

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

KARINA DONADEL

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS
MAGNÉTICAS DE ÓXIDO DE FERRO REVESTIDAS COM OS
BIOMATERIAIS QUITOSANA E HIDROXIAPATITA**

Florianópolis

2006

KARINA DONADEL

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS
MAGNÉTICAS DE ÓXIDO DE FERRO REVESTIDAS COM OS
BIOMATERIAIS QUITOSANA E HIDROXIAPATITA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a Obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais

Orientador: Prof. Dr. Mauro C.M.Laranjeira

Florianópolis

2006

KARINA DONADEL

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE
ÓXIDO DE FERRO REVESTIDAS COM OS BIOMATERIAIS QUITOSANA E
HIDROXIAPATITA**

Esta dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do grau de **Mestre em
Ciência e Engenharia de Materiais** no **Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Engenharia de Materiais** da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 17 de fevereiro de 2006

Prof. Dr. Alexandre Lago
Coordenador do Curso de Pós-Graduação

Prof. Dr. Mauro C. M. Laranjeira
(orientador)

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. João Cardoso de Lima
FSC-UFSC

Prof. Dr. Carlos Renato Rambo
PGMAT- UFSC

Prof. Dr. Guilherme M.O. Barra
PGMAT-UFSC

Aos meus pais, Nilto e Neusa, por todo apoio, compreensão, carinho, incentivo e muito amor que sempre me deram.

Ao meu irmão, Daniel e a minha Cunhada Juliane, pelo apoio e incentivo.

Ao meu namorado, Gilson, pelo apoio, compreensão e amor.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida.

Aos meus pais, NILTO E NEUSA, pelo amor, dedicação, força, carinho, e por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

Ao meu irmão Daniel, pela amizade e incentivo.

Ao meu namorado Gilson pelo amor, incentivo, compreensão e apoio durante todos os momentos de realização desta dissertação.

Ao meu orientador prof. Dr. Mauro C.M.Laranjeira pela sua amizade e apoio durante a realização dessa dissertação e também pelo oportunidade de trabalhar junto ao grupo QUITTECH.

Aos colegas do grupo QUITTECH por toda amizade e apoio.

Ao prof. Dr. Nelson Jhoe Batistela e ao Maurício (Grupo GRUCAD/EEL/UFSC) pelo desenvolvimento do sistema de aquecimento indutivo utilizado para testar os ferrofluidos.

Ao prof. Dr. Ábio Valeriano e ao Marcos (Laboratório de Materiais Magnéticos- Departamento de Física da UFSC) pelas análises no Magnetômetro de Amostra Vibrante e ao Marcos por todo o tempo que disponibilizou para me ajudar na interpretação das análises.

Ao Laboratório de Caracterização Microestrutural do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC.

A Central de Análises do Departamento de Química da UFSC pelas análises de espectroscopia no infravermelho e espectrometria de absorção atômica.

Aos professores João Cardoso de Lima, Guilherme M.O. Barra e Carlos Renato Rambo por aceitarem o convite para participar da banca examinadora.

A Patrícia (Laboratório de Caracterização Microestrutural-UFSC) pela ajuda nas análises de raios X para a identificação das fases presentes nas amostras .

A CAPES pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO.....	15
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1. Magnetismo e Propriedades Magnéticas.....	17
2.1.1. Diamagnetismo.....	18
2.1.2. Paramagnetismo.....	18
2.1.3. Ferromagnetismo.....	19
2.1.4. Antiferromagnetismo.....	20
2.1.5. Ferrimagnetismo.....	21
2.1.6. Temperatura de Curie, Domínios magnéticos e Curva de magnetização.....	22
2.2. Partículas magnéticas.....	24
2.2.1. Magnetita.....	24
2.2.2. Maghemita.....	26
2.3. Ferrofluidos.....	27
2.4. Fosfatos de cálcio.....	27
2.4.1 Hidroxiapatita.....	28
2.5. Quitosana.....	29
2.6. Aplicações das partículas magnéticas.....	31
2.6.1. Hipertermia.....	31
2.6.2. Direcionamento magnético de fármacos a sítios alvo.....	32
2.6.3. Imagem de ressonância magnética (MRI).....	34

3.	OBJETIVOS	35
3.1.	Objetivo geral.....	35
3.2.	Objetivos específicos	35
4.	METODOLOGIA EXPERIMENTAL	36
4.1.	Materiais.....	36
4.1.1.	Reagentes.....	36
4.1.2.	Equipamentos.....	36
4.2.	Métodos.....	37
4.2.1.	Spray Drying.....	37
4.2.2.	Síntese das partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF).....	38
4.2.3.	Síntese da hidroxiapatita (HAp).....	39
4.2.4.	Preparação da solução aquosa de quitosana 1,5% (m/v).....	39
4.2.5.	Preparação das partículas magnéticas de óxido de ferro revestidas com hidroxiapatita.....	40
4.2.6.	Preparação das partículas magnéticas de óxido de ferro revestidas com quitosana.....	40
4.2.7.	Preparação dos Ferrofluidos.....	41
4.2.8.	Técnicas de Caracterização.....	41
4.2.8.1.	Difração de raios X (DRX).....	41
4.2.8.2.	Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	41
4.2.8.3.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Energia Dispersiva de raios X (EDX).....	42
4.2.8.4.	Espectrometria de Absorção Atômica com atomização em chama (FAAS).....	42
4.2.8.5.	Medida das Propriedades Magnéticas(Magnetômetro de Amostra Vibrante).....	43
4.2.9.	Avaliação da variação da temperatura de aquecimento nos ferrofluidos sob a aplicação de um campo magnético alternado.....	43

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1. Caracterização da Hidroxiapatita (HAp) por Difração de raios X e Espectroscopia no Infravermelho.....	45
5.2. Caracterização da Quitosana (QTS) por Difração de raios X e Espectroscopia no Infravermelho.....	47
5.3. Caracterização das partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF) e amostras revestidas com biomaterias por Difração de raios X e Espectroscopia no Infravermelho.....	48
5.3.1. Partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF).....	48
5.3.2. Amostras revestidas com Hidroxiapatita : PMOF/HAp = 0,7 e PMOF/HAp=3,2.....	51
5.3.3. Amostras revestidas com quitosana: PMOF/QTS = 1,6 e PMOF/QTS=4,5.....	54
5.4. Caracterização das Partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF) e amostras revestidas com biomaterias por Microscopia Eletrônica de Varredura e Energia Dispersiva de raios X.....	56
5.5. Caracterização das Partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF) e amostras revestidas com biomaterias por Espectrometria de Absorção atômica com atomização em Chama (FAAS).....	61
5.6. Medida das Propriedades Magnéticas (Magnetômetro de Amostra Vibrante) das partículas magnéticas de óxido de ferro e amostras revestidas.....	62
5.7. Avaliação da variação da temperatura de aquecimento nos ferrofluidos sob a aplicação de um campo magnético alternado.....	65
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
7. SUGESTÕES	70
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Representação esquemática do ferromagnetismo	19
Figura 2	- Representação esquemática do antiferromagnetismo	20
Figura 3	- Representação esquemática do ferrimagnetismo	21
Figura 4	- Domínios Magnéticos	22
Figura 5	- Ciclo de Histerese	23
Figura 6	- Estrutura cristalina da magnetita tipo espinélio inverso	25
Figura 7	- Estruturas dos biopolímeros quitina (a) e quitosana (b)	30
Figura 8	- Aplicações terapêuticas contra o câncer : hipertermia e liberação de drogas	33
Figura 9	- Princípio de funcionamento do spray drier: A) princípio de funcionamento para a secagem do material, B) princípio de funcionamento para a formação do spray a partir da amostra (Manual Buchi)	37
Figura 10	- Sistema de aquecimento composto pelo inversor de frequência (1) e o solenóide (2)	44
Figura 11	- Detalhe do solenóide para aquecimento por indução	44
Figura 12	- Padrão de Difração de raios X da hidroxiapatita	45
Figura 13	- Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR) da hidroxiapatita	46
Figura 14	- Padrão de Difração de raios X da quitosana	47
Figura 15	- Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR) da quitosana	48
Figura 16	- Padrão de Difração de raios X das partículas magnéticas de óxido de ferro	50
Figura 17	- Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR) das partículas magnéticas de óxido de ferro	51
Figura 18	- Padrão de Difração de raios X das amostras (a) PMOF/HAp = 0,7 e (b) PMOF/HAp = 3,2	52

- Figura 19 - Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR) : (a) 54
PMOF ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$); (b) HAp; (c) PMOF/HAp = 0,7 e (d)
PMOF/HAp = 3,2
- Figura 20 - Padrão de Difração de raios X das amostras (a) PMOF/QTS = 1,6 55
e (b) PMOF/ QTS= 4,5
- Figura 21 - Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR) : 56
(a)PMOF($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$); (b)QTS; (c) PMOF/QTS = 1,6 e (d)
PMOF/QTS = 4,5
- Figura 22 - Imagem por Microscopia eletrônica de varredura : (a) partículas 57
magnéticas de óxido de ferro antes do spray-drying e (b)
partículas magnéticas de óxido de ferro depois do spray-drying
- Figura 23 - Imagem por microscopia eletrônica de varredura : (a) PMOF/HAp 58
= 0,7 (b) PMOF/HAp = 3,2; (c) PMOF/QTS = 1,6 e (d) PMOF/QTS
= 4,5
- Figura 24 - Curva de calibração para a análise por absorção atômica 61
- Figura 25 - Curva de desmagnetização das partículas magnéticas de óxido de 63
ferro ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)
- Figura 26 - Curva de desmagnetização das amostras revestidas: (a) 63
PMOF/HAp = 0,7 , (b) PMOF/QTS = 1,6; (c); PMOF/QTS = 4,5 e
(d) PMOF/HAp = 3,2
- Figura 27 - Curva de aquecimento para o ferrofluido contendo as partículas 66
magnéticas de óxido de ferro ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)
- Figura 28 - Curvas de aquecimento para os ferrofluidos : (a) PMOF/HAp = 0,7; 67
(b) PMOF/HAp = 3,2; (c) PMOF/QTS = 1,6 e (d) PMOF/QTS = 4,5.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Propriedades físicas da magnetita e maghemita	26
Tabela 2	- Análise por energia dispersiva de raios X mostrando a diferença da composição química das amostras em 5 keV e 20 keV.	60
Tabela 3	- Resultados obtidos pela análise de absorção atômica.	62
Tabela 4:	Propriedades magnéticas das partículas magnéticas de óxido de ferro e amostras revestidas com hidroxiapatita e quitosana.	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ca/P	Razão cálcio/fósforo
DRX	Difração de raios X
EDX	Energia Dispersiva de raios X
FAAS	Flame Atomic Absorption Spectrometry(Espectrometria de Absorção Atômica com atomização em Chama)
FTIR	Fourier transformed infrared spectroscopy (Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier)
GD	Grau de desacetilação
HAp	Hidroxiapatita
Hc	Campo Coercivo
JCPDS	International Centre for Diffraction Data
K	Kelvin
mA	mili-Âmpére
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MM	Massa Molecular
MRI	Imagem por Ressonância Magnética
Mr	Magnetização Remanente
Ms	Magnetização de Saturação
NL/h	Normi litro/hora
Oe	Oersted
PMOF	Partículas magnéticas de óxido de ferro
QTS	Quitosana
rpm	Rotações por minuto
TCP	Fosfato tricálcico
T _c	Temperatura de Curie
T _n	Temperatura de Néel
VSM	Vibrating Sample Magnetometer (Magnetômetro de Amostra Vibrante)

RESUMO

As partículas magnéticas têm sido cada vez mais usadas nos campos da biociência e medicina. O uso de partículas magnéticas para induzir a hipertermia em tecidos biológicos é um fator importante para a terapia do câncer. O objetivo deste estudo foi preparar e caracterizar partículas magnéticas de óxido de ferro revestidas com a biocerâmica hidroxiapatita e o biopolímero quitosana e também preparar os ferrofluidos a partir das partículas magnéticas de óxido de ferro. A síntese das partículas magnéticas de óxido de ferro foi realizada através da coprecipitação de íons Fe^{2+} e Fe^{3+} em soluções salinas pela adição de uma base. A biocerâmica hidroxiapatita foi sintetizada pela precipitação de sais de cálcio e fosfato e o biopolímero quitosana foi obtido comercialmente. As partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF) foram revestidas com hidroxiapatita e quitosana por spray-drying usando diferentes razões de PMOF/revestimento (PMOF/HAp = 0,7, PMOF/HAp = 3,2, PMOF/QTS = 1,6 e PMOF/QTS = 4,5). Os ferrofluidos foram preparados a partir das PMOF e das amostras revestidas. Os materiais foram caracterizados por diversas técnicas, tais como, difração de raios X (DRX), espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), energia dispersiva de raios X (EDX), espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS), medida das propriedades magnéticas (magnetômetro de amostra vibrante (VSM)). Dentre os ferrofluidos preparados o que mostrou melhores resultados para ser utilizado em aplicações terapêuticas, tais como, tratamento por hipertermia, foi a amostra PMOF/QTS = 1,6. Essa amostra ao ser submetida a um campo magnético alternado aqueceu 1°C em 3 minutos e teve uma variação na temperatura de 7°C . Considerando uma temperatura inicial de 37°C , essa variação na temperatura é fundamental, pois, células cancerosas perecem ao redor de $42-46^{\circ}\text{C}$. As outras amostras também tiveram a mesma variação, mas demoraram aproximadamente 7 minutos para aquecer 1°C .

Palavras-chave: partículas magnéticas, hipertermia, hidroxiapatita e quitosana

ABSTRACT

Magnetic particles have been increasingly used in the fields of bioscience and medicine. The use of magnetic particles to induce hyperthermia in biological tissues is an important factor for cancer therapy. The aim of this study was to prepare and characterize iron oxide magnetic particles coated with bioceramic hydroxyapatite and biopolymer chitosan, and also to produce ferrofluids from the iron oxide magnetic particles. The synthesis of iron oxide magnetic particles was carried out via co-precipitation of Fe^{2+} and Fe^{3+} aqueous salt solutions by the addition of a base. Bioceramic hydroxyapatite was synthesized by precipitation of salts of calcium and phosphates and biopolymer chitosan was acquired commercially. The iron oxide magnetic particles (IOMP) were coated with hydroxyapatite and chitosan by spray-drying method using different ratios the IOMP/coating (IOMP/HAp = 0,7, IOMP/HAp = 3,2 IOMP/CS = 1,6 IOMP/CS = 4,5). The ferrofluids were prepared from magnetic particles and coated samples. The materials were characterized from some techniques, such as, X-ray diffraction (XRD), scanning electronic microscopy (SEM), energy dispersive X-ray (EDX), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), flame atomic absorption spectrometry (FAAS), magnetic properties measurement (vibrating sample magnetometer -VSM). Among the prepared ferrofluids, the sample PMOF/QTS = 1,6 was the ones that showed the better results to be used in therapeutics applications, such as, treatment for hyperthermia. When this sample was submitted to an alternated magnetic field, we observed that 1°C heated in 3 minutes and had a variation in the temperature of 7°C . Considering an initial temperature of 37°C , this variation is significant given that the cancerous cells perish around of $42\text{-}46^\circ\text{C}$. The other samples had also the same variation, but they delayed 7 minutes approximately to heat 1°C .

Keywords: magnetic particles, hyperthermia, hydroxyapatite, chitosan

1. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

Depois das doenças cardiovasculares o câncer é a principal causa de mortes nos países ocidentais e, estima-se que a incidência mundial dos diferentes tipos de câncer é em torno de dez milhões por ano (COZZI, 2003). Esta patologia é caracterizada por uma proliferação descontrolada de células, sendo que as alterações essenciais que transformam células normais em cancerosas são devidas principalmente a mutações de células somáticas (DE VITA, 1998).

A hipertermia por indução magnética é uma das técnicas utilizadas no tratamento de câncer, cujo princípio de funcionamento se baseia na exposição de tecidos cancerosos a um campo magnético alternado, induzindo o aquecimento dos tecidos malignos com objetivos terapêuticos. As células de câncer geralmente perecem em torno de 42°C quando é aplicado um tratamento térmico (GUPTA & GUPTA, 2005; KAWASHITA, 2005). A hipertermia magnética é geralmente utilizada em conjunto com outras modalidades de tratamento do câncer, com o objetivo de melhorar a eficácia dos fármacos anti-neoplásicos, sem aumentar o potencial citotóxico, sendo também favorável a aumentar a resposta clínica na radioterapia, imunoterapia e terapia gênica. A hipertermia também pode ser usada como uma terapia autônoma, com resultados comparáveis à quimioterapia (GOYA, 2005).

O material para hipertermia, além de exibir propriedades magnéticas pelo aquecimento também precisa ser biocompatível. O uso de materiais biocompatíveis, como cerâmicas e polímeros, são encontrados em vários tipos de diagnósticos e terapias de intervenção. Usualmente estes tipos de materiais, com características funcionais são mantidos como revestimento devido a sua conhecida biocompatibilidade. (DEB et al, 2003 ; DENKBAS, 2002; GROSS et al, 2002).

Neste trabalho optou-se como biopolímero a quitosana devido às suas excelentes propriedades tais como, biocompatibilidade, biodegradabilidade,

atividade antimicrobiana, propriedades de cicatrização e também pela sua capacidade de regenerar tecidos (JIANG et al, 2005; MALAFAYA et al, 2005). Como revestimento inorgânico (biocerâmica) a hidroxiapatita foi escolhida, pois além da sua propriedade de biocompatibilidade ela também pode ser interessante em tumores ósseos (DONADEL et al, 2005; DAMIEN et al, 2003). Ao mesmo tempo em que o tumor ósseo é tratado através da hipertermia, a hidroxiapatita poderá ajudar na osteointegração, ou seja, na formação do novo tecido ósseo.

Visando aplicações clínicas, este trabalho tem como objetivo principal a preparação e caracterização de partículas magnéticas de óxido de ferro revestidas com biomateriais (biocerâmica e biopolímero) e a preparação de ferrofluidos com propósitos de diagnóstico e aplicações terapêuticas, tais como hipertermia, liberação de fármacos e imagem por ressonância magnética.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Magnetismo e Propriedades Magnéticas

O magnetismo é um dos campos de estudos mais antigos da ciência. Sua origem está ligada ao nome de uma cidade da região da antiga Turquia, chamada Magnésia, que era rica em minério de ferro. O magnetismo é o fenômeno que está relacionado com a força de atração ou repulsão que atua entre os materiais magnéticos. Os fenômenos magnéticos são utilizados em várias áreas, tais como, sistema de geração e distribuição de energia (hidrelétricas, entre outros), sistemas de conversão eletromecânica (eletrodomésticos, automóveis, aviões), eletrônicos e de telecomunicações, transdutores, sensoriamento, prospecção geológica, informática, automação industrial, medicina e a engenharia biomédica (CALLISTER, 2002; REZENDE, 2000 ; RIBEIRO, 2000).

