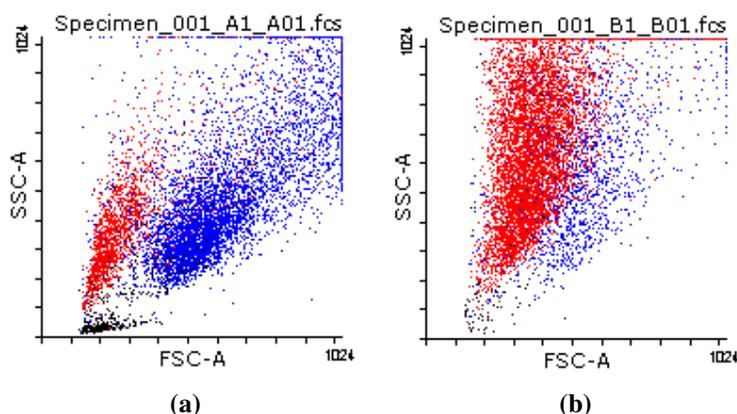


Figura 6.14 – Exemplo de medidas obtidas no citômetro de fluxo. Figuras (a) e (b) são os dados referentes as medidas de fluorescência do PI do grupo controle e do VIP1 submetidas a um campo de 200Oe por 500s, respectivamente.

controle da VIP1 submetidas a um campo magnético por 500s. Qualitativamente, podemos observar uma mudança no sinal espalhado para o grupo tratado com a VIP1. Associamos esta resposta à presença das VIPs junto à célula, pois a presença das VIPs deve aumentar a granularidade e consequentemente, espalhar mais luz. Vemos também, que estes eventos com maior sinal SSC-A, é a população marcada em vermelho, definida no gráfico de fluorescência, corroborando a correlação direta de interação com a VIP e morte celular.

A média das triplicatas das duas populações, vermelha e azul, foram usadas para gerar uma média que, juntamente com o desvio padrão respectivo, compõem o gráfico mostrado na Fig. 6.15. Nele observamos os grupos: controle em cinza; VIP1 em **vermelho**; VIP3 em **azul**; e VIP6 em **verde** e o percentual de células mortas para os diferentes tempos de exposição ao campo magnético.

A primeira análise que podemos fazer sobre estes dados se refere apenas ao grupo controle em cinza. Podemos observar no gráfico **a** da Fig. 6.15 que de fato existiu um stress sobre as células, proporcional ao tempo de aplicação do campo. Primeiramente, isto confirma que as VIPs não são citotóxicas, mas além disso, como o campo aplicado respeitou os limites de $H \cdot f = 5 \times 10^9 \text{ A/ms}$ ^[13, 21–24], associamos este efeito somente à falta de isolamento térmico. Desta forma, a ineficiência no resfriamento da bobina, fez com que as células fossem expostas a pequenos períodos de aquecimento, o que de fato, foi observado, pois para períodos mais longos de exposição a temperatura no poço chegou a 50°C. O que evidentemente, deve estressar as células e causar a morte de parte da população.

De qualquer forma, é fácil identificar que a presença das partículas potencializou a morte celu-

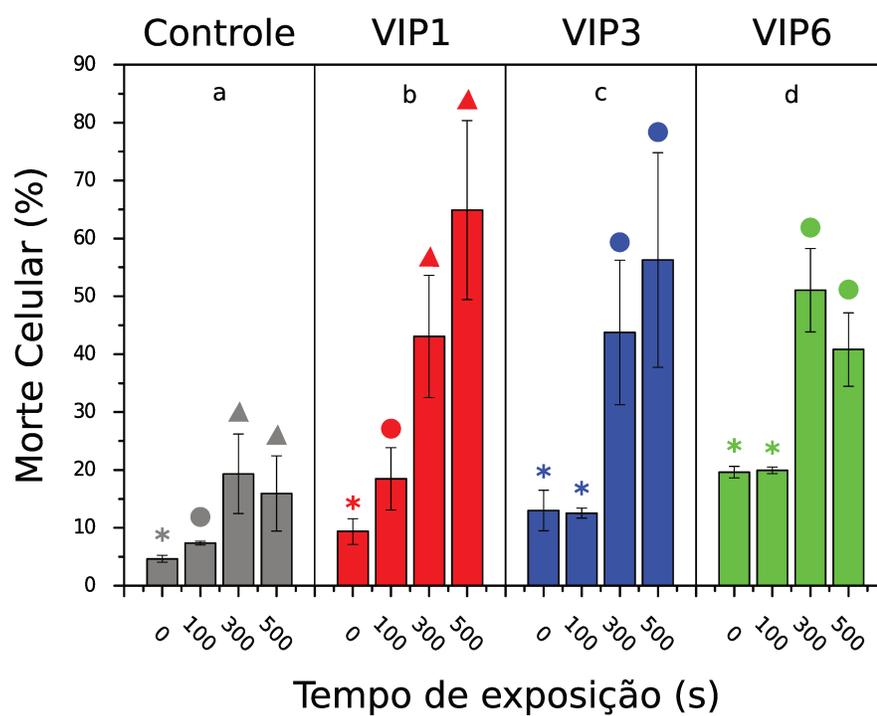


Figura 6.15 – Resultado do experimento de Hipertermia in vitro com os grupos controle representado em cinza, o VIP1 em *vermelho*, o VIP3 em *azul* e o VIP6 em *verde*. A porcentagem de células mortas é mostrada como função dos diferentes tempos de exposição ao campo magnético de 200Oe e os símbolos colocados sobre as barras mostram quais valores de morte celular são estatisticamente diferentes dentre o mesmo grupo.

lar. Ao compararmos qualquer um dos grupos tratados identificaremos que a utilização da VIP em presença do campo magnético causou muito mais morte que apenas a presença das partículas sem a aplicação do campo (ou tempo de exposição zero).

Se observarmos com maior cuidado, veremos também que o comportamento dos grupos tratados apresentam uma tendência de aumento, porém devido ao desvio observado nas triplicatas não é possível afirmar isto. Sobre cada uma das barras estão marcados símbolos (asterisco, círculo e triângulo) que distinguem, dentro de um mesmo grupo, quais taxas de morte celular são estatisticamente diferentes. Trata-se de um teste-t de Student que foi usado para distinguir quais taxas de morte são estatisticamente diferentes. Se nos basearmos nas análises estatísticas representadas pelos símbolos sobre as barras, veremos que para os tempos mais longos de 300 e 500s não existe diferença estatisticamente relevante entre eles. O mesmo pode ser concluído para os grupos VIP3 e VIP6 com exposições de 0 e 100s; por outro lado, como a resposta em VIP1 é semelhante ao grupo controle, acreditamos que para estes tempos iniciais o comportamento em VIP3 e VIP6 é muito mais devido à citotoxicidade do que ao efeito do campo.

Não obstante, a semelhança estatística para os dois tempos mais longos pode significar que o efeito do campo é saturável, apontando para algum tipo de saturação que limita o efeito das partículas. Além disso, acreditamos que diferentemente do trabalho de Kim *et al.*^[37], a falta de aquecimento observada devido ao campo magnético se deve exclusivamente à concentração das partículas, pois nas mesmas condições de campo (200Oe) e frequência (313kHz), mas uma concentração maior de partículas, observamos uma taxa de aquecimento (Tabela 6.5). Por conta disso, o sucesso observado no experimento pode ser atribuído a algum tipo de aquecimento localizado, que afeta as células, mas não é suficiente para aquecer todo o meio de cultura.

6.4.3 Microscopia Ótica

No decorrer dos experimentos de citotoxicidade e hipertermia *in vitro*, é rotina observar as células através de um microscópio ótico convencional. Durante estas inspeções, observamos que as partículas se acumulavam sobre as células. Para melhor observar este efeito, células de osteosarcoma denominadas U2OS foram tratadas e fixadas em lâminas a fim de serem analisadas no microscópio de fluorescência confocal discutido anteriormente (§ 5.9).

