



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA

Débora Pires Porto Barbosa

**NANOCARREADORES BASEADOS EM ÓXIDOS DE FERRO:
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso

Brasília – DF

1º/2019



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA**

Débora Pires Porto Barbosa

**NANOCARREADORES BASEADOS EM ÓXIDOS DE FERRO:
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso em Química Tecnológica apresentado ao Instituto de Química da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química Tecnológica.

Orientadora: Professora Maria Aparecida Godoy Soler

1º/2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por todo o carinho, apoio e amor incondicional durante toda a minha vida. Amo vocês.

Aos meus amigos de infância, que mesmo sem entender muito sobre química, me apoiaram durante a graduação e realização deste trabalho. Obrigado pelo carinho e anos de amizade.

Aos amigos que fiz durante a graduação, obrigada por toda a ajuda, companhia e amizade. Em especial, a Gabriela Sousa, por todo apoio durante os períodos difíceis nesses 4 anos.

À minha orientadora, Professora Maria Aparecida, por ter me orientado durante a iniciação científica e na realização deste trabalho. Obrigada pela confiança e contribuição para minha formação acadêmica e científica.

Aos meus colegas nanoworkers, integrantes do grupo de pesquisa da Professora Maria Aparecida, em especial a Antonia, Deizilene e Luana. Obrigada tanto pela amizade quanto pelo treinamento nas técnicas de caracterização e na síntese das nanopartículas.

À Professora Maria Inês do Laboratório de Métodos de Extração e Separação (LAMES), da Universidade Federal de Goiás (UFG) pela realização da análise termogravimétrica (TG-DTG).

À Ísis Oliveira, do Laboratório CNANO do Instituto de Física, pela obtenção dos espectros de infravermelho e Raman.

À Ingrid, do Laboratório de Microscopia e Microanálise (Instituto de Ciências Biológicas - UNB), pelas micrografias de Microscopia Eletrônica de Transmissão.

Aos professores que fizeram parte da banca, agradeço-lhes pela disponibilidade e atenção.

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo a síntese de nanopartículas de óxidos de ferro pelo método de coprecipitação em meio básico e sua funcionalização para obtenção de nanocarreadores. Após a síntese, as nanopartículas foram funcionalizadas com uma bicamada de ácido láurico ou uma bicamada de ácido láurico/Pluronic F127, e dispersas em meio aquoso formando coloides magnéticos estáveis. Os nanocarreadores sintetizados foram caracterizados por meio das técnicas de espalhamento dinâmico de luz, microscopia eletrônica de transmissão, termogravimetria, espectroscopia no infravermelho e Raman. As nanopartículas de magnetita sintetizadas apresentaram diâmetro médio, obtido por microscopia eletrônica de transmissão, na faixa de 5 nm, enquanto o diâmetro hidrodinâmico obtido foi em torno de 160 nm para as nanopartículas funcionalizadas com ácido láurico e 240 nm para as funcionalizadas com ácido láurico e Pluronic. A partir dos espectros Raman obtidos, observou-se que as nanopartículas sintetizadas são predominantemente formadas por magnetita, enquanto a análise dos espectros no infravermelho e as curvas termogravimétricas indicam a presença da cobertura nos dois nanocarreadores, sendo um funcionalizado com a bicamada de ácido láurico e outro com bicamada de ácido láurico e Pluronic F127.

Palavras-chave: nanocarreadores, nanopartículas, óxido de ferro, ácido láurico, Pluronic F127.

ABSTRACT

This study aims the synthesis of iron oxide nanoparticles via coprecipitation in basic aqueous medium method and their functionalization to obtain the nanocarriers. After the synthesis, the nanoparticles were functionalized with a bilayer of lauric acid or a bilayer of lauric acid/Pluronic F127, and dispersed in aqueous medium to form stable magnetic colloids. The nanocarriers synthesized were characterized via the techniques of dynamic light scattering, transmission electron microscopy, thermogravimetry, infrared and raman spectroscopy. The magnetite nanoparticles synthesized presented mean diameter, obtained by transmission electron microscopy, in the range of 5 nm, while the hydrodynamic diameter obtained was about 160 nm for the nanoparticles functionalized with lauric acid and 240 nm for the functionalized with lauric acid/Pluronic. From the raman spectra obtained, it was observed that nanoparticles synthesized are predominantly magnetite, while the analysis of the Infrared Spectra and thermogravimetric curves indicate the presence of coating in the two nanocarriers, one functionalized with the bilayer of lauric acid and other with lauric acid and Pluronic F127.

Keywords: nanocarriers, nanoparticles, iron oxide, lauric acid, Pluronic F127.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração dos momentos de dipolo magnético nos materiais (a) paramagnéticos, (b) diamagnéticos (c) ferromagnéticos, (d) antiferromagnéticos e (e) ferrimagnéticos na ausência de um campo magnético e na presença de um campo externo.	14
Figura 2 – Curva de Histerese típica de materiais ferromagnéticos e ferrimagnéticos mostrando a magnetização de saturação (M_s), a magnetização remanescente (M_r) e o campo coercitivo (H_c). Adaptado de SOLER; PATERNO, 2016.....	15
Figura 3 - Fórmula estrutural do Pluronic F127.....	20
Figura 4 - Ilustração de uma SPION funcionalizada com Pluronic. Adaptado de JAIN et al., 2005.....	21
Figura 5 - Nanopartículas funcionalizadas com monocamada de AL, suspensas em hexano (fase a).	23
Figura 6 - Nanopartículas funcionalizadas com bicamada de AL, suspensas em água (fase b).	24
Figura 7 - Fluido magnético MNT-AL/PLU.....	24
Figura 8 - Micrografias típicas obtidas por MET das amostras (a) MNT-BL e (b) MNT-AL/PLU e histogramas gerados com a contagem de NPs a partir das micrografias obtidas das amostras (c) MNT-BL e (d) MNT-AL/PLU.	29
Figura 9 - Espectro Raman obtido da amostra de NPs de MNT sintetizadas.	31
Figura 10 - Espectro infravermelho obtido das amostras AL (em vermelho), MNT-ML (em azul) e MNT-BL (em verde).....	32
Figura 11 - Representação de uma coordenação bidentada quelante.....	33
Figura 12 - Espectro infravermelho obtido das amostras PLU (em rosa), MNT-ML (em azul) e MNT-AL/PLU (em roxo).	34
Figura 13 - Curvas termogravimétricas (linha preta) e termogravimétricas derivadas (linha tracejada) dos nanocompósitos: (a) MNT-AL/PLU e (b) MNT-BL.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diâmetro hidrodinâmico (D_H) médio e potencial Zeta (ζ) da suspensão MGM-BL em função do tempo.	29
Tabela 2 - Modos vibracionais observados no espectro Raman da amostra MNT. ...	31
Tabela 3 - Perda de massa obtida por TG/DTG.....	35
Tabela 4 - Moléculas adsorvidas por nanopartícula e coeficiente de revestimento...36	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AL: Ácido Láurico

D_H: Diâmetro Hidrodinâmico

D_{méd}: Diâmetro Médio

FM: Fluido Magnético

FTIR: Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

NP: Nanopartícula

PLU: Pluronic F127

MET: Microscopia Eletrônica de Transmissão

MNT: Magnetita

MNT-BL: Nanopartículas de óxido de ferro funcionalizadas com bicamada de ácido láurico

MNT-ML: Nanopartículas de óxido de ferro funcionalizadas com monocamada de ácido láurico

MNT-AL/PLU: Nanopartículas de óxido de ferro funcionalizadas com bicamada de ácido láurico/Pluronic F127

P_{dl}: Índice de Polidispersão

PEO: Poli(óxido de etileno)

PEO-PPO-PEO: copolímero tribloco anfifílico

PPO: Poli(óxido de propileno)

SPION: Superparamagnetic iron oxide nanoparticles

TG: Análise Termogravimétrica

ζ: Potencial Zeta

ξ: Coeficiente de Revestimento

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
1. OBJETIVOS	12
1.1 OBJETIVOS GERAIS	12
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Nanocarreadores de óxidos de ferro.....	13
2.1.1 Magnetismo.....	13
2.1.2 Estrutura.....	16
2.1.3 Métodos de síntese	16
2.1.4 Funcionalização	18
2.2 Ácido Láurico	19
2.3 Pluronic F127.....	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 Materiais	22
3.2 Síntese das nanopartículas de óxido de ferro.....	22
3.3 Funcionalização das nanopartículas.....	22
3.3.1 Funcionalização das nanopartículas com monocamada de laurato	22
3.3.2 Funcionalização das nanopartículas com bicamada laurato/laurato	23
3.3.3 Funcionalização das nanopartículas com bicamada laurato/Pluronic	24
3.4 Caracterização.....	24
3.4.1 Espectroscopia Raman	24
3.4.2 Espectroscopia no Infravermelho	25
3.4.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão	25
3.4.4 Espalhamento Dinâmico de Luz.....	26
3.4.5 Análise Termogravimétrica.....	26
3.4.6 Coeficiente de revestimento das NPs	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Caracterização dos fluidos magnéticos	28
4.2 Caracterização dos sólidos nanoparticulados.....	30
5. CONCLUSÃO	37
6. REFERÊNCIAS	38

INTRODUÇÃO

A nanociência é uma área do conhecimento caracterizada pelo desenvolvimento e estudos fundamentais de materiais em escala nanométrica (10^{-9} metros), enquanto a nanotecnologia se encarrega das aplicações e representam um grande interesse na área de ciência dos materiais, de química, de física, de biologia, de medicina etc. Os materiais em escala nanométrica apresentam grande razão superfície/volume e redução da simetria translacional de longo alcance, conseqüentemente, apresentam propriedades magnéticas, químicas, mecânicas, ópticas e elétricas que dependem de suas dimensões, morfologia e estrutura cristalina sendo diferentes daquelas apresentadas pelo mesmo material em escala macroscópica (CAIXETA *et al.*, 2013; DURÁN *et al.*, 2006; RIVERA, 2013).