As interações que existem entre um campo magnético externo e os momentos dipolo magnético dos átomos constituintes determinam as propriedades magnéticas do material. Os Momentos magnéticos, orbital e de *spin*, estão associados a cada elétron individual. O momento magnético líquido para um átomo é a soma das contribuições de cada um dos seus elétrons, onde existirá um cancelamento dos momentos de *spin* e orbital dos pares eletrônicos. A susceptibilidade magnética e a permeabilidade magnética são propriedades que consistem da resposta magnética dos materiais quando são submetidos à ação de um campo magnético externo. (CALLISTER, 2002; SANTOS, 1997).

Os materiais podem ser classificados em vários tipos de magnetismo: diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo, ferrimagnetismo e antiferromagnetismo. Todos os materiais exibem pelo menos um desses tipos e o comportamento depende da resposta do elétron e dos dipolos magnéticos atômicos à aplicação de um campo magnético externo (RÍOS, 2004; SANTOS, 1997).

2.1.1. Diamagnetismo

O diamagnetismo é uma forma muito fraca de magnetismo que persiste somente quando um campo externo está sendo aplicado. Um material é diamagnético quando tem susceptibilidade magnética (χ) negativa na ordem de -10^{-5} , ou seja, quando a magnetização induzida no material pelo campo externo (H) é contrária ao campo. Quando os materiais diamagnéticos são colocados sob a ação de um campo magnético externo, eles são repelidos por este campo. Os materiais diamagnéticos mais comuns são o grafite, o mármore, quartzo, feldspato. (CALLISTER, 2002; DE MIRANDA, 2005; RIBEIRO, 2000).

2.1.2. Paramagnetismo

O paramagnetismo é uma propriedade de certos materiais de magnetizar-se na direção e sentido de um campo magnético externo. Em geral, esta magnetização é função da temperatura. Quando o campo magnético externo é aplicado, os dipolos magnéticos atômicos tendem a se alinhar com o campo, mas o movimento térmico dos átomos impedem que este alinhamento seja perfeito. Na ausência de um campo magnético aplicado, os dipolos magnéticos atômicos são ocasionalmente alinhados e cancelados um após o outro até que a magnetização seja zero. A susceptibilidade magnética é sempre positiva e pequena para materiais paramagnéticos variando entre 10^{-5} e 10^{-3} . O alumínio e o sódio são

materiais que exibem o paramagnetismo (CALLISTER, 2002; MCMILLAN, 1975; SANTOS, 1997).

2.1.3. Ferromagnetismo

No ferromagnetismo, (Figura 1) o alinhamento dos dipolos magnéticos atômicos ocorre dentro de domínios, sendo estes os que se orientam no campo magnético aplicado e podem seguir orientados ao ser retirado o campo. Acima de uma determinada temperatura, Temperatura de Curie, esse alinhamento é destruído e o material se comporta como paramagnético. Os materiais ferromagnéticos apresentam suscetibilidades grandes e positivas (aproximadamente 1). Um material ferromagnético encontra-se na máxima magnetização, chamada de magnetização de saturação M_s , quando todos os dipolos magnéticos estão alinhados com o campo externo. O ferromagnetismo é exibido pelos metais de transição ferro, cobalto, níquel e alguns dos metais terras raras, como gadolínio (BARROS, 2004; CALLISTER, 2002; MCMILLAN, 1975; RIBEIRO, 2000).

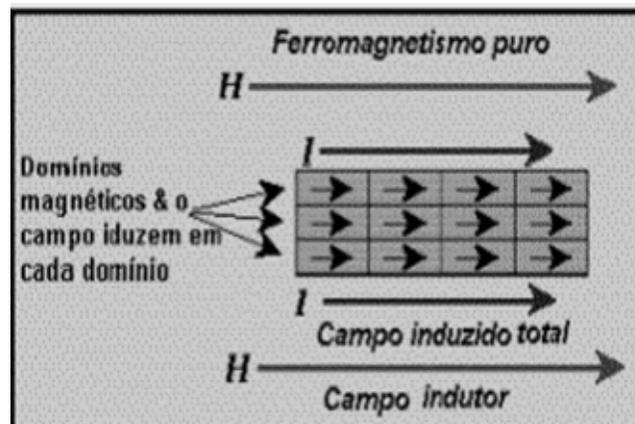


Figura 1: Representação esquemática do ferromagnetismo

Fonte: BARROS, 2004

2.1.4. Antiferromagnetismo

O antiferromagnetismo (Figura 2) acontece quando em um material os dipolos magnéticos atômicos estão alinhados antiparalelos dentro dos domínios. Nos materiais antiferromagnéticos, o acoplamento antiparalelo conduz um cancelamento entre os momentos magnéticos. Para o antiferromagnetismo a temperatura crítica designa-se por Temperatura de Néel (T_N), acima desta temperatura a ordem antiferromagnética é destruída e o material comporta-se como paramagnético. Abaixo da temperatura crítica T_N , a magnetização e a susceptibilidade diminuem tendendo a zero quando $T \rightarrow 0$. Alguns materiais que exibem o antiferromagnetismo, MnO, FeO, CoO, NiO. (DE MIRANDA, 2005; NOVAK, 2005).



Figura 2: Representação esquemática do antiferromagnetismo

Fonte: BARROS, 2004

2.1.5. Ferrimagnetismo

A diferença entre os ferromagnetos e os ferrimagnetos reside na fonte dos momentos magnéticos líquidos. O ferrimagnetismo é bem ilustrado com as ferritas cúbicas, sendo a magnetita (Fe_3O_4) a ferrita protótipo. Na magnetita a ordem é semelhante ao antiferromagnetismo, porém as sub-redes cristalinas acopladas anti-paralelamente não se cancelam totalmente, sendo o momento magnético global diferente de zero. Tal, pressupõe que um dos conjuntos de domínios tem um alinhamento magnético mais forte ou, então, que existem mais domínios numa direção do que na outra (Figura 3) (DE MIRANDA, 2005; CALLISTER, 2002).

Os materiais ferrimagnéticos também possuem temperatura crítica, a temperatura de Curie, onde acima desta temperatura o alinhamento é rompido e o material torna-se paramagnético. As magnetizações de saturação para os materiais ferrimagnéticos não são tão elevadas quanto para os materiais ferromagnéticos. Alguns materiais, além das ferritas, que exibem o ferrimagnetismo são as ferritas hexagonais ($\text{PbFe}_{12}\text{O}_{19}$ e $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$) e as granadas ($\text{Y}_3\text{Fe}_5\text{O}_{12}$) (CALLISTER, 2002; SANTOS, 1997).

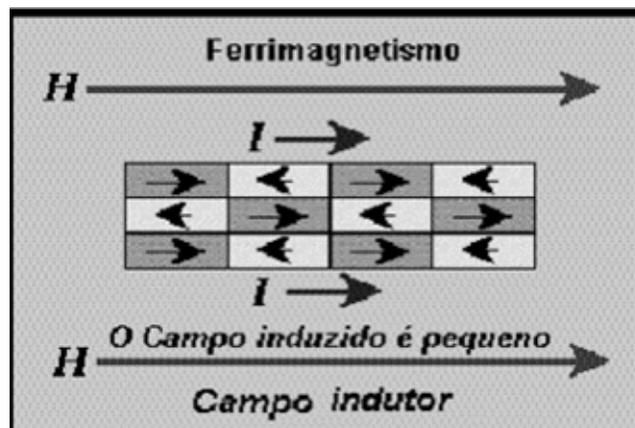


Figura 3: Representação esquemática do ferrimagnetismo

Fonte: BARROS, 2004

2.1.6. Temperatura de Curie, Domínios Magnéticos e Curva de Magnetização

A temperatura também pode influenciar as características magnéticas dos materiais. Com o aumento da temperatura, o maior movimento térmico dos átomos tende a tornar aleatórias as direções de quaisquer momentos que possam estar alinhados. Quando os materiais ferromagnéticos ou ferrimagnéticos são aquecidos, o valor da magnetização de saturação diminui com a temperatura e alcança um valor zero que é conhecido por Temperatura de Curie T_c ou ponto de Curie. O antiferromagnetismo também é afetado pela temperatura. (CALLISTER, 2002; KIRK-OTHMER, 1981).

Um material ferromagnético ou ferrimagnético a uma temperatura abaixo da temperatura de Curie é composto de domínios. Esses domínios são regiões em que os momentos magnéticos tendem a se alinhar, mesmo na ausência de campo externo. Se este alinhamento ocorrer em todo material, a magnetização será uniforme (Figura 4a). Neste caso é criado um campo macroscópico externo e a quantidade de energia é relativamente grande se comparada a outras configurações possíveis, de um modo geral é uma configuração instável. Se metade da amostra possuir magnetização num sentido e metade no outro (Figura 4b), essa energia também deve ser reduzida. Na Figura (4c) a magnetização total é nula, ou seja, não existe campo magnético no exterior do material (KIRK-OTHMER, 1981; RIBEIRO, 2000).

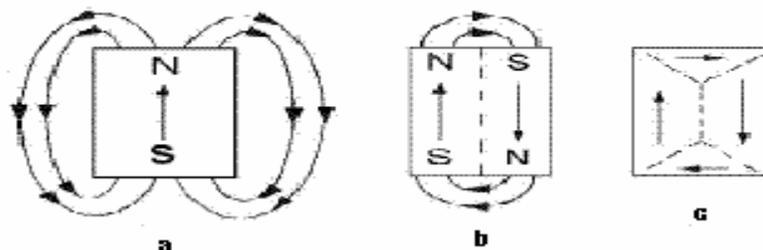


Figura 4: Domínios Magnéticos

Fonte: RIBEIRO, 2000

A curva de M em função de H (Figura 5) representa um ciclo de histerese que é levado à saturação. Quando um campo é aplicado no material inicialmente desmagnetizado, este tende a atingir um patamar constante chamado de magnetização de saturação (M_s), que está representado pela curva pontilhada na curva de histerese. No momento em que o campo é diminuído, a partir do valor da magnetização de saturação, M decresce mais lentamente seguindo o sentido dado pela seta até um valor residual da magnetização para um campo nulo chamado de magnetização remanente (M_r), onde o material permanece magnetizado sem aplicação de um campo externo. Invertendo o sentido do campo segue no mesmo sentido da curva para valores de M menores que M_r , até que a magnetização se anule para um determinado valor de campo, chamado de campo coercivo (H_c). Continuando a variar o módulo do campo chega-se novamente a uma região de saturação e repetindo ciclo no sentido inverso obtém-se uma curva fechada que é o chamado ciclo de histerese.(CALLISTER, 2002; HARRIS, 2002; RIBEIRO, 2000).

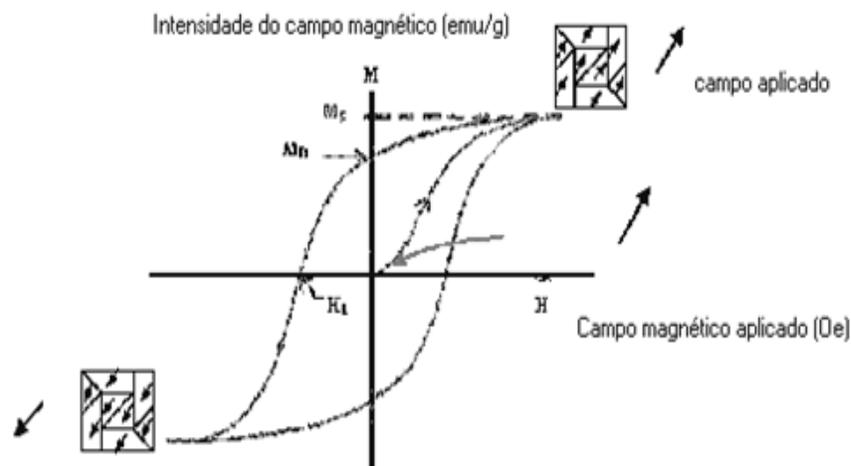


Figura 5: Ciclo de Histerese

Fonte: HARRIS, 2002

2.2. Partículas magnéticas

2.2.1. Magnetita

A magnetita, Fe_3O_4 , é um composto de ferro e oxigênio com propriedade ferrimagnética. Ocorre naturalmente, em geral associado com outros óxidos de metais de transição como TiO_2 (titanomagnetita), Cr_2O_3 (cromomagnetita), mais raramente MgO e Al_2O_3 . Pode-se ainda considerar também uma fase de óxido de ferro trivalente, a $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (maghemita). A fórmula química da magnetita é Fe_3O_4 , mas também pode ser escrita como $\text{Fe}^{2+}\text{O}^{2-} \cdot (\text{Fe}^{3+})_2(\text{O}^{2-})_3$, onde os íons ferro existem nos estados de valência +2 e +3 na razão de 1:2 (CALLISTER, 2002 SANTOS,1997;).

A magnetita é um óxido de ferro comum e cristaliza-se em uma estrutura tipo espinélio inverso (AB_2O_4), onde os íons O^{2-} formam um arranjo cúbico denso de face centrada (CFC) e cátions ferro ocupando sítios tetraédricos intersticiais e sítios octaédricos. A célula unitária é composta por 56 átomos: 32 ânions O^{2-} , 16 cátions Fe^{3+} e 8 cátions Fe^{2+} . Os íons Fe^{3+} são localizados em 8 sítios tetraédricos (sítios A), ao passo que íons Fe^{2+} e íons Fe^{3+} são distribuídos em 16 sítios octaédricos (sítios B) por célula unitária (Figura 6). Os elétrons podem transitar entre os íons Fe^{2+} e Fe^{3+} nos sítios octaédricos em temperatura ambiente, conferindo à magnetita uma importante classe dos materiais meio metálicos (Figura 6) (HARRIS, 2002; HUANG et al, 2005; SANTOS, 1997; ZULUAGA & RESTREPO, 2004).

Os íons Fe^{3+} são divididos quase que igualmente entre as posições tetraédricas e octaédricas e desta forma, não existem momentos magnéticos resultantes da presença desses íons. Todavia, quase todos os íons Fe^{2+} residem nos interstícios das posições octaédricas, e serão estes íons responsáveis pela magnetização de saturação ou ainda pelo comportamento magnético do material (ORTIZ, 2000).

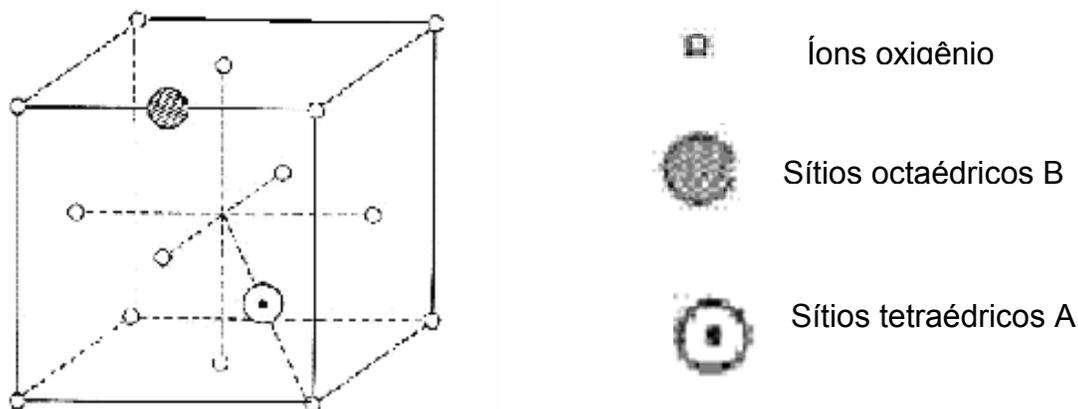
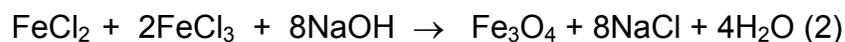


Figura 6: Estrutura cristalina da magnetita tipo espinélio inverso

Fonte: HARRIS, 2002

Óxidos de ferro (ambos Fe_3O_4 ou $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) podem ser sintetizados através da coprecipitação de Fe^{2+} e Fe^{3+} pela adição de uma base em soluções aquosas salinas. O controle de tamanho, forma e composição das partículas dependem do tipo de sal usado (por ex: cloretos, sulfatos, nitratos, percloratos, etc.). A magnetita convencionalmente é preparada pela adição de uma base na mistura aquosa de cloreto de Fe^{2+} e Fe^{3+} na razão molar de 1:2. Abaixo são apresentadas duas reações de coprecipitação da magnetita com diferentes bases (GUPTA & GUPTA, 2005; PARK et al, 2004):



A magnetita é de grande interesse para várias aplicações tais como em pigmentos, materiais de gravação, fotocatalise, tecnologia de ferrofluidos, médicas, biológicas, liberação de drogas, separação de materiais biológicos, entre outras (LIAN et al, 2004 ; MATSUOKA et al, 2004).

2.2.2. Maghemita

A maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) é muito similar a magnetita nas propriedades físicas e na estrutura cristalina (Tabela 1). Ambas exibem o ferrimagnetismo, mas a maghemita tem a saturação de magnetização menor. A diferença em suas respostas magnéticas é devido às interações nas sub-redes (HARRIS, 2002).

Tabela 1: Propriedades físicas da magnetita e maghemita (HARRIS, 2002)

Material	Magnetita	Maghemita
Sistema Cristalino	Cúbico	Cúbico ou tetragonal
Dimensões da célula (nm)	$a_0 = 0.839$	$a_0 = 0.834$
Densidade (g/cm^3)	5.26	4.87
Cor	preta	marron-avermelhado
Susceptibilidade magnética (emu/g)	90-98	76-81
Temperatura de Curie (K)	850	820-986

A maghemita, como a magnetita, apresentam uma estrutura tipo espinélio invertido, deficiente em cátions, pois não existem Fe^{3+} suficientes para o preenchimento de todos os sítios de coordenação Fe-O. A $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ pertence ao grupo espacial $\text{Fd}3\text{m}$ e pode ser descrita pela seguinte fórmula: $\text{Fe}_A^{3+} [\text{Fe}_{5/3}^{3+} \square_{1/3}]_B\text{O}_4$, onde A representa sítio com coordenação tetraédrica, B sítio com coordenação octaédrica e \square a vacância catiônica na sub-rede octaédrica. A célula unitária da maghemita é composta por 21,33 átomos de ferro, todos como Fe^{3+} , e por 32 átomos de oxigênio por célula unitária. Uma vez que as estruturas são idênticas e que a magnetita tem 2,67 átomos de ferro a mais que a maghemita por unidade de célula, na estrutura da maghemita deverá existir 2,67 vacâncias por unidade de células. (PROFETA et al, 2005; SILVA et al, 2003).

A maghemita pode ser obtida pela oxidação em ar da magnetita conforme a reação a seguir (HARRIS, 2002):



2.3. Ferrofluidos

Os ferrofluidos formam parte de uma nova classe de materiais magnéticos. Um ferrofluido (fluido magnético) é uma suspensão coloidal de partículas magnéticas revestidas com uma camada de surfactante dispersas em um líquido portador. A estabilização dos ferrofluidos se consegue através do recobrimento das partículas magnéticas com moléculas de um surfactante de cadeia longa, como é o ácido láurico, ácido oleico, polivinilamina e surfactantes de dupla camada. A função do surfactante é produzir uma repulsão entrópica necessária para vencer a intensa atração de Van der Waals de curto alcance, que de outra forma resulta numa agregação das partículas e a conseqüente instabilidade coloidal que promove a precipitação. Devido às únicas propriedades dos ferrofluidos, especialmente a possibilidade de controlá-los por um campo magnético externo, eles têm encontrado múltiplas aplicações práticas (CERDA et al, 2003; JÓZEFCZAK, 2004; VALENZUELA et al, 2005).