Na Figura 6.16, são apresentadas uma série de imagens obtidas neste microscópio. Em 6.16a;b, é possível observar a imagem de fluorescência azul do marcador de núcleo (DAPI) para células con-

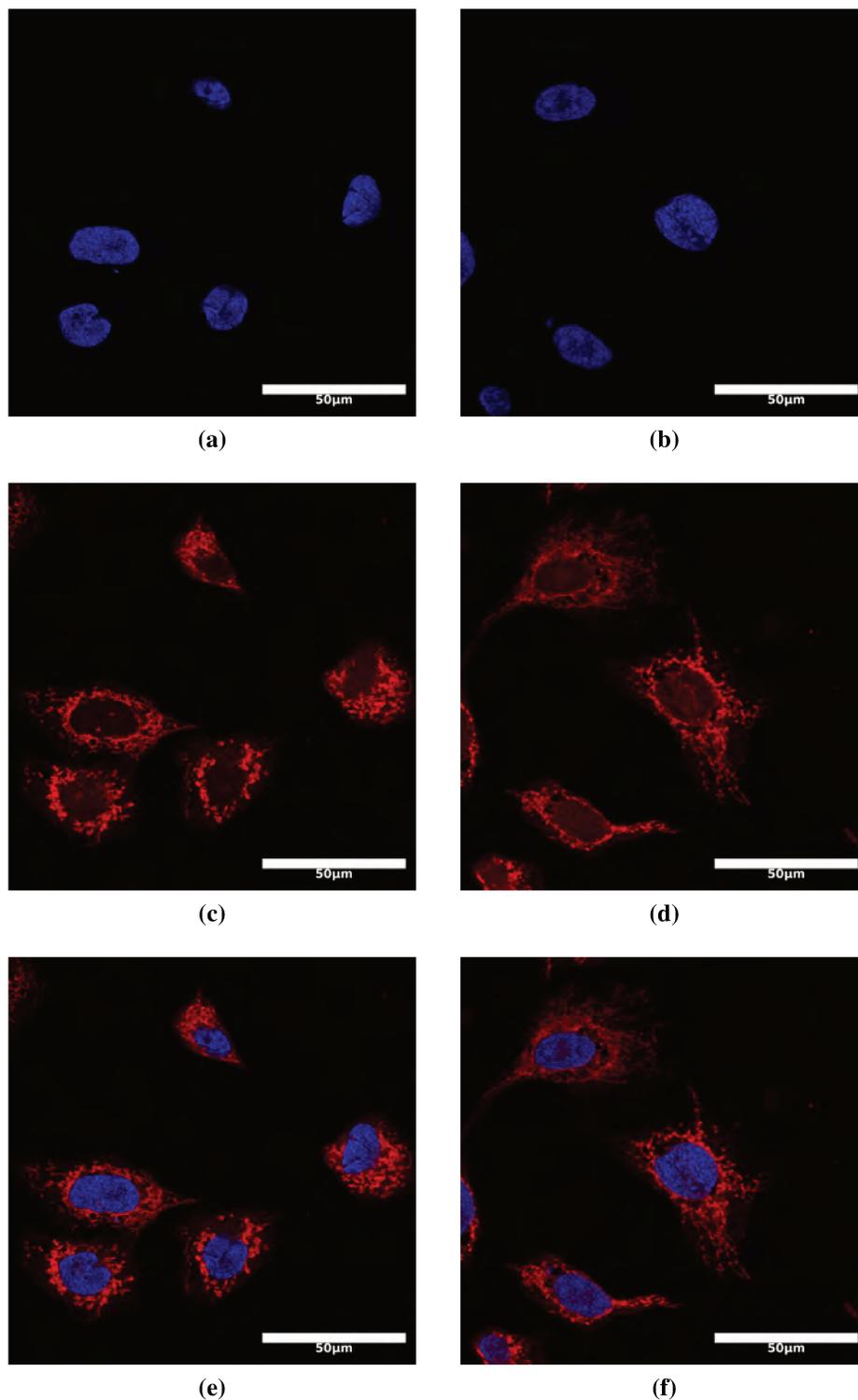


Figura 6.16 – Imagens de fluorescência obtidas por microscopia confocal: Fig. 6.16a,b imagens de fluorescência do marcador de núcleo (DAPI) para células controle e tratadas com VIP3, respectivamente; Fig. 6.16c,d imagens de fluorescência vermelha do marcador de mitocôndria MitoTracker® para células controle e tratadas com VIP3, respectivamente; Fig. 6.16e,f sobreposição das imagens de fluorescência.

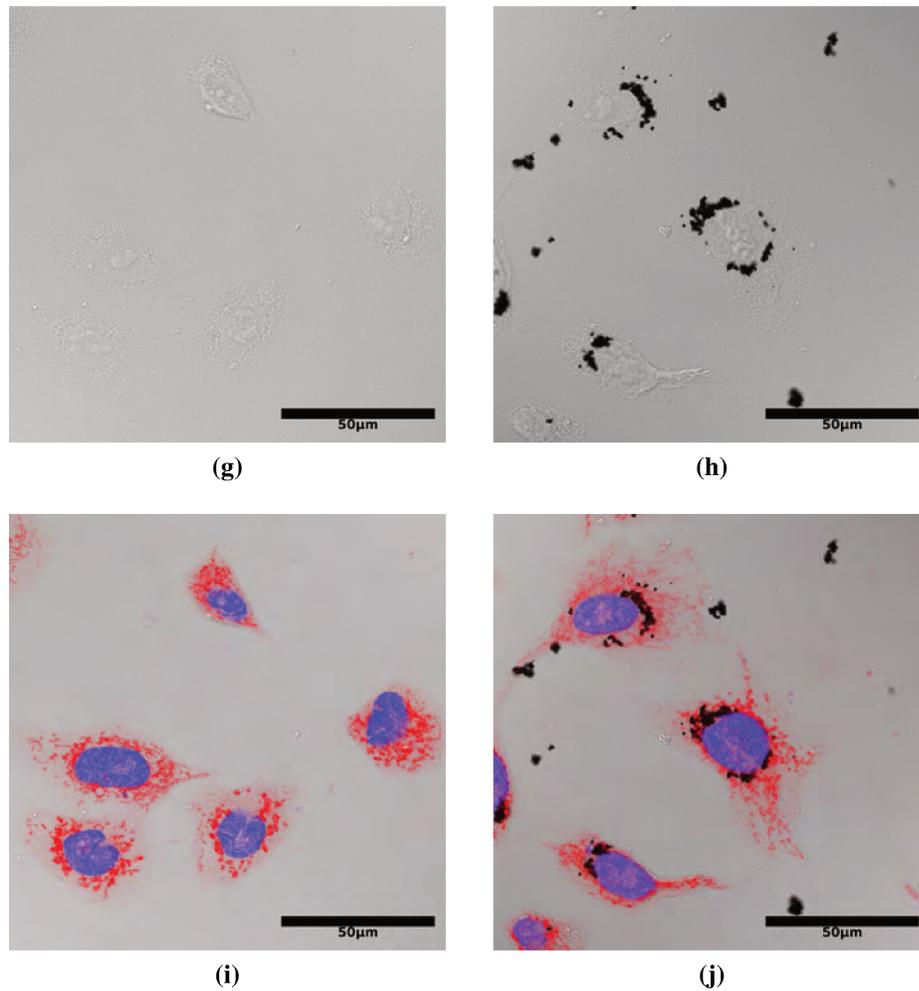


Figura 6.16 – Imagens de transmissão obtidas por microscopia confocal: Fig. 6.16g;h imagens de DIC para células controle e tratadas com VIP3, respectivamente. Fig. 6.16i;j sobreposição das imagens de fluorescência (6.16e;f) e DIC (6.16g;h).

trole e tratadas com VIP3, respectivamente; em 6.16c;d, a imagem de fluorescência vermelha do marcador de mitocôndria MitoTracker® para células controle e tratadas com VIP3, respectivamente; em 6.16e;f a sobreposição das imagens mostradas anteriormente.

Nas imagens 6.16g;h, uma imagem de DIC (Diferential Interference Contrast) para células controle e tratadas com VIP3, respectivamente. Nestas, se pode ver as partículas aglomeradas no citoplasma formando regiões de alta densidade que ocasionam as cores pretas na imagem. Em 6.16i;j a sobreposição das imagens de fluorescência (6.16e;f) e DIC (6.16g;h).

Apesar de não serem as mesmas células usadas no experimento de hipertermia *in vitro*, observamos a mesma tendência de internalização das partículas. Além disso, por serem células maiores que as células HEK utilizadas anteriormente, é possível distinguir que as partículas se acumulam principalmente próximas ao núcleo da célula. Isto evidencia que os mecanismos de internalização devem, até certo ponto, ser controlados pela célula, uma vez que a estruturação das partículas não é aleatória no citoplasma^[88, 121, 122]. Porém, não é possível afirmar qual as vias e organelas envolvidas no processo de internalização, uma vez que nenhum estudo foi conduzido neste sentido. Afirmamos apenas, que as vias de internalização das VIP neste experimento são, muito provavelmente, diferente dos SPIONs convencionais. Uma vez que fatores como tamanho, potencial na superfície e recobrimento são determinantes nas vias de internalização celular, o fato das VIPs testadas serem completamente diferentes dos SPIONs implicará em dias e dinâmicas de internalização diferenciadas.

6.4.4 Considerações finais: Eficiência das partículas

Através das imagens de microscopia, podemos concluir que a eficiência na morte celular por hipertermia magnética é intimamente ligada à capacidade da partícula de ser internalizada. Sendo assim, podemos argumentar a hipótese de que as células saturam a internalização das partículas, construída a partir dos dados de hipertermia *in vitro* (Fig. 6.15), poderia ser suportada. Uma vez que a morte celular se deve somente a internalização das partículas é plausível imaginar que nem todas as células irão internalizar partículas suficientes para serem afetadas pelo campo. Diferentemente das partículas sintetizadas por Kim *et al.*^[37], as VIP internalizadas irão aquecer a célula localmente, sendo assim, tendo atingido o tempo crítico, estas VIP internalizadas irão atingir uma temperatura crítica causando a morte das células. Isto é observado no salto de contagens para o tempo de 300s. Após este momento, restará apenas as células que não internalizaram e que são mais resistentes ao

campo e por isso não contribuiriam de forma efetiva para a contagem de células mortas.