Entre os nanomateriais muito estudados estão as nanopartículas de óxidos de ferro (SPIONs), que possuem comportamento superparamagnético, semelhante aos materiais paramagnéticos, porém com uma magnetização de saturação muito maior, podendo ser funcionalizadas com moléculas diversas, além de serem biocompatíveis (SOLER *et al.*, 2011; SOLER; PATERNO, 2016). Devido às suas propriedades, essas estruturas apresentam grande potencial para aplicações em biomedicina, como melhora do contraste de imagens de ressonância magnética, terapia gênica, hipertermia e veículos carreadores de fármacos (*drug delivery system*) (FRANCISQUINI *et al.*, 2012).

Para aplicação em sistemas biológicos, as nanopartículas de óxidos de ferro (SPION) precisam ser dispersas em uma fase líquida aquosa, formando uma suspensão coloidal estável, chamada de Fluido Magnético (FM). Para isso, as nanopartículas devem ser funcionalizadas com moléculas orgânicas biocompatíveis que, além de promover a estabilidade coloidal por repulsão (eletrostática ou estérica), devem apresentar sítios disponíveis para ancorar fármacos, anticorpos, marcadores, entre outros (GUPTA; GUPTA, 2005; RIVERA, 2013; RIVERA *et al.*, 2019).

As nanopartículas (NPs) funcionalizadas, também denominadas nanocarreadores, podem ser associadas a fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos, formando estruturas mais eficientes de liberação de fármacos no organismo, pois apresentam maior estabilidade, maior taxa de absorção pelos tecidos e liberação controlada, diminuindo a dosagem necessária e os efeitos colaterais. Em adição, por

serem superparamagnéticas, podem ser direcionadas a um órgão ou tecido específico, por meio da aplicação de um gradiente magnético ou ancoragem de um marcador específico (CAIXETA; BINSFELD, 2013; RIVERA, 2013).

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVOS GERAIS

Preparação de nanocarreadores biocompatíveis, por meio da funcionalização da superfície de nanopartículas de magnetita com espécies orgânicas biocompatíveis, tais como o ácido láurico e Pluronic F127 (surfactantes aniônico e não-iônico, respectivamente).

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Síntese e caracterização das nanopartículas de óxidos de ferro;
- Funcionalização das nanopartículas sintetizadas com uma bicamada de ácido láurico;
- Funcionalização das nanopartículas sintetizadas com uma bicamada de ácido láurico/Pluronic F127;
- Caracterização e comparação dos coloides magnéticos formados;
- Estudo da estabilidade dos coloides magnéticos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nanocarreadores de óxidos de ferro

2.1.1 Magnetismo

Os materiais encontrados na natureza possuem momento de dipolo magnético (\vec{m}), que tem origem no movimento angular orbital (L) e de spin dos elétrons (S), de forma que as propriedades magnéticas dependem da sua estrutura atômica. A partir disso, pode-se classificar os materiais em duas classes: os que possuem $\vec{m} \neq 0$, considerados materiais magnéticos como os ferrimagnéticos e ferromagnéticos, e os que possuem $\vec{m} = 0$, chamados de diamagnéticos, também chamados de materiais não magnético (FRANCISQUINI et al., 2012).

Ao submeter um sólido à um campo magnético externo (\vec{H}), surge um campo magnético (\vec{B}) induzido no material (equação 1), que depende tanto da magnitude de \vec{H} quanto da magnetização do material (\vec{M}), definida como momento magnético por unidade de volume (V).

$$\vec{B} = \mu(\vec{H} + \vec{M}) \quad (\text{Equação 1})$$

$$\vec{M} = \frac{\vec{m}}{V} \quad (\text{Equação 2})$$

onde μ é a permeabilidade magnética do meio. A magnitude de M também depende do campo magnético aplicado e pode ser dada por:

$$\vec{M} = \chi\vec{H} \quad (\text{Equação 3})$$

sendo χ a susceptibilidade magnética do material. Ela indica a resposta do material ao campo aplicado. Quando a susceptibilidade é negativa, os momentos magnéticos se alinham em direção oposta ao campo aplicado e o material é chamado de diamagnético. Já os materiais paramagnéticos possuem momentos magnéticos

individuais desordenados (possui magnetização nula na ausência de um campo) que se aliam em uma única direção ao se aplicar um campo externo. Sua susceptibilidade é positiva, porém pequena em relação aos materiais ordenados.

Os materiais ordenados são classificados em ferromagnéticos, ferrimagnéticos e antiferromagnéticos. Os materiais ferromagnéticos possuem seus momentos magnéticos individuais ordenados em uma única direção. Os materiais ferrimagnéticos são compostos por momentos antiparalelos de magnitude diferentes. Dessa forma, ambos possuem magnetização espontânea abaixo da temperatura de Currie. Enquanto os materiais antiferromagnéticos são formados por momentos antiparalelos de mesma magnitude, resultando em uma magnetização nula na ausência de um campo externo.

A Temperatura de Currie (T_c) é a temperatura em que ocorre a desordenação dos momentos devido à energia térmica. Acima dessa temperatura, os materiais ordenados se tornam paramagnéticos. A figura 1 apresenta uma ilustração dos momentos magnéticos na ausência e na presença de um campo externo para os materiais paramagnéticos (a), diamagnéticos (b), ferromagnéticos (c), antiferromagnéticos (d) e ferrimagnéticos (e).

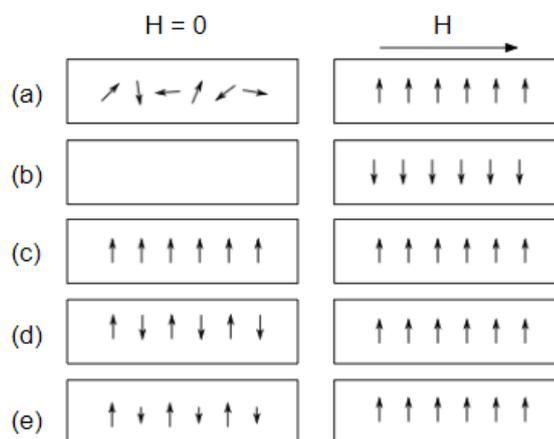


Figura 1 - Ilustração dos momentos de dipolo magnético nos materiais (a) paramagnéticos, (b) diamagnéticos (c) ferromagnéticos, (d) antiferromagnéticos e (e) ferrimagnéticos na ausência de um campo magnético e na presença de um campo externo.

No estudo desses materiais, avalia-se o comportamento da magnetização (\vec{M}) ou do campo induzido (\vec{B}) em função da variação do campo externo (\vec{H}), originando a curva de magnetização, ou histerese. Em uma curva típica para materiais ferromagnéticos e ferrimagnéticos, conforme mostrada na figura 2, o módulo de \vec{M} aumenta conforme o aumento do campo aplicado, até que seja atingida a

magnetização de saturação (M_s), que é a magnetização máxima que o material pode atingir. Ao retirar o campo (\vec{H}), a magnetização resultante não é nula, chamada de magnetização remanescente (M_r). Para que a magnetização seja zerada, é necessário aplicar um campo de sentido oposto, chamado de campo coercitivo (H_c). Caso o campo coercitivo tenha valor elevado, o material magnético é considerado duro e, caso seja H_c baixo, o material é considerado macio.

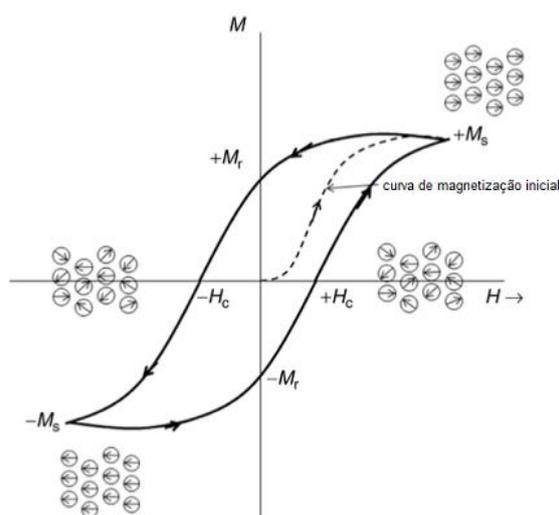


Figura 2 – Curva de Histerese típica de materiais ferromagnéticos e ferrimagnéticos mostrando a magnetização de saturação (M_s), a magnetização remanescente (M_r) e o campo coercitivo (H_c). Adaptado de SOLER; PATERNO, 2016.

Superparamagnetismo

O superparamagnetismo só ocorre em materiais de baixa dimensão (escala nanométrica) e é um fenômeno magnético semelhante ao paramagnetismo, porém com uma magnetização de saturação superior.

Materiais com dimensão abaixo do diâmetro crítico (D_c) se organizam em monodomínios magnéticos, em que os momentos magnéticos individuais estão alinhados na direção do eixo de fácil magnetização, de forma que, ao se aplicar um campo externo, há a formação de um grande momento magnético (DURÁN *et al.*, 2006).

No limite da mudança de multidomínios para monodomínios, há um aumento do campo coercitivo até que atinja o seu valor máximo no D_c . Para valores menores que D_c , a coercitividade tende a diminuir até que ela se torne nula, ao atingir o limite

do superparamagnetismo (RIVERA, 2013). A partir desse valor de diâmetro, a partícula se encontra desmagnetizada na ausência de um campo externo ($M_r = H_c = 0$), sendo considerada então superparamagnética.

Nesse regime, a relaxação magnética ocorre com reversão do momento magnético efetivo, devida a agitação ocasionada pela energia térmica das partículas. Por isso, existe uma temperatura crítica para que a energia térmica seja o suficiente para promover a relaxação, chamada temperatura de bloqueio (T_B), que separa dois estados magnéticos. Acima dessa temperatura, as NPs apresentam comportamento superparamagnético e, abaixo dessa temperatura, as partículas apresentam magnetização remanescente (FRANCISQUINI *et al.*, 2012; RIVERA, 2013).