Os fluidos magnéticos aquosos têm sido usados para diagnósticos e terapia em aplicações clínicas e na biotecnologia. A fim de serem usadas para aplicações biomédicas, as partículas magnéticas devem ser pré-revestidas com substâncias que asseguram sua estabilidade, biodegradabilidade, e não toxicidade em um meio fisiológico. Os fluidos magnéticos biocompatíveis podem ser usados como sistemas de liberação de agentes anticâncer na região local do tumor, na hipertermia, também são usados em procedimentos cirúrgicos na oftalmologia e como agente de contraste em imagem de ressonância magnética, etc (JÓZEFCZAK et al, 2005).

2.4. Fosfatos de cálcio

Os fosfatos de cálcio (CaP) estão bastante presentes na família das biocerâmicas bem conhecidas por seu uso em aplicações biomédicas. Estas são algumas das aplicações das estruturas de CaP com típica forma dos compostos

chamados apatita. Este termo descreve uma família de compostos que tem estrutura similar (sistema hexagonal, grupo espacial $P6_3/m$). Estes compostos são atrativos materiais biomédicos devido a sua excelente biocompatibilidade e não toxicidade de seus compostos químicos. As várias fases de fosfatos de cálcio exibem diferentes estruturas cristalinas e razão Ca/P, que representam os cimentos e cerâmicas reabsorvíveis e não reabsorvíveis (FINISIE et al, 2001; DONADEL et al, 2005; KUMTA et al, 2005).

Uma forma conveniente de classificar os vários fosfatos de cálcio é através de sua razão molar Ca/P. Diversos fosfatos de cálcio que possuem razão variando de 0,5 a 2,0 podem ser sintetizados por precipitação a partir de soluções contendo íons cálcio e fosfato, sob condições alcalinas ou ácidas.

Pesquisas atuais estão focadas no desenvolvimento de biocerâmicas magnéticas para aplicações clínicas usando uma variedade de composições e de métodos de processamento, embora é reconhecido que os estudos fundamentais de propriedades físicas são necessários para obter biomateriais de confiança a longo prazo (LEVENTOURI et al, 2005).

2.4.1. Hidroxiapatita

A hidroxiapatita (HAp) que é quimicamente representada por $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ é caracterizada pela razão Ca/P de 1.67, está presente em quantidades substanciais no tecido mineralizado de ossos e dentes dos vertebrados e representa 60-70% da fase mineral do osso humano (FERNANDES & LARANJEIRA, 2000; FINISIE et al, 2001). A hidroxiapatita estequiométrica é monoclinica com grupo espacial $P2_1/b$, exibindo os parâmetros de rede $a = 9.421 \text{ \AA}$, $b = 2a$ e $c = 6.88 \text{ \AA}$. Outros estudos mostraram que também pode exibir uma estrutura hexagonal com grupo espacial $P6_3/m$. Porém, é difícil a obtenção de uma estequiometria (razão Ca/P) exata para a hidroxiapatita, pois as diferentes razões de Ca/P que podem ser estabilizadas, dependem do método de síntese e das condições empregadas (KUMTA et al, 2005).

A HAp é a menos solúvel e o composto mais estável das fases de fosfato de cálcio em soluções aquosas e valores de pH maiores que 4.2. Contudo, o pó de HAp tem sido sintetizado em meio altamente alcalino para assegurar relativa estabilidade térmica e ainda a pureza da fase após a sinterização em temperatura elevada. A síntese química do pó de hidroxiapatita em meio neutro e/ou meio aquoso fracamente ácido é conhecido por ser muito complicado e uma tarefa difícil (BAYRAKTAR & TAS, 1999).

Muitos métodos para sintetizar a hidroxiapatita têm sido relatados tais como, precipitação, reação no estado sólido, método sol-gel, método hidrotermal, técnica de emulsão e microemulsão, reação mecânico-química, etc. (DONADEL et al, 2005; KOTHAPALLI et al, 2004; KUMTA et al, 2005).

Em anos recentes, a hidroxiapatita (HAp) sintética tem surgido como um material biocerâmico muito promissor para muitas aplicações tais como ortopédica, dental, liberação de drogas, separação de biomoléculas, e também está sendo usada como revestimento de materiais magnéticos, devido a sua excelente biocompatibilidade. (DEB et al, 2003; SUNNY et al, 2002).

2.5. Quitosana (QTS)

A quitosana (Figura 7b), poli[β -(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranoose], é a forma N-desacetilada da quitina (Figura 7a), poli[β -(1-4)-2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranoose], que é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina em soluções alcalinas. A quitina é o principal componente dos artrópodes e cascas de crustáceos tais como lagosta, siri, caranguejo e camarão. A diferença entre quitosana e quitina é somente os grupos funcionais situados no carbono 2 da unidade monomérica (DENKBAS et al, 2002; JIANG et al, 2005; FINISIE et al, 2001) .

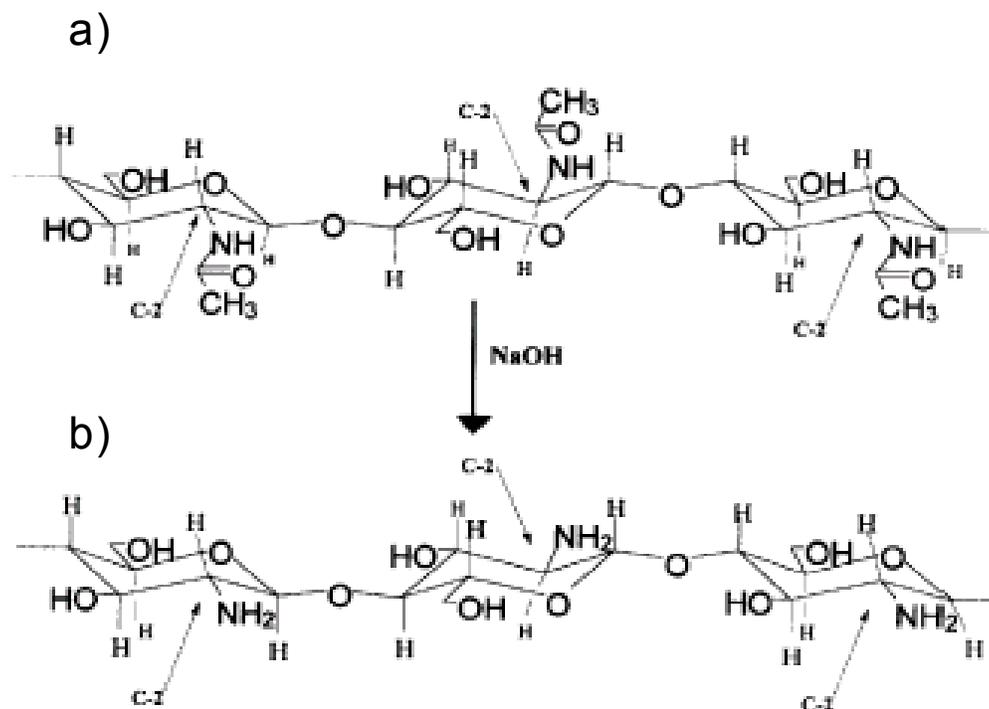


Figura 7: Estruturas dos biopolímeros quitina (a) e quitosana (b)

Fonte: BURKE et al, 2000

Os principais parâmetros que influenciam as características da quitosana são a massa molecular (MM) e o grau de desacetilação (GD), representando a proporção de unidades desacetiladas. A quitosana é insolúvel em água e solúvel na maior parte dos ácidos orgânicos, como ácido acético, fórmico, cítrico, além de ácidos inorgânicos como ácido clorídrico diluído resultando em soluções viscosas. A solubilidade da quitosana está relacionada com a quantidade de grupos amino protonados (NH_3^+) na cadeia polimérica. Quanto maior a quantidade destes grupos, maior a repulsão eletrostática entre as cadeias e também maior a solvatação em água. A quitosana é suscetível a mudanças estruturais, devido à grande quantidade de grupos reativos como as hidroxilas e principalmente os grupos aminos (BERGER et al, 2004; MATHUR & NARANG, 1990 ; SANTOS et al, 2003).

A quitosana é um polissacarídeo natural com muitas propriedades químicas e biológicas importantes tais como hidrofiliabilidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioatividade, propriedades policatiónicas, bactericidas e uma notável afinidade por muitas biomacromoléculas (CHANG & CHEN, 2005; JIANG et al, 2005).

A quitosana tem se mostrado potencialmente útil como biomaterial, e é usada como material de curativos para ferimentos, veículo de liberação de fármacos, e uma candidata para a engenharia de tecidos devido a sua boa biocompatibilidade e baixa toxicidade (NASCIMENTO et al, 2001; GONÇALVES et al, 2005; VALGAS, et al, 2005). Dentre as várias aplicações, a aplicação de liberação de fármacos é a mais relacionada com hipertermia. As partículas de quitosana magnéticas são capazes de liberar fármacos quimioterápicos durante a hipertermia, e o efeito hipertérmico é aumentado (PARK et al, 2005).

2.6. Aplicações das partículas magnéticas

As partículas magnéticas podem ser utilizadas em várias aplicações biomédicas dentre estas terapêuticas - Hipertermia e liberação de fármacos e para diagnósticos – agente de contraste para imagem por ressonância magnética.

2.6.1. Hipertermia

Hipertermia é um procedimento terapêutico utilizado para elevar a temperatura da região do corpo afetado pelo câncer. Este método envolve a introdução de partículas ferromagnéticas ou superparamagnéticas dentro dos tecidos, e a subsequente irradiação com um campo eletromagnético alternado. O campo magnético não é absorvido pelos tecidos vivos e pode ser aplicado em regiões profundas do corpo. Quando as partículas magnéticas são submetidas a um campo magnético variável, certa quantidade de calor é gerada devido à perda por histerese magnética. A quantidade de calor gerado depende da natureza do

material magnético e dos parâmetros do campo magnético. (GUPTA & GUPTA, 2005; PARK et al, 2005).

As células de câncer geralmente perecem ao redor de 43 °C. Isto acontece, porque o abastecimento de oxigênio a elas pelos vasos sangüíneos não é suficiente, considerando que células normais não são danificadas a temperaturas até mais altas. Além disso, os tumores são mais facilmente aquecidos que o tecidos normais circunvizinhos, visto que, os vasos sangüíneos e sistemas nervosos são mal desenvolvidos no tumor (ARCOS et al, 2002; EBISAWA et al, 1997; KAWASHITA et al, 2005).

A respeito da aplicação para hipertermia, as propriedades importantes para partículas magnéticas são não toxicidade, biocompatibilidade, injetabilidade, alto nível de acumulação no alvo do tumor e efetiva absorção de energia do campo magnético alternado (SHINKAI, 2002).

2.6.2. Direcionamento magnético de fármacos a sítios alvo

No tratamento de câncer o uso de agentes quimioterápicos é freqüentemente associado com efeitos colaterais severos, devido à distribuição sistêmica. Por esta razão durante os últimos 20 anos diferentes aproximações de aplicações locais de fármacos foram desenvolvidas para obter uma eficácia crescente dos fármacos aplicados no respectivo tumor e para proteger o tecido saudável.

O direcionamento magnético de fármacos a sítios alvo é um sistema de liberação de fármacos que pode ser usado no tratamento de câncer de uma região específica. Um dos maiores problemas da farmacoterapia é a liberação de fármacos em uma região específica e a manutenção desta na região para o comprimento do tempo desejado. A concentração total dos fármacos pode ser reduzida drasticamente e os efeitos colaterais podem ser evitados. As nanopartículas magnéticas revestidas (ferrofluidos) são ionicamente e reversivelmente ligadas a um agente quimioterápico. Após a injeção intra-arterial

elas são atraídas para a região do tumor por um campo magnético externo. A atração das nanopartículas magnéticas é dependente da intensidade do campo magnético (Figura 8) (ALEXIOU et al, 2005; NEUBERGER et al, 2005).

O método de direcionamento magnético de fármacos a sítios alvo não depende somente das propriedades físicas, concentração e quantidade de partículas aplicadas, mas também do tipo de fármacos ligados. Além disso, a geometria, o tamanho e a duração de aplicação do magneto externo e a via de injeção das nanopartículas magnéticas de oxido de ferro, bem como o suprimento vascular do tecido alvo que é influenciado por este efeito (NEUBERGER et al, 2005).

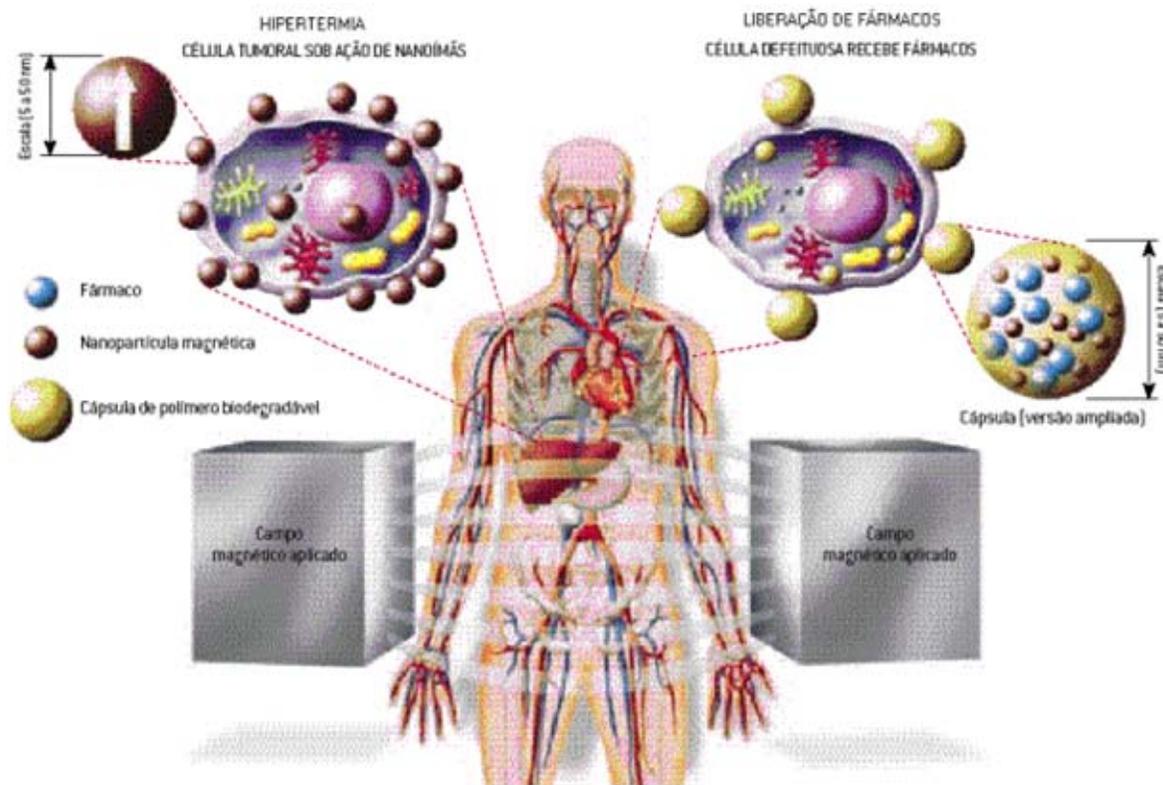


Figura 8: Aplicações terapêuticas contra o câncer: hipertermia e liberação de fármacos

Fonte: KNOBEL & GOYA, 2004

2.6.3. Imagem por ressonância magnética (MRI)

O diagnóstico clínico com MRI tornou-se um método popular não invasivo para diagnosticar principalmente tecidos moles ou patologias recentes das cartilagens. A ressonância magnética nuclear tem assumido grande importância em relação a outras técnicas de obtenção de imagem. Baseada no comportamento diferente dos prótons de diferentes tecidos, a técnica fornece uma imagem das estruturas anatômicas, as quais podem ser melhor destacadas pelo uso de agentes de contraste. As nanopartículas magnéticas de óxido de ferro foram desenvolvidas como agente de contraste para MRI e aumentaram a sensibilidade e a especificidade dos diagnósticos, devido às modificações do tempo de relaxação dos prótons. Esses agentes de contraste têm uma vantagem de produzir um aumento na relaxação dos prótons em MRI em comparação com os paramagnéticos. Conseqüentemente, doses em quantidades menores destes agentes de contraste com nanopartículas de óxido de ferro magnéticas são necessárias no corpo humano do que as paramagnéticas (KIM et al, 2005; LACAVA & MORAIS, 2004; NEUBERGER et al, 2005).

A eficácia das nanopartículas magnéticas de óxido de ferro como agente de contraste em vários tecidos depende de suas propriedades físico-químicas, tais como, tamanho, carga e revestimento. E pode ser aumentada através de modificações na superfície por substâncias biológicas ativas (antibióticos, polissacarídeos, ligantes receptores, proteínas, etc.) (NEUBERGER et al, 2005).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é preparar e caracterizar partículas magnéticas de óxido de ferro, revestidas com os biomateriais quitosana e hidroxiapatita e avaliar suas propriedades magnéticas para aplicações biomédicas.

3.2. Objetivos Específicos

- Sintetizar as partículas magnéticas de óxido de ferro pelo método de co-precipitação de sais de Fe^{2+} e Fe^{3+} em meio básico.
- Sintetizar a hidroxiapatita (HAp), pelo método via úmida, através da precipitação de sais de cálcio e fosfato em meio básico.
- Preparar as partículas magnéticas de óxido de ferro revestidas com o biopolímero quitosana ou HAp por spray-drying.
- Caracterizar os materiais pelas técnicas de Difração de raios X (DRX), Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Microscopia eletrônica de varredura (MEV), Energia dispersiva de raios X (EDX), Espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS) e Medida das propriedades magnéticas (Magnetômetro de amostra vibrante –VSM).
- Avaliar a variação de temperatura de aquecimento em relação ao tempo dos ferrofluidos, através da aplicação de um campo magnético alternado utilizando um sistema de aquecimento desenvolvido pelo grupo GRUCAD/EEL/UFSC (Grupo de Concepção e Análise de Dispositivos Eletromagnéticos).

4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

4.1. Materiais

4.1.1. Reagentes

Foram utilizados os seguintes reagentes neste trabalho: Quitosana (Purifarma), Cloreto ferroso ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) - Aldrich , Cloreto férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) - Synth, Hidróxido de sódio (NaOH) - Nuclear , Nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) - Nuclear , Fosfato de amônio dibásico ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) - Nuclear , Hidróxido de amônio (NH_4OH) - Dinâmica, ácido acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$)- Nuclear, ácido oléico ($\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$) - Nuclear, óleo mineral- J/B industries INC . Todos os reagentes químicos que foram utilizados possuem grau de pureza analítico.

