



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**MICROESFERAS POLIMÉRICAS IMPREGNADAS COM
NANOPARTÍCULAS INORGÂNICAS:
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO**

VANESSA MORAIS LUIZ

Florianópolis
Novembro/2010

Vanessa Morais Luiz

**MICROESFERAS POLIMÉRICAS IMPREGNADAS COM NANOPARTÍCULAS
INORGÂNICAS: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito da disciplina de Estágio Supervisionado II (QMC 5512), para obtenção do título de bacharel em química.

Orientador: César Vitório Franco

Florianópolis
Novembro/2010

Vanessa Morais Luiz

**MICROESFERAS POLIMÉRICAS IMPREGNADAS COM NANOPARTÍCULAS
INORGÂNICAS: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO**

Prof^a. Dr^a. Inês Maria Costa Brighente
Coordenadora de Estágios do Curso de Química - Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. César Vítório Franco
Orientador

Prof^a. Dr^a. Rosely Aparecida Peralta

Prof^a. Dr^a. Hérica Aparecida Magosso

Florianópolis
Novembro/2010

Dedico este trabalho especialmente à minha mãe, *Serli de Moraes*, por todo incentivo e carinho.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Juarez Luiz e Serli de Moraes, e à minha irmã, Mariana Luiz, por todo apoio, carinho e paciência.

Ao meu namorado, Thiago Sarraff, pela compreensão e pelas palavras de conforto.

Aos amigos e colegas, que me estenderem a mão nas horas em que mais precisei.

Aos colegas de laboratório Raphael Serafim, Rosiana Rocha, Walter Frech e Franciele Silva, pelas gentilezas e companheirismo.

Ao professor César Vitório Franco, por me mostrar o árduo, porém glorioso caminho da pesquisa, e por ter me acolhido no LabSiN de braços abertos.

Ao Departamento de Química e professores, por todo conhecimento compartilhado nestes anos.

Aos professores Alexandre D. C. Viegas e Carlos E. M. Campos, do Departamento de Física, pelas contribuições feitas ao trabalho.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica pelas análises concedidas.

À Universidade Federal de Santa Catarina, por proporcionar meu amadurecimento como pessoa e minha formação como profissional consciente e responsável, através de sua infraestrutura, corpo docente e servidores.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

“Pela ignorância, os sentidos nos mantêm na inconsciência da nossa escravidão. Pela ciência, o intelecto nos torna conscientes da nossa escravidão. Pela sapiência, a razão nos liberta da escravidão.”

Baruch Spinoza

RESUMO

As nanopartículas contendo características particulares podem ser dispersas em uma matriz polimérica, estendendo ao polímero estas mesmas características. É o caso da ação antimicrobiana e anti-séptica das nanopartículas de prata, que ao serem impregnadas em microesferas poliméricas de estireno e divinilbenzeno, estendem suas propriedades ao polímero. Já nanopartículas de óxido de ferro possuem propriedade superparamagnética, e ao serem impregnadas em microesferas poliméricas de estireno e divinilbenzeno, estendem tal propriedade ao polímero. As microesferas com nanopartículas de prata poderão ser utilizadas em filtros de ar ou em tratamentos de água, para destruir microorganismos presentes no meio, e as microesferas com nanopartículas de óxido de ferro poderão ser utilizadas para melhorar a técnica de hipertermia no tratamento de câncer, promovendo o aquecimento no local do tumor. O objetivo deste trabalho é sintetizar nanopartículas de prata e nanopartículas de óxido de ferro e impregná-las em microesferas de estireno e divinilbenzeno, caracterizando os produtos obtidos em cada etapa. As nanopartículas de prata foram caracterizadas por MET, sendo o diâmetro médio obtido de 15 nm, e de 2 nm por DLS, além do padrão de difração de elétrons. Os resultados mostraram que o uso da oleilamina como estabilizante em fase orgânica é muito eficiente. As nanopartículas de óxido de ferro foram caracterizadas por MET, sendo o diâmetro médio obtido de 7 nm, o padrão de difração de elétrons foi obtido, e curva de magnetização comprovou a existência do superparamagnetismo. As microesferas de estireno-divinilbenzeno, as microesferas impregnadas com nanopartículas de prata, e impregnadas com nanopartículas de óxido de ferro foram caracterizadas por MEV, sendo o diâmetro médio obtido de 150 µm, 160 µm, e 150 µm, respectivamente. Também foram feitas análises de EDX, comprovando a ausência de metais, de prata e a presença de ferro e oxigênio, respectivamente. A curva de magnetização foi realizada para as microesferas com nanopartículas de óxido de ferro, sendo comprovado o superparamagnetismo, e análise em DRX, comprovando a presença do óxido no polímero. As sínteses foram realizadas com sucesso, porém outras técnicas deverão ser empregadas para comprovar a impregnação das nanopartículas de prata, além de estudos microbiológicos para comprovar se as propriedades foram estendidas ao polímero.

Palavras-chave: Microesferas poliméricas. Nanopartículas de prata. Nanopartículas de óxido de ferro. Superparamagnetismo.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 Nanocompósitos.....	2
2.2 Microesferas poliméricas.....	3
2.3 Nanopartículas inorgânicas.....	4
2.3.1 Nanopartículas de prata.....	5
2.3.2 Nanopartículas de óxido de ferro.....	6
3 OBJETIVOS.....	8
3.1 Objetivo geral.....	8
3.2 Objetivos específicos.....	8
4 METODOLOGIA.....	9
4.1 Métodos de preparação.....	9
4.2 Monitoramentos e caracterizações.....	10
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
5.1 Nanopartículas de prata.....	14
5.2 Nanopartículas de óxido de ferro.....	19
5.3 Microesferas poliméricas.....	22
5.3.1 Microesferas poliméricas de estireno-divinilbenzeno.....	22
5.3.2 Microesferas poliméricas com nanopartículas de prata.....	25
5.3.3 Microesferas poliméricas com nanopartículas de óxido de ferro.....	27
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

Muitos metais em escala nanométrica conservam ou melhoram suas propriedades, é o caso do aparecimento do superparamagnetismo nas nanopartículas de óxido de ferro, a magnetita, e é o caso da ação antimicrobiana e anti-séptica muito aumentadas, presentes nas nanopartículas de prata.