2.1.2 Estrutura

As ferritas cúbicas, MFe_2O_3 ($M = Fe^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Mg^{2+}, Cu^{2+}$ e Zn^{2+}), possuem estrutura do tipo espinélio, composta por 32 átomos de O^{2-} , que ocupam os vértices, formando uma rede cúbica de face centrada. Os íons de ferro (III) e os cátions divalentes possuem 2 tipos de coordenação, tetraédrica (sítio A) e octaédrica (sítio B).

A estrutura espinélio pode ser normal, onde os cátions trivalentes ocupam apenas os sítios octaédricos e os cátions divalentes ocupam apenas o sítio octaédrico. Já no espinélio inverso, tem-se que os sítios A são ocupados, na mesma proporção tanto pelos íons M^{2+} quanto pelos M^{3+} e o sítios B são ocupados exclusivamente pelos íons M^{3+} (FRANCISQUINI *et al.*, 2012; SOLER; PATERNO, 2016).

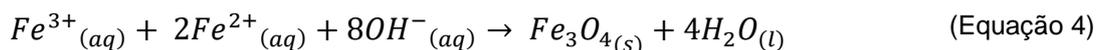
A magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita (Fe_2O_3) são óxidos de ferro puros e possuem estrutura espinélio inversa. A maghemita é obtida a partir da oxidação da magnetita, naturalmente ou por exemplo, sob aquecimento e borbulhamento de gás oxigênio (ALCANTARA, 2007), e é composta apenas por íons Fe^{3+} .

2.1.3 Métodos de síntese

Entre os métodos químicos de síntese, os mais utilizados para obtenção das SPIONS são a coprecipitação de sais de ferro em meio aquoso e a decomposição térmica de organometálicos ou complexos metálicos (SOLER; PATERNO, 2016).

Síntese via coprecipitação em meio aquoso

Esse método consiste na adição de uma solução saturada de sais de ferro (II) e ferro (III), em proporção 1:2, de forma controlada em uma solução alcalina aquosa, de acordo com a reação abaixo (equação 4):



A formação de NPs via coprecipitação ocorre em 2 etapas: nucleação, sendo formados vários cristais de magnetita devida à supersaturação da solução, seguida pelo crescimento, em que os núcleos formados se aglomeram por difusão. Consequentemente, obtém-se uma amostra polidispersa, cuja dispersão pode ser superior a 20% (SOLER; PATERNO, 2016; SOUZA, 2011).

Para obter-se NPs com uma baixa distribuição de tamanho é necessário que a etapa de nucleação seja rápida e a de crescimento lenta. Pode-se realizar o controle da nucleação e do crescimento das NPs a partir do grau de saturação da solução de sais de ferro, velocidade de agitação, pH e força iônica do meio (SOLER; PATERNO, 2016; SOUZA, 2011). Para interromper a aglomeração das NPs, é necessário funcionalizar sua superfície, criando uma repulsão entre as partículas.

O método de coprecipitação é de baixo custo, simples e acessível, apresenta facilidade de produção em larga escala, além de produzir SPIONs de diâmetro inferior a 10 nm e geometria aproximadamente esférica. Devida a suas características e qualidades, foi o método utilizado nesse trabalho.

Síntese via decomposição térmica

Esse método consiste na decomposição térmica de complexos metálicos, como o tris(acetilacetato)ferro(III), (Fe[acac]₃) (SUN; ZENG, 2002), pentacarbonil de ferro (FeCO₅) e o oleato de ferro (Fe[olea]₃) (HUFSCHMID et al., 2015), na presença de um solvente orgânico de alto ponto de ebulição. Esses complexos metálicos são mais estáveis que os sais de ferro, o que permite uma separação entre as etapas de nucleação e crescimento das NPs. A nucleação ocorre quando o primeiro ligante é

eliminado, o crescimento ocorre apenas com a eliminação dos outros dois ligantes, em temperaturas mais altas. Dessa forma, é possível produzir NPs com baixa dispersão de tamanho e, conseqüentemente, com propriedades uniformes (HUFSCHMID et al., 2015; SOLER; PATERNO, 2016). Contudo, esse método apresenta duas desvantagens em relação ao primeiro apresentado. A decomposição térmica não é completa, de forma que um dos ligantes é mantido como surfactante, promovendo a estabilização das NPs em meio orgânico apolar. Para aplicações biológicas, é necessário que as SPIONs estejam dispersas em água, de forma que é necessário realizar uma etapa de troca de ligantes. Outra desvantagem é o uso de altas temperaturas, que torna o processo de síntese em larga escala mais complexo (SOLER; PATERNO, 2016).

2.1.4 Funcionalização

Devido às forças atrativas (interações dipolo magnético e interações de Van der Waals), as NPs tendem a se aglomerar espontaneamente, reduzindo a energia livre de Gibbs. Para as aplicações, tanto biológicas quanto tecnológicas, é necessário que essas partículas estejam dispersas em um meio, polar ou apolar. Para atingir a estabilização coloidal, é necessário funcionalizar a superfície das NPs, introduzindo forças repulsivas entre elas para evitar a aglomeração.

A estabilização das SPIONs pode ser realizada por dois mecanismos: repulsão eletrostática e repulsão estérica. É possível combinar ambos os mecanismos, utilizando um surfactante com terminais com carga, resultando em uma repulsão eletroestérica.

A repulsão eletrostática ocorre quando a superfície das NPs está carregada (negativa ou positivamente) com cargas de mesmo sinal. A superfície das SPIONs está coberta por grupos hidroxilas (-OH), que são suscetíveis ao pH do meio em que estão dispersas. Dessa forma, é possível estabilizá-las a partir da alteração do pH do meio. A partir de uma titulação potenciométrica, é possível determinar o pH em que a superfície das NPs está carregada e seu ponto de carga zero (*point of zero charge* - PZC). Para os óxidos de ferro, tem-se que PZC está entre 6 – 8 e nessa faixa de pH as NPs floculam rapidamente. Abaixo dessa faixa, ocorre a protonação dos grupos hidroxilas, resultando em SPIONs com carga superficial positiva. Acima do pH_{pzc} , o

grupo -OH está desprotonado e as SPIONs adquirem carga negativa. Em ambos os casos, o fluido magnético obtido, denominado fluido magnético iônico, é estável. Contudo, para aplicação biológica, é necessário que o meio de dispersão tenha pH próximo ao pH fisiológico, em torno de 7,4. Nessa faixa, as NPs flocculam, de forma que a estabilização eletrostática não pode ser utilizada para aplicação *in vivo* (SOLER et al., 2011; BEGIN-COLIN; FELDER-FLESCH, 2012; NUNES et al., 2014).

O outro método de estabilização consiste na inserção de moléculas ou polímeros, chamados de surfactantes, na superfície das SPIONs que preservem suas propriedades, evitem sua oxidação e a aproximação das partículas por impedimento estérico. Os surfactantes geralmente possuem um grupo terminal capaz de se ligar à superfície da NP e uma cauda que interage com o dispersante, evitando aproximação das SPIONs. Os fluidos obtidos nesse processo são denominados fluidos magnéticos surfactados (VIALI et al., 2010; VIALI, 2009).

Para aplicação biológica *in vivo*, além de garantir a estabilização do coloide em meio fisiológico, o surfactante escolhido deve também ser biocompatível; apresentar sítios disponíveis para ancorar fármacos, anticorpos, marcadores, entre outros; retardar a absorção e posterior eliminação das SPIONs pelo sistema reticuloendotelial (SRE) e favorecer a biodistribuição, ou seja, aumentar o tempo de retenção das SPIONs no organismo. Além disso, os surfactantes podem ser específicos para um determinado tecido ou célula, de forma que o nanocarreador seja direcionado ao seu local de ação.

2.2 Ácido Láurico

O ácido láurico (AL) ou dodecanóico ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$), é um ácido graxo de cadeia média, saturado, anfifílico, composto por 12 carbonos. Ele é utilizado em indústrias farmacêuticas, alimentícia (principal ácido graxo do óleo de coco) e cosmética não sendo tóxico em baixas concentrações (MAMANI et al., 2013). Ele possui capacidade antifúngica, antimicrobiana (NAKATSUJI et al., 2009). Devido a suas características, tem sido utilizado como cobertura de NPs na forma de bicamada para promover a estabilização e dispersão em meio aquoso (CHAVES, 2008; HERRERA et al., 2015), e incorporação de fármacos hidrofóbicos (AFIUNE, 2019; SALDANHA, 2012; SANTOS, Camila M. B., 2012).

Para obter um FM aquoso, a funcionalização da SPION com AL deve ser realizada com uma bicamada e ocorre em duas etapas. Primeiramente, as SPIONs são cobertas com uma monocamada do ácido por meio da quimissorção, onde o grupo carboxilato se liga aos átomos de ferro, adquirindo um caráter hidrofóbico. Em seguida, ocorre a fisissorção do surfactante na monocamada, por Força de London (interação dipolo induzido-dipolo induzido) adicionando mais uma camada de AL, formando a bicamada, com o grupo carboxilato em contato com o meio. Dessa forma, o nanocarreador formado possui uma região hidrofóbica, onde é possível incorporar moléculas de mesmo caráter, e uma região hidrofílica, possibilitando a suspensão em meio aquoso (AFIUNE, 2019; SILVA, 2017).

2.3 Pluronic F127

O Pluronic® é um copolímero em blocos, anfifílico e não iônico, com estrutura do tipo PEO-PPO-PEO, sendo o poli(óxido de etileno) (PEO) a porção hidrofílica e o poli(óxido de propileno) (PPO) a porção hidrofóbica (PY-DANIEL et al., 2016).