4.1.2. Equipamentos

Os equipamentos utilizados para a preparação dos materiais foram:

Balança analítica - Shangping Eletronic Balance, modelo FAI 6045; Mini-Spray dryer - Büchi 191; Incubadora Minishaker - Marconi, modelo MA 832; Espectrofotômetro de Infravermelho FTIR - Perkin Elmer , modelo 16; Espectrômetro de Absorção Atômica com Atomização em chama – Hitachi, modelo Z8230; Microscópio Eletrônico de Varredura - Philips , modelo XL30 com EDX acoplado e Difratorômetro de raios X - Philips, modelo X'Pert com radiação $\text{CuK}\alpha_1$ ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$); Magnetômetro de Amostra Vibrante - LD, modelo 9600 e eletroímã Walker modelo HF-9H e o Sistema de aquecimento utilizado para aplicação do campo magnético alternado nos ferrofluidos desenvolvido pelo GRUCAD/EEL/UFSC.

4.2. Métodos

4.2.1. Spray drying

As partículas magnéticas de óxido de ferro revestidas e não revestidas foram atomizadas em um mini spray drier marca Büchi 191, contendo um atomizador de 0,7 mm dentro de uma câmara de 44 cm de altura e 10,5 cm de diâmetro, de acordo com a figura mostrada a seguir (Figura 9).

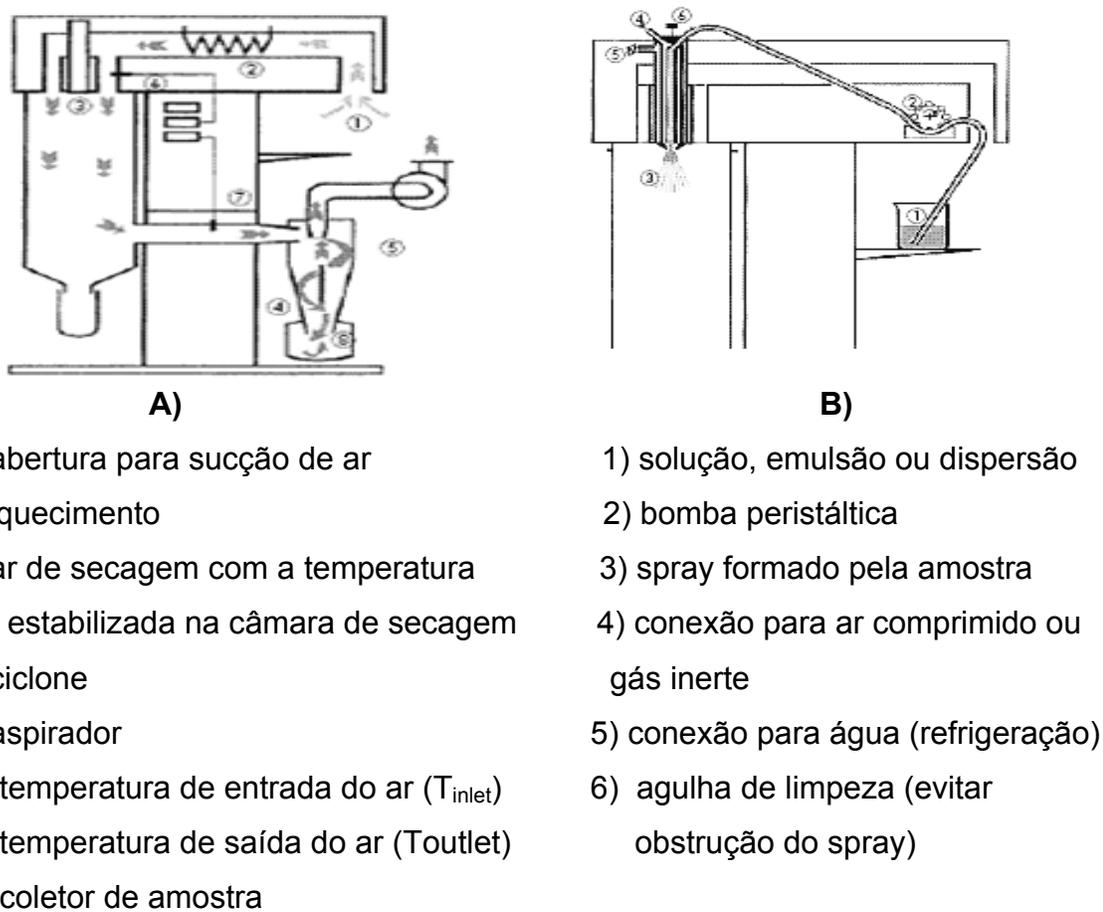


Figura 9: Princípio de funcionamento do spray drier: A) princípio de funcionamento para a secagem do material, B) princípio de funcionamento para a formação do spray a partir da amostra (Manual Büchi)

A Figura 9 A, mostra que o equipamento (spray drier) trabalha sob vácuo, que é gerado pelo aspirador (5). O ar que entra no equipamento (1) passa pelas resistências (2) e é aquecido até uma determinada temperatura escolhida pelo operador (6). A temperatura de saída (7) deve ser controlada. A amostra passa por um ciclone (4) que separa o ar de secagem (3) e amostra, fazendo com que o ar úmido deixe o equipamento. Após essa etapa obtém-se o produto seco em um recipiente (8).

A Figura 9 B, mostra o princípio de funcionamento do atomizador no equipamento. A amostra (1) é sugada por uma bomba peristáltica (2) e concentrada na câmara de secagem, chegando ao atomizador (3) onde o spray é formado. As amostras diluídas são aspiradas mais rapidamente do que as amostras viscosas. O ar comprimido (4) auxilia na formação do spray. Devido as altas temperaturas que o equipamento trabalha, o atomizador possui uma câmara para refrigeração (5) com circulação contínua de água, permitindo que a amostra seja exposta à temperatura de secagem. Para um bom funcionamento do spray, este possui uma agulha de limpeza (6) para impedir o entupimento, essa agulha é acionada por meio de pressão.

4.2.2. Síntese das partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF)

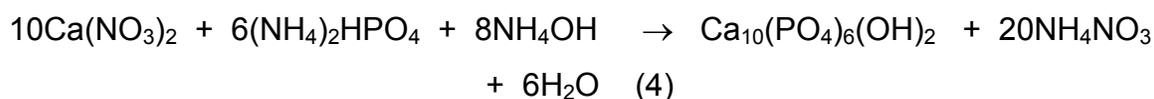
Uma solução (150 mL) contendo cloreto ferroso $0,125 \text{ mol.L}^{-1}$ e cloreto férrico $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ foi preparada em água deionizada. Em seguida adicionou-se NaOH 1 mol.L^{-1} até atingir o pH 12 e precipitar as partículas magnéticas. A suspensão formada foi mantida em agitação e aquecimento a 70°C por aproximadamente uma hora (KIM et al, 2002). O material magnético foi decantado e lavado várias vezes com água deionizada para atingir o pH 7. A suspensão foi atomizada pela técnica de spray-drying para formar as partículas magnéticas de óxido de ferro. A temperatura da câmara de secagem foi de $170 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ e temperatura de saída do ar $90 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, com pressão manométrica positiva de 5 bar.

Utilizou-se para as amostras uma taxa de aspiração da amostra de 8-15%. O fluxo de ar ficou na faixa de 400-600 NL/h.

4.2.3. Síntese da hidroxiapatita (HAp)

Foram preparados 500 mL de solução de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0,4 \text{ mol.L}^{-1}$ e 855 mL de solução $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ $0,156 \text{ mol.L}^{-1}$ em água deionizada. A solução de fosfato de amônio dibásico $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ foi adicionada lentamente na solução de nitrato de cálcio tetrahidratado $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ sob agitação constante e aquecimento (60°C). O pH foi mantido em 10 com hidróxido de amônio 28-30%. A suspensão foi aquecida por 2 horas. O precipitado obtido foi filtrado em funil de Büchner e seco a 60°C em um mini Shaker (FINISIE et al, 2001).

Reação esperada:



4.2.4. Preparação da solução aquosa de quitosana 1,5% (m/v)

A solução de quitosana foi preparada a partir da dissolução de 1,5 g de quitosana em 98,5 mL de ácido acético 5% (v/v). Esta solução foi mantida sob agitação até a completa homogeneização, resultando em uma solução viscosa com aproximadamente 1,5% (m/v) de quitosana. Esta solução foi usada para revestir as partículas magnéticas.

4.2.5. Preparação das partículas magnéticas de óxido de ferro revestidas com hidroxiapatita

Foram preparadas soluções de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0,4 \text{ mol.L}^{-1}$ e $0,156 \text{ mol.L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ em água deionizada. Foram pesadas diferentes massas das partículas magnéticas de óxido de ferro e estas foram adicionadas na solução de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ para formar diferentes razões de PMOF-HAp (PMOF/HAp = 0,7 e PMOF/HAp = 3,2). Em seguida gotejou-se a solução de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ sobre a solução de nitrato de cálcio contendo as partículas magnéticas de óxido de ferro. Aqueceu-se a suspensão a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ durante a precipitação e manteve-se o pH em 10 com a adição de hidróxido de amônio. Após todo gotejamento aqueceu-se a suspensão por aproximadamente 40 minutos. Essa suspensão foi atomizada pela técnica de spray-drying com temperatura da câmara de secagem $160 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura do ar $90 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, pressão manométrica positiva 5 bar, taxa de aspiração 8% e fluxo de ar 600NL/h.

4.2.6. Preparação das partículas magnéticas de óxido de ferro revestidas com quitosana

A partir da solução de quitosana 1,5% (m/v) foram preparadas suspensões de PMOF-QTS com diferentes razões de PMOF-QTS (PMOF/QTS = 1,6 e PMOF/QTS = 4,5). Essas suspensões foram atomizadas pela técnica de spray-drying com temperatura da câmara de secagem de $170 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura do ar $90 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, pressão manométrica positiva 5 bar, taxa de aspiração 8% e fluxo de ar 600 NL/h.

4.2.7. Preparação dos Ferrofluidos

Os ferrofluidos foram preparados a partir das partículas magnéticas de óxido de ferro com e sem revestimento. Uma mistura foi obtida a partir da adição de 100 mg das partículas magnéticas e aproximadamente 400 μ l de ácido oléico, e foi submetida a uma temperatura de 50°C com agitação de 215 rpm por ~30 minutos. Em seguida foi adicionado óleo mineral ~4mL para dispersar as partículas magnéticas. Este material foi mantido em agitação por algumas horas. Estes ferrofluidos foram utilizados para medir a variação da temperatura sob aplicação de um campo magnético alternado, utilizando um sistema de aquecimento indutivo desenvolvido pelo GRUCAD/EEL/UFSC.

4.2.8. Técnicas de Caracterização

4.2.8.1. Difração de raios X

A técnica de difração de raios X foi utilizada para a identificação das fases presentes no material, no caso da presença de mais de uma fase cristalina, e também para avaliar a cristalinidade do material. As amostras foram analisadas na forma de pó usando um difratômetro Philips, modelo X'Pert com radiação $\text{CuK}\alpha_1$ ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$), gerada em 40KV e 30 mA.

4.2.8.2. Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier, foi utilizada para verificar a presença das bandas de absorção dos grupos funcionais presentes nas amostras. Estas foram analisadas na forma de pastilhas de KBr. Os espectros de infravermelho com FTIR foram obtidos na região de 4000 a 400 cm^{-1} com um espectrofotômetro FT Perkin Elmer – modelo 16 PC.

4.2.8.3. Microscopia Eletrônica de Varredura e Energia Dispersiva de raios X (MEV-EDX)

A forma e a microestrutura das amostras foram obtidas usando um microscópio eletrônico de varredura (MEV), marca Philips, modelo XL-30. As amostras analisadas foram recobertas com uma fina camada de ouro para poder efetivar as análises microscópicas. A análise de EDX (acoplado ao MEV) foi realizada para determinar a composição química no interior e na superfície das amostras para ajudar na observação de como as amostras foram revestidas. As análises de composição foram feitas em 5 keV e 20 keV.

4.2.8.4 Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização em Chama (FAAS)

Esta técnica foi usada para determinar a quantidade de ferro presente nas amostras. A partir desta quantidade foi calculada a quantidade de óxido de ferro presente nas amostras para a obtenção das razões exatas. As amostras foram analisadas utilizando-se um espectrômetro de absorção atômica com atomização em chama (FAAS) marca Hitachi, modelo Z8230. Os valores dos parâmetros operacionais para o ferro são: $\lambda = 248,3$ nm, largura da fenda = 0,2 nm e corrente da lâmpada = 10 mA. Para a preparação das amostras foram pesadas 50 mg das partículas magnéticas de óxido de ferro, 150 mg e 75 mg das amostras PMOF/HAp = 0,7 (razão real) e PMOF/HAp = 3,2 (razão real) respectivamente e 100 mg e 75 mg PMOF/QTS = 1,6 (razão real) e PMOF/QTS = 4,5 (razão real) respectivamente. Essas amostras foram digeridas em HNO₃ (1:1) e HCl (1:1). Dessas soluções preparadas foram pipetados 345 μ L de cada solução e misturados com HNO₃ 1% para realizar a análise. A curva de calibração foi preparada a partir do padrão de ferro.

4.2.8.5 Medida das Propriedades Magnéticas (Magnetômetro de Amostra Vibrante)

As propriedades magnéticas dos materiais foram avaliadas em termos de magnetização de saturação e coercividade. Para realizar esta análise foi utilizado o sistema de medida magnetômetro LD, modelo 9600 e eletroímã *Walker*, modelo *HF-9H* controlado por um microcomputador, e este gerenciado pelo software *TDL-V-3.1.x*, que também é responsável pela aquisição e registro de dados.

As amostras analisadas no magnetômetro de amostra vibrante foram produzidas com geometria esférica ($\Phi = [4,8 \pm 0,05]$ mm). Na produção das amostras, foi usada uma mistura do pó (aproximadamente 70% em massa) e um ligante (resina epoxi *Araldite*). A mistura foi cuidadosamente homogeneizada, e então acondicionada em matriz metálica (duas calotas semi-esféricas de latão). A cura do polímero é realizado por $86,4 \cdot 10^3$ s à temperatura ambiente. Após serem removidas da matriz, as rebarbas são retiradas e a massa da amostra é medida. Como o percentual de pó e polímero presentes na mistura, pode-se determinar a quantidade de material magnético presente na amostra. Esta medida é fundamental para se quantificar as figuras de mérito extraídas das medidas do magnetômetro.

4.2.9. Avaliação da variação da temperatura de aquecimento nos ferrofluidos sob a aplicação de um campo magnético alternado

Este experimento preliminar foi realizado para avaliar a variação da temperatura nos ferrofluidos, sob a aplicação de um campo magnético alternado, em relação ao tempo. Além do sistema de aquecimento indutivo, foram utilizados tubos de ensaio para colocar os ferrofluidos e um termômetro de álcool para medir a temperatura atingida pelos ferrofluidos.

O experimento foi feito em um sistema de aquecimento indutivo constituído de um solenóide (diâmetro $R = 25,5$ mm; comprimento $L = 150$ mm; número de

espiras, $N=102$), alimentado por um inversor de freqüência desenvolvido pelo GRUCAD/EEL/UFSC, conforme mostram as Figuras 10 e 11.

A freqüência de alimentação foi de 24,7 kHz, com uma corrente de pico $I_p = 5A$, obtendo-se assim um campo magnético variável no tempo cujo módulo máximo no centro da bobina (dado pela expressão $H = \frac{NI}{\sqrt{4R^2 + L^2}}$ (BASTOS, 2004) foi de aproximadamente 3.200 A/m.

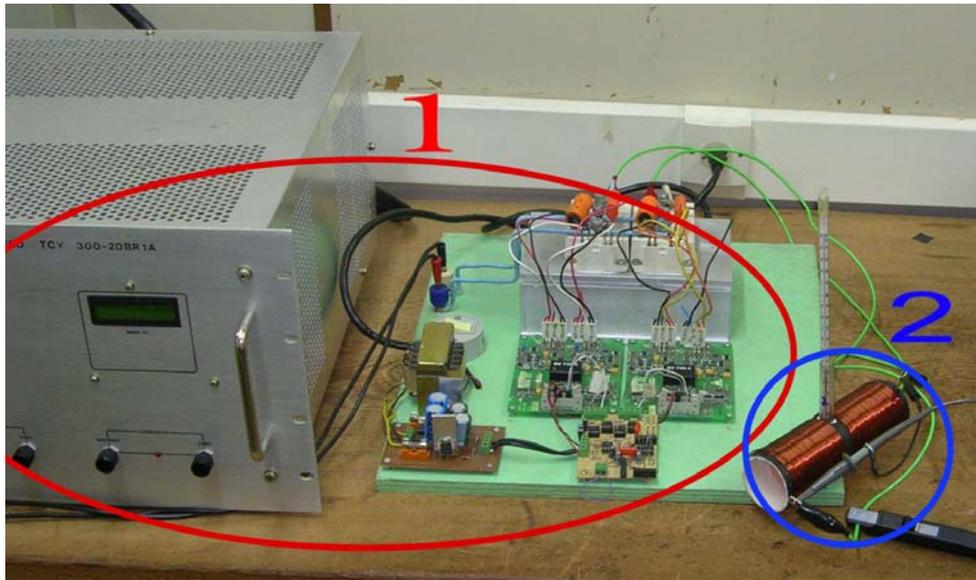


Figura 10: Sistema de aquecimento composto pelo inversor de freqüência (1) e o solenóide (2)



Figura 11: Detalhe do solenóide para aquecimento por indução

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização da Hidroxiapatita (HAp) por Difração de raios X e Espectroscopia no Infravermelho

A Figura 12, mostra o padrão de difração de raios X medido para a hidroxiapatita. Através da análise do difratograma observou-se que a hidroxiapatita é a única fase cristalina presente na amostra conforme o cartão JCPDS 9-432. Nenhum sinal das fases β -TCP (JCPDS 9-169) e CaO (JCPDS 4-777), que podem ser formada durante a síntese.(DONADEL et al, 2005 ; FERNANDES et al, 2000).