As nanopartículas contendo características particulares podem ser dispersas em uma matriz polimérica para assim produzir um material funcional, estendendo ao polímero estas mesmas características. Neste trabalho a proposta é impregnar nanopartículas de óxido de ferro e nanopartículas de prata em microesferas poliméricas de estireno e divinilbenzeno, caracterizando os produtos obtidos em cada etapa.

As microesferas impregnadas com nanopartículas de prata poderão ser utilizadas como desinfectantes de contato, em filtros de ar e/ou tratamento de água, destruindo microorganismos presentes no meio. A escala micro das esferas de polímero proporciona maior superfície de contato com o ar e/ou com a água, e favorece o uso deste para a aplicação pretendida.

Já as microesferas impregnadas com nanopartículas de óxido de ferro poderão ser utilizadas para melhorar a técnica de hipertermia no tratamento de câncer. Atualmente tal técnica promove o aquecimento da região próxima ao tumor entre 41 e 43°C,¹ o que ocasiona a morte das células cancerígenas, porém danifica o tecido circundante.

Nossa proposta é que as microesferas impregnadas com nanopartículas de óxido de ferro possam ser levadas até o tumor, guiadas por um campo magnético. Sobre o local desejado, com a ação de um campo magnético alternado, o aquecimento local pode ser realizado, devido à propriedade superparamagnética estendida ao polímero.²

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Nanocompósitos

Os nanocompósitos são materiais híbridos em que pelo menos um dos componentes tem dimensões nanométricas. Tal como acontece nos compósitos tradicionais, um dos componentes serve de matriz, na qual as partículas do segundo material se encontram dispersas. Os componentes de um nanocompósito podem ser de natureza inorgânica/inorgânica, inorgânica/orgânica ou ainda orgânica/orgânica.³

Esta revisão bibliográfica refere-se a nanocompósitos de matriz polimérica de interface inorgânica/orgânica, como ilustrado na figura 1. As propriedades de um nanocompósito são em grande medida determinadas pela matriz, que constitui um excelente suporte para as nanopartículas metálicas e as protegem da degradação física e química, facilitando a sua manipulação.

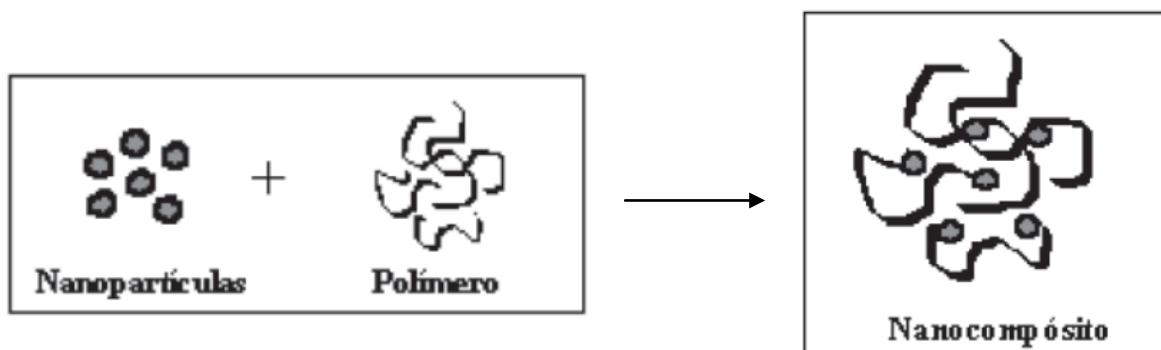


Figura 1: Ilustração da formação de um nanocompósito.³

As cargas tendo dimensões nanométricas apresentam uma área de superfície elevada, promovendo melhor dispersão na matriz polimérica e por isso uma melhoria das propriedades físicas do compósito que dependem da homogeneidade do material. Adicionalmente, a preparação de nanocompósitos de matriz polimérica permite, em muitos casos, baixo custo devido à utilização de menor quantidade de carga, e um elevado nível de desempenho, que pode resultar da sinergia entre os componentes.³

Conforme a aplicação pretendida, podem ser usados diversos tipos de cargas que diferem entre si. Entre as cargas mais comuns em nanocompósitos de matriz polimérica, encontram-se os carbonatos, os sulfatos, os alumino-silicatos e os óxidos metálicos (Al_2O_3 , Fe_2O_3 , ZnO).⁴

Tem sido descrito na literatura um grande número de aplicações para os nanocompósitos, tais como materiais com maior resistência mecânica, maior estabilidade térmica ou com propriedades ópticas, magnéticas ou elétricas superiores.⁴

2.2 Microesferas poliméricas

São encontrados inúmeros trabalhos descritos na literatura de microesferas poliméricas para aplicações diversas. Muitos são para o uso na área biomédica, na liberação lenta e gradual de fármaco, como também para possibilitar o direcionamento a alvos específicos do organismo, como sítios de inflamação ou tumor.⁵

Os sistemas micropoliméricos estão sendo amplamente estudados e utilizados na área biomédica pela vantagem de serem administrados de maneira simples, sem a necessidade de técnicas cirúrgicas, podendo ser empregados apenas com o auxílio de uma seringa.⁶

Para impregnação de nanopartículas na matriz polimérica foram escolhidos os copolímeros estireno e divinilbenzeno, cujo método de preparação utiliza a reação de polimerização através da suspensão em fase aquosa, dando origem a um polímero termorrígido. Estas microesferas já são utilizadas como suporte catalítico, extração em fase sólida, e resinas de troca iônica através da introdução de diversos grupos funcionais.⁷

Estes copolímeros são solubilizados em tolueno, e esta fase orgânica é suspensa em uma fase aquosa sob vigorosa agitação, e com um iniciador radicalar a polimerização ocorre, formando micro gotas suspensas.⁷ Assim, microesferas poliméricas contendo nanopartículas inorgânicas dispersas podem ser obtidas, substituindo-se apenas o solvente tolueno por suspensão de nanopartículas em tolueno.