O Pluronic F127 (PLU) faz parte desse grupo de copolímeros e é formado por 100 unidades repetidas em sequência de PEO nas extremidades e 65 unidades de PPO (figura 3). Além de promover a estabilização das SPIONs em meio aquosos sem alterar as propriedades magnéticas, possibilita a ancoragem de moléculas hidrofóbicas nos nanocarreadores (JAIN et al., 2005; MORALES et al., 2005). O PLU é um copolímero não tóxico, biocompatível, biodegradável e é aprovado pela FDA (Food and Drug Administration – Estados Unidos) (DINIZ et al., 2015; GOMES et al., 2018). Essas características fazem com que o copolímero seja ideal para a cobertura das NPs para aplicações em meio fisiológico.

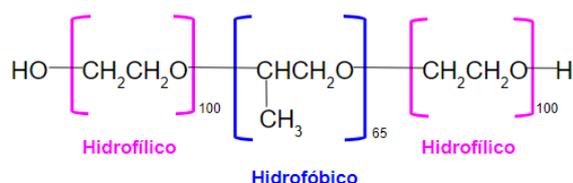


Figura 3 - Fórmula estrutural do Pluronic F127.

Para a funcionalização das SPIONs com o copolímero, é necessário primeiramente inserir uma monocamada na superfície das NPs, que adquirem um

caráter hidrofóbico. Depois, adiciona-se o PLU, que se liga à monocamada por forças de London pela bloco PPO e os blocos PEO ficam em contato com o meio, tornando possível a sua dispersão em meio aquoso, conforme apresentado na ilustração da figura 4 (JAIN et al., 2005, 2009).

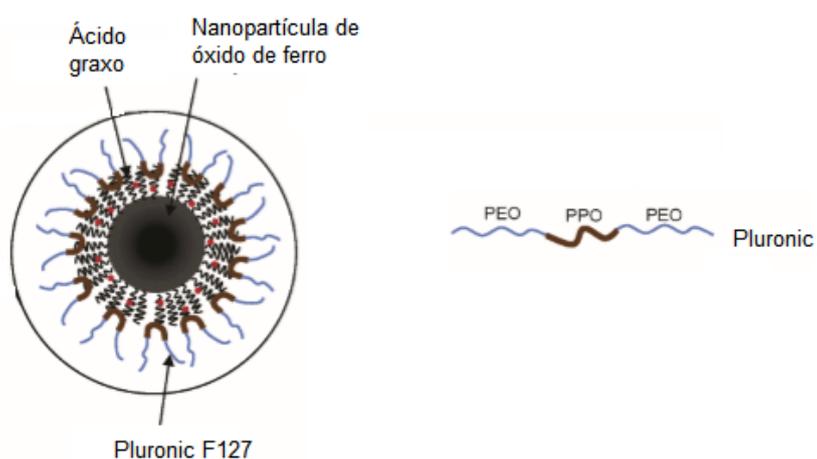


Figura 4 - Ilustração de uma SPION funcionalizada com Pluronic. Adaptado de JAIN et al., 2005.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Para a síntese e funcionalização das nanopartículas de óxido de ferro foram utilizados: cloreto de ferro (II) tetra hidratado ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), cloreto de ferro (III) hexa hidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), hidróxido de sódio (NaOH), ácido clorídrico (HCl), ácido láurico ($\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$), dodecilaminda ($\text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{N}$) e Pluronic F127. Toda a água utilizada neste trabalho foi Mili-Q ($18 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$).

3.2 Síntese das nanopartículas de óxido de ferro

A síntese da magnetita, Fe_3O_4 , foi realizada por meio da coprecipitação em meio aquoso alcalino dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} . Inicialmente, dissolveu-se 0,02 mol de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e 0,04 mol de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 50 mL de uma solução 0,20 mol/L de ácido clorídrico (evitar hidrólise e oxidação dos íons Fe^{2+}). Essa mistura foi adicionada, gota a gota, em 50 mL de uma solução de hidróxido de sódio (1,5 mol/L), a velocidade constante e sob agitação mecânica (1000 rpm). Após adição total da solução de sais de ferro, a amostra ficou sob agitação por 30 minutos, a temperatura ambiente. Ao se adicionar a solução contendo os íons Fe^{2+} e Fe^{3+} à solução alcalina, iniciou-se os processos de nucleação e crescimento das NPs de magnetita (MNT) (LETTI, 2017).

O precipitado preto e magnético formado foi isolado do sobrenadante por decantação como auxílio de um ímã, lavado com água 3 vezes para retirar dos íons presentes, ressuspensão em 100 mL de água e o pH foi ajustado para 3, formando uma suspensão coloidal estável. Depois, a suspensão foi sonicada por 10 minutos (amplitude de 40% e pulso de 5 segundos *on* e 5 segundos *off*) para quebra de aglomerados. A amostra foi nomeada MNT, pH 3.

3.3 Funcionalização das nanopartículas

3.3.1 Funcionalização das nanopartículas com monocamada de laurato

O coloide sonicado foi aquecido à 70°C e o pH foi ajustado para 8 sob agitação magnética. Em seguida, adicionou-se lentamente 0,40g (2,00 mmol) de AL, mantendo-se o pH sempre em torno de 8 e a mistura foi mantida em agitação por 30 minutos, resultando em NPs funcionalizadas com uma monocamada de laurato. A formação da primeira camada foi evidenciada pela dispersão de uma alíquota das SPIONs em n-hexano (figura 5).

As SPIONs funcionalizadas foram separadas com o auxílio de um imã e foram lavadas 2 vezes para remoção de excesso de AL.

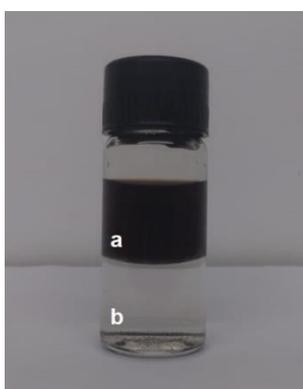


Figura 5 - Nanopartículas funcionalizadas com monocamada de AL, suspensas em hexano (fase a).

3.3.2 Funcionalização das nanopartículas com bicamada laurato/laurato

Nesta etapa empregou-se 4,6g de NPs funcionalizadas com uma monocamada de AL que foram ressuspensas em 50 mL de água. A suspensão foi aquecida a cerca de 70° C e o pH foi ajustado para aproximadamente 8. Adicionou-se lentamente 0,27g de AL (1,35 mmol), observando a suspensão das SPIONs na fase aquosa, evidenciando a formação da segunda camada, hidrofílica (figura 6). A suspensão foi mantida sob agitação por 1h à 70°C e por 24h à temperatura ambiente. O fluido foi centrifugado a 10°C e 5000 rpm, por 10 minutos para remoção de aglomerados e dialisado por 2 dias para remoção de excesso de ácido láurico. O fluido foi nomeado MNT-BL.

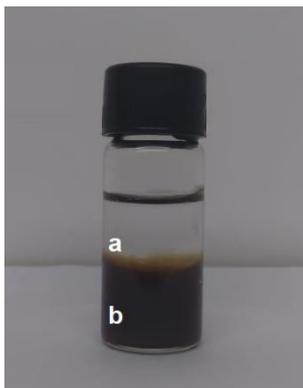


Figura 6 - Nanopartículas funcionalizadas com bicamada de AL, suspensas em água (fase b).

3.3.3 Funcionalização das nanopartículas com bicamada laurato/Pluronic

Nesta abordagem, 4,6g de NPs funcionalizadas com uma monocamada de AL foram ressuspensas em 50 mL de água e adicionou-se 0,28g de PLU ($2,20 \cdot 10^{-5}$ mol), observando a suspensão das SPIONs na fase aquosa, evidenciando a formação da segunda camada. A suspensão ficou sob agitação por 24h à temperatura ambiente. O fluido foi centrifugado a 10°C e 5000 rpm, por 10 minutos para remoção de aglomerados. O fluido obtido nessa etapa foi nomeado MNT-AL/PLU (figura 7).



Figura 7 - Fluido magnético MNT-AL/PLU.

3.4 Caracterização

3.4.1 Espectroscopia Raman

O espectro Raman está intimamente relacionado às características do material analisado, como o arranjo atômico, interações entre as moléculas, simetria cristalina e pode ser utilizado para identificação de um material específico. É uma técnica não destrutiva e geralmente não requer preparação prévia da amostra (LETTI, 2013). Essa técnica foi utilizada para estudar a fase do óxido de ferro sintetizado.

Os espectros Raman foram adquiridos na configuração micro-Raman (lente objetiva com magnificação de 50x) utilizando-se o espectrômetro triplo T64000 (Horiba Scientific, Quioto, Japão), equipado com uma CCD. A excitação das amostras foi realizada com um laser de diodo com $\lambda = 532$ nm com intensidade de 0,30 mW, para evitar a degradação da amostra, na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 cm^{-1} .

3.4.2 Espectroscopia no Infravermelho

A espectroscopia no infravermelho baseia-se na absorção de radiação no infravermelho pela molécula. A molécula absorve radiação infravermelha quando a vibração de seus grupos funcionais produz um campo elétrico oscilante, provocando uma mudança em seu momento dipolo. Caso a frequência do feixe incidente seja igual à frequência de vibração de um determinado grupo, ocorrerá a absorção. Dessa forma, cada substância tem um espectro próprio e essa técnica pode ser utilizada para a identificação de moléculas (PAVIA et al., 2010).

Os espectros no infravermelho foram utilizados para verificar a funcionalização das SPIONs e análise da interação entre a superfície da partícula e a cobertura (HERRERA et al., 2015). As medidas foram realizadas utilizando-se pastilhas de KBr e leituras entre os números de onda 400 a 4000 cm^{-1} , usando o equipamento FTIR Varian 640IR.