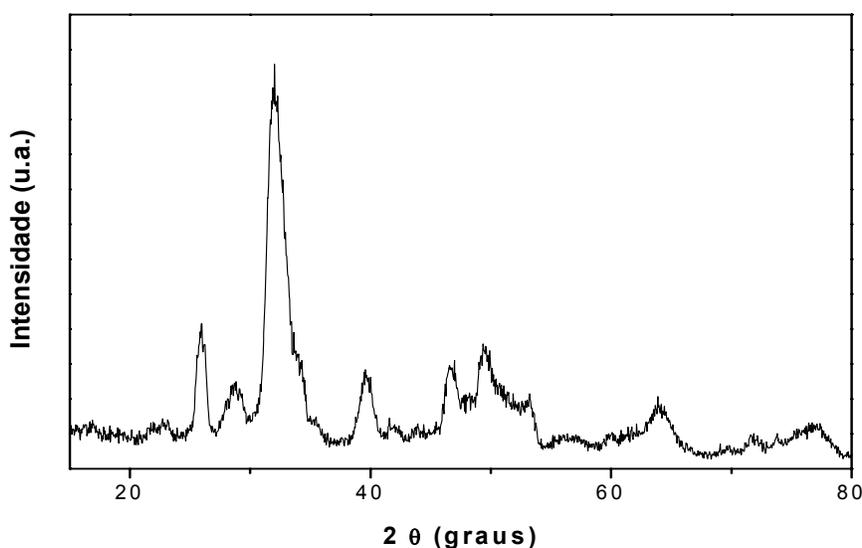


Figura 12: Padrão de Difração de raios X da hidroxiapatita

A Figura 13, mostra o espectro de infravermelho da hidroxiapatita. A banda em 1032 cm^{-1} é referente às vibrações de estiramento do grupo fosfato PO_4^{3-} e as bandas em 603 e 565 cm^{-1} são referentes às vibrações de deformação do grupo PO_4^{3-} . As vibrações de estiramento dos íons OH^- da hidroxila que aparecem 3576 cm^{-1} estão encobertas pela banda larga 3447 cm^{-1} das moléculas de H_2O que

podem estar livres ou adsorvidas, além disso também tem uma banda de H_2O em 1645 cm^{-1} (DONADEL et al, 2005; FERNANDES et al, 2000; FINISIE et al, 2001). A banda em 1388 cm^{-1} é referente ao estiramento N-O do grupo NO_3^- e a banda em 3180 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento N-H do NH_4^+ (ANEE et al, 2003). Estas bandas podem ser provenientes do sub-produto NH_4NO_3 formado durante a síntese da hidroxiapatita mostrada na reação (4).

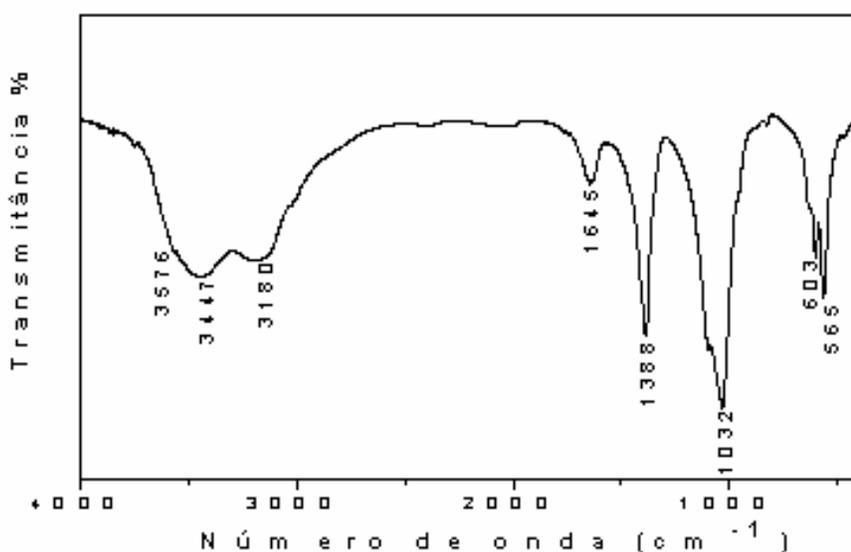


Figura 13: Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR) da hidroxiapatita

5.2. Caracterização da Quitosana (QTS) por Difração de raios X e Espectroscopia no Infravermelho

A Figura 14, mostra o padrão de difração de raios X medido para a quitosana. O difratograma mostra dois picos característicos da quitosana em dois ângulos de difração em torno de $2\theta = 10,3^\circ$, $19,9^\circ$, estando estes picos de acordo com os reportados na literatura (LIU & BAI, 2005; MARTINS et al, 2004; SMITHA et al, 2005; WU et al, 2005;). Através da análise por difração de raios X verificou-se que a quitosana apresenta uma estrutura semi-cristalina.

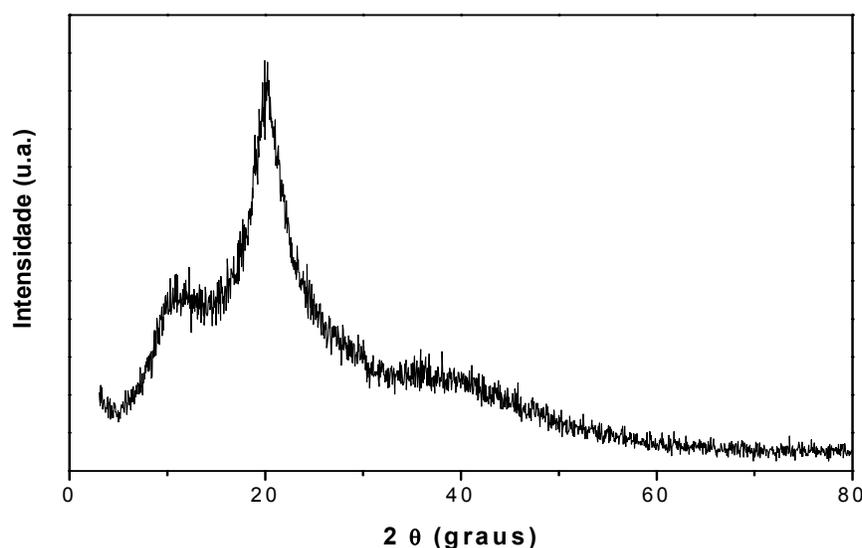


Figura 14: Padrão de Difração de raios X da quitosana

A Figura 15, apresenta o espectro de infravermelho da quitosana. As principais bandas observadas no espectro foram em 3423 cm^{-1} referente ao estiramento OH das hidroxilas, 2881 cm^{-1} correspondente as vibrações de estiramento do C-H. A banda em 1654 cm^{-1} é referente ao estiramento C=O da amida I, pois a quitosana não está completamente desacetilada, a banda em 1580 cm^{-1} é atribuída as vibrações de deformação de NH_2 e a banda em 1425 cm^{-1} é

referente a deformação axial CN da amida. A banda em 1381 cm^{-1} é referente à pequena vibração C-H do grupo CH_3 , referente a resíduos do grupo acetamido da quitina e em 1075 cm^{-1} , estiramento da ligação C-O de álcool primário (DONADEL, 2003 ; JOSUÉ et al, 2000; SANTOS et al, 2003).

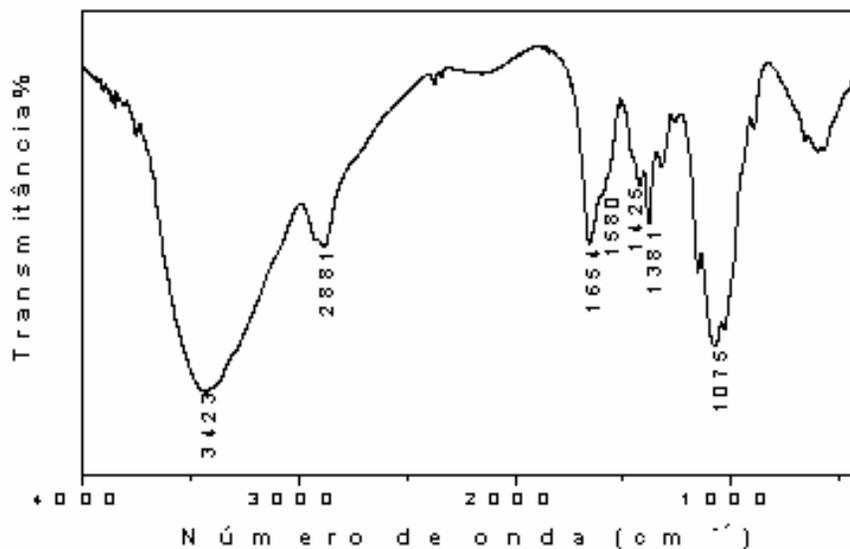


Figura 15: Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR) da quitosana

5.3. Caracterização das partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF) e amostras revestidas com biomaterias por Difração de raios X e Espectroscopia no Infravermelho

5.3.1. Partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF)

A Figura 16, mostra o padrão de difração de raios X medido para as partículas magnéticas de óxido de ferro, sendo que esse material apresenta uma estrutura com baixo grau de cristalinidade de acordo com o difratograma. O difratograma mostra também as fases presentes no material. Os picos apresentados são característicos da magnetita (JCPDS 19-0629) e da maghemita

(JCPDS 39-1346). A magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) são muito similares em relação à sua estrutura cristalina, cúbicas tipo espinélio e nas propriedades físicas. Os picos de difração de raios X da magnetita ficam sobrepostos com os da maghemita. Essas duas fases possuem pequenas diferenças no parâmetro de rede e nas distâncias interplanares d . O parâmetro de rede encontrado para amostra foi de 8.366 Å, calculado a partir da linha de difração (311) $2\theta = 35,56^\circ$. O parâmetro de rede da amostra está entre o da magnetita (8.396 Å cartão JCPDS 19-0629) e da maghemita (8.351 Å cartão JCPDS 39-1346). Por essa razão e pelo método de síntese das partículas de óxido de ferro (magnetita), realizada ao ar a uma temperatura de secagem de 170° C, provavelmente a amostra deve ser a mistura de ambos os óxidos, ou pode estar acontecendo a formação de uma fase intermediária, ou seja, a magnetita parcialmente oxidada (BALASUBRAMANIAM et al, 2004; CHEN et al, 2005; DA COSTA,1994). Abaixo encontram-se as reações de formação da magnetita(5) e a oxidação para maghemita (6):



A preparação de óxidos de ferro pela reação Fe^{2+} e Fe^{3+} em condições básicas pode levar a formação da mistura de diferentes óxidos de ferro, tais como, magnetita (Fe_3O_4), maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), ou hidróxidos férricos (PICH et al, 2005). Uma forma de converter toda magnetita para maghemita, conforme Garcell e colaboradores (GARCELL et al, 1998), é oxidar a Fe_3O_4 ao ar com um aquecimento de 240°C por 2 h.

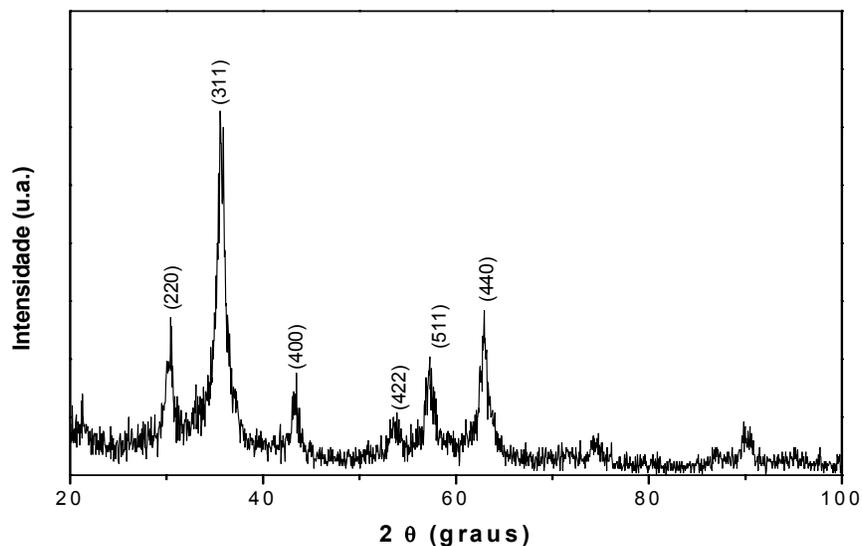


Figura 16: Padrão de Difração de raios X das partículas magnéticas de óxido de ferro

A Figura 17, mostra o espectro de infravermelho das partículas magnéticas de óxido de ferro. As bandas em 3379 e 1627 cm^{-1} são referentes às vibrações de estiramento H-O e vibrações angulares H-O-H da água. Como a síntese foi realizada em meio aquoso, a superfície do óxido de ferro ficou encoberta pelos grupos hidroxila presentes na água, por isso que apareceram essas duas bandas. A banda de absorção em 579 cm^{-1} é referente à deformação das ligações Fe-O nos sítios octaédricos e tetraédricos da magnetita (570 cm^{-1}) ou da maghemita (520 –610 cm^{-1}), enquanto que a banda em 432 cm^{-1} é referente a deformação das ligações Fe-O somente nos sítios octaédricos da magnetita e maghemita (BELIN et al, 2002; JARLBRING et al, 2005; OKASSA et al, 2005; CHENG et al, 2005).

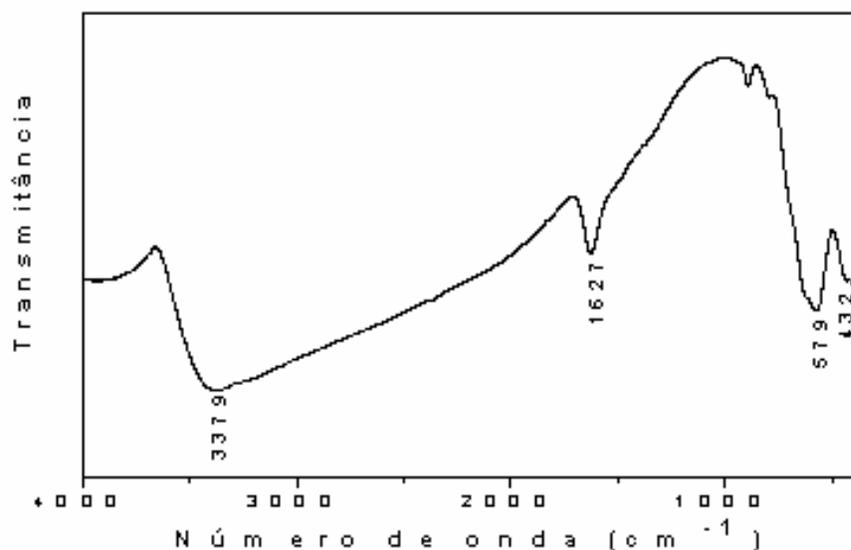


Figura 17: Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR) das partículas magnéticas de óxido de ferro

5.3.2. Amostras revestidas com Hidroxiapatita: PMOF/HAp = 0,7 e PMOF/HAp =3,2

A Figura 18, mostra os padrões de difração de raios X medido para as amostras PMOF/HAp = 0,7 e PMOF/HAp = 3,2. De acordo com os padrões de raios X pode-se observar que a fase hidroxiapatita (cartão JCPDS 9-432, seção 5.1.) e as fases de óxido de ferro (magnetita/maghemita) (seção 5.3.1) são as únicas presentes nas amostras revestidas. A partir dessa análise pode-se observar que as partículas magnéticas de óxido de ferro foram bem revestidas com a hidroxiapatita, isso será visto melhor através de outras análises realizadas.

Através da análise dos difratogramas (a) e (b), pode-se observar que as intensidades e a quantidade de picos da fase HAp no difratograma (a) são maiores do que no difratograma (b). Essa diferença está relacionada com a quantidade de hidroxiapatita presente na amostra PMOF/HAp = 0,7 (difratograma (a)) que é maior do que a quantidade de PMOF. No difratograma (b) verifica-se que as intensidades dos picos da fase Fe_3O_4 são maiores, pois esta se encontra em maior quantidade na amostra PMOF/HAp = 3,2. Conforme mostra a Figura 18, não

houve deslocamentos significativos dos picos principais das fases HAp e magnetita/maghemita (ver seções 5.1 e 5.3.1). Isso pode estar relacionado com a forma como esses materiais estão interagindo, ou seja, provavelmente a hidroxiapatita está adsorvida fisicamente sobre as partículas de óxido de ferro através de interações fracas tais como ligações de Van der Waals ou ligações de hidrogênio.

Um estudo similar realizado por Deb et al (DEB et al, 2003), mostrou através de DRX e outras técnicas que a fase ferrita foi revestida com sucesso pela hidroxiapatita, pois os picos de difração de raios X da fase hidroxiapatita estão presentes juntamente com a fase hexaferrita nas amostras revestidas, não mostrando deslocamentos em relação às amostras puras. Ao passo que, se fosse formada uma hidroxiapatita substituída com ferro a partir de íons conforme estudos realizados por Gross et al (GROSS et al, 2002), poderia acontecer uma mudança na difração dos picos da hidroxiapatita e uma mudança nas intensidades relativas dos picos sugerindo a incorporação do ferro na rede da hidroxiapatita.

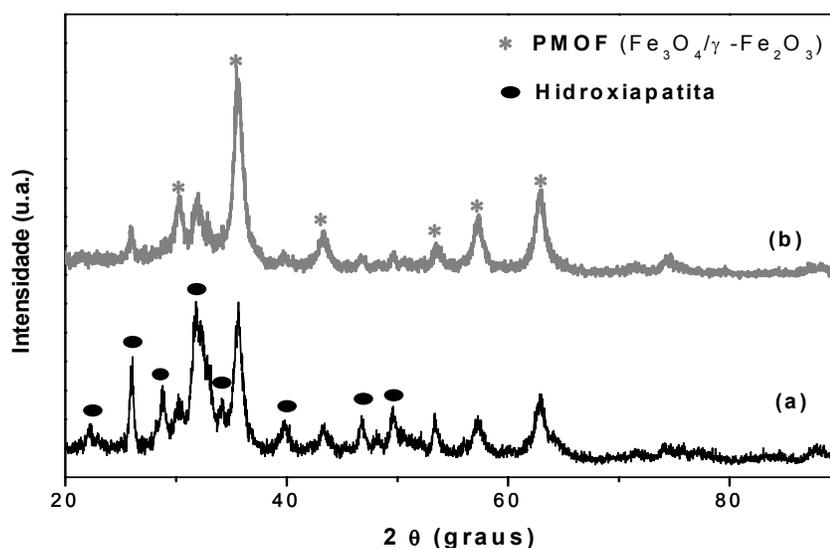


Figura 18: Padrão de Difração de raios X das amostras (a) PMOF/HAp = 0,7 (b) PMOF/HAp = 3,2

Os espectros de infravermelho das amostras PMOF/HAp = 0,7 e PMOF/HAp = 3,2, juntamente com os espectros das partículas de óxido de ferro PMOF e HAp estão apresentados na Figura 19. Nos espectros das amostras (c e d) observa-se a presença de todas as bandas de absorção da hidroxiapatita (ver seção 5.1). A banda de absorção das partículas magnéticas de óxido de ferro (ver seção 5.3.1) em 579 cm^{-1} referente às vibrações de deformação da ligação Fe-O nos sítios tetraédricos e octaédricos não aparece no espectro, pois provavelmente está encoberta pelas bandas de absorção em 565 e 603 cm^{-1} das vibrações de estiramento do PO_4^{3-} da hidroxiapatita. Porém, a presença da magnetita/maghemita na amostra verifica-se através do pequeno ombro em 434 cm^{-1} referente às vibrações de deformação da ligação Fe-O nos sítios octaédricos da magnetita ou maghemita (ver seção 5.3.1.) (BELIN et al, 2002; JARLBRING et al, 2005; OKASSA et al, 2005; CHENG et al, 2005).

Os espectros de infravermelho das amostras não mostraram deslocamentos significativos das bandas de absorção comparados com os materiais puros (Figura 19), mostrando que a hidroxiapatita provavelmente está adsorvida fisicamente sobre as partículas de óxido de ferro, conforme discutido acima.