As microesferas de estireno-divinilbenzeno são resistentes ao calor, possuem controle de tamanho e morfologia. Porém, outros polímeros podem ser utilizados de acordo com a aplicação pretendida. Na literatura existem trabalhos com polímeros biodegradáveis de derivados de ácidos lático e glicólico (PLGA) para atuação *in vivo*,⁶ que poderiam ser adaptados ao tratamento de hipertermia, e microesferas de

quitosana⁸, que poderiam ser empregadas em tratamentos de água ou em filtros de ar, entre outros polímeros.

2.3 Nanopartículas inorgânicas

Partículas em escala nanométrica possuem características peculiares aos íons metálicos, como é o caso do aparecimento da propriedade superparamagnética encontrada nas nanopartículas de ferro, e a ação antimicrobiana muito aumentada nas nanopartículas de prata. Outra característica que as torna interessantes é o gigantesco aumento da área superficial das nanopartículas, podendo uma quantidade muito pequena ser aplicada em grandes volumes.

A coloração intensa das nanopartículas metálicas em solução é outra característica marcante provocada pelas dimensões nanométricas, e que ocorre devido a efeitos quânticos pronunciados macroscopicamente. Essa cor é devido ao efeito *plasmom ressonante*, um efeito de ressonância onde os elétrons das bandas eletrônicas do metal formam um plasma eletrônico que circunda a partícula e pode ser excitado por luz visível para executar oscilações plasmom⁹, conforme ilustrado pela figura 2.

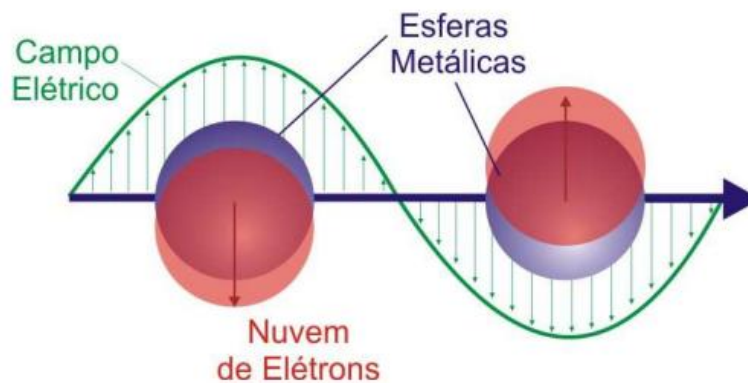


Figura 2: Efeito *plasmom ressonante* característico de nanopartículas.⁹

Porém, ao longo do tempo, as nanopartículas dispersas em uma fase líquida tendem a se aglomerar para reduzir a alta energia livre de superfície. A interação atrativa entre as nanopartículas são forças de *van der Waals*, que faz com que átomos e moléculas neutras se atraiam e sejam atraídos por cargas elétricas devido a flutuação de energia das forças dipolo-dipolo que estão sempre presentes.⁹

Para obter nanopartículas estáveis, faz-se necessário introduzir interações repulsivas que se oponham as interações atrativas. Para isso são utilizados estabilizantes, cujo papel é produzir uma repulsão estérica ou eletrostática prevenindo uma agregação irreversível.⁹

A repulsão estérica é causada quando moléculas de alta afinidade pelo líquido dispersor impedem a agregação das nanopartículas, preenchendo os espaços entre elas, provocando uma barreira estérica a aproximação. Já a repulsão eletrostática ocorre quando as partículas possuem cargas iguais e de mesmo sinal que tendem a se repelir, criando uma barreira de potencial que impede a agregação. A figura 3 demonstra a atuação das forças repulsivas eletrostática e estérica.

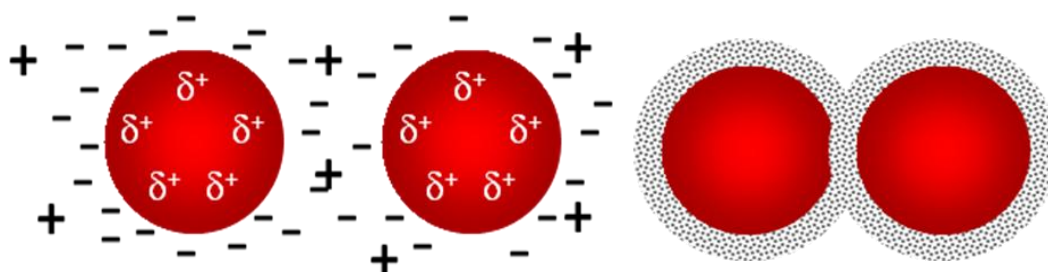


Figura 3: À esquerda, representação da repulsão eletrostática, à direita, representação da repulsão estérica.