3.4.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

A técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET) fornece informações sobre a morfologia, diâmetro médio e dispersão de tamanho das NPs. As análises

foram realizadas no microscópio eletrônico de transmissão Jeol Jim-1011 com voltagem de 80kV, no Laboratório de Microscopia Eletrônica – Instituto de Biologia.

Considerando-se que as NPs possuem formato esférico, os histogramas de tamanhos podem ser obtidos ao se medir o diâmetro de um número grande de partículas (n próximo de mil), a partir das micrografias de MET. Utilizando um ajuste do tipo log-normal (P(D)), equação 5, pode-se obter o diâmetro médio ($D_{méd}$) e o desvio padrão do diâmetro (dispersão - σ).

$$P(D) = \frac{1}{D\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{\ln(\frac{D}{D_{méd}})^2}{2\sigma^2}} \quad (\text{Equação 5})$$

3.4.4 Espalhamento Dinâmico de Luz

O espalhamento dinâmico de luz permite a determinação do diâmetro hidrodinâmico (D_H) da partícula, que leva em consideração a interação da nanopartícula com o meio e a cobertura presente em sua superfície (RIVERA, 2013), além de fornecer o índice de polidispersão (Pdl), que indica o grau de dispersão da amostra. Quanto menor for o Pdl, mais homogêneo será o tamanho dos aglomerados. O potencial Zeta (ζ) se refere à carga elétrica efetiva na superfície das NPs em contato com o líquido. Quanto maior for a carga superficial das partículas, mais afastadas tenderão a estar, de forma que as forças atrativas de Vander Waals serão menores, impedindo ou diminuindo a agregação das NPs. Dessa forma, o potencial Zeta pode ser relacionado com a estabilidade da suspensão (MATOS, 2016). As medidas do tamanho hidrodinâmico e do potencial zeta foram realizadas no equipamento Zetasizer (Nano ZS90, Malvern), empregando-se uma diluição 1:100, no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Alimentos e Cosméticos, na Faculdade de Ciências da Saúde.

3.4.5 Análise Termogravimétrica

A partir da curva termogravimétrica (TG) e da sua derivada (DTG) é possível avaliar o perfil térmico dos componentes do nanocarreador e estimar sua composição,

além de estimar o coeficiente de revestimento de espécies quimissorvidas e fisissorvidas (JAIN et al., 2009; VIALI, 2009).

As amostras (aproximadamente 5mg) foram aquecidas de 25°C a 1000°C a uma taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹, sob fluxo de nitrogênio (vazão de 50 mL.min⁻¹), em cadinhos de platina. As curvas termogravimétricas foram obtidas no equipamento Shimadzu modelo DTG-60.

3.4.6 Grau de revestimento das NPs

A estimativa do grau de revestimento pode ser realizada a partir das perdas de massa obtidas pelo TG, o diâmetro médio obtidos por MET, considerando que as NPs são esféricas, da densidade da magnetita bulk (5,16 g cm⁻³), da área superficial de uma NP e da massa de uma molécula de laurato e de PLU (massas molares iguais a 199,3178 g mol⁻¹ e 12600 g mol⁻¹, respectivamente).

A quantidade de espécies por nanopartícula é dada pela equação 6 e o coeficiente de revestimento orgânico (ξ), estimativa do número de moléculas na superfície de uma NP por unidade de área superficial, é dado pela equação 7.

$$espécies/NP = \frac{P \times m_{NP}}{m_e \times R} \quad (\text{Equação 6})$$

onde a espécie pode ser AL ou PLU, m_{NP} é a massa de uma nanopartícula, m_e é a massa de uma molécula da espécie, P é a perda de massa e R a massa do resíduo, obtidos por TG.

$$\xi = \frac{espécie/NP}{A_m} \quad (\text{Equação 7})$$

onde A_m é a área média de uma nanopartícula em nm².

Para ambas as amostras, o coeficiente de espécies quimissorvidas (ξ_c) foi calculado considerando a espécie como AL. Para o coeficiente de espécies fisissorvidas (ξ_p), utilizou-se PLU para a amostra MNT-AL/PLU e AL, para amostra MNT-BL.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa seção serão apresentados os resultados obtidos a partir da caracterização dos nanocarreadores em duas sessões: primeiramente, serão discutidos os resultados obtidos a partir do fluido magnético (seção 4.1) e depois os obtidos a partir das amostras sólidas (seção 4.2).

Para obtenção das amostras sólidas, uma alíquota de cada amostra foi seca no SpeedVac Concentrator, SPD121P, com Refrigerated Vapor Trap, RVT400, Savant.

4.1 Caracterização dos fluidos magnéticos

A morfologia e a distribuição de tamanhos das SPIONs foram obtidas por meio de micrografias de MET. As figuras 8a e 8b apresentam imagens típicas obtidas das amostras MNT-BL e MNT-AL/PLU, respectivamente. Observa-se que as SPIONs possuem formato aproximadamente esférico, conforme relatado na literatura para NPs sintetizadas pelo método de coprecipitação. Os histogramas de tamanhos obtidos das imagens de MET são mostrados nas figuras 8c e 8d. A partir do ajuste dos dados empregando-se uma distribuição log-normal, obteve-se o diâmetro médio das partículas ($D_{\text{méd}}$) igual a 5,27 ($\pm 0,02$) nm e dispersão de tamanhos (σ) igual a 0,256 ($\pm 0,003$) nm para o fluido MNT-BL e $D_{\text{méd}} = 5,51(\pm 0,07)$ nm e $\sigma = 0,28 (\pm 0,02)$ nm para MNT-AL/PLU. Os dados do diâmetro e da dispersão estão de acordo com o esperado para NPs sintetizadas pelo método de coprecipitação (SOLER; PATERNO, 2016).

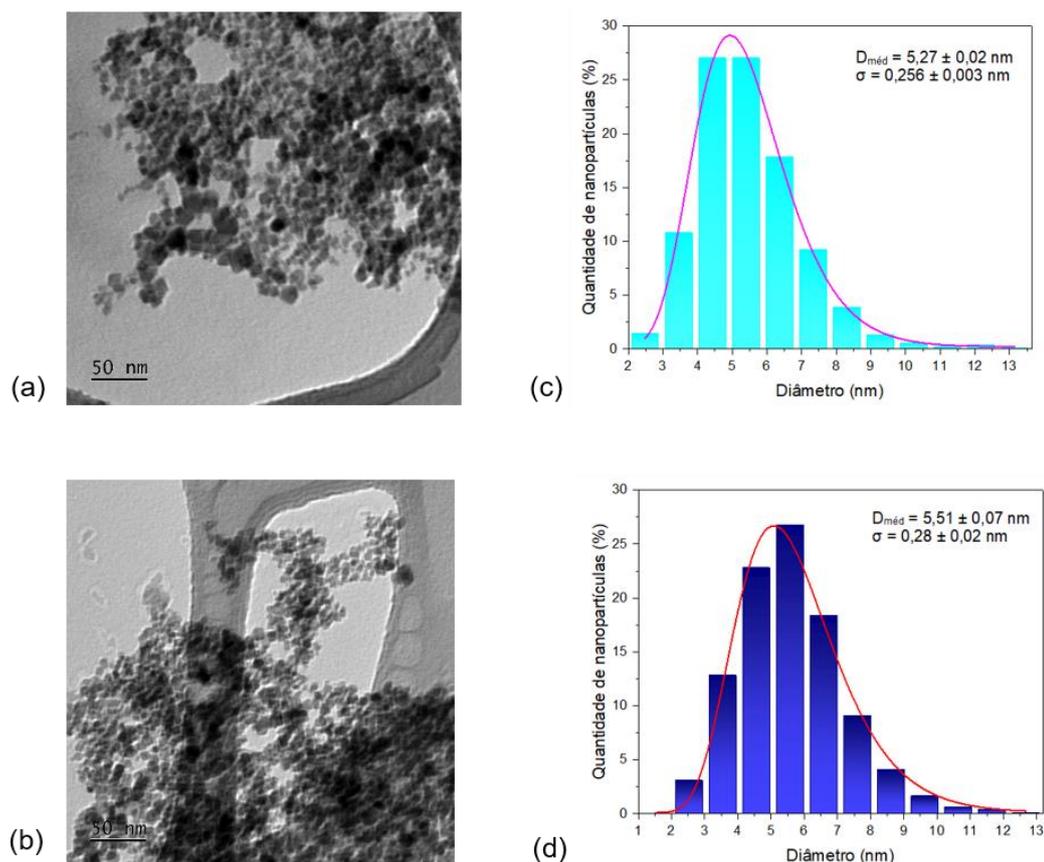


Figura 8 - Micrografias típicas obtidas por MET das amostras (a) MNT-BL e (b) MNT-AL/PLU e histogramas gerados com a contagem de NPs a partir das micrografias obtidas das amostras (c) MNT-BL e (d) MNT-AL/PLU.

Os coloides MNT-BL e MNT-AL/PLU, foram monitorados por um período de 7 dias visando estudar a sua estabilidade por meio dos parâmetros do diâmetro hidrodinâmico e do potencial zeta (ζ). Os diâmetros hidrodinâmicos médios obtidos para as amostras, seus respectivos índices de polidispersão (Pdl) e potenciais zeta estão listados na tabela 1.

Tabela 1 - Diâmetro hidrodinâmico (D_H) médio e potencial Zeta (ζ) da suspensão MGM-BL em função do tempo.