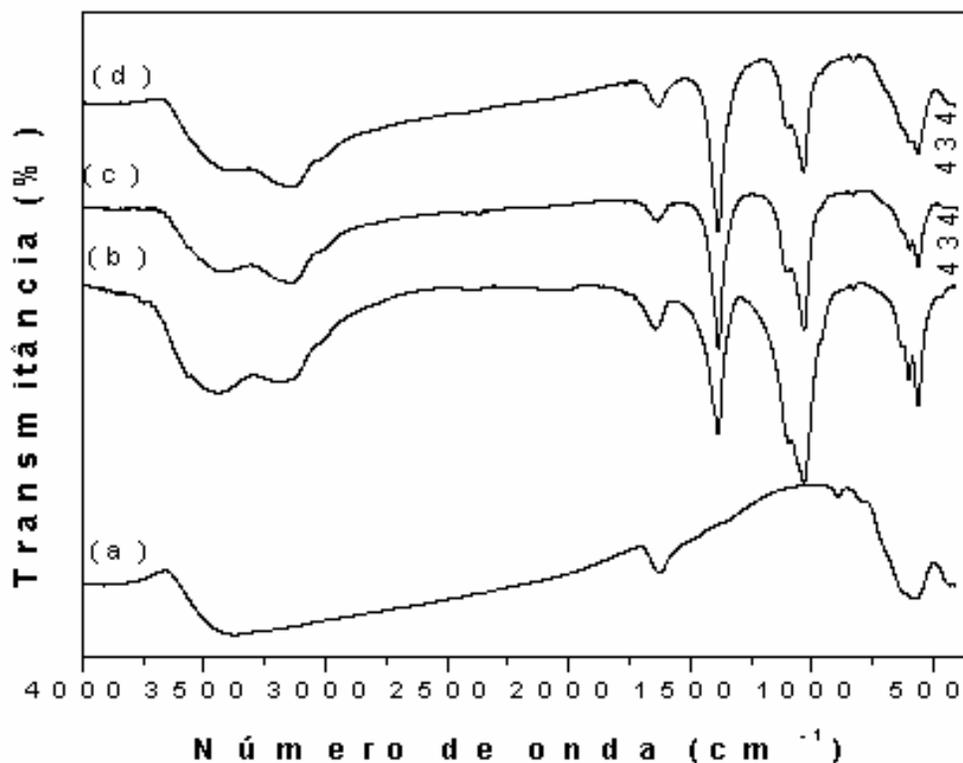


Figura 19: Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR) : (a) PMOF ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$); (b) HAp; (c) PMOF/HAp = 0,7 e (d) PMOF/HAp = 3,2

5.3.3. Amostras revestidas com quitosana: PMOF/QTS = 1,6 e PMOF/ QTS= 4,5

A Figura 20 apresenta os padrões de difração de raios X medidos para as amostras PMOF/QTS = 1,6 e PMOF/ QTS= 4,5. Os difratogramas (a) e (b) mostram a magnetita/maghemita (seção 5.3.1.) como principais fases (JCPDS 19-0629 e 39-1346) e a fase quitosana fica difícil de visualizar. Através da análise do difratograma fica difícil perceber a interação existente entre os dois materiais. A provável interação entre esses materiais será vista nas próximas seções.

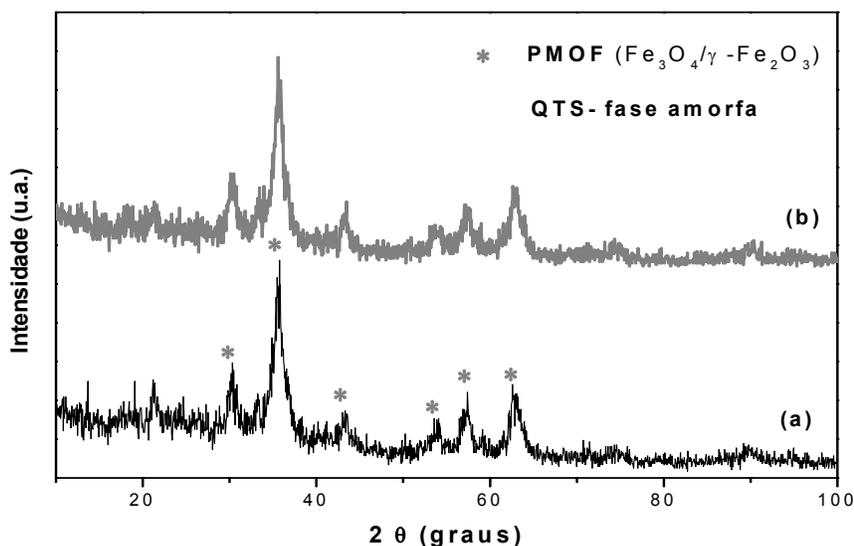


Figura 20: Padrão de Difração de raios X das amostras (a) PMOF/QTS = 1,6 (b) PMOF/QTS = 4,5

A Figura 21, mostra os espectros no infravermelho das amostras revestidas com quitosana PMOF/QTS = 1,6 e PMOF/QTS = 4,5 e das PMOF ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e QTS. De acordo com os espectros de infravermelho, observa-se alguns deslocamentos significativos nas bandas de absorção das amostras revestidas em relação às amostras puras. Os espectros das amostras PMOF/QTS = 1,6 e PMOF/QTS = 4,5 mostraram bandas de absorção em ~ 1630 , ~ 1550 cm^{-1} e em 1409 cm^{-1} . Em contraste, o espectro da quitosana pura mostrou uma banda de absorção em 1654 cm^{-1} referente a carbonila da amida, 1580 cm^{-1} devido a deformação NH_2 e uma em 1425 cm^{-1} referente à deformação axial de CN da amida. A partir desta análise, pode-se concluir que provavelmente a banda de carbonila e a banda de deformação axial CN ambas da amida e a banda de deformação do NH_2 da amina foram deslocadas para frequências menores indicando uma complexação, o que sugere que provavelmente o grupo amida e/ou grupo amina podem estar coordenados ao íon férrico (GONÇALVES et al, 2005; SANTOS et al, 2003). As bandas de absorção das PMOF ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)

aparecem em 575 e 580 cm^{-1} e 436 e 434 cm^{-1} para as amostras PMOF/QTS = 1,6 e PMOF/QTS = 4,5 respectivamente, comprovando a presença das partículas de óxido de ferro nas amostras

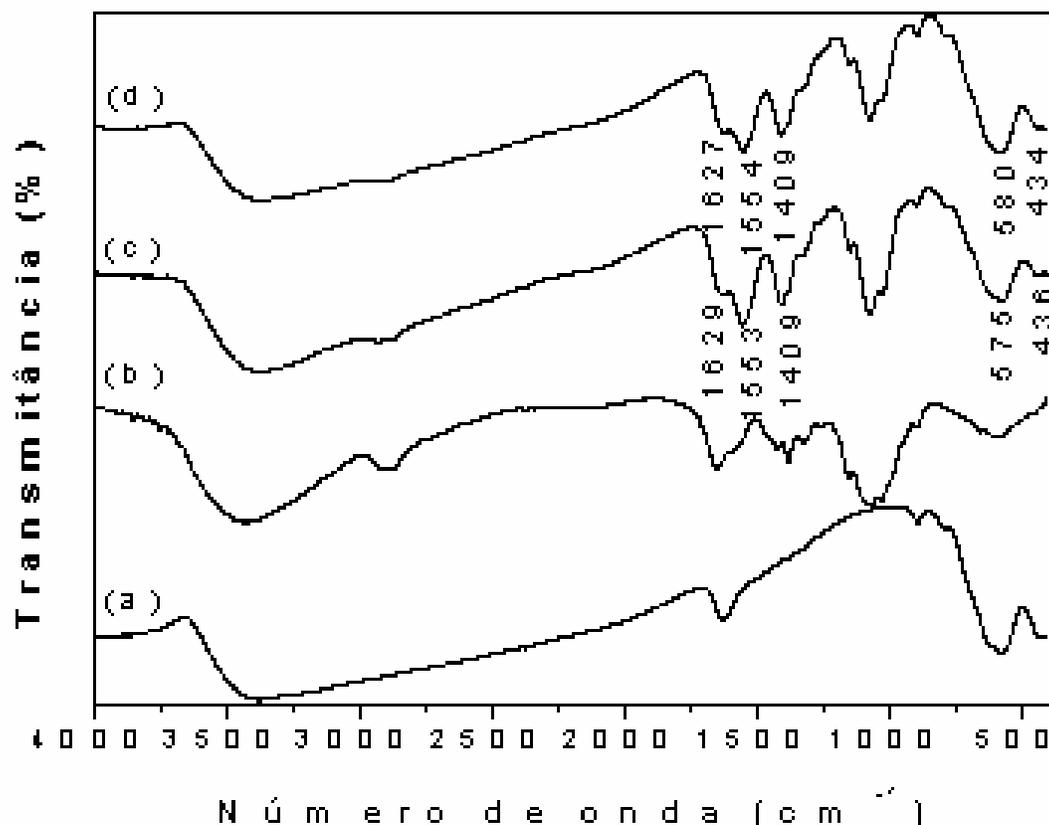


Figura 21: Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR): (a) PMOF ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$); (b) QTS; (c) PMOF/QTS = 1,6 e (d) PMOF/QTS = 4,5

5.4. Caracterização das Partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF) e amostras revestidas com biomaterias por Microscopia Eletrônica de Varredura e Energia Dispersiva de raios X

A Figura 22, mostra a morfologia da superfície das partículas magnéticas de óxido de ferro antes (Fig.22a) e depois do processo de spray-drying (Fig. 22b). Pode-se observar que após o processo de spray-drying as partículas adquiriram

uma forma esférica e apresentaram uma grande diferença na distribuição do tamanho das partículas aproximadamente 1-9 μm vista por MEV.

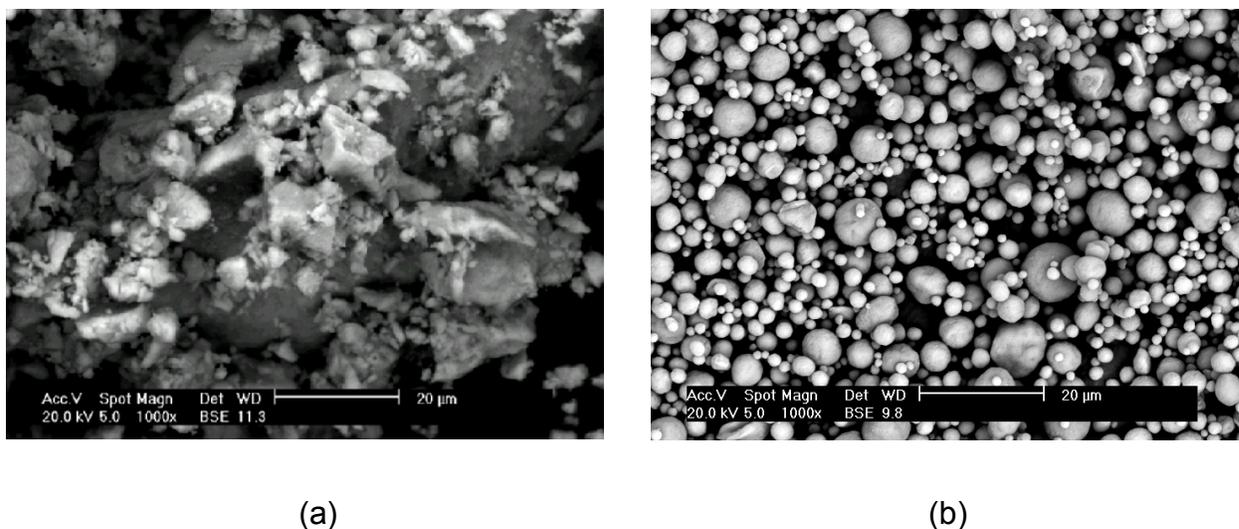
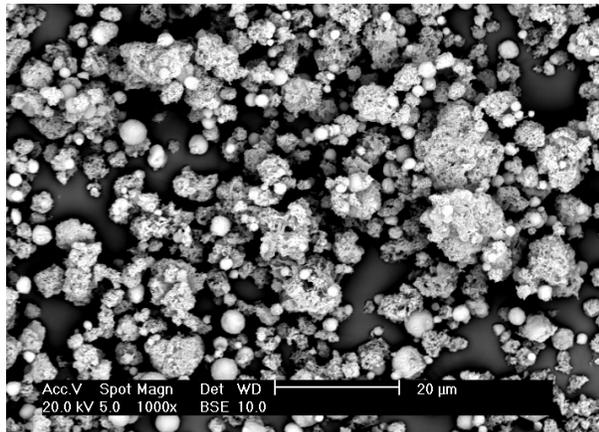
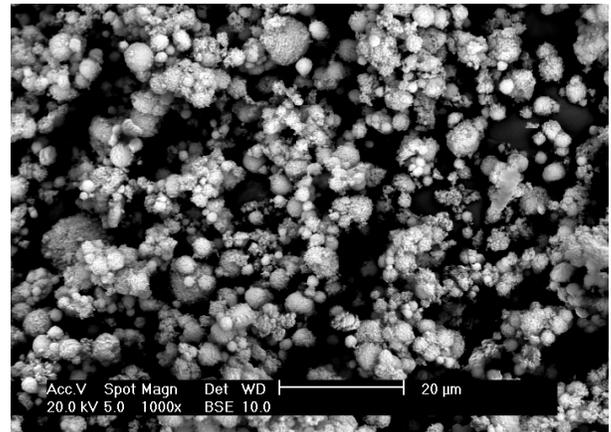


Figura 22: Imagem por Microscopia eletrônica de varredura : (a) partículas magnéticas de óxido de ferro antes do spray-drying e (b) partículas magnéticas de óxido de ferro depois do spray-drying

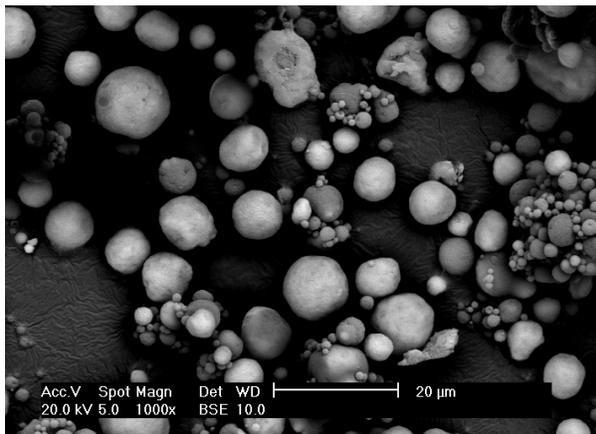
Na Figura 23, estão apresentadas as micrografias obtidas a partir da análise de microscopia eletrônica de varredura para amostras revestidas com hidroxiapatita (a) e (b) e quitosana (c) e (d). Comparando-se as micrografias (a) e (b) com as micrografias (c) e (d) das amostras revestidas, verifica-se que as partículas magnéticas de óxido de ferro revestidas com hidroxiapatita estão mais aglomeradas e apresentam tamanhos menores. Já as amostras revestidas com quitosana também existem aglomerados, mas são poucos e o tamanho das partículas são maiores. A partir das análises morfológicas foi possível observar que o tipo de material usado como revestimento exerce influência significativa na morfologia das partículas magnéticas de óxido de ferro.



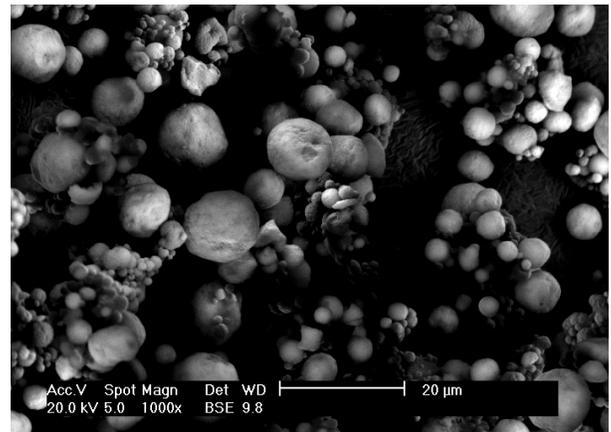
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 23: Imagem por microscopia eletrônica de varredura : (a) PMOF/HAp = 0,7 ,
(b) PMOF/HAp = 3,2; (c) PMOF/QTS = 1,6 e (d) PMOF/QTS = 4,5

A análise por energia dispersiva de raios X, foi realizada para determinar a composição química das partículas nas amostras e confirmar que as partículas magnéticas de óxido de ferro foram revestidas com sucesso pelos biomateriais hidroxiapatita e quitosana. A técnica de EDX em 5 e 20 keV foi utilizada por Deb e colaboradores no estudo feito com partículas de ferrita revestidas com

hidroxiapatita (DEB et al, 2003). A determinação da composição química, no interior e na superfície das partículas, foi feita com dois feixes eletrônicos com energia de 5 keV e 20 keV. A análise em 5 keV possibilitou verificar principalmente a composição química na superfície das partículas, pois o feixe eletrônico possui uma baixa energia e conseqüentemente este feixe de elétrons penetra menos na partícula. Já em 20 keV foi possível observar a composição química no interior das partículas, pois o feixe de elétrons possui uma maior energia, alcançando assim uma profundidade de 1,2 μm nas partículas. A Tabela 2, mostra os resultados obtidos a partir da análise de EDX em 5 keV e 20 keV das amostras revestidas.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 2, é possível observar a diferença na composição química da superfície e do interior das partículas nas amostras revestidas. Para as amostras revestidas com hidroxiapatita verifica-se que a concentração de Ca e P é bem maior na superfície e que o ferro só aparece na análise feita com o feixe de elétrons com energia de 20 keV. O mesmo acontece com as amostras revestidas com quitosana. A concentração de carbono e oxigênio é bem maior na superfície do que no interior das partículas, e o ferro só aparece na análise feita em 20 keV.

Os resultados obtidos foram muito importantes para comprovar, juntamente com as outras análises já discutidas, que as partículas magnéticas de óxido de ferro foram revestidas com sucesso pelos biomateriais hidroxiapatita e quitosana.

Tabela 2: Análise por energia dispersiva de raios X mostrando a diferença da composição química das amostras em 5 keV e 20 keV

Amostras		Peso atômico % (5 keV)	Peso atômico % (20 keV)
PMOF/HAp = 0,7	O	21,17	31,80
	P	23,11	15,26
	Ca	55,73	26,31
	Fe	-----	26,63
PMOF/HAp = 3,2	O	23,49	21,35
	P	20,65	7,96
	Ca	55,85	13,36
	Fe	-----	57,32
PMOF/QTS = 1,6	C	46,15	30,28
	O	53,85	21,82
	Fe	-----	47,9
PMOF/QTS = 4,5	C	40,01	24,47
	O	59,99	19,68
	Fe	-----	55,85

5.5. Caracterização das Partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF) e amostras revestidas com biomaterias por Espectrometria de Absorção atômica com atomização em Chama (FAAS)

A Figura 24, mostra a curva de calibração empregada na determinação de ferro nas amostras.