Além do uso de estabilizantes ser de grande importância para a síntese de nanopartículas, que ocorrem normalmente em fase aquosa, a transferência de fase para solventes orgânicos é muito comum. Emulsões orgânicas de nanopartículas são atraentes, pois favorecem a mistura com polímeros para fornecer materiais funcionais. São os principais desafios na preparação e aplicação de nanopartículas.¹⁰

2.3.1 Nanopartículas de prata

A prata possui ação anti-séptica e antimicrobiana e é biologicamente ativa na sua forma solúvel, iônica ou não (Ag^+ ou Ag^0). É eficaz contra um amplo espectro de bactérias aeróbias, anaeróbias, gram positivas, gram negativas, além de atividade contra fungos e vírus.¹¹

O mecanismo de ação ainda não é completamente entendido, mas acredita-se que os íons de Ag apresentam potente efeito antimicrobiano por meio do bloqueio

imediate da cadeia respiratória e destruição da membrana celular e parede bacteriana. Também se ligam ao DNA bacteriano, inibindo sua replicação celular.^{11,12}

A prata na forma de nanopartículas tem uma superfície de contato infinitamente maior e suas propriedades são enormemente aumentadas.¹³ Essas partículas são tão finamente dispersas e estão em tão baixa concentração que podem circular pelas membranas celulares sem ocasionar danos a organismos superiores.¹⁴ Entretanto, partículas de prata dimensões micrométricas causam a obstrução das membranas celulares, causando envenenamento, conhecido como *Argyria*.¹⁵

Para a preparação das nanopartículas de prata, o método mais simples e mais descrito na literatura é a redução química de sais metálicos, como o nitrato de prata, sendo utilizados agentes redutores e agentes estabilizantes.¹⁶ As nanopartículas esféricas de prata são sintetizadas através da redução do nitrato de prata pelo borohidreto de sódio na presença do agente estabilizante, o citrato de sódio.¹⁷



Apesar de a síntese ocorrer em meio aquoso faz-se necessário, devido a aplicação pretendida, transferir as nanopartículas para o solvente tolueno. Desta forma, as nanopartículas presentes em meio aquoso, estabilizadas por citrato de sódio, devem ser extraídas para o meio orgânico através da interação com o surfactante oleilamina.

2.3.2 Nanopartículas de óxido de ferro

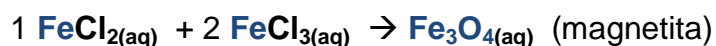
Nanopartículas de óxidos de ferro são conhecidas por possuírem excelentes propriedades magnéticas e serem não-tóxicas, pois podem ser quebradas e utilizadas para formar a hemoglobina sanguínea.¹⁸ Estas nanopartículas magnéticas exibem o fenômeno de superparamagnetismo, que não ocorre nos materiais em enchimento (*bulk*).¹⁹

O comportamento superparamagnético é similar ao dos materiais paramagnéticos, no sentido que eles perdem sua magnetização quando o campo

magnético é removido, mas diferem no valor do momento magnético que é muito maior.²⁰ Ou seja, na ausência de um campo magnético os monodomínios se orientam de forma aleatória, em todas as direções, porém, com a aproximação de um campo magnético os monodomínios alinham-se em direção ao campo, e voltam a ficar orientados aleatoriamente quando este é afastado.

Outro efeito que ocorre é o de absorção de energia pelas partículas superparamagnéticas, devido ao relaxamento de *Néel*. Se os domínios magnéticos são direcionados com um campo magnético externo de forma alternada, os momentos de dipolo magnético têm que ser reorientados muito rapidamente, em direção ao campo e em direções aleatórias. Dependendo da frequência e da força magnética do campo magnético aplicado, ocorre a perda de calor das partículas nesta repetição de movimentos, usada para aquecer o ambiente circundante.²⁰

A magnetita (Fe_3O_4) e sua forma oxidada, maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), são as fases de óxidos de ferro mais estudadas e aplicadas em biomedicina. Para a aplicação pretendida utilizaremos a magnetita, que pode ser obtida na reação de co-precipitação dos sais de cloreto férrico e cloreto ferroso em meio alcalino, resultando em um composto que possui propriedades magnéticas.²¹



O método de co-precipitação em meio aquoso é um método de baixo custo e conveniente na preparação de grandes quantidades de nanopartículas. Ele oferece um processo alternativo de baixa temperatura em relação aos outros métodos convencionais. Esse método pode produzir partículas pequenas, de alta pureza, altamente estáveis e adequadas para aplicações tecnológicas e em nanomedicina.²²

As nanopartículas dispersas em fase líquida formam dispersões coloidais estáveis com o uso de estabilizantes como ácido oléico,^{21,23} presente em muitos trabalhos com nanopartículas de ferro, e desta forma é feita a passagem para o meio orgânico.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Sintetizar nanopartículas de prata (NPsAg) e nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe), e impregná-las em microesferas poliméricas de estireno e divinilbenzeno (sty-dvb), caracterizando os produtos obtidos em cada etapa.

3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar NPsAg em meio aquoso e transferi-las para o meio orgânico;
- Caracterizar NPsAg através de MET em campo claro, difratometria eletrônica, e DLS;
- Sintetizar NPsFe em meio aquoso e transferi-las para o meio orgânico;
- Caracterizar NPsFe através de MET em campo claro, difratometria eletrônica, e curva de magnetização;
- Sintetizar microesferas poliméricas de sty-dvb;
- Caracterizar as microesferas de sty-dvb através de MEV, EDX;
- Impregnar NPsAg em microesferas de sty-dvb;
- Caracterizar microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsAg através de MEV, EDX.
- Impregnar NPsFe em microesferas de sty-dvb;
- Caracterizar microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsFe através de MEV, EDX, curva de magnetização e DRX.