Explorando ainda mais essa hipótese podemos inferir qual seria a concentração de partículas dentro da célula. Os resultados mostrados na Fig. 6.15 mostram que praticamente não existe diferenças entre as três partículas testadas no que diz respeito à eficiência de morte a 300s. Com isso, podemos assumir uma taxa de aquecimento igual para as partículas. Assumindo 50°C como temperatura suficiente para morte celular, partindo da temperatura ambiente, teremos uma taxa de aquecimento dada pela equação eq. (6.1):

$$\left[\frac{dT}{dt} \right]_{cell} = \frac{25}{300} \text{ K/s.} \quad (6.1)$$

Além disso, definimos a grandeza adimensional $M = \frac{m_{VIP}}{m_{VIP} + m_{solvente}}$ como o percentual de massa de partículas. Com isso podemos redefinir o SAR como função de M_{VIP} :

$$SAR = \frac{1}{M} C \left[\frac{dT}{dt} \right]. \quad (6.2)$$

Em seguida, como o meio celular é predominantemente água, podemos aproximá-lo por água e, conseqüentemente considerar o calor específico C usado no cálculo do SAR como sendo o mesmo, tanto no experimento *in vitro*, quanto no experimento de caracterização. Finalmente, se retomarmos as medidas de caracterização das partículas, veremos que o único mecanismo de aquecimento é o que denominamos como perda histerética. Este mecanismo é intrínseco da partícula e não depende da vizinhança ou de seus graus de liberdade. Logo, podemos assumir que o SAR obtido na caracterização das partículas irá ser o mesmo para o experimento *in vitro*: $SAR_{cell} = SAR$, o que implica na equação eq. (6.3)

$$\frac{1}{M} C \left[\frac{dT}{dt} \right] = \frac{1}{M} C \left[\frac{dT}{dt} \right]_{cell}. \quad (6.3)$$

Assim sendo, podemos calcular a porcentagem de massa M para as três partículas testadas. Na Tabela 6.6, temos um resumo dos valores calculados e também dos valores para as soluções usadas nas caracterizações das medidas e da usada no tratamento das células.

Primeiramente, destacamos a diferença nas concentrações da solução usada na caracterização e no tratamento das células. Esta diferença de 10 vezes, não permitiria ser observado qualquer aquecimento devido à presença das partículas. Paralelamente, a análise também mostrou que a

Tabela 6.6 – Resumo dos valores calculados da porcentagem de massa M .

Nanopartícula	Porcentagem de Massa M [%]
Solução para caracterização ($\frac{2\text{mg}}{2\text{ml}}$)	0,1
Solução para tratamento das células ($\frac{100\mu\text{g}}{1\text{ml}}$)	0,01
VIP1 nas células	0,07
VIP3 nas células	0,08
VIP6 nas células	0,07

concentração no interior das células pode chegar a ser até oito vezes maior que a administrada. Esta estimativa é coerente ao observado na microscopia confocal, mas principalmente com os resultados da hipertermia *in vitro* da Fig. 6.15, onde foi registrado uma boa morte celular associada à presença das partículas, mesmo não se registrando aquecimento devido às mesmas.

Por fim, concluímos que as partículas desenvolvidas no trabalho não só tem uma morfologia que favorece a formação de vórtices magnéticos como também, que esta mesma morfologia permite a internalização destas por células de mamífero. Com isso, potencializamos ainda mais o efeito de hipertermia magnética, ao mesmo tempo que alcançamos uma capacidade de localização na entrega do calor.

6.5 Recobrimento de VIP1 por AFM

Na tentativa de sintetizar um sistema como o simulado em § 3.4, foram realizados diversos experimentos. Nesta última seção, iremos apresentar dois métodos que apresentaram algum tipo de resultado, mas que infelizmente não alcançaram o objetivo final proposto.

6.5.1 Resultados obtidos com a deposição por *sputtering* em pó

Depois da deposição por *sputtering* (§ 4.2.1), todas as amostras eram primeiramente caracterizadas por magnetometria SQUID na esperança de observar alguma mudança quanto à coercividade, o que indicaria uma anisotropia a favor do estado de vórtice magnético, e/ou uma mudança na magnetização de saturação, uma vez que estaríamos introduzindo uma massa não magnética na amostra.

No entanto, nenhum dos testes com os diferentes alvos e condições experimentais apresentaram

alguma mudança significativa na curva de histerese das VIP1. Para o caso dos alvos cerâmicos, acreditamos que este resultado se deve principalmente à baixa taxa de deposição típica destes tipos de materiais.

Quanto à liga de ferro/manganês, os resultados também não foram positivos, mas acreditamos que além de não termos atingido uma taxa de deposição satisfatória, a instabilidade química da liga pode ter causado a oxidação do material depositado uma vez que este ficava exposto ao ar depois de pronto. Por fim, os testes com os alvos de *IrMn* também não apresentaram resultados nas medidas de magnetometria.

De qualquer forma, a amostra feita com potência de deposição de 200 W e tempo de deposição de 60 min foi levada para ser analisada por TEM, onde foi possível fazer uma análise de espectroscopia por dispersão de energia de raios X, ou do inglês *Energy-dispersive X-ray spectroscopy* (EDS), e obter as imagens espectroscópicas mostradas na Fig. 6.17.

É possível observar nas imagens que a técnica de deposição por *sputtering* foi capaz de recobrir parte das partículas com a liga AFM. Porém, nesta mesma sessão de microscopia foi possível constatar que esta partícula não é representativa, uma vez que poucas foram as partículas que tinham algum tipo de recobrimento. Ou seja, acreditamos que a falha na resposta magnética foi para todos os casos a baixa eficiência na deposição do método para este tipo de sistema.

6.5.2 Resultados para recobrimento com Nanoestruturas de hidróxidos

Na segunda tentativa para criação de algum AFM em torno de VIP feita a partir da deposição de nanopartículas de hidróxidos na superfície das partículas (§ 4.2.2). A caracterização magnética mostrou que a magnetização de saturação caiu consideravelmente, indicando que boa parte da massa adicionada à VIP1 original não contribuiu para magnetização da amostra. Na Fig. 6.18, temos tanto a curva de magnetometria medida para a amostra hemaIr@CoO e a mesma curva mostrada na Fig. 5.10 da amostra VIP1 para comparação, ambas as medidas em temperatura ambiente.

Além da magnetização de saturação, a curva mostra um aumento na coercividade da amostra. Infelizmente, esta curva de magnetometria foi a única caracterização feita na amostra hemaIr@CoO , o que impede quaisquer conclusões definitivas. Porém, o aumento do campo coercivo da amostra pode ser atribuído à formação de partículas de ferrita de cobalto^[95], pois devido ao tratamento térmico e a instabilidade química da magnetita a altas temperaturas, é possível que alguns íons de cobalto tenham reagido com as partículas de magnetita, formando a ferrita.