MNT – BL			
Tempo (dias)	D_H (nm)	Pdl	ζ (mV)
0	165 ± 1	$0,224 \pm 0,003$	$-31,1 \pm 0,6$
1	$166,1 \pm 0,7$	$0,22 \pm 0,01$	$-31,6 \pm 0,4$
7	$169,7 \pm 0,4$	$0,23 \pm 0,03$	$-31,7 \pm 0,2$
MNT – AL/PLU			
Tempo (dias)	D_H (nm)	Pdl	ζ (mV)
0	238 ± 2	$0,14 \pm 0,01$	$-16,0 \pm 0,2$
1	$246,0 \pm 0,6$	$0,15 \pm 0,05$	$-15,8 \pm 0,2$
7	242 ± 1	$0,17 \pm 0,02$	$-16,8 \pm 0,1$

Observa-se na tabela 1 que o diâmetro hidrodinâmico de ambas as amostras se manteve praticamente constante durante o período de análise, indicando que não deve ter ocorrido aglomeração de partículas.

O índice de polidispersão manteve-se aproximadamente constante para as amostras MNT-BL e MNT-AL/PLU e os valores obtido está dentro do esperado para amostras sintetizadas por coprecipitação.

Durante o período de análise, o potencial zeta do coloide MNT-BL se manteve abaixo de - 30 mV, o que indica que a amostra é estável (MATOS, 2016) e que a carga superficial da partícula coberta é negativa, indicando que o grupo carboxila do ácido láurico está desprotonado. Os resultados obtidos indicam que esse surfactante estabiliza as NPs por repulsão eletrostática (AFIUNE, 2019).

Os resultados obtidos de D_H , Pdl e potencial zeta para a amostra MNT-BL no período avaliado reafirmam a alta estabilidade das SPIONs cobertas com BL, havendo relato da sua estabilidade por 90 dias, à temperatura ambiente e a 10°C (geladeira), não apresentando diferenças significativas, desses parâmetros (AFIUNE, 2019).

O copolímero Pluronic não possui carga, de forma que esse surfactante estabiliza as NPs apenas por repulsão estérica e que a estabilidade do fluido MNT-AL/PLU seria analisada apenas pelo D_H e Pdl. Apesar disso, obteve-se um potencial zeta negativo para a amostra MNT-AL/PLU. Santos e colaboradores (SANTOS; LIMA, 2007) avaliaram o potencial ζ de SPIONs funcionalizadas com bicamada de AL/PLU e também obtiveram um potencial negativo. Isso pode ter ocorrido por causa da funcionalização das NPs previamente com uma monocamada de ácido láurico. A formação da primeira e da segunda camada de AL ocorrem sequencialmente, nas mesmas condições de reação, e muitas vezes não é possível separá-las. O potencial obtido indica que houve uma funcionalização parcial das SPIONs com bicamada de laurato, que contribui para a estabilidade do FM por repulsão elétrica. Dessa forma, pode-se considerar que a estabilização do coloide MNT-AL/PLU é predominantemente estérica.

4.2 Caracterização dos sólidos nanoparticulados

Para analisar a fase das SPIONs sintetizadas, utilizou-se a espectroscopia Raman. O espectro Raman obtido da amostra de NPs de MNT é mostrado na figura

9. A linha em vermelho corresponde ao ajuste gerado por funções lorentzianas, as linhas azuis correspondem aos modos vibracionais Raman previstos para a fase MNT e as linhas verdes correspondem aos previstos para a fase maghemita (MGM) nas NPs sintetizadas.

A partir dos valores obtidos do ajuste e daqueles previstos pela teoria para o material bulk cristalino e nanoparticulados disponíveis na literatura, pode-se associar os picos observados no espectro da Figura 9 aos seguintes modos vibracionais (indicados na tabela 2) característicos da fase MNT, 323 E_g , 495 $T_{2g}(2)$, 539 $T_{2g}(3)$ e 679 A_{1g} cm^{-1} , indicando que nas NPs sintetizadas prevaleceu a fase MNT. Entretanto, é possível observar também modos atribuídos à fase MGM, 381 (T_{2g}), 723 (A_{1g}), com menor intensidade, indicando que houve uma oxidação parcial. Essa oxidação pode ter sido induzida pelo aumento de temperatura devido à incidência do laser e exposição da amostra ao ambiente. Devida a alta razão superfície/volume, a superfície das NPs é muito reativa, de forma que o processo de oxidação da MNT para MGM ocorre mesmo sem ter sido induzido (LETTI, 2013).

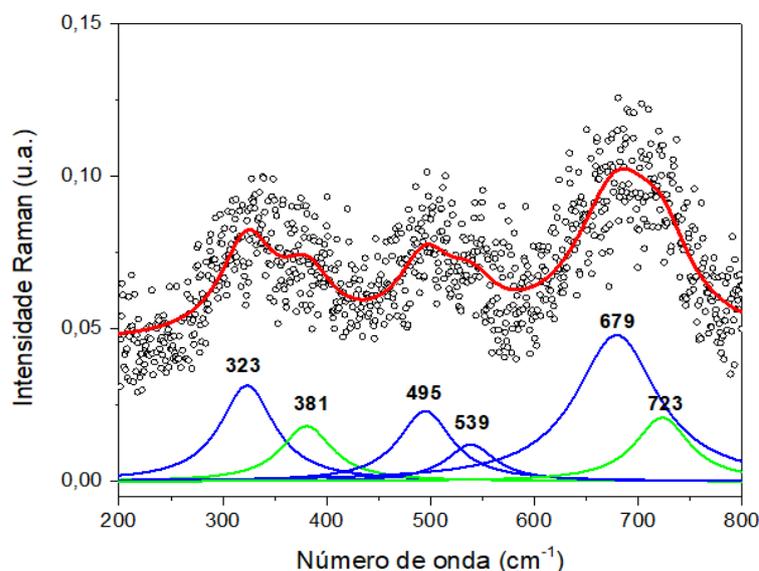


Figura 9 - Espectro Raman obtido da amostra de NPs de MNT sintetizadas.

Tabela 2 - Modos vibracionais observados no espectro Raman da amostra MNT.

Número de onda (cm^{-1})	Modo Vibracional
323	E_g
381	T_{2g} (MGM)
495	T_{2g} (2)
539	T_{2g} (3)
679	A_{1g}
723	A_{1g} (MGM)

Para avaliar a funcionalização das SPIONs e determinar a interação entre as camadas dos surfactantes e a nanopartícula, foram realizadas as análises dos espectros de infravermelho dos dois nanocarreadores obtidos, além dos surfactantes puros.

Os espectros IV do AL puro, da amostra MNT-ML e da MNT-BL estão apresentados na Figura 10. Observa-se que o espectro do AL apresenta as bandas características de um ácido carboxílico saturado, como a absorção O-H, uma banda larga que ocorre na região 3600 a 3200 cm^{-1} , as bandas de estiramento assimétrico $\nu_a\text{CH}_3$ em 2955 cm^{-1} e $\nu_a\text{CH}_2$ em 2920 cm^{-1} , os estiramentos simétricos $\nu_s\text{CH}_3$ em 2870 cm^{-1} e $\nu_s\text{CH}_2$ em 2848 cm^{-1} , a vibração de dobramento da rotação do $\delta(\text{CH}_2)$ no plano em 719 cm^{-1} , que está associado com a presença de pelo menos quatro CH_2 em uma cadeia aberta, denominada banda de cadeia longa, e o estiramento C=O em 1701 cm^{-1} (HERRERA et al., 2015; PAVIA et al., 2010).

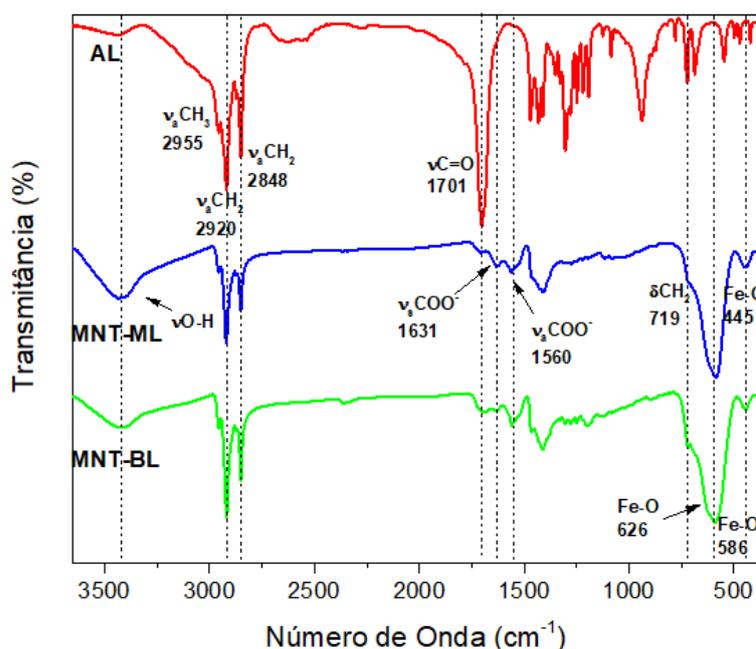


Figura 10 - Espectro infravermelho obtido das amostras AL (em vermelho), MNT-ML (em azul) e MNT-BL (em verde).

No espectro da amostra MNT-BL (Figura 10), pode-se identificar os picos referentes aos estiramentos da ligação Fe-O de óxidos de ferro em 445, 586 e 626 cm^{-1} , que também se encontram no espectro de MNT-ML. Como ambas as amostras foram funcionalizadas apenas com ácido láurico, não há grande diferença entre os espectros.

A funcionalização com laurato da superfície das NPs é sugerida devido à presença das vibrações associadas aos estiramentos/*stretch* de CH₂ e CH₃ que são observados nos espectros de MNT-BL e MNT-ML, não sofrendo alterações em relação ao AL puro, o desaparecimento do modo vibracional correspondente à carbonila (C=O) e o aparecimento de duas novas vibrações em 1631 e 1560 cm⁻¹, que correspondem aos modos de vibração do carboxilato assimétrico $\nu_a(\text{COO}^-)$ e simétrico $\nu_s(\text{COO}^-)$, respectivamente. A diferença de comprimento de onda entre as vibrações $\nu_a(\text{COO}^-)$ e $\nu_s(\text{COO}^-)$ pode ser utilizada para determinar o tipo de interação que ocorre entre os carboxilatos e os metais (DEACON; PHILLIPS, 1980; HERRERA et al., 2015). Para o sistema obtido, teve-se uma diferença de 71 cm⁻¹, o que indica uma ligação entre o ferro e o carboxilato do tipo bidentada quelante (figura 11).