4 METODOLOGIA

4.1 Métodos de preparação

Preparação de NPsAg e transferência para fase orgânica

Em um banho de gelo colocou-se um béquer contendo 90 mL de água destilada gelada e iniciou-se a agitação mecânica. Em seguida foi adicionado uma solução de AgNO_3 (10 mL de água destilada e 0,0472 g de AgNO_3). Adicionou-se mais 90 mL de água destilada ao béquer e 10 mL de uma solução de citrato de sódio (10 mL de água destilada e 0,0817 g de citrato de sódio). Adicionou-se mais 90 mL de água destilada ao béquer e com o auxílio de uma micropipeta adicionou-se gota-a-gota 10 mL de uma solução de NaBH_4 (100 mL de água destilada e 0,0263 g de NaBH_4). A síntese foi feita sob vigorosa agitação e proteção da luz por 30 minutos após a adição do NaBH_4 .¹⁷

Adicionou-se em um balão de separação 50 mL de tolueno, 50 mL da solução de nanopartículas de prata em meio aquoso e 0,3 mL de oleilamina. Agitou-se por 15 minutos e a fase aquosa foi descartada. À fase orgânica adicionou-se mais 50 mL da solução de nanopartículas de prata em meio aquoso e 0,3 mL de oleilamina. Extraíu-se a fase orgânica concentrada.

Preparação de NPsFe e transferência para fase orgânica

Sob atmosfera inerte adicionou-se a um balão volumétrico 250 mL de água e 10 mL de NH_4OH (5 mol.L^{-1}). Em seguida adicionou-se uma solução aquosa de FeCl_3 , contendo 2,7 g do sal em 10 mL de água (2 mol.L^{-1}), e uma solução aquosa de FeCl_2 , contendo 1,0 g do sal em 0,8 de HCl concentrado e 4,2 mL de água (1 mol.L^{-1}). O sistema foi mantido com agitação mecânica por 30 minutos. Após este período a mistura reacional foi lavada com água e foi feita a decantação magnética do resíduo, sendo o sobrenadante descartado.²¹

O material foi transferido para a fase orgânica sob agitação mecânica, adicionando gota a gota uma mistura de 1 mL de ácido oléico e 10 mL de acetona. Em seguida lavou-se a mistura reacional com acetona e transferiu-se o resíduo para

uma pequena quantidade de tolueno sob agitação manual. Toda a água utilizada na síntese foi destilada, e em seguida desaerada pelo borbulhamento de gás Argônio por 30 minutos.

Preparação de microesferas poliméricas de sty-dvb

Sob agitação mecânica adicionou-se a um balão volumétrico 100 mL de água destilada, 0,15 g de hidroxietilcelulose e 0,6 g de NaCl. Após a dissolução dos reagentes adicionou-se 6,5 mL de estireno, 6,5 mL de divinilbenzeno e 6,5 mL de tolueno e iniciou-se o aquecimento sob sistema de refluxo. Adicionou-se 0,24 g de peróxido de benzoíla (Perben), a temperatura foi gradativamente aumentada até 65°C e mantida por 24 horas. Após este período a solução foi filtrada e lavada com água destilada (5x 100 mL) e acetona (3x). O sólido coletada foi levado à estufa para secagem.⁷

Impregnação de NPsAg em microesferas poliméricas de sty-dvb

Seguiu-se a risca a síntese de microesferas de sty-dvb, trocando apenas os 6,5 mL do solvente tolueno por 6,5 mL da suspensão de nanopartículas de prata concentrada em tolueno.

Impregnação de NPsFe em microesferas poliméricas de sty-dvb

Em uma placa petri adicionou-se certa quantidade de microesferas de sty-dvb até formar uma camada fina, em seguida cobriram-se as microesferas com a suspensão de NPsFe em tolueno. A placa foi levada a estufa a 60° C por tempo suficiente para evaporação do solvente, aproximadamente 2 horas.

4.2 Monitoramentos e caracterizações

MET (Microscópio Eletrônico de Transmissão)

Um feixe de alta tensão passa através de uma amostra e a recombinação dos feixes difratados e transmitidos com diferentes intensidades resulta na diferença de contraste da imagem formada. O método de preparação de amostras de NPs coloidais foi conduzido pelo depósito de gotas da solução em um filme de carbono amorfo (com 3-5 nm de espessura) sustentado em uma grade de cobre com 3 mm de diâmetro (com 300-400 mesh). A amostra fica inteiramente pronta quando o solvente é evaporado completamente.²⁴

Difratometria eletrônica

A difração de elétrons é feita no MET com feixe paralelo, gerando padrões de difração. É utilizada através do imageamento do plano focal, que permite identificar a orientação cristalográfica da área que contribui para a difração.²⁵

As análises em MET das amostras de NPsAg e NPsFe, juntamente com a difração de elétrons, foram realizadas no equipamento JEM-1011 TEM, no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC – LCME.

DLS (Espalhamento de luz)

Os instrumentos baseados na luz difundida empregam um feixe de raio laser para radiar partículas em um fluido, e o resultado da luz difundida é analisado para obter dados de distribuição do tamanho de partículas. Esta técnica baseia-se no princípio de que quando uma partícula passa através de um feixe de laser acarreta em um espalhamento da luz em um ângulo, que é inversamente proporcional ao seu tamanho.²⁶

A técnica de espalhamento de luz feita no seio da suspensão de NPsAg em tolueno foi realizada no equipamento *Zetasize Nano Series*, disponível no Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia do Departamento de Farmácia da UFSC.

Curva de magnetização

O comportamento magnético pode ser comprovado e sua magnitude medida através da curva de magnetização, quando o material inicialmente não magnetizado é submetido ao aumento progressivo de uma força magnetizante de zero até um valor máximo, e reduzindo-se em seguida até zero novamente. Este procedimento é repetido algumas vezes e a curva de magnetização é obtida.^{18, 19}

Tanto a suspensão de NPsFe em tolueno quanto as microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsFe tiveram o comportamento magnético avaliado através de curva de magnetização, realizados no equipamento Magnetômetro a temperatura ambiente, disponível no Laboratório de Filmes Finos e Superfície do Departamento de Física da UFSC.