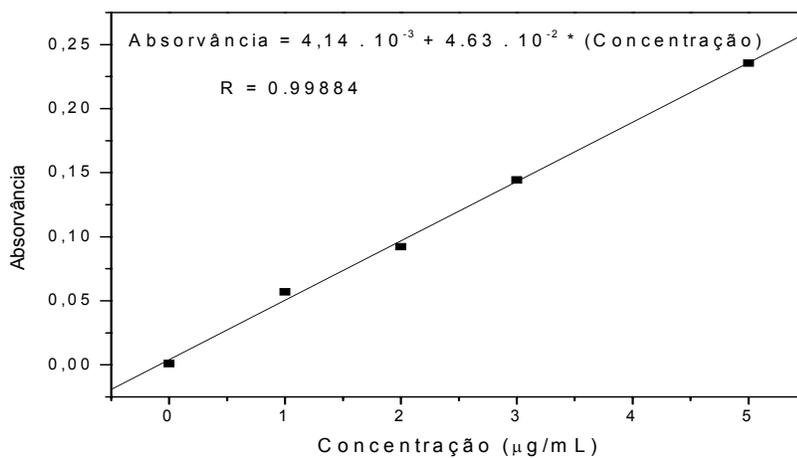


Figura 24: Curva de calibração para análise por absorção atômica

Através da análise por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS), foi possível estimar a proporção de magnetita e maghemita nas partículas magnética de óxido de ferro sintetizadas. As proporções encontradas para as partículas magnéticas de óxido de ferro foram de 55,0 % de magnetita (Fe_3O_4) e 45,0 % de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Estas proporções confirmam a presença das duas fases de óxido de ferro discutida nos itens anteriores. As razões reais foram determinadas considerando-se as proporções estimadas. Para o calculo das proporções foram usadas às seguintes equações :

$$2 n_{\text{Fe}_2\text{O}_3} \cdot M_{\text{Fe}} + 3 n_{\text{Fe}_3\text{O}_4} \cdot M_{\text{Fe}} = 41,6 \text{ mg} \quad (7)$$

$$n_{\text{Fe}_2\text{O}_3} \cdot M_{\text{Fe}_2\text{O}_3} + n_{\text{Fe}_3\text{O}_4} \cdot M_{\text{Fe}_3\text{O}_4} = 50,0 \text{ mg} \quad (8)$$

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos pela análise por FAAS. As pequenas diferenças encontradas entre as razões, esperada e reais, provavelmente está relacionada com erros experimentais durante a preparação das amostras. Estes erros podem ser na pesagem dos materiais, síntese, entre outros.

Tabela 3: Resultados obtidos pela análise de absorção atômica

Amostras	Massa (mg) \pm sd		Razões (m/m) \pm sd	
	Ferro	Óxidos de Ferro	Razão esperada	Razão real
PMOF	41,6 \pm 2,14	50,0 *	—	—
PMOF/HAp =0,7	41,8 \pm 1,08	58,6 \pm 2,59	0,5	0,7 \pm 0,07
PMOF/HAp =3,2	40,7 \pm 1,92	57,1 \pm 3,11	2,0	3,2 \pm 0,82
PMOF/QTS =1,6	43,7 \pm 1,37	61,3 \pm 1,90	1,0	1,6 \pm 0,14
PMOF/QTS =4,5	43,3 \pm 2,77	60,7 \pm 3,86	2,0	4,5 \pm 1,3

* massa pesada

5.6. Medida das Propriedades Magnéticas (Magnetômetro de Amostra Vibrante) das Partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF) e amostras revestidas

As propriedades das amostras foram avaliadas em termos da magnetização de saturação e da coercividade. Os resultados obtidos estão apresentados nas Figuras 25 e 26 e na Tabela 4.

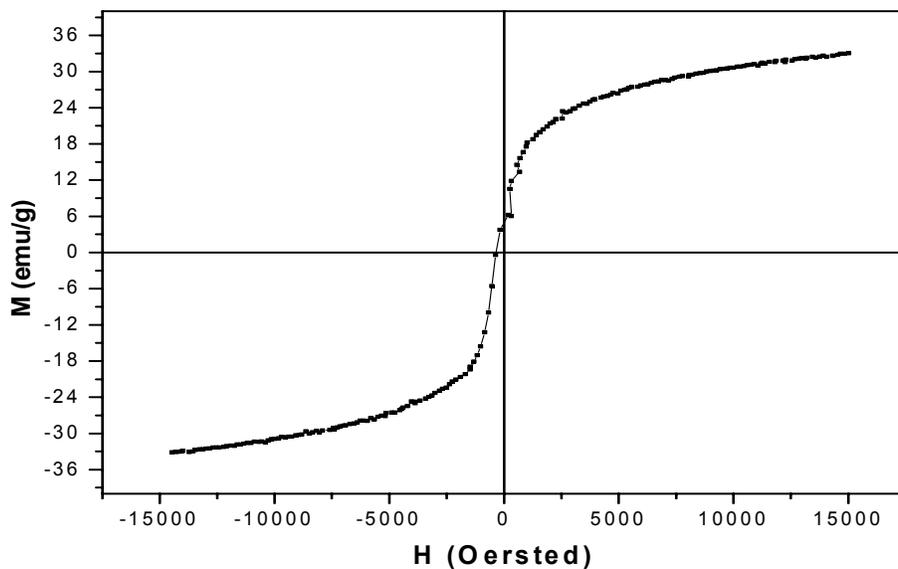


Figura 25: Curva de desmagnetização das partículas magnéticas de óxido de ferro ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)

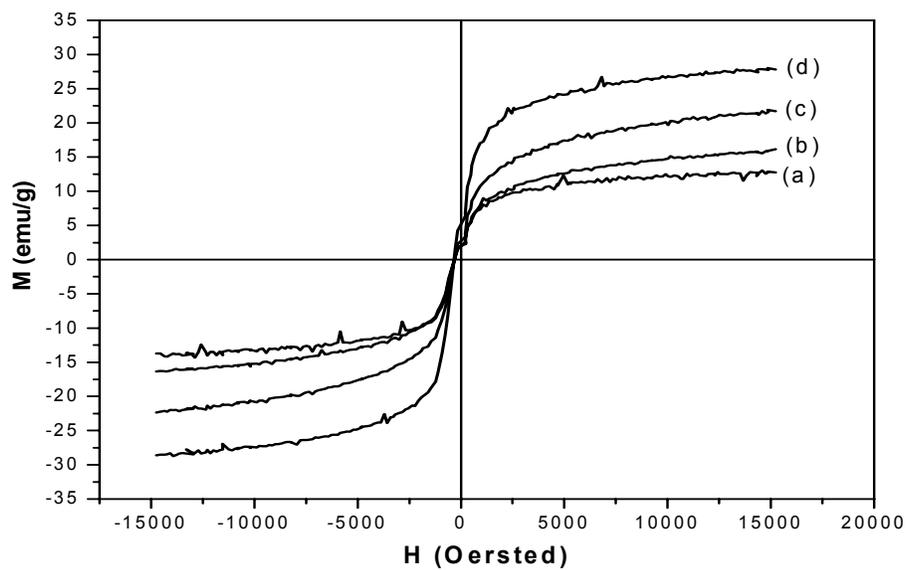


Figura 26: Curva de desmagnetização das amostras revestidas: (a) PMOF/HAp = 0,7 , (b) PMOF/QTS = 1,6; (c); PMOF/QTS = 4,5 e (d) PMOF/HAp =3,2

Tabela 4: Propriedades magnéticas das partículas de óxido de ferro e amostras revestidas com hidroxiapatita e quitosana

Amostras	Magnetização de saturação (emu/g)	Material magnético nas amostras (%)	Coercividade (Oe)
PMOF($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$).	33,0	100	330
PMOF/HAp = 0,7	12,8	34,2	307
PMOF/HAp = 3,2	27,6	65,0	320
PMOF/QTS = 1,6	16,0	53,6	308
PMOF/QTS = 4,5	22,0	68,0	311

A Figura 25 mostra a curva de desmagnetização para as partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF - $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e a Figura 26 mostra a curva de desmagnetização para as amostras revestidas com hidroxiapatita e quitosana. A curva de desmagnetização das partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF) mostrada na Figura 25 apresenta o valor de magnetização de saturação 33 emu/g. Esse valor da magnetização de saturação está abaixo dos reportados na literatura (51, 67 emu/g), pois como já discutido o material é uma mistura dos dois óxidos magnetita (55,0%) e maghemita (45,0%) (KIM et al, 2005; LIAN et al, 2004). Por essa razão, como o material não possui somente uma fase, o valor de magnetização diminui em relação aos óxidos puros (magnetita e maghemita).

Quando a razão PMOF/HAp ou PMOF/QTS decresce os valores de magnetização de saturação também decrescem (Tabela 4). Os valores de magnetização nas amostras foram menores do que nas partículas de óxido de ferro ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Esse decréscimo está relacionado com a quantidade de hidroxiapatita ou quitosana que está revestindo as partículas de óxido de ferro.

O revestimento das partículas magnéticas com materiais não magnéticos pode resultar na diminuição dos valores da magnetização de saturação (M_s) (GUPTA & GUPTA, 2005). Essa diminuição nos valores da magnetização de saturação pode acontecer em partículas magnéticas revestidas com polímeros ou com materiais inorgânicos. Em estudos realizados por Gómez-Lopera e colaboradores (GOMEZ-LOPERA et al, 2001) foi verificado que em nanopartículas de óxido de ferro revestidas com o copolímero poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) o valor de magnetização de saturação M_s diminuiu em relação à magnetita pura. Em outro estudo, Santra e colaboradores (SANTRA et al, 2001) verificaram o decréscimo nos valores de magnetização de saturação para partículas magnéticas revestidas com sílica.

Os valores da coercividade das amostras revestidas ficaram próximos ao valor da coercividade das partículas magnéticas de óxido de ferro sem revestimento (Tabela 4).

5.7. Avaliação da variação da temperatura de aquecimento nos ferrofluidos sob a aplicação de um campo magnético alternado

As Figuras 27 e 28 mostram a variação de temperatura vs tempo nos ferrofluidos, com e sem revestimento respectivamente, sob a aplicação de um campo magnético alternado. Foi realizado um experimento preliminar para verificar o comportamento dos materiais magnéticos em um campo magnético alternado e utilizou-se como temperatura de partida 25 °C. Todos os ferrofluidos foram colocados sob um campo magnético alternado por um certo período de tempo (40 minutos), e sofreram uma variação na temperatura de 7-8°C, ou seja, variaram de 25° C a 32-33 ° C. Os ferrofluidos feitos com as PMOF ($Fe_3O_4/\gamma-Fe_2O_3$) (Figura 27) e com as amostras revestidas PMOF/HAp = 0,7, PMOF/HAp = 3,2 e PMOF/QTS = 4,5 Figura 28 (a) , (b) e (d) levaram aproximadamente 7 minutos para aquecer 1°C, conforme mostrado nos gráficos. Porém o ferrofluido preparado a partir da amostra revestida PMOF/QTS = 1,6 (Figura 28 (c)) aqueceu 1°C em 3 minutos e

sofreu a mesma variação $\Delta T = 7-8^{\circ}\text{C}$. Neste ferrofluido o tempo necessário para aumentar 1°C diminuiu em relação aos outros ferrofluidos. A redução no tempo de aquecimento é necessária para preservar as células saudáveis que estão ao redor do tumor. Na temperatura de 25°C , com $\Delta T = 7-8^{\circ}\text{C}$, a amostra PMOF/QTS = 1,6 apresentou o melhor comportamento para o tratamento por hipertermia, pois teve uma redução no tempo de aquecimento em relação às outras amostras. Se o experimento fosse realizado a partir da temperatura do corpo 37°C , provavelmente a variação na temperatura seria muito próxima àquela a 25°C . Desta forma, as células cancerosas iriam atingir $44-45^{\circ}\text{C}$ e nessas temperaturas as células de câncer geralmente perecem. O aquecimento dos ferrofluidos sob a aplicação de um campo magnético alternado está relacionado com a perda por histerese durante a reorientação da magnetização (PARK et al, 2005).

Os resultados obtidos com o dispositivo eletromagnético simples e os ferrofluidos revestidos com os biomateriais são bastante promissores. No futuro esses resultados permitirão atingir a temperatura de $42-46^{\circ}\text{C}$ a partir da temperatura do corpo de 37°C em novos sistemas contendo fluidos corpóreos simulados (SBF) e em sistemas *in vivo* no tratamento de tumores em animais.

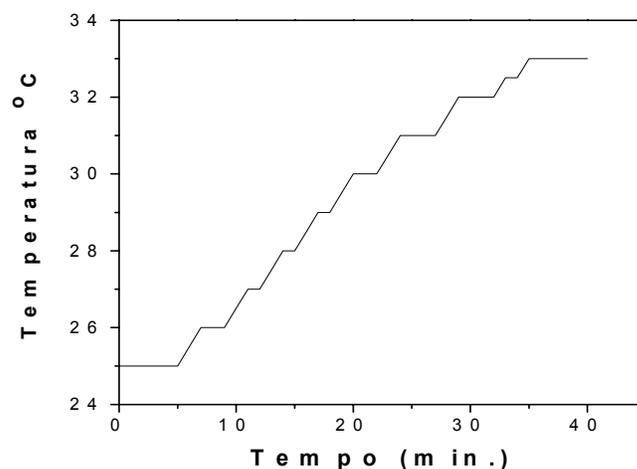
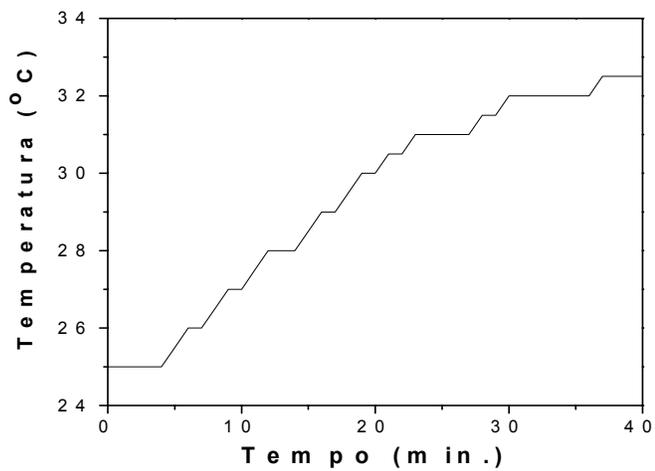
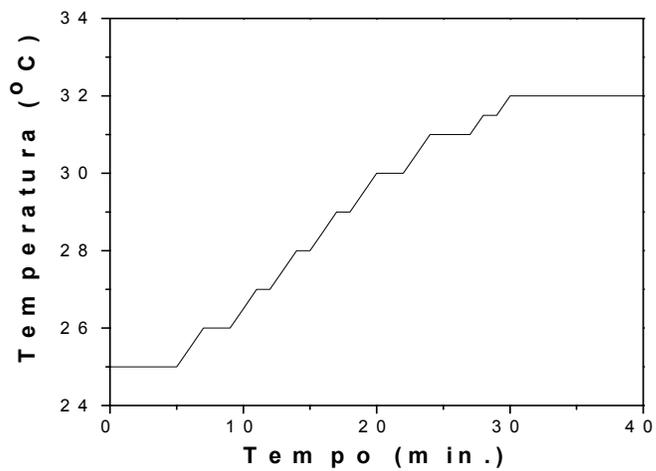


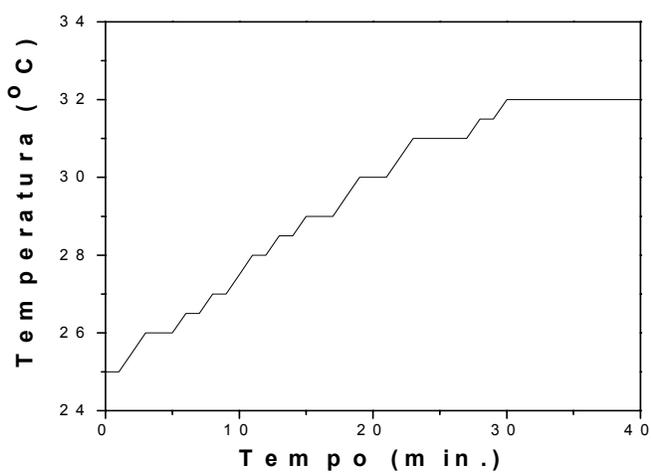
Figura 27: Curva de aquecimento para o ferrofluido contendo as partículas magnéticas de óxido de ferro ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)



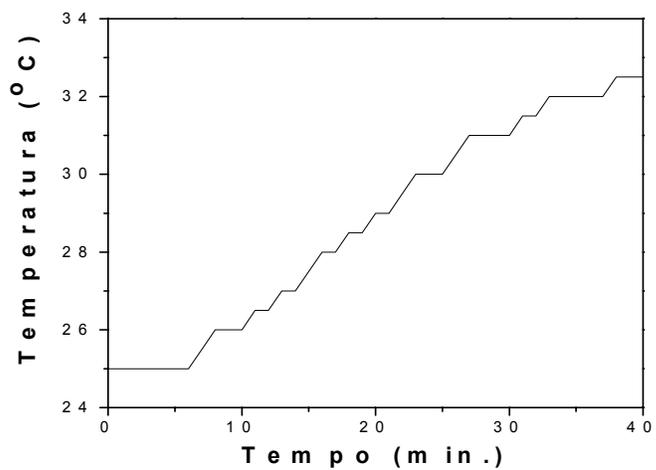
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 28: Curvas de aquecimento para os ferrofluidos : (a) PMOF/HAp = 0,7; (b) PMOF/HAp = 3,2; (c) PMOF/QTS = 1,6 e (d) PMOF/QTS = 4,5

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ A síntese das partículas magnéticas de óxido de ferro a partir da co-precipitação de sais Fe^{2+} e Fe^{3+} em meio básico produziu duas fases de óxidos de ferro : magnetita e maghemita. A fase maghemita foi formada quando o material após a síntese foi passado no spray-drying. A hidroxiapatita sintetizada foi produzida com sucesso.
- ✓ A técnica de difração de raios X foi fundamental para verificar as fases presentes nos materiais. Porém nas partículas magnéticas de óxido de ferro foi difícil identificar os óxidos de ferro magnetita e maghemita, pois os picos de difração encontram-se próximos.
- ✓ O infravermelho foi uma técnica também fundamental, pois mostrou as bandas características dos materiais e também mostrou os tipos de interação quando foram misturados os materiais para formar as amostras revestidas, através do deslocamento das bandas de absorção. Esta técnica mostrou que a hidroxiapatita provavelmente está adsorvida fisicamente nas partículas magnéticas de óxido de ferro (PMOF) (conforme visto na difração de raios X), enquanto que com a quitosana provavelmente houve uma interação química entre os materiais.
- ✓ A microscopia eletrônica de varredura apresentou as morfologias dos materiais e através desta técnica foi possível observar a diferença nas morfologias das amostras revestidas em relação as partículas magnéticas de óxido de ferro. As amostras PMOF/HAp = 0,7 e PMOF/HAp = 3,2 apresentaram comportamentos diferentes das amostras PMOF/QTS = 1,6 e PMOF/QTS = 4,5.
- ✓ A energia dispersiva de raios X foi muito importante para comprovar junto com as outras análises que as partículas magnéticas de óxido de ferro foram revestidas com sucesso pelos biomateriais hidroxiapatita e quitosana. Através dessa análise pode-se verificar uma maior quantidade de revestimento na superfície das partículas. Isso foi possível utilizando-se feixes eletrônicos com energias de 5 keV e 20 keV.