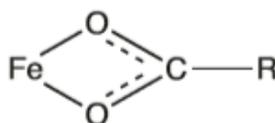


Figura 11 - Representação de uma coordenação bidentada quelante.

Os espectros de infravermelho do Pluronic F127 puro (PLU) e das amostras MNT-ML e MNT-AL/PLU estão apresentados na figura 12. O espectro do fluido MNT-AL/PLU apresenta picos correspondentes a primeira camada de AL em 1631 e 1560 cm⁻¹, que correspondem aos modos de vibrações $\nu_a(\text{COO}^-)$ e $\nu_s(\text{COO}^-)$, respectivamente, e bandas correspondentes a cadeia carbônica, tanto do PLU quanto do AL entre 2955 e 2848 cm⁻¹, que correspondem às frequências de estiramentos simétricos e assimétricos de CH₂ e CH₃. e a vibração de dobramento da rotação do $\delta(\text{CH}_2)$ no plano em 1468 cm⁻¹. O principal indicativo da funcionalização com a segunda camada com PLU é o aparecimento do pico em 1110 cm⁻¹, equivalente ao estiramento do grupo éter ($\nu\text{C-O-C}$), presente na estrutura do copolímero (GOMES et al., 2018; PAVIA et al., 2010; YAN-LEI SU et al., 2002).

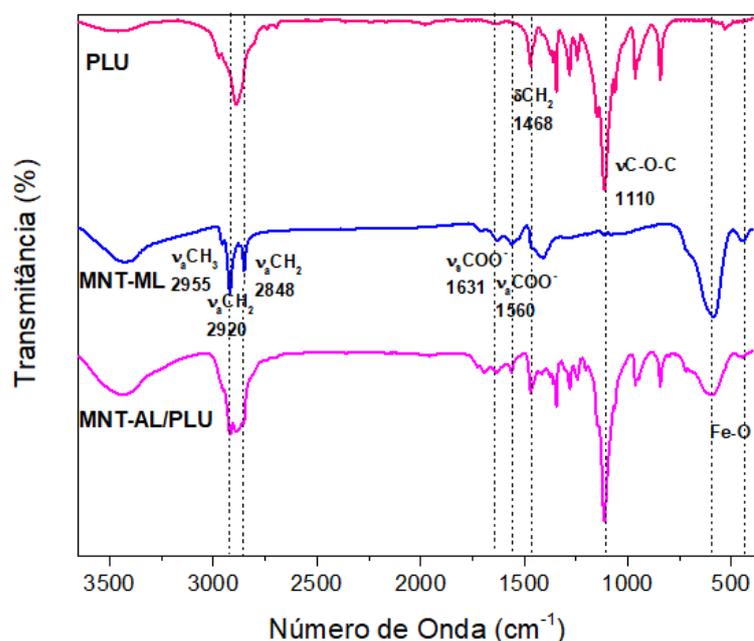


Figura 12 - Espectro infravermelho obtido das amostras PLU (em rosa), MNT-ML (em azul) e MNT-AL/PLU (em roxo).

A análise termogravimétrica foi utilizada para determinar o grau de revestimento orgânico (ξ), a quantidade de espécies fisissorvidas, que estão mais fracamente ligadas à superfície das SPIONs e compõem a segunda camada, e a quantidade de espécies quimissorvidas, que compõem a primeira camada e estão fortemente ligadas à superfície das SPIONs.

A estimativa do grau de revestimento foi calculada a partir das perdas de massa obtidas pelo TG e os diâmetros médios obtidos por MET, considerando que as nanopartículas são esféricas. A faixa de perda de massa foi obtida com o auxílio da primeira derivada da curva TG (DTG).

Quando a decomposição dos sólidos ocorre em duas etapas, com intervalos de temperatura entre 20°C e 50°C, pode-se considerar que há dois tipos de interação entre a espécie e a nanopartícula, o que indica que um arranjo em multicamadas foi formado. A primeira etapa, que ocorre a temperatura mais baixa (250°C), corresponde à decomposição de moléculas fisissorvidas e a segunda etapa, que ocorre em temperatura mais elevada (370°C), corresponde a dessorção e decomposição de moléculas quimissorvidas. (AFIUNE, 2019; LANDFESTER; RAMÍREZ, 2003; VIALI, 2009).

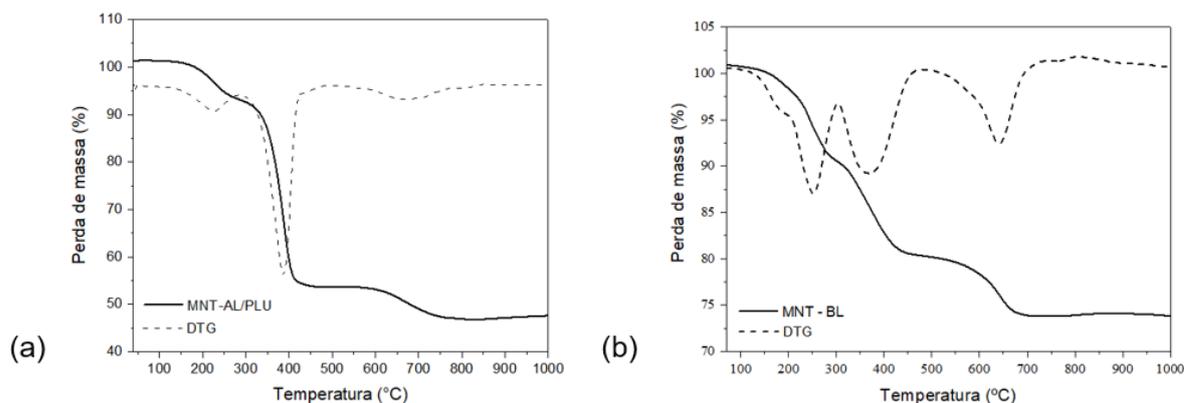


Figura 13 - Curvas termogravimétricas (linha preta) e termogravimétricas derivadas (linha tracejada) dos nanocompósitos: (a) MNT-AL/PLU e (b) MNT-BL.

As perdas de massa observadas para as amostras MNT-BL e MNT-AL/PLU (figura 13) foram registradas na tabela 3.

Tabela 3 - Perda de massa obtida por TG/DTG

Amostra	Perda de massa (%)		
	1º Evento 200 – 310 °C	2º Evento 310 – 470 °C	3º Evento 490 – 740 °C
MNT-BL	5,94	8,39	9,62
MNT-AL/PLU	3,17	29,43	6,18

Na amostra MNT-AL/PLU é possível observar uma pequena perda de massa na faixa entre 200 e 310 °C, que corresponde à faixa onde espera-se que ocorra a decomposição das moléculas de ácido láurico fisissorvidas, ou seja, que compõe a segunda camada. Isso indica que houve a formação parcial da bicamada de AL nas NPs, conforme observado na análise do potencial zeta. Além disso, observou-se que a decomposição do PLU ocorre na mesma faixa da decomposição da monocamada de AL, de forma que a perda de massa entre 310 e 470°C corresponde as decomposições do PLU e do AL.

Observou-se, em ambas as amostras, uma terceira etapa de perda de massa, na faixa de temperatura entre 490 e 740°C. Essa perda pode estar relacionada com a decomposição de espécies orgânicas fortemente ligadas à NPs e que possivelmente se polimerizaram na superfície devido durante o aquecimento (VIALI, 2009).

A partir dos dados registrados na tabela 3, utilizou-se as equações 6 e 7 para estimar, respectivamente, o número de moléculas de laurato por nanopartícula e o coeficiente de revestimento para a amostra MNT-BL (tabela 4).

Para calcular a quantidade de moléculas de PLU e seu coeficiente de revestimento, primeiro subtraiu-se a perda de massa correspondente a monocamada de AL, obtida pelo TG da amostra MNT-BL, e depois utilizou-se a equação 6 e 7, utilizando o PLU como espécie.

Tabela 4 - Moléculas adsorvidas por nanopartícula e coeficiente de revestimento.

Amostra	1ª Camada		2ª Camada	
	Laurato/NP	ξ_p (nm ⁻²)	Espécies/NP	ξ_c (nm ⁻²)
MNT-AL/PLU	116,97	1,34	6,05	0,06
MNT-BL	116,97	1,34	82,82	0,95

ξ_p e ξ_c são os coeficientes de revestimento do tipo fisissorvido e quissorvido, respectivamente e espécies refere-se a laurato para a amostra MNT-BL e a Pluronic para MNT-AL/PLU.

Estes resultados indicam que a cadeia PPO (bloco hidrofóbico) de cada molécula de pluronic em MNT-AL/PLU interage com mais de uma molécula de ácido láurico da monocamada. Isso pode estar relacionado com o tamanho da cadeia, composta por 65 unidade de óxido de propileno, que pode interagir com várias moléculas hidrofóbicas. Jain e colaboradores (JAIN et al., 2009) produziram NPs funcionalizados com ácido oleico (AO) e Pluronic F127 e, a partir de análises termogravimétricas, obtiveram que a composição de AO e PLU nos nanocarreadores foram de 15,4-17,1% e 14,5%, respectivamente, de forma que a quantidade de moléculas de PLU por nanopartícula encontrada também foi inferior a quantidade de lauratos por NP.