MEV (Microscópio Eletrônico de Varredura)

Nesse aparelho, a superfície do material é varrida ponto a ponto por um feixe de elétrons. A imagem é formada a partir de elétrons secundários que partem da amostra quando a mesma é atingida pelo feixe de elétrons. Os elétrons secundários são captados e, após passagem por um amplificador, são transformados em imagem visível em um monitor.²⁷

As amostras de microesferas foram preparadas pela deposição em fita de carbono e pelo recobrimento com ouro, para tornar o polímero mais perceptível ao microscópio.

EDX (Energia de Dispersão de Raios-X)

A análise de EDX é realizada juntamente com a análise de microscopia eletrônica para a identificação elementar. Inicialmente, quando um feixe de elétrons incide sobre um material os elétrons mais externos dos átomos e dos íons constituintes são excitados, mudando de níveis energéticos. E quando retornam para sua posição inicial, liberam a energia adquirida, que é então medida através de um detector instalado no aparelho. Como os elétrons de um determinado átomo possuem energias distintas, é possível, determinar quais os elementos químicos estão presentes naquele local.²⁸

As análises em MEV das microesferas, juntamente com as análises de EDX, foram realizadas no equipamento JEOL JSM-6390LV, no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC – LCME.

DRX (Difração de Raios-X)

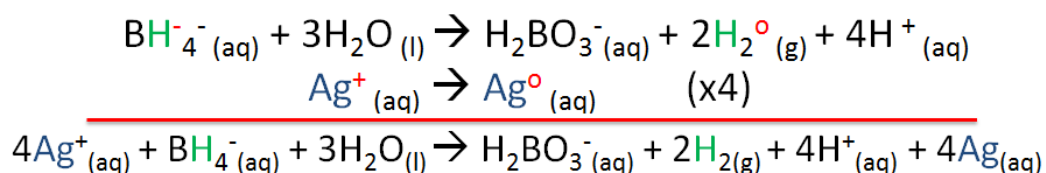
A técnica de DRX baseia-se no espalhamento de radiação por um cristal no qual os elétrons de seus átomos funcionam como fontes secundárias, reemitindo a radiação incidente em todas as direções. As ondas reemitidas reforçam-se mutuamente em algumas direções e se cancelam em outras, formado assim os padrões de difração.²⁹

As microesferas tingidas com nanopartículas de óxido de ferro foram analisadas no equipamento PanAnalytical X'pert PRO Multi-Purpose Diffractometer (usando $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$, com 45 kV e 40 mA), no LDRX, do Departamento de Física da UFSC.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Nanopartículas de prata

As NPsAg foram sintetizadas em meio aquoso conforme descrito por SEGALA,¹⁶ através da redução química do AgNO₃ pelo agente redutor NaBH₄, na presença do agente estabilizante, o citrato de sódio, conforme representado pelas equações de oxi-redução abaixo.



Porém, a passagem das nanopartículas do meio aquoso para o meio orgânico faz-se necessário, devido a aplicação pretendida. Neste processo, as NPsAg estabilizadas pelo citrato de sódio em meio aquoso foram extraídas para um solvente orgânico, o tolueno, utilizando-se a oleilamina como novo estabilizante e o agente responsável pela transferência de fase.

Um esquema de como ocorre a transferência de fase é apresentado na figura 4. Em (A) as partículas estão estabilizadas pelo citrato de sódio em meio aquoso, já em (B) é adicionada a oleilamina. E quando efetuada agitação vigorosa ocorre a troca dos estabilizantes, como ilustrado pelas imagens (C) e (D).

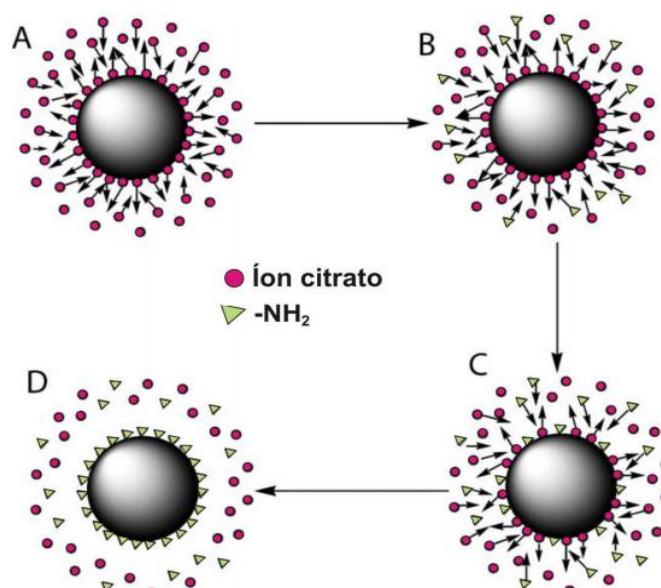


Figura 4: Esquema proposto para o processo de transferência de fase.³⁰

As estruturas químicas dos estabilizantes são mostradas na figura 5, sendo o íon citrato responsável pelas forças repulsivas eletrostáticas que impedem a aproximação das NPsAg no meio aquoso, e a oleilamina é responsável pelas forças repulsivas de natureza estérica, devido a longa cadeia de hidrocarbonetos.

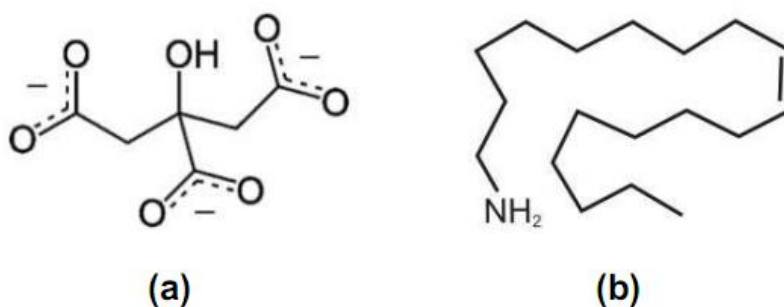


Figura 5: Estruturas dos estabilizantes. (a) Íon Citrato; (b) Oleilamina.