- ✓ A técnica de espectrometria de absorção atômica com atomização em chama foi muito importante para determinar a quantidade de ferro presente nas amostras, e a partir da massa de ferro determinada, pode-se fazer uma estimativa das quantidades das fases de óxido de ferro presente nos materiais 55,0% magnetita e 45,0% de maghemita. E também foi muito importante para se determinar a razão real de partículas magnéticas de óxido de ferro por revestimento.
- ✓ A medida magnética foi eficiente para comprovar que os materiais tinham propriedades magnéticas, que poderiam ser utilizados para as devidas aplicações. E também mostrou que as amostras revestidas apresentaram magnetização de saturação menor em relação às partículas de óxido de ferro sem revestimento.
- ✓ O sistema de aquecimento indutivo foi muito importante neste trabalho, pois através dele foi possível observar a variação de temperatura nos ferrofluidos e também verificar o tempo de aquecimento de cada ferrofluido. O ferrofluido preparado a partir da amostra PMOF/QTS = 1,6 foi o que apresentou melhores resultados para o tratamento por hipertermia, pois teve uma redução no tempo de aquecimento 1°C em 3 minutos. Além do tratamento por hipertermia, essa amostra apresentou boas características para ser usada na liberação de fármacos em sítios alvo e como contraste na Imagem por ressonância magnética MRI. A quitosana usada como revestimento é um biomaterial biocompatível e biodegradável.
- ✓ Apesar das outras amostras (PMOF/HAp = 0,7; PMOF/HAp = 3,2; e PMOF/QTS = 4,5) não terem apresentado um bom tempo de aquecimento para o tratamento por hipertermia, elas podem ser usadas na liberação de fármacos em sítios alvo e como agente de contraste MRI, pois possuem boas propriedades magnéticas, são biocompatíveis e biodegradáveis devido aos revestimentos hidroxiapatita e quitosana.

7. SUGESTÕES

Um das sugestões para trabalhos futuros é melhorar o tamanho das partículas. Produzir essas partículas nanométricas através de tratamento com ultra-som.

Quantificar com maior exatidão as fases de óxido de ferro mais exatamente por espectroscopia no Raman.

Fazer o Mossbäuer para verificar melhor a interação da quitosana com o ferro nas amostras.

Realizar mais experimentos com o sistema de aquecimento, fazendo novas formulações de ferrofluidos.

Fazer o teste de citotoxicidade dos materiais usando cultura de células.

Realizar o experimento em 37°C que é a temperatura do corpo.

E por fim aplicar esses ferrofluidos em animais com a aplicação de um campo magnético alternado.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXIOU, C., et al. **In vitro and In Vivo Investigations of Targeted Chemotherapy with Magnetic Nanoparticles.** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v. 293, n. 1, p.389-393, 2005.

ANEE, T.K., et al. **A Novel Technique to Synthesize Hydroxyapatite at Low Temperature.** Materials Chemistry and Physics, v. 80, n. 3, p. 725–730, 2003.

ARCOS, D., REAL, R.P., VALLET-REGI, M. **A novel Bioactive and Magnetic Biphasic Material.** Biomaterials, v.23, n.10, p.2151–2158, 2002.

BALASUBRAMANIAM, C., et al. **DC Thermal Arc-Plasma Preparation of Nanometric and Stoichiometric Spherical Magnetite (Fe₃O₄) Powders.** Materials Letters, v.58, n.30, p.3958– 3962, 2004.

BARROS, L.V. **“Levantamentos Geofísicos Usando Método Magnético”.** Disponível em <http://www.obsis.unb.br/br/ico.pdf> . Acesso 08/11/05.

BASTOS, J.P.A. **Eletromagnetismo Para Engenharia: Estática e Quase-estática.** Editora da UFSC, Florianópolis, 2004.

BAYRAKTAR, D. & TAS, A.C. **Chemical Preparation of Carbonated Calcium Hydroxyapatite Powders at 37°C in Urea-Containing Synthetic Body Fluids.** Journal of the European Ceramic Society, v.19, n.13-14, p.2573-2579, 1999.

BELIN, T., et al. **Influence of Grain Size, Oxygen Stoichiometry, and Synthesis Conditions on the γ -Fe₂O₃ Vacancies Ordering and Lattice Parameters .** Journal of Solid State Chemistry, v. 163, n. 2, p. 459-465, 2002.

BERGER, J., et al. **Structure and Interactions in Covalently and Ionically Crosslinked Chitosan Hydrogels for Biomedical Applications.** European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 57, n.1, p. 19–34, 2004.

BURKE, A., YILMAZ, E., HASIRCI, N. **Evaluation of Chitosan As a Potential Medical Iron (III) Ion Adsorbent.** Turk J Med Sci, v. 30, n.4, p.341-348, 2000.

CALLISTER, W.D.Jr. **Ciência e Engenharia de Materiais – Uma Introdução.** 5.ed, Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, 2002.

CERDA, L. A.G., et al. **Síntesis y Propiedades de Ferrofluidos de Magnetita.** Superficies y Vacío, v.16, n.1, p. 28-31, 2003.

CHANG, Y.C. & CHEN, D.H. **Preparation and Adsorption Properties of Monodisperse Chitosan-bound Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles for Removal of Cu(II) ions.** Journal of Colloid and Interface Science, v. 283, n.2, p. 446–451, 2005.

CHEN, T., et al. **Characteristics and Genesis of Maghemite in Chinese Loess and Paleosols: Mechanism for Magnetic Susceptibility Enhancement in Paleosols.** Earth and Planetary Science Letters, v. 240, n. 3-4, p. 790-802, 2005.

CHENG, F.Y., et al. **Characterization of Aqueous Dispersions of Fe₃O₄ Nanoparticles and their Biomedical Applications.** Biomaterials, v. 26, n. 7, p. 729-738, 2005.

COZZI, P. **The Discovery of a New Potential Anticancer Drug: A Casa History.** IL Farmaco, v.4, p.2-8, 2003.

DA COSTA, G.M., et al . **Synthesis and Characterization of Some Iron Oxides by Sol-Gel Method** . Journal of Solid State Chemistry, v. 113, n.2, p. 405-412, 1994.

DAMIEN, E., et al. **A Preliminary Study on the Enhancement of the Osteointegration of a Novel Synthetic Hydroxyapatite Scaffold in vivo.** Journal of Biomedical Materials Research Part A, v 66A, n. 2, p. 241-246, 2003.

DEB, S., et al. **Synthesis and Characterization of Biocompatible Hydroxyapatite Coated Ferrite.** Bull. Mater. Sci, v. 26, n.7, p.655-660, 2003.

DE MIRANDA, J.M.A: **“Introdução ao Geomagnetismo”**. Disponível em: www.cgul.ul.pt/documents/geomag_07. Acesso : 14/03/05.

DE VITA, V.T., HELLMANS, S., ROSENBERG, S. A .**Câncer: Principles and Practice of Oncology**. Ed. 5th, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1998.

DENKBAS, E.B.,et al. **Magnetic Chitosan Microspheres; Preparation and Characterization.** Reactive & Functional Polymers, v.50, n.3, p.225-232, 2002.

DONADEL, K. **Síntese e Caracterização de Biocerâmicas de Hidroxiapatita e Fosfato de Cálcio Amorfo Carbonatado.** 2003. Monografia(Graduação em Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

DONADEL, K., et al. **Hydroxyapatites Produced by Wet-Chemical Methods.** Journal American Ceramic Society, v.88, n.8, p. 2230-2235, 2005.

EBISAWA, Y., et al. **Bioactivity of Ferrimagnetic Glass-Ceramics in the System FeO-Fe₂O₃-CaO-SiO₂.** Biomaterials , v.18, n.19, p.1277-1284, 1997.

FERNADES, G.F. & LARANJEIRA, M.C.M. **Calcium Phosphate Biomaterials from Marine Algae. Hydrothermal Synthesis and Characterisation.** Química Nova, v.23, n.4, p.441-445, 2000.

FINISIE, M.R., et al. **Synthesis of Calcium-Phosphate and Chitosan Bioceramics for Bone Regeneration.** Na. Acad. Bras. Cienc., v.73, n.4, p.525-532, 2001.

GARCELL, L., et al. **Interfacial and Rheological Characteristics of Maghemite Aqueous Suspensions** Journal of Colloid and Interface Science, v. 205, n. 2, p. 470-475, 1998.

GOMEZ-LOPERA, S.A., PLAZA, R.C., DELGADO A.V. **Synthesis and characterization of spherical magnetite/biodegradable polymer composite particles.** Journal of Colloid and Interface Science, v. 240, n. 1, p.40–47,2001.

GONÇALVES, V.L., et al. **Liberção de Ferro (III) de Microesferas Reticuladas de Quitosana.** Visão Acadêmica, v. 6, n. 1, p. 15-24, 2005.

GONÇALVES, V. L., et al. **Effect of Crosslinking Agents on Chitosan Microspheres in Controlled Release of Diclofenac Sodium.** Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 15, n. 1, p. 6-12, 2005.

GOYA, G.F. **“Hipertermia Magnética”.** Disponível em <http://macbeth.if.usp.br/~goya/mfh.htm>. Acesso 08/11/05.

GROSS, K.A., et al. **Iron Substituted Apatites: A Resorbable Biomaterial with Potential Magnetic Properties.** European Cells and Materials, v.3, n.2, p.114-117, 2002.

GUPTA, A.K. & GUPTA, M. **Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications.** *Biomaterials* , v. 26, n.18, p. 3995–4021, 2005.

HARRIS, L.A. **Polymer Stabilized Magnetite Nanoparticles and Poly(propylene oxide) Modified Styrene – Dimethacrylate Networks.**2002. Dissertation (Doctor of Philosophy I Chemistry), Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia.

HUANG, Z., TANG,F., ZHANG,L. **Morphology Control and Texture of Fe₃O₄ Nanoparticle-Coated Polystyrene Microspheres by Ethylene Glycol in Forced Hydrolysis Reaction.** *Thin Solid Films*, v.471, n.1-2, 3, p.105-112, 2005.

JARLBRING, M., et al. **Surface complex characteristics of synthetic maghemite and hematite in aqueous suspensions .** *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 285, n. 1, p. 212-217, 2005.

JIANG, D.S. et al. **Immobilization of *Pycnopus Sanguineus* Laccase on Magnetic Chitosan Microspheres.** *Biochemical Engineering Journal*, v. 25, n. 1, p. 15-23, 2005.

JOSUÉ, A., et al. **Liberção Controlada da Eosina Impregnada em Microesferas de Copolímero de Quitosana e Poli(ácido acrílico).** *Polímeros*, v. 10, n.3, p.116-121, 2000.

JÓZEFCZAK, A. **Ultrasonic Study of the Effect of Time of the Ferrofluid Exposure to Magnetic Field on its Structure.** *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 272-273, n. 1, p. 1691-1692, 2004.

JÓZEFCZAK, A., SKUMIEL, A., LABOWSKI, M. **Effects of Biocompatible Coating of Nanoparticles on Acoustics Property of the Magnetic Fluid.** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v. 290-291, n.1, p. 265-268, 2005.

KAWASHITA, M., et al. **Preparation of Ferrimagnetic Magnetite Microspheres for in Situ Hyperthermic Treatment of Cancer.** Biomaterials, v.26, n.15, p.2231–2238, 2005.

KIM, et al. **Magnetic Fluid and Process for the Production Thereof.** US Pat. 6,440,322, 2002.

KIM, E.H., et al. **Synthesis of Ferrofluid with Magnetic Nanoparticles by Sonochemical Method for MRI Contrast Agent.** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, V. 289, p. 328-330, 2005.

KIRK-OTHMER. **Encyclopedia of Chemical Technology.** v. 14, p.648 - 650. Third Edition, John Wiley & Sons, New York, 1981.

KOTHAPALLI, C., et al. **Influence of Temperature and Concentration on the Sintering Behavior and Mechanical Properties of Hydroxyapatite.** Acta Materialia , v.52, n.19, p. 5655–5663, 2004.

KUMTA, P.N., et al. **Nanostructured Calcium Phosphates for Biomedical Applications: Novel Synthesis and Characterization.** Acta Biomaterialia , v.1, n.1, p. 65–83, 2005.

KNOBEL, M. & GOYA, G.F. **Ferramentas Magnéticas na Escala do Atomo.** Revista Scientific American Brasil, p.58-66, 2004.

LACAIVA, Z.G.M. & MORAIS, P.C. **Aplicações Biomédicas de Nanopartículas Magnéticas**. Revista Eletrônica Parcerias Estratégicas, n.18, p. 73-85, 2004.

LEVENTOURI, T., et al. **Structure, Microstructure, and Magnetism in Ferrimagnetic Bioceramics**. Biomaterials, v. 26, n.24, p. 4924-4931, 2005.

LIAN, S., et al. **Synthesis of Magnetite Nanorods and Porous Hematite Nanorods**. Solid State Communications, v. 129, n.7, p. 485–490, 2004.

LIU, C. & BAI, R. **Preparation of Chitosan/Cellulose Acetate Blend Hollow Fibers for Adsorptive Performance**. Journal of Membrane Science, v. 267, n. 1-2, p. 68-77, 2005.

MALAFAYA, P.B., et al. **Chitosan Particles Agglomerated Scaffolds for Cartilage and Osteochondral Tissue Engineering Approaches with Adipose Tissue Derived Stem Cells**. Journal of Materials Science – Materials in Medicine, v. 16, n. 12, p. 1077-1085, 2005.

MARTINS, A. O., et al. **Sulphoxine Immobilized onto Chitosan Microspheres by Spray Drying: Application for Metal ions Preconcentration by Flow Injection Analysis**. Talanta, v. 63, n. 2, p. 397-403, 2004.

MATHUR, N.K. & NARANG, K.C. **Versatile Polyssacharides from Marine Animals**. Journal of Chemical Education, v. 67, n.11, p.938-942, 1990.

MATSUOKA, F., et al. **Hyperthermia Using Magnetite Cationic Liposomes for Hamster Osteosarcoma**. BioMagnetic Research and Technology, v.2, n.3, p. 1-6, 2004.

MCMILLAN, J.A. **Paramagnetismo Electronico**. Estados Unidos, 1975.

NASCIMENTO, A. et al. **Impregnation and Release of Aspirin from Chitosan/Poly(acrylic acid) Graft Copolymer Microspheres.** Journal Microencapsulation, v. 18, n. 5, p. 679-684, 2001.

NEUBERGER, T., et al **Superparamagnetic Nanoparticles for Biomedical Applications: Possibilities and Limitations of a New Drug Delivery System.** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v. 293, n. 1, p.483-496, 2005.

NOVAK, M.A. **“Introdução ao Magnetismo”.** Disponível em : www.cbpf.br/~labmag/miguel. Acesso 14/03/05.

OKASSA, L.N., et al. **Development and Characterization of Sub-Micron Poly(D,L-lactide-co-glycolide) Particles Loaded with Magnetite/Maghemite Nanoparticles.** International Journal of Pharmaceutics, v. 302, n. 1-2, p. 187-196, 2005.

ORTIZ, N. **Estudo da Utilização de Magnetita como Material Adsorvedor dos Metais Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} e Cd^{2+} , em Solução.** 2000. Tese (Doutorado em Ciências - Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.

PARK, S., KIM,J., KIM,C. **Preparation of Photosensitizer-Coated Magnetic Fluid for Treatment of Tumor.** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v.272–276, n.3, p. 2340–2342, 2004.

PARK, J.H., et al. **Preparation and Characterization of Magnetic Chitosan Particles for Hyperthermia Application.** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v. 293, n. 1, p. 328-333, 2005.

PICH, A., et al. **Composite Magnetic Particles: 2. Encapsulation of Iron Oxide by Surfactant-Free Emulsion Polymerization.** Polymer, v. 46, n. 13, p. 4596-4603, 2005.

PROFETA, S.B., et al. **Magnetic Order in γ -Fe₂O₃ Nanoparticles: a XMCD Study.** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v.288, p.354-365, 2005.

REZENDE, S.M. **Magnetismo na Terra Brasilis.** Revista Brasileira de Ensino de Física, v.22, n.3, p.293-298, 2000.

RIBEIRO, G.A.P. **As Propriedades Magnéticas da Matéria: Um Primeiro Contato.** Revista Brasileira de Ensino de Física, v.22, n. 3, p.299-305, 2000.

RIOS, L.P.R. **Superpara- and Paramagnetic Polymer Colloids by Miniemulsion Processes.** 2004.Dissertation (Doctor rerum naturalium), Universität Potsdam.

SANTOS, F.J. **Partículas Nanométricas de Magnetita.**1997.Tese (Doutorado em Química)- Instituto de Química, Campos de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.

SANTOS, J.E., et al. **Caracterização de Quitosanas Comerciais de Diferentes Origens.** Polímeros; Ciência e Tecnologia, v.13, n.4, p. 242-249, 2003.

SANTRA, S., et al. **Synthesis and Characterization of Silica-Coated Iron Oxide Nanoparticles in Microemulsion: The Effect of Nonionic Surfactants.** Langmuir, v. 17, p.2900-2906, 2001.

SHINKAI, M. **Functional Magnetic Particles for Medical Application.** Journal of Bioscience and Bioengineering, v.94, n.6, p.606-613, 2002.

SILVA, F.D., **Identificação e Caracterização de Óxidos de Ferro com Estrutura de Espinélio em Pedossistemas Desenvolvidos de Tufito, da Região do Alto Paraíba, MG.** 2003. Dissertação (Doutor em Química) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SMITHA, B. SRIDHAR, S., KHAN, A.A. **Chitosan–Sodium Alginate Polyion Complexes as Fuel Cell Membranes** . European Polymer Journal, v.41, n. 8, p. 1859-1866, 2005.

SUNNY, M.C., RAMES, H.P., VARMA, H.K. **Microstructured Microspheres of Hydroxyapatite Bioceramic.** Journal of Materials Science: Materials in Medicine, v.13, n.7, p.623-632, 2002.

VALGAS, S. et al. **Malonylchitosan Microspheres as a Matrix for Oral Enrofloxacin Delivery.** Macromolecular Symposia, v. 229, p. 246-252, 2005.

VALENZUELA, O.A., et al. **Magnetite-Cobalt Ferrite Nanoparticles for Kerosene-Based Magnetic Fluids.** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v. 294, n. 2, p. 37-41,2005.

WU, Y., et al. **Synthesis and Characterization of a Novel Amphiphilic Chitosan–Polylactide Graft Copolymer.** Carbohydrate Polymers, v. 59, n. 2, p. 165-171, 2005.

ZULUAGA, J.M. & RESTREPO, J. **Monte Carlo Study of the Bulk Magnetic Properties of Magnetite.** Physica B, v. 354, n.1-4, p. 20–26, 2004.