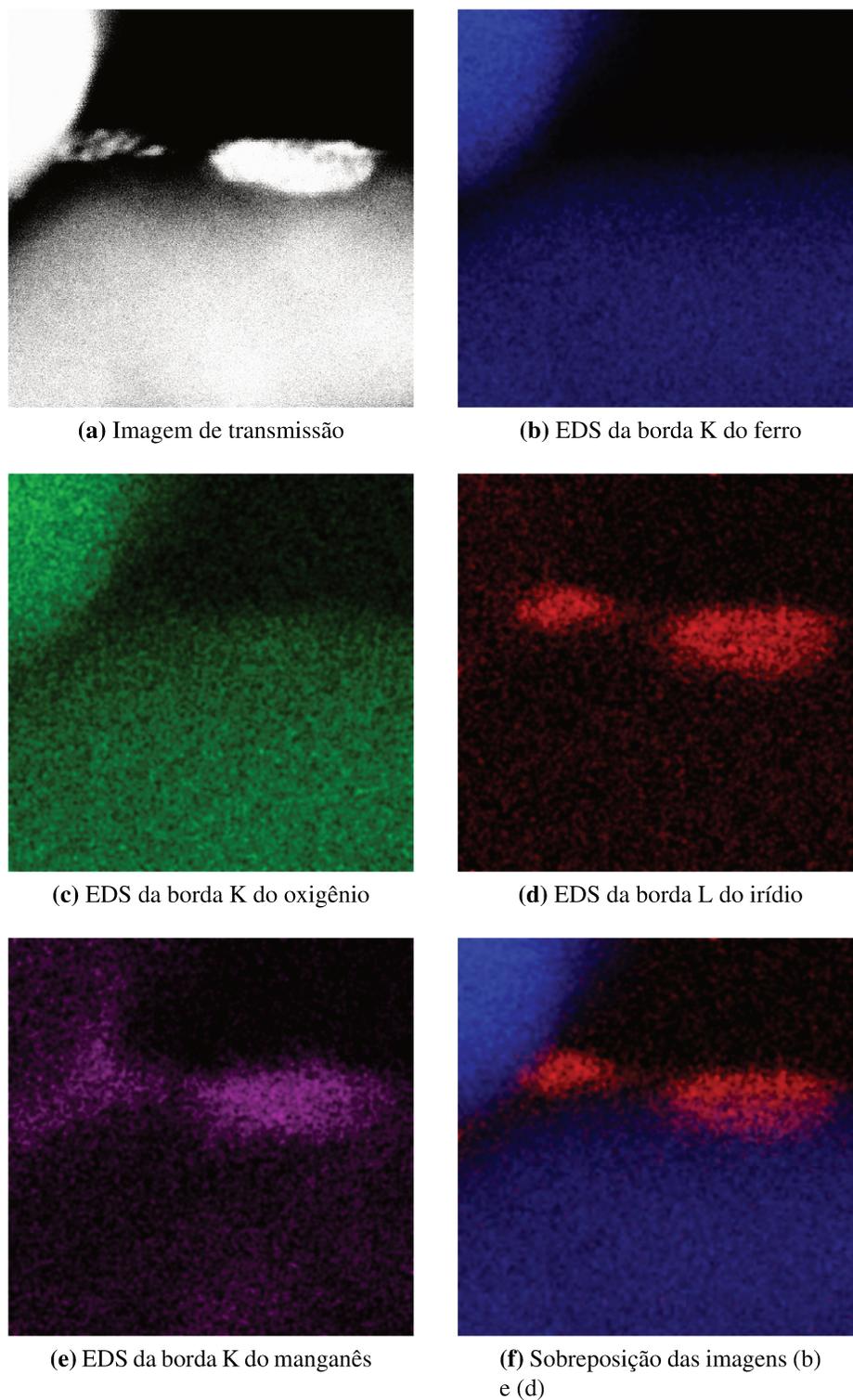


Figura 6.17 – Imagem de TEM e espectroscopia EDS da partícula VIP1 recoberta com IrMn: Imagem (a) imagem de transmissão de campo claro. Imagem (b) é proporcional ao sinal da borda K do ferro; imagem (c) é proporcional ao sinal da borda K do oxigênio; imagem (d) é proporcional ao sinal da borda L do irídio; imagem (e) é proporcional ao sinal da borda K do manganês; e imagem (f) é a sobreposição das imagens (b) e (d).

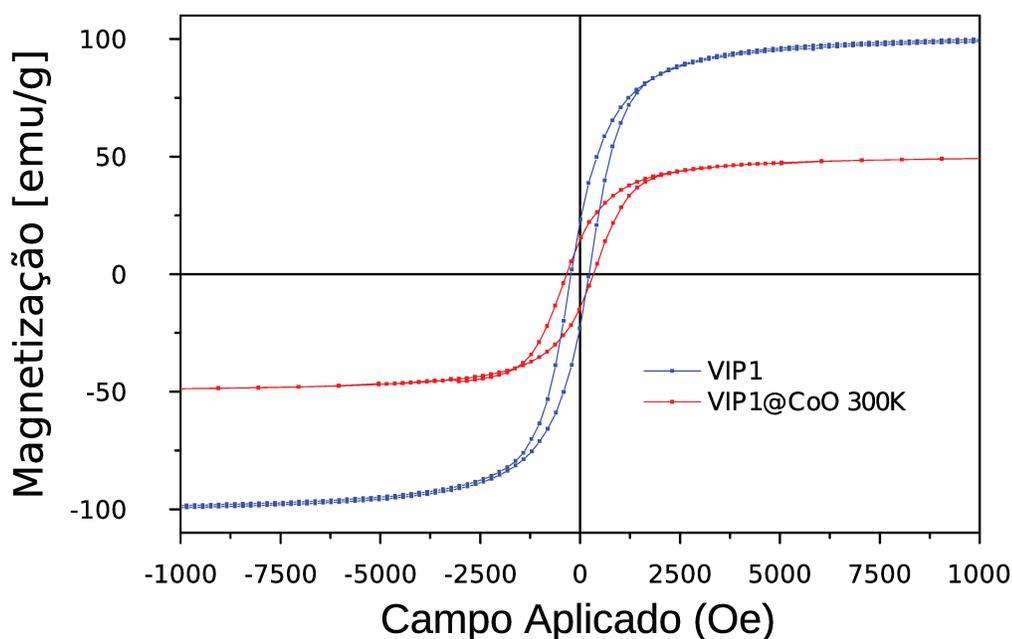


Figura 6.18 – Histerese medida a 300K para a amostra VIP1 e VIP1@CoO.

Um pequeno estudo em função da temperatura também foi realizado, e é mostrado na Fig. 6.19. Estas curvas foram normalizadas por M_s para comparação e no detalhe temos uma ampliação da região de magnetização nula.

Como a temperatura de 20K é bem abaixo da temperatura de Néel dos óxidos de cobalto, podemos garantir que a mudança na curva de histerese se deve ao efeito AFM das nanopartículas em torno da VIP1. Na curva de resfriamento a campo nulo (ZFC), o óxido de cobalto está acoplado ao estado magnético original da VIP1 como se esperava alcançar. Porém, infelizmente, a forma da curva não apontou para uma maior reversibilidade em favor do vórtice.

Para verificar a existência do acoplamento de *Exchange Bias*, realizamos a medida de resfriamento com campo (FC). Esta histerese, como podemos ver no detalhe, realmente apresentou um deslocamento de ≈ 78 Oe, mostrando que de fato foi possível criar um acoplamento de *Exchange Bias* entre a VIP1 e as nanoestruturas de óxido de cobalto.

Estes resultados ainda são inconclusivos e necessitam de experimentos para caracterização química e morfológica. No entanto, acreditamos que a concentração de óxido de cobalto ainda está abaixo do ideal e o procedimento de termólise do hidróxidos de cobalto ainda pode ser aprimorado, preservando a magnetita. Destacamos também, que maiores modificações são necessárias ao procedimento para a aplicação voltada para hipertermia magnética. Seria necessário mudar o óxido de recobrimento para um AFM em temperatura ambiente como o óxido de níquel e um possível

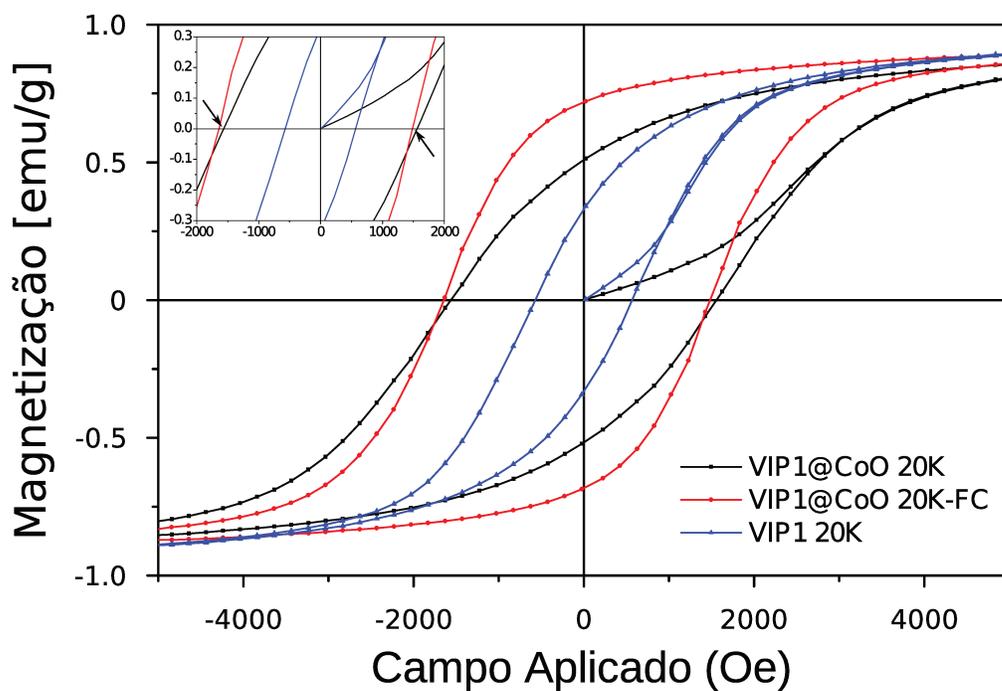


Figura 6.19 – Histerese a 20K normalizada por M_s para a amostra VIP1 e VIP1@CoO.

tratamento térmico de resfriamento sem campo para o acoplamento de *Exchange Bias*.