Após as moléculas de oleilamina envolverem as NPsAg ocorre a passagem para o solvente orgânico, por causa das propriedades hidrofóbicas resultantes da longa cadeia carbônica. A extração foi realizada 2 vezes, utilizando a mesma fase orgânica e descartando-se a fase aquosa, havendo aumento na concentração das nanopartículas em suspensão, de 100 ppm no meio aquoso para uma concentração desconhecida em meio orgânico, porém percebida a olho nu pelo aumento na intensidade da coloração âmbar, conforme apresentado pela figura 6.



Figura 6: Fotografia das NPsAg em suspensão, à esquerda em meio aquoso, e à direita em meio orgânico.

As NPsAg, tanto em meio aquoso quanto em meio orgânico, foram analisadas em MET (Microscopia Eletrônica de Transmissão) no Centro de Microscopia Eletrônica da UFSC (LCME), e suas imagens seguem abaixo.

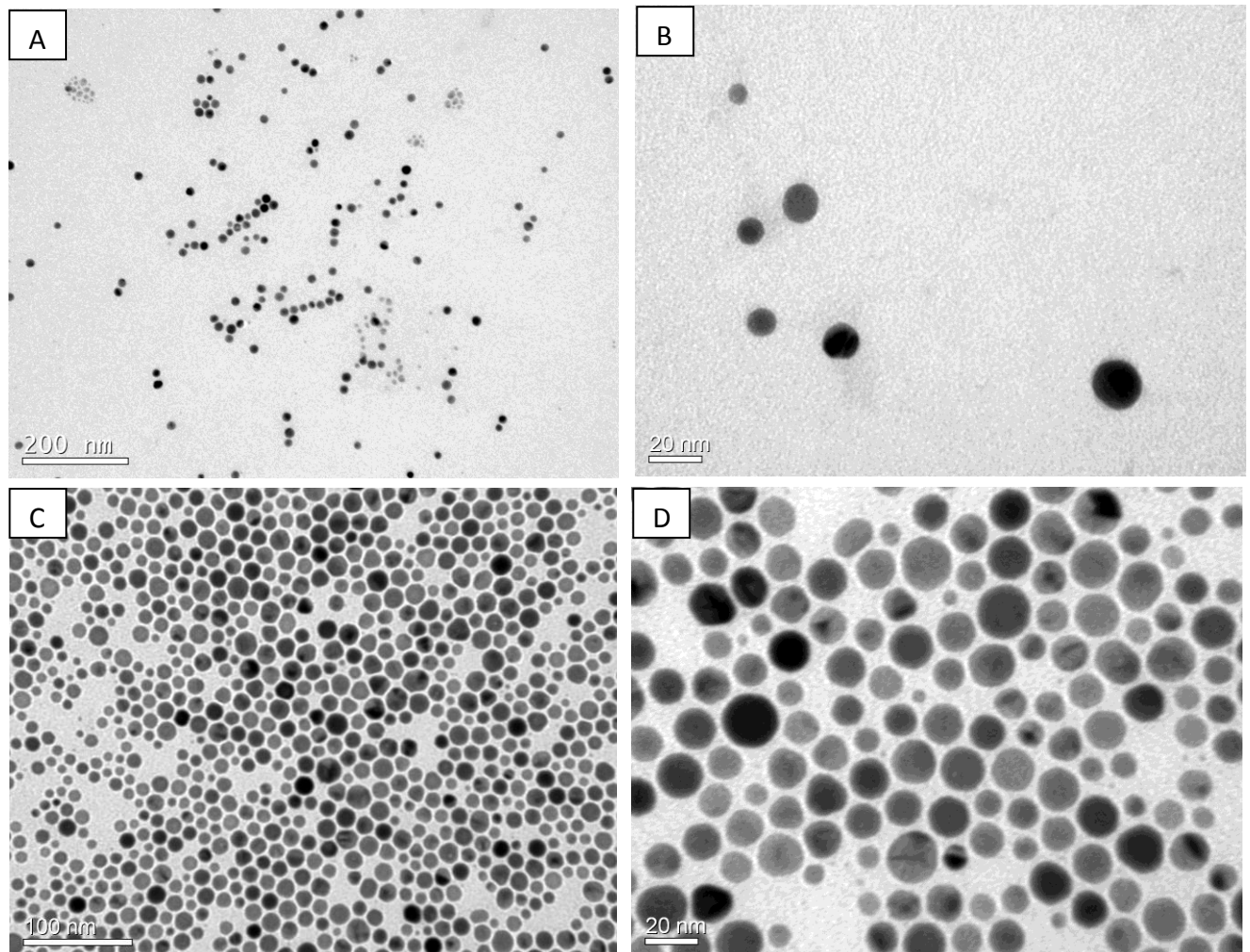


Figura 7: Micrografias em MET (A) e (B) das NPsAg em meio aquoso, e em (C) e (D) das NPsAg em tolueno.

Como pode ser observado nas micrografias (figura 7), houve um visível aumento na concentração das NPsAg em suspensão, o que era pretendido para posterior impregnação em microesferas poliméricas. Espera-se que uma maior concentração das nanopartículas resulte em um maior efeito antimicrobiano e anti-séptico.

As nanopartículas tendem a se aglomerar para reduzir a alta energia livre de superfície, e os estabilizantes, tanto em meio aquoso quanto em meio orgânico, tentam evitar esta aproximação das partículas. Porém, com o passar do tempo, foi observado o aparecimento de um corpo de fundo na suspensão de NPsAg em meio

aquoso, mas o mesmo não aconteceu com a suspensão em meio orgânico, mesmo possuindo maior concentração de partículas. A estabilidade das suspensões foi investigada através de análise em MET (figura 8).