5. CONCLUSÃO

Nesse trabalho foram produzidos nanocarreadores de óxido de ferro funcionalizados com bicamada de ácido láurico e bicamada laurato/Pluronic F127, dispersos em meio aquosos, visando aplicações biomédicas. As nanopartículas foram sintetizadas pelo método da coprecipitação em meio aquoso, obtendo-se SPIONs com tamanho, morfologia e dispersão de acordo com o registrado na literatura, além de serem predominantemente da fase magnetita. Os fluidos obtidos foram caracterizados pelas técnicas de Espectroscopia Raman e no infravermelho, Espalhamento Dinâmico de Luz, Microscopia Eletrônica de Transmissão e Análise Termogravimétrica.

Os resultados obtidos por FT-IR indicam que houve uma coordenação entre o grupo carboxilato do ácido láurico e o ferro da NP por uma ligação bidentada quelante, formando a monocamada, e uma interação entre as cadeias de AL ou do PPO do Pluronic para a formação da segunda camada. Pelos dados obtidos por TG, observou-se que as moléculas de AL da monocamada interagem fortemente com a superfície das nanopartículas e precisam de temperaturas mais altas para se decomporem, o que está de acordo com a análise do espectro infravermelho. Já as espécies da segunda camada se decompõem na mesma faixa que a substância pura, indicando que a sua interação com a superfície é mais fraca.

Além disso, observou-se que os surfactantes escolhidos promovem a estabilização das nanopartículas em meio aquoso e em pH fisiológico, a partir de repulsão predominantemente estérica (bicamada AL/PLU) e eletroestérica (bicamada AL), formando suspensões coloidais estáveis por pelo menos 7 dias.

Considerando os dados obtidos, tem-se que os nanocarreadores sintetizados possui grande potencial para aplicações biomédicas, como, por exemplo, carreadores de fármacos. As perspectivas futuras para esse trabalho incluem incorporação de fármacos e outras moléculas biocompatíveis, estudo das propriedades magnéticas desses fluidos e sua aplicação em magnetohipertermia.

6. REFERÊNCIAS

- AFIUNE, Luana Alves de Freitas. **Síntese e caracterização de complexos nanoestruturados para aplicação tópica**. 2019. 1–89 f. Tese (Doutorado em Nanociência e Nanobiotecnologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2019.
- ALCÂNTARA, Gustavo Braga. **Nanopartículas de maguemita complexadas com ácido oleico**. 2007. 140 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade de Brasília, Brasília, 2007.
- BEGIN-COLIN, Sylvie; FELDER-FLESCHE, Delphine. Functionalisation of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles. In: THANH, Nguyen TK (Org.). **Magn. Nanoparticles from Fabr. to Clin. Appl.** CRC Press, 2012. p. 151–192.
- CAIXETA, Adrielle Veloso; BINSFELD, Pedro Canisio. **Nanomedicamentos e Nanocarreadores de drogas para o uso terapêutico de Câncer**. 2013.
- CHAVES, Sacha Braun. **Efeitos biológicos de nanopartículas magnéticas recobertas por bicamada de ácido láurico: estudos in vitro e in vivo**. 2008. 112 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
- DEACON, G.B.; PHILLIPS, R.J. Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylato complexes and the type of carboxylate coordination. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 33, n. 3, p. 227–250, 1 out. 1980.
- DINIZ, Ivana M. A. et al. Pluronic F-127 hydrogel as a promising scaffold for encapsulation of dental-derived mesenchymal stem cells. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 26, n. 3, p. 153, 15 mar. 2015.
- DURÁN, Nelson; MATTOSO, Luiz Henrique Capparelli; MORAIS, Paulo Cezar de. **Nanotecnologia: Introdução, Preparação e Caracterização de Nanomateriais e Exemplos de Aplicação**. São Paulo: Artliber Editora, 2006.
- FRANCISQUINI, Elton; SCHOENMAKER, Jeroen; SOUZA, José Antonio. Nanopartículas Magnéticas e suas Aplicações. **Química Supramol. e Nanotecnologia**. 1ª ed. [S.l.]: Atheneu, 2012. p. 269–289.
- GOMES, Deizilene S.B. et al. New insights on the formation of gold nanoparticles and Pluronic nanocomposites: Kinetics and thermodynamics parameters. **Journal of Molecular Liquids**, v. 268, p. 181–189, 15 out. 2018.
- GUPTA, Ajay Kumar; GUPTA, Mona. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Biomaterials**, v. 26, p. 3995–4021, 2005.
- HERRERA, W.T. et al. Structural and vibrational studies of fatty acids-functionalized iron oxide nanoparticles via alkaline co-precipitation route. **NANOCON 2015 - 7th International Conference on Nanomaterials - Research and Application, Conference Proceedings**, n. June 2017, p. 1–10, 2015.

HUFSCHMID, Ryan et al. Synthesis of phase-pure and monodisperse iron oxide nanoparticles by thermal decomposition Graphical abstract HHS Public Access. **Nanoscale**, v. 7, n. 25, p. 11142–11154, 2015.

JAIN, Tapan K. et al. Iron Oxide Nanoparticles for Sustained Delivery of Anticancer Agents. **Molecular Pharmaceutics**, v. 2, n. 3, p. 194–205, 2005.

JAIN, Tapan K. et al.. Magnetic resonance imaging of multifunctional pluronic stabilized iron-oxide nanoparticles in tumor-bearing mice. **Biomaterials**, v. 30, n. 35, p. 6748–6756, dez. 2009.

LANDFESTER, Katharina; RAMÍREZ, Liliana P. Encapsulated magnetite particles for biomedical application. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 15, n. 15, p. S1345–S1361, 23 abr. 2003.

LETTI, Camila Jéssica. **Estudo das propriedades de filmes automontados formados por nanopartículas de óxido de ferro e polímeros**. 2017. 130 f., il. Tese (Doutorado em Física) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

LETTI, Camila Jéssica. **Estudo de nanocompósitos formados por partículas de óxidos de ferro e polímeros por meio da espectroscopia Raman**. 2013. xxiii, 111 f., il, Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

MAMANI, J.B. et al. Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles coated with lauric acid. **Materials Characterization**, v. 81, p. 28–36, jul. 2013.

MATOS, Hannah Larissa Siqueira. **Síntese de nanopartículas de óxido de ferro funcionalizadas para remoção de Pb²⁺**. 2016. 87 f. Universidade Federal de Goiás, 2016.

MORALES, M. A. et al. Magnetic studies of iron oxide nanoparticles coated with oleic acid and Pluronic® block copolymer. **Journal of Applied Physics**, v. 97, n. 10, p. 203–205, 2005.

NAKATSUJI, Teruaki et al. Antimicrobial Property of Lauric Acid Against Propionibacterium Acnes: Its Therapeutic Potential for Inflammatory Acne Vulgaris. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 129, n. 10, p. 2480–2488, 1 out. 2009.

NUNES, Eloiza S et al. Evidence of iron (III) reduction in γ -Fe₂O₃ nanoparticles due to meso-2,3-dimercaptosuccinic acid functionalization. **Materials Research Express**, v. 1, n. 1, p. 016107, 24 fev. 2014.

PAVIA, Donald L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 2010.

PY-DANIEL, Karen R. et al. Highly efficient photodynamic therapy colloidal system based on chloroaluminum phthalocyanine/pluronic micelles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 103, p. 23–31, 1 jun. 2016.

RIVERA, Luis M.R. et al. Biocompatible superparamagnetic carriers of chondroitin sulfate. **Materials Research Express**, v. 6, n. 6, 2019.

RIVERA, Luis M. R. **Síntese de complexos nanoestruturados formados por óxidos de ferro e sulfato de condroitina**. 2013. 96 f., il. Dissertação (Mestrado em Nanociência e Nanobiotecnologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SALDANHA, Camila de Arruda. **Avaliação da atividade antifúngica da anfotericina b conjugada com nanopartículas magnéticas estabilizadas com bicamada de ácido láurico no tratamento da paracoccidioidomicose**. 2012. xiv, 86 f., il. Tese (Doutorado em Biologia Animal) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

SANTOS, Camila Messias Barbosa. **Estudo pela técnica SERS do arranjo de moléculas bioativas adsorvidas em nanopartículas de óxido de ferro e de suas aplicações em sistemas biológicos**. 2012. xviii, 147 f., il. Tese (Doutorado em Física) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

SANTOS, Michelly Christine dos; LIMA, Emília Celma de Oliveira. **Estudo do efeito do potencial de superfície na internalização de nanopartículas de magnetita em células cultivadas**. Goiânia-GO, Brasil.

SILVA, Matheus Oliveira da. **Nanopartículas de γ -Fe₂O₃ revestidas com bicamada de ácido láurico: funcionalização com acetato, propionato, butirato e succinato de ródio(II) e com albumina de soro bovino**. 2017. xiii, 101 f., il. Tese (Doutorado em Nanociência e Nanobiotecnologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

SOLER, M. A.G.; PATERNO, L. G. Magnetic nanomaterials. **Nanostructures**. Elsevier Inc., 2016. p. 147–186.

SOUZA, Aryane Tofanello de. **Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro para aplicações biomédicas – um estudo citotóxico em linhagem celular de carcinoma cervical humano (células HeLa)**. 2011. 111 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2011.

SUN, Shouheng; ZENG, Hao. Size-Controlled Synthesis of Magnetite Nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 28, p. 8204–8205, 2002.

Superparamagnetic Iron Oxides. In: SOLER, M. A. G. *et al.* **Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology**. California, USA: American Scientific Publishers, 2011. p. 513–532.

VIALI, Wesley R. et al. Investigation of the molecular surface coating on the stability of insulating magnetic oils. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 1, p. 179–188, 2010.

VIALI, Wesley Renato. **Síntese e Caracterização de nanopartículas de maghemita revestidas com ácido oléico para obtenção de fluidos magnéticos a base de óleos isolantes**. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Educação em Química) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

YAN-LEI SU et al. Study of Salt Effects on the Micellization of PEO–PPO–PEO Block Copolymer in Aqueous Solution by FTIR Spectroscopy. **Langmuir**, v. 18, n. 3, p. 865–871, 2002.