7 *Conclusões finais*

Neste trabalho, mostramos os resultados no desenvolvimento de partícula do tipo *Vortex Iron oxide Particles* ou VIP, sintetizadas por vias hidrotérmicas e voltadas à aplicações em hipertermia magnética. Genericamente, a hipertermia magnética consiste em utilizar partículas magnéticas em conjunto com um campo magnético, para aquecer o corpo ou região que se deseja tratar. Esta técnica tem se tornado uma forte promessa no tratamento de doenças, principalmente do câncer^[7, 80–82], uma vez que as células do tecido tumoral são mais sensíveis a altas temperaturas. Além disso, estudos apontam para uma sinergia entre a quimioterapia convencional e a hipertermia^[7, 79] apontam para partículas magnéticas que não só seriam capazes de entregar um aquecimento localizado e controlado mas poderia entregar fármacos.

Tabela 1 – Pré-requisitos de partículas magnéticas para uso em hipertermia magnética

- I Biocompatibilidade e baixa citotoxicidade, para fins de aplicação biomédica^[6];
 - II Baixa remanência magnética, para que a interação dipolar entre as partículas não cause aglomeração, evitando entupimento e/ou trombose;
 - III Baixo campo magnético de saturação, possibilitando o tratamento com campos magnéticos biocompatíveis;
 - IV Alta magnetização de saturação, objetivando alto **SAR**;
 - V Alto **SAR** minimizando a dose ministrada para o tratamento;
-

Neste contexto, o desenvolvimento de partículas magnéticas específicas para hipertermia magnética constitui uma grande contribuição no desenvolvimento da técnica. Sendo assim, apontamos 5 pré-requisitos na Tabela 1 que devem ser satisfeitos no desenvolvimento e aprimoramento destes novos nanocompósitos.

Tendo isto em mente, o trabalho se propôs a estudar a viabilidade de partículas no estado de vórtice magnético. Este estado magnético faria com que a partícula não só satisfaça os pré-requisitos apresentados, como também tenha uma resposta superior aos SPIONs^[13, 78] convencionais. Na literatura^[32, 94–97], encontramos partículas magnéticas de magnetita na forma de cilindros, e que apresentam o estado de vórtice. Sendo assim, adotamos estas partículas como base para os experimentos realizados.

Além disso, também concebemos uma estratégia que permitiria manipular a resposta magnética a fim de aprimorar a geração de calor por parte da VIP. Em um estratégia inspirada nos trabalhos de Lee *et al.*^[78] e nos de Sort *et al.*^[34–36], a VIP seria recoberta por material antiferromagnético, criando um sistema VIP@AFM que ao explorar o fenômeno de *Exchange Bias*, aumentaria a anisotropia magnética a favor do vórtice magnético e seu SAR.

Nos primeiros resultados apresentados, simulamos o comportamento micromagnético das partículas de magnetita. Graças a estas simulações foi possível visualizar e compreender a dinâmica dos momentos magnéticos das VIPs e como isto se reflete na remanência nula do estado de vórtice em medidas macroscópicas. Com isto, mostramos claramente que as VIPs concebidas satisfazem o pré-requisito II ao mesmo tempo que apresentam a histerese magnética, fundamental para o pré-requisito IV de alto SAR.

No entanto, as simulações revelaram o mesmo problema de irreversibilidade do vórtice observado por Yang *et al.*^[31]. Este problema, presente em algumas morfologias das VIPs, poderia comprometer o pré-requisito II em amostras polidispersas. No entanto, também concebemos a estratégia para contornar este problema. Realizamos estudos simulando o recobrimento de uma VIP por um material antiferromagnético, que, através do fenômeno de *Exchange Bias*, não só tornou o vórtice magnético mais estável, como também mostrou que aumentaria o SAR de um conjunto de VIPs polidispersa.

Nos experimentos seguintes, discutimos as diversas rotas para sínteses das partículas estudadas no trabalho. Iniciamos com a síntese, por vias hidrotérmicas, de partículas cilíndricas na fase do óxido de ferro α - Fe_2O_3 (Hematita). Mostramos como a adição de sais contendo fosfato (PO_4^{3-}) e

sulfato (SO_4^{4-}), à reação hidrotérmica, possibilitam controlar a morfologia da partícula, o que nos permitiu sintetizar desde partículas com o formato de nanoanel até partículas no formato de nanotubos. Em seguida, estas partículas foram reduzidas, passando de Hematita a Magnetita (Fe_3O_4), sem comprometer sua morfologia inicial e tornando-se uma VIP. Além disso, também desenvolvemos um processo inédito para síntese de nanotubos de ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$), por meio da oxidação da magnetita e impregnação com Cobalto-acetilacetato.

As análises feitas por SEM, mostraram que a morfologia das VIPs apresentam as dimensões necessárias para a formação de um estado de vórtice magnético. E, embora, por meio das medidas de magnetometria não tenhamos sido capazes de observar nas amostras uma remanência nula, os resultados de simulação micromagnética e as imagens de SEM, sugerem que isto se deve a presença de partículas não cilíndricas na amostra. Uma vez que, partículas não cilíndricas não formam vórtice magnético e impedem uma medida de remanência nula. De qualquer forma, o valor de campo coercivo inferior a 230 Oe das amostras, também mostrou que campos com poucas dezenas de Oersted são capazes de polarizar a amostra, característica pertinente ao pré-requisito III.

Em seguida, os experimentos de XANES e XPD demonstram que as VIPs sintetizadas são principalmente constituídas de magnetita. Esta fase do óxido de ferro, dentre os demais óxidos de ferro encontrados, é o que apresenta as melhores características magnéticas, ou seja, suas propriedades maciças de magnetização de saturação e campo magnético de saturação são as maiores e menores, respectivamente e, com isto, satisfazendo os pré-requisito magnético III e item IV.

Por fim, quantificamos a eficiência das VIPs para hipertermia magnética e observamos que os valores de SAR observados foram superiores aos dos SPIONs convencionais, característica pertinente ao pré-requisito IV e esperada devido aos processos de perdas histeréticas inerentes às VIPs.

Passando aos experimentos *in vitro*, iniciamos com experimentos de citotoxicidade, para avaliar se as VIPs satisfazem o pré-requisito I de Biocompatibilidade. Observamos que as VIPs não apresentam citotoxicidade para células de mamíferos. Sendo assim, no experimento seguinte, avaliamos a resposta da hipertermia magnética em células de mamíferos quando tratadas com as VIPs. Os resultados mostraram que, quando expostas a um campo magnético alternado, as partículas são capazes de promover a morte celular de forma extremamente localizada. Pois, como observada por microscopia de fluorescência confocal, as VIPs são internalizadas pelas células. Observamos que a concentração de VIPs no interior das células chegou a ser oito vezes maior que a concentração administrada à cultura, algo que provavelmente só aconteceu devido ao tamanho e morfologia da

partícula.

Com isto, embora carente de maiores otimizações, concluímos os testes de viabilidade e elaboração de VIPs voltadas para hipertermia magnética.

Paralelamente, também fizemos inúmeros testes visando a implantação de um recobrimento antiferromagnético nas VIPs sintetizadas, visando o controle e aprimoramento da resposta magnética. No entanto e infelizmente, estes experimentos não alcançaram o objetivo de manipulação da resposta histerética. Mesmo tendo adquirido um conhecimento minucioso no comportamento magnético por meio das diversas simulações micromagnéticas realizadas, o modelo idealizado e simulado ficou muito além do que foi efetivamente sintetizado.

A técnica de deposição do antiferromagnético por *sputtering*, não alcançou o rendimento necessário para recobrir as VIPs. E embora tenhamos observado na microscopia de transmissão algumas nanopartículas de material antiferromagnético aderidos a VIP, a quantidade de nanopartículas foi muito pequena e, por isso, não foi possível, nem ao menos, avaliar se o material antiferromagnético depositado de fato se acoplou magneticamente à VIP.

Já no que diz respeito a rota química que utilizou o hidróxido de cobalto, podemos afirmar que os resultados foram promissores. De fato, conseguimos alterar a curva de histerese medida com resfriamento sem campo, e um campo de *bias* medido no resfriamento com campo. No entanto, maiores caracterizações e estudos ainda precisam ser feitos para que algo possa ser concluído.

8 *Perspectivas*

Para experimentos futuros, vislumbramos a necessidade de um maior controle da polidispersão, mas principalmente, um controle na qualidade da morfologia cilíndrica das partículas. Isto reduziria a coercividade observada nas curvas de magnetometria, tornando as partículas ainda mais biocompatíveis. Paralelamente, estratégias, tais como funcionalização da superfície de uma VIP, aprimorariam sua estabilidade e além de modificar a interação da VIP com a célula. Dentro desta mesma linha, destacamos as funcionalizações com Dextran ou PEG, que fizeram do SPION um medicamento para humanos aprovado pelo FDA americano. Nesta mesma linha, maiores testes *in vitro*, seguido de testes *in vivo*, permitiriam o avanço do conceito das VIPs para uma aplicação efetiva em humanos com o desenvolvimento de protocolos de tratamento.

Evidentemente, outras funcionalizações utilizando marcadores e/ou antígenos também poderiam ser testadas como uma boa estratégia para potencializar a partícula. No entanto, acreditamos, que o uso do volume interno da partícula (ou seja, o furo do cilindro) exploraria a morfologia da partícula de forma muito mais original e eficiente. Além de ser essencial para o estado de vórtice magnético, o furo da partícula fornece um volume morto que pode ser preenchido com qualquer material não magnético. Esta cavidade, além de proteger seu conteúdo, será, na presença do campo, fortemente afetada pelo calor gerado pela partícula, e graças ao processo de aquecimento por perda histerética, este aquecimento é independentemente do meio externo da partícula. Com isto, a sinergia entre quimioterapia e hipertermia poderia ser explorada por uma única partícula com capacidade de *Drug Delivery*.

Com relação aos experimentos realizados para manipulação da resposta histerética, os resultados obtidos com o recobrimento por óxido de cobalto (ii) mostraram-se muito promissores, e evidentemente são uma excelente linha de pesquisa para o estudo fundamental das VIPs. Acreditamos que um estudo como função da concentração do hidróxido é um passo lógico que permitiria determinar a dinâmica de formação da camada antiferromagnético no entorno da VIP. E dessa

forma, criar um sistema muito rico para estudos fundamentais de micromagnetismo em partículas com vórtice magnético.

Outros materiais magnéticos e técnicas para síntese, poderiam ser utilizados para confecção de partículas em estado de vórtice recobertas com diferente material antiferromagnético. Porém, acreditamos que o desenvolvimento de um recobrimento por material antiferromagnético com temperatura de Néel acima da temperatura ambiente permitiria, finalmente, avaliar o desempenho de estruturas do tipo VIP@AFM para hipertermia magnética. Neste caso, especulamos que o óxido de níquel, que tem temperatura de Néel acima da ambiente, poderia ser adaptado à rota utilizada para o óxido de cobalto (ii) na confecção de uma VIP@AFM.

Referências Bibliográficas

- 1 RIEHEMANN, K. et al. Nanomedicine—challenge and perspectives. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, v. 48, n. 5, p. 872–97, jan. 2009.
- 2 ROZHKOVA, E. a. Nanoscale materials for tackling brain cancer: recent progress and outlook. *Advanced materials*, v. 23, n. 24, p. H136–50, jun. 2011.
- 3 NIKIFOROV; VLADIMIR, N. Biomedical Applications of Magnetic Nanoparticles. In: GUBIN, S. P. (Ed.). *Magnetic Nanoparticles*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009. p. 393 – 455. ISBN 9783527627561.
- 4 LIU, G. et al. Applications and potential toxicity of magnetic iron oxide nanoparticles. *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, v. 9, n. 9-10, p. 1533–45, maio 2013.
- 5 LING, D.; HYEON, T. Iron Oxide Nanoparticles: Chemical Design of Biocompatible Iron Oxide Nanoparticles for Medical Applications (Small 9-10/2013). *Small*, v. 9, n. 9-10, p. 1449–1449, maio 2013.
- 6 LEWINSKI, N.; COLVIN, V.; DREZEK, R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, v. 4, n. 1, p. 26–49, jan. 2008.
- 7 REDDY, L. H. et al. Magnetic nanoparticles: design and characterization, toxicity and biocompatibility, pharmaceutical and biomedical applications. *Chemical reviews*, v. 112, n. 11, p. 5818–78, nov. 2012.
- 8 SELVAN, S. et al. Synthesis of Silica-Coated Semiconductor and Magnetic Quantum Dots and Their Use in the Imaging of Live Cells. *Angewandte Chemie*, v. 119, n. 14, p. 2500–2504, mar. 2007.
- 9 ROSEN, J. E. et al. Iron oxide nanoparticles for targeted cancer imaging and diagnostics. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*, Elsevier Inc., v. 8, n. 3, p. 275–90, abr. 2012.
- 10 CHOI, J. et al. Core-shell silica nanoparticles as fluorescent labels for nanomedicine. *Journal of biomedical optics*, v. 12, n. 6, p. 064007, 2013.
- 11 WAHAJUDDIN; ARORA, S. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers. *International journal of nanomedicine*, v. 7, p. 3445–71, jan. 2012.
- 12 VIVERO-ESCOTO, J. L. et al. Mesoporous silica nanoparticles for intracellular controlled drug delivery. *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, v. 6, n. 18, p. 1952–67, set. 2010.

- 13 LAURENT, S. et al. Magnetic fluid hyperthermia: focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Advances in colloid and interface science*, Elsevier B.V., v. 166, n. 1-2, p. 8–23, ago. 2011.
- 14 SALUNKHE, a. B.; KHOT, V. M.; PAWAR, S. H. Magnetic hyperthermia with magnetic nanoparticles: a status review. *Current topics in medicinal chemistry*, v. 14, n. 5, p. 572–94, mar. 2014.
- 15 STORM, F.; BAKER, H.; SCANLON, E. Magnetic induction hyperthermia. Results of a 5-year multi-institutional national cooperative trial in advanced cancer patients. *Cancer*, v. 55, p. 2677–2687, 1985.
- 16 FALK, M. H.; ISSELS, R. D. Hyperthermia in oncology. *International Journal of Hyperthermia*, v. 17, n. 1, p. 1–18, jan. 2001.
- 17 STORM, F. K. et al. Normal tissue and solid tumor effects of hyperthermia in animal models and clinical trials. *Cancer research*, v. 39, n. 6 Pt 2, p. 2245–51, jun. 1979.
- 18 HERGT, R. et al. Magnetic particle hyperthermia: nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy. *Journal of Physics: Condensed Matter*, v. 18, n. 38, p. S2919–S2934, set. 2006.
- 19 HUANG, C. et al. Magnetic micelles as a potential platform for dual targeted drug delivery in cancer therapy. *International journal of pharmaceutics*, v. 429, n. 1-2, p. 113–22, jun. 2012.
- 20 WU, A.; OU, P.; ZENG, L. Biomedical Applications of Magnetic Nanoparticles. *Nano*, v. 05, n. 05, p. 245–270, out. 2010.
- 21 HERGT, R.; DUTZ, S. Magnetic particle hyperthermia—biophysical limitations of a visionary tumour therapy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 311, n. 1, p. 187–192, abr. 2007.
- 22 LACROIX, L. et al. Magnetic hyperthermia in single-domain monodisperse FeCo nanoparticles: Evidences for Stoner–Wohlfarth behavior and large losses. *Journal of Applied Physics*, v. 105, n. 2, p. 023911, 2009.
- 23 GUARDIA, P. et al. Water-soluble iron oxide nanocubes with high values of specific absorption rate for cancer cell hyperthermia treatment. *ACS nano*, v. 6, n. 4, p. 3080–91, abr. 2012.
- 24 LIU, X. L.; FAN, H. M. Innovative magnetic nanoparticle platform for magnetic resonance imaging and magnetic fluid hyperthermia applications. *Current Opinion in Chemical Engineering*, Elsevier Ltd, v. 4, p. 38–46, maio 2014.
- 25 NAQVI, S. et al. Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *International journal of nanomedicine*, v. 5, p. 983–9, jan. 2010.
- 26 SOENEN, S. J. H.; De Cuyper, M. Assessing cytotoxicity of (iron oxide-based) nanoparticles: an overview of different methods exemplified with cationic magnetoliposomes. *Contrast media & molecular imaging*, v. 4, n. 5, p. 207–19, 2009.

- 27 MAHMOUDI, M. et al. Toxicity evaluations of superparamagnetic iron oxide nanoparticles: cell "vision" versus physicochemical properties of nanoparticles. *ACS nano*, v. 5, n. 9, p. 7263–76, set. 2011.
- 28 SOENEN, S. J. H.; De Cuyper, M. Assessing iron oxide nanoparticle toxicity in vitro: current status and future prospects. *Nanomedicine (London, England)*, v. 5, n. 8, p. 1261–75, out. 2010.
- 29 VALLEJO-FERNANDEZ, G. et al. Mechanisms of hyperthermia in magnetic nanoparticles. *Journal of Physics D: Applied Physics*, v. 46, n. 31, p. 312001, ago. 2013.
- 30 NOH, S.-H. et al. Nanoscale magnetism control via surface and exchange anisotropy for optimized ferrimagnetic hysteresis. *Nano letters*, v. 12, n. 7, p. 3716–21, jul. 2012.
- 31 YANG, Y. et al. Stable vortex magnetite nanorings colloid: Micromagnetic simulation and experimental demonstration. *Journal of Applied Physics*, v. 111, n. 4, p. 044303, 2012.
- 32 JIA, C.-j. C. et al. Large-scale synthesis of single-crystalline iron oxide magnetic nanorings. *Journal of the American Chemical Society*, v. 130, n. 50, p. 16968–77, dez. 2008.
- 33 JUNG, W.; CASTANO, F.; ROSS, C. Vortex Chirality in Exchange-Biased Elliptical Magnetic Rings. *Physical Review Letters*, v. 97, n. 24, p. 1–4, dez. 2006.
- 34 SORT, J. et al. Magnetization Reversal in Submicron Disks: Exchange Biased Vortices. *Physical Review Letters*, v. 95, n. 6, p. 1–4, ago. 2005.
- 35 SORT, J. et al. Imprinting Vortices into Antiferromagnets. *Physical Review Letters*, v. 97, n. 6, p. 1–4, ago. 2006.
- 36 SORT, J. et al. Controlling magnetic vortices through exchange bias. *Applied Physics Letters*, v. 88, n. 4, p. 042502, 2006.
- 37 KIM, D.-H. et al. Biofunctionalized magnetic-vortex microdiscs for targeted cancer-cell destruction. *Nature materials*, Nature Publishing Group, v. 9, n. 2, p. 165–71, fev. 2010.
- 38 COEY, J. M. D. *Magnetism and magnetic materials*. 1. ed. [S.l.]: Cambridge Univ Pr, 2010. 613 p. ISBN 978-0-511-67743-4.
- 39 GUIMARAES, A. *Principles of nanomagnetism*. Rio de Janeiro: [s.n.], 2009. 228 p.
- 40 WEISS, P. La variation du ferromagnétisme avec la température. *Comptes Rendus*, v. 143, p. 1136 – 1149, 1906.
- 41 NEEL, L. Propriétés Magnétiques des ferrites; Ferrimagnétisme et Antiferromagnétisme. *Annales de Physique*, v. 3, p. 137–198, 1948.
- 42 COHEN-TANNOUDJI, C.; DIU, B.; LALOE, F. *Quantum Mechanics*. [S.l.]: Wiley, 1992. 1524 p. ISBN 9782705683924.
- 43 HEISENBERG, W. Zur theorie des ferromagnetismus. *Zeitschrift für Physik*, v. 49, n. 9-10, p. 619–636, 1928.

- 44 AHARONI, A. *Introduction to the Theory of Ferromagnetism*. [S.l.]: OUP, New York, 1998. 315 p. ISBN 0198517912.
- 45 ATKINS, P.; PAULA, J. de. *Physical Chemistry Vol 2: Quantum Chemistry*. [S.l.: s.n.], 2010. 435 p. ISBN 9781429231268.
- 46 ATKINS, P. *Shriver and Atkins' Inorganic Chemistry*. [S.l.]: OUP, 2010. 824 p. ISBN 9780199236176.
- 47 MEIKLEJOHN, W. H. New Magnetic Anisotropy. *Physical Review*, v. 105, n. 3, 1957.
- 48 NOGUE, J.; SCHULLER, I. K. Exchange bias. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 192, 1999.
- 49 BERKOWITZ a.E.; TAKANO, K. Exchange anisotropy â a review. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 200, n. 1-3, p. 552–570, out. 1999.
- 50 KIWI, M. Exchange bias theory. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 234, n. 3, p. 584–595, set. 2001.
- 51 FAN, Y. et al. Exchange bias of the interface spin system at the Fe/MgO interface. *Nature nanotechnology*, v. 8, n. 6, p. 438–44, jun. 2013.
- 52 TRIPATHY, D. et al. Controlling the magnetization reversal in exchange-biased Co/CoO elongated nanorings. *Nanotechnology*, v. 20, n. 1, p. 015304, jan. 2009.
- 53 ABO, G. S. et al. Definition of Magnetic Exchange Length. *IEEE Transactions on Magnetics*, v. 49, n. 8, p. 4937–4939, ago. 2013.
- 54 STONER, E. C.; WOHLFARTH, E. P. A Mechanism of Magnetic Hysteresis in Heterogeneous Alloys. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, v. 240, n. 826, p. 599–642, maio 1948.
- 55 NIST. *Boltzmann constant*. 2010.
- 56 BROWN, W. F. Thermal fluctuations of a single-domain particle. *Physical Review*, v. 130, n. 5, p. 1677, 1963.
- 57 COFFEY, W. T.; KALMYKOV, Y. P. Thermal fluctuations of magnetic nanoparticles: Fifty years after Brown. *Journal of Applied Physics*, v. 112, n. 12, p. 121301, 2012.
- 58 SOARES, M. M. *Observação de vórtices magnéticos em calotas tridimensionais submicrométricas*. Tese (Doutorado) — Universidade Estadual de Campinas, 2008.
- 59 CHIEN, C. L.; ZHU, F. Q.; ZHU, J.-G. Patterned Nanomagnets. *Physics Today*, v. 60, n. 6, p. 40, 2007.
- 60 HOLLINGER, R.; KILLINGER, A.; KREY, U. Statics and fast dynamics of nanomagnets with vortex structure. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 261, n. 1-2, p. 178–189, abr. 2003.

- 61 TORRES-HEREDIA, J.; LOPEZ-URIAS, F.; MUNOZ-SANDOVAL, E. Micromagnetic simulation of iron nanorings. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 294, n. 2, p. e1–e5, jul. 2005.
- 62 PALMA, J. et al. Micromagnetic simulation of Fe asymmetric nanorings. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, Elsevier, v. 324, n. 4, p. 637–641, fev. 2012.
- 63 MACHADO, T. S.; RAPPOPORT, T. G.; SAMPAIO, L. C. Static and dynamic properties of vortices in anisotropic magnetic disks. *Applied Physics Letters*, v. 93, n. 11, p. 112507, 2008.
- 64 LANDAU, L. D.; LIFSHITZ, E. M. *Course of Theoretical Physics*. [S.l.: s.n.], 1987. 552 p. ISBN 978-0750627672.
- 65 ROSENSWEIG, R. Heating magnetic fluid with alternating magnetic field. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 252, p. 370–374, nov. 2002.
- 66 SHLIOMIS, M. I. Magnetic fluids. *Sovietic Physics Uspekhi*, v. 17, n. 2, p. 153, 1974.
- 67 CARREY, J.; MEHDAOUI, B.; RESPAUD, M. Simple models for dynamic hysteresis loop calculations of magnetic single-domain nanoparticles: Application to magnetic hyperthermia optimization. *Journal of Applied Physics*, v. 109, n. 8, p. 083921, 2011.
- 68 MEHDAOUI, B. et al. Increase of magnetic hyperthermia efficiency due to dipolar interactions in low-anisotropy magnetic nanoparticles: Theoretical and experimental results. *Physical Review B*, v. 87, n. 17, p. 174419, maio 2013.
- 69 MEHDAOUI, B. et al. Influence of a transverse static magnetic field on the magnetic hyperthermia properties and high-frequency hysteresis loops of ferromagnetic FeCo nanoparticles. *Applied Physics Letters*, v. 100, n. 5, p. 052403, 2012.
- 70 MILLERO, J.; DROST-HANSEN, W. Viscosity of Water at Various Temperatures. *The Journal of Physical Chemistry*, v. 90, n. 23, p. 34–39, 1968.
- 71 GIUSTINI, a. J.; IVKOV, R.; HOOPES, P. J. Magnetic nanoparticle biodistribution following intratumoral administration. *Nanotechnology*, v. 22, n. 34, p. 345101, ago. 2011.
- 72 LUNOV, O. et al. Modeling receptor-mediated endocytosis of polymer-functionalized iron oxide nanoparticles by human macrophages. *Biomaterials*, Elsevier Ltd, v. 32, n. 2, p. 547–55, jan. 2011.
- 73 PATNAIK, P. *Handbook of Inorganic Chemicals*. [S.l.]: McGraw-Hill, 2003. 1086 p. ISBN 0070494398.
- 74 CORNELL, R. M.; SCHWERTMANN, U. *The Iron Oxides*. 2. ed. [S.l.]: Wiley, 2003. 703 p. ISBN 3-527-30274-3.
- 75 OKAMOTO, A. The Invention of Ferrites and Their Contribution to the Miniaturization of Radios. *GLOBECOM Workshops, 2009 IEEE*, n. 1, p. 1–6, 2009.

- 76 QIAO, R.; YANG, C.; GAO, M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: from preparations to in vivo MRI applications. *Journal of Materials Chemistry*, v. 19, n. 35, p. 6274, 2009.
- 77 ALWI, R. et al. Silica-coated super paramagnetic iron oxide nanoparticles (SPION) as biocompatible contrast agent in biomedical photoacoustics. *Biomedical optics express*, v. 3, n. 10, p. 2500–9, out. 2012.
- 78 LEE, J.-h. et al. Exchange-coupled magnetic nanoparticles for efficient heat induction. *Nature nanotechnology*, v. 6, n. 7, p. 418–22, jul. 2011.
- 79 JORDAN, A.; SCHOLZ, R. Presentation of a new magnetic field therapy system for the treatment of human solid tumors with magnetic fluid hyperthermia. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 225, p. 118–126, 2001.
- 80 JOHANNSEN, M. et al. Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: Presentation of a new interstitial technique. *International Journal of Hyperthermia*, v. 21, n. 7, p. 637–647, jan. 2005.
- 81 LANDEGHEM, F. K. H. van et al. Post-mortem studies in glioblastoma patients treated with thermotherapy using magnetic nanoparticles. *Biomaterials*, v. 30, n. 1, p. 52–7, jan. 2009.
- 82 MULLER, S. Magnetic fluid hyperthermia therapy for malignant brain tumors—an ethical discussion. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*, Elsevier Inc., v. 5, n. 4, p. 387–93, dez. 2009.
- 83 MEHDAOUI, B. et al. Optimal Size of Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia: A Combined Theoretical and Experimental Study. *Advanced Functional Materials*, v. 21, n. 23, p. 4573–4581, dez. 2011.
- 84 LIU, X. L. et al. Optimization of surface coating on Fe₃O₄ nanoparticles for high performance magnetic hyperthermia agents. *Journal of Materials Chemistry*, v. 22, n. 17, p. 8235, 2012.
- 85 WALCZYK, D. et al. What the cell "sees" in bionanoscience. *Journal of the American Chemical Society*, v. 132, n. 16, p. 5761–8, abr. 2010.
- 86 TREUEL, L. et al. Impact of Protein Modification on the Protein Corona on Nanoparticles and Nanoparticle-Cell Interactions. *ACS nano*, n. Xx, dez. 2013.
- 87 NEL, A. E. et al. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nature materials*, Nature Publishing Group, v. 8, n. 7, p. 543–57, jul. 2009.
- 88 CHOU, L. Y. T.; MING, K.; CHAN, W. C. W. Strategies for the intracellular delivery of nanoparticles. *Chemical Society reviews*, v. 40, n. 1, p. 233–45, jan. 2011.
- 89 MARTINEZ-BOUBETA, C. et al. Learning from nature to improve the heat generation of iron-oxide nanoparticles for magnetic hyperthermia applications. *Scientific reports*, v. 3, p. 1652, jan. 2013.

- 90 KNELLER, E. F.; HAWIG, R. The Exchange-Spring Magnet. *IEEE Transactions on Magnetics*, v. 27, n. 4, p. 3588–3600, 1991.
- 91 CHENG, G. et al. Magnetic-field-induced assemblies of cobalt nanoparticles. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, v. 21, n. 26, p. 12055–9, dez. 2005.
- 92 BRANQUINHO, L. C. et al. Effect of magnetic dipolar interactions on nanoparticle heating efficiency: Implications for cancer hyperthermia. *Scientific reports*, v. 3, p. 2887, jan. 2013.
- 93 DOBSON, J. Cancer therapy: A twist on tumour targeting. *Nature materials*, Nature Publishing Group, v. 9, n. 2, p. 95–6, fev. 2010.
- 94 JIA, C.-J. et al. Single-crystalline iron oxide nanotubes. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, v. 44, n. 28, p. 4328–33, jul. 2005.
- 95 FAN, H.-m. et al. Single-crystalline MFe(2)O(4) nanotubes/nanorings synthesized by thermal transformation process for biological applications. *ACS nano*, v. 3, n. 9, p. 2798–808, set. 2009.
- 96 WU, W. et al. Large-Scale and Controlled Synthesis of Iron Oxide Magnetic Short Nanotubes: Shape Evolution, Growth Mechanism, and Magnetic Properties. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 114, n. 39, p. 16092–16103, out. 2010.
- 97 LV, B. et al. Controllable Synthesis and Magnetism of Iron Oxides Nanorings. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 10, n. 4, p. 2348–2359, abr. 2010.
- 98 WENDER, H. et al. Photocatalytic hydrogen production of $Co(OH)_2$ nanoparticle-coated $\alpha - Fe_2O_3$ nanorings. *Nanoscale*, v. 5, n. 19, p. 9310–6, out. 2013.
- 99 DONAHUE, M.; PORTER, D. *OOMMF User's Guide*. Gaithersburg, MD: National Institute of Standards and Technology, 1999.
- 100 NEWELL, A. J.; WILLIAMS, W.; DUNLOP, D. J. A generalization of the demagnetizing tensor for nonuniform magnetization. *Journal of Geophysical Research*, v. 98, n. B6, p. 9551, 1993.
- 101 AHARONI, A. Demagnetizing factors for rectangular ferromagnetic prisms. *Journal of Applied Physics*, v. 83, n. 6, p. 3432, 1998.
- 102 GRIFFITHS, D. J. *Introduction to Electrodynamics*. [S.l.]: Pearson Education, 2012. 624 p. ISBN 9780321856562.
- 103 BROWN, W. F. *Micromagnetics*. [S.l.]: Wiley, 1962. ISBN 0-88275-665-6.
- 104 BOARDMAN, R. P. *Computer simulation studies of magnetic nanostructures*. Tese (Doutorado) — University of Southampton, 2005.
- 105 NOVAIS, E. R. P. d. N. *Configurações Magnéticas de Nanopontos Circulares e Elípticos*. Tese (Doutorado) — Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, 2009.

- 106 NOVAIS, E. R. P. et al. Properties of magnetic nanodots with perpendicular anisotropy. *Journal of Applied Physics*, v. 110, n. 5, p. 053917, 2011.
- 107 HU, X. et al. α -Fe₂O₃ Nanorings Prepared by a Microwave-Assisted Hydrothermal Process and Their Sensing Properties. *Advanced Materials*, v. 19, n. 17, p. 2324–2329, set. 2007.
- 108 HU, X.; YU, J. C. Continuous Aspect-Ratio Tuning and Fine Shape Control of Monodisperse α -Fe₂O₃ Nanocrystals by a Programmed Microwave-Hydrothermal Method. *Advanced Functional Materials*, v. 18, n. 6, p. 880–887, mar. 2008.
- 109 ALMEIDA, T. P. et al. Process Map for the Hydrothermal Synthesis of α -Fe₂O₃ Nanorods. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 113, n. 43, p. 18689–18698, out. 2009.
- 110 FAN, H. M. et al. Shape-Controlled Synthesis of Single-Crystalline Fe₂O₃ Hollow Nanocrystals and Their Tunable Optical Properties. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 113, n. 22, p. 9928–9935, jun. 2009.
- 111 GOTIC, M.; DRAZIC, G.; MUSIC, S. Hydrothermal synthesis of α -Fe₂O₃ nanorings with the help of divalent metal cations, Mn²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ and Ni²⁺. *Journal of Molecular Structure*, v. 993, n. 1-3, p. 167–176, maio 2011.
- 112 Martins, J. et al. Synthesis and structural characterization of nanometric ceria highly dispersed in SBA-15 with oxygen exchange capacity. *Journal of Materials Chemistry*, v. 21, n. 39, p. 15678, 2011.
- 113 Martins, J. et al. Size controlled synthesis of highly dispersed anatase/rutile nanoparticles with photocatalytic activity toward salicylic acid degradation. *RSC Advances*, v. 2, n. 12, p. 5390, 2012.
- 114 XU, Z. P.; ZENG, H. C. Thermal evolution of cobalt hydroxides: a comparative study of their various structural phases. *Journal of Materials Chemistry*, v. 8, n. 11, p. 2499–2506, 1998.
- 115 FEI. *Inspect F50 product data*.
- 116 WILLIAMS, D. B.; CARTER, C. B. *Transmission Electron Microscopy A Textbook for Materials Science*. [S.l.]: Springer, 2009. 760 p. ISBN 978-0-387-76501-3.
- 117 RAVEL, B.; NEWVILLE, M. ATHENA, ARTEMIS, HEPHAESTUS: data analysis for X-ray absorption spectroscopy using IFEFFIT. *Journal of synchrotron radiation*, v. 12, n. Pt 4, p. 537–41, jul. 2005.
- 118 LARSON, A.; DREELE, R. V. General Structure Analysis System (GSAS). *Los Alamos National Laboratory Report*, v. 86, p. 748, 1994.
- 119 TOBY, B. H. EXPGUI, a graphical user interface for GSAS. *Journal of Applied Crystallography*, v. 34, p. 210–213, 2001.
- 120 LEE, J.-H. et al. Artificially engineered magnetic nanoparticles for ultra-sensitive molecular imaging. *Nature medicine*, v. 13, n. 1, p. 95–9, jan. 2007.

121 RUAN, G. et al. Imaging and tracking of tat peptide-conjugated quantum dots in living cells: new insights into nanoparticle uptake, intracellular transport, and vesicle shedding. *Journal of the American Chemical Society*, v. 129, n. 47, p. 14759–66, nov. 2007.

122 FULLER, J. E. et al. Intracellular delivery of core-shell fluorescent silica nanoparticles. *Biomaterials*, v. 29, n. 10, p. 1526–32, abr. 2008.