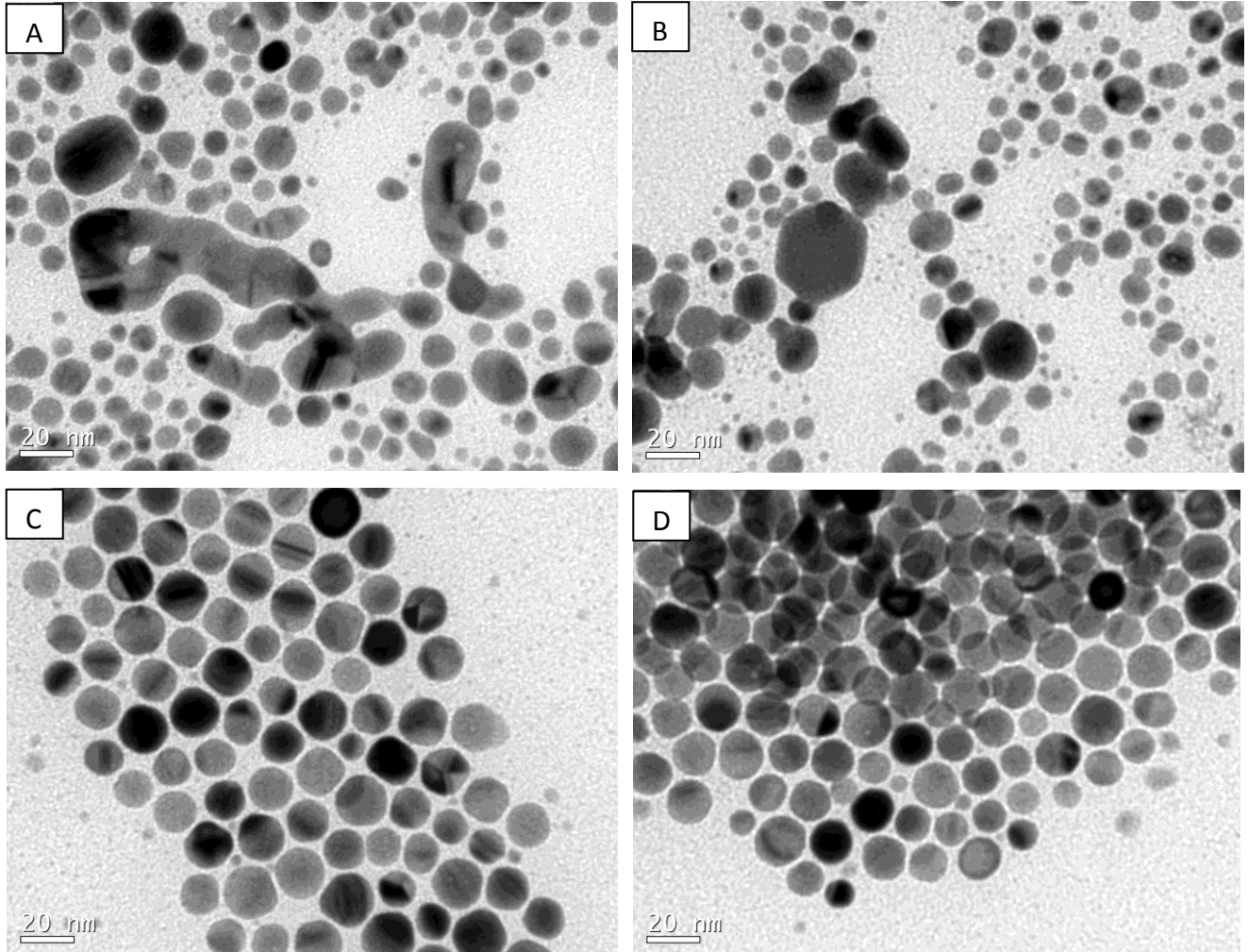


Figura 8: Micrografias em MET (A) e (B) das NPsAg em meio aquoso estabilizadas pelo íon citrato em 2 meses, e (C) e (D) das NPsAg em meio orgânico estabilizadas com oleilamina por 6 meses.

As NPsAg em tolueno apresentam-se muito estáveis com o estabilizante oleilamina no prazo de 6 meses, sem o menor sinal de processos de coalescência e fusão, mesmo quando as partículas estão muito próximas, como mostrado pela figura 8 (D). Entretanto, em meio aquoso e com o estabilizante íon citrado, no prazo de 2 meses, já pode-se perceber o crescimento das partículas devido a aglomeração das mesmas, o que é muito evidente na figura 8 (A) e (B). Para fins de estocagem das NPsAg em suspensão, então, sugere-se a transferência de fase do meio aquoso

para o meio orgânico logo após a síntese, e o uso do estabilizante oleilamina que mostrou-se muito eficiente.

Através das imagens de MET observa-se que as amostras possuem formas regulares próximas de esferas, e por meio desta aproximação os diâmetros das partículas de prata em tolueno foram mensurados utilizando e as micrografias e o *software ImageJ*. Com os dados obtidos um histograma foi construído (figura 9 (C)) e o diâmetro médio de 15 nm determinado.

Entretanto, com uma amostra da mesma suspensão de NPsAg em tolueno, anteriormente analisada em MET, foi desta vez analisada através de DLS. Foi obtido o histograma com os valores de diâmetros das partículas no seio da suspensão apresentado pela figura 9 (B), sendo o diâmetro médio de 2 nm determinado.

A diferença dos valores de diâmetro encontrados para uma mesma amostra remete como possível causa a sensibilidade das técnicas empregadas. Os valores encontrados por DLS foram mensurados no seio da amostra e com uma quantidade mais representativa. Já em MET, a amostra é preparada pela deposição de algumas gotas da suspensão em gride de cobre, sendo necessárias 10.000 imagens para que a mensuração de tamanho de partículas coloidais torne-se representativa, sendo portanto utilizada apenas para mensuração local.^{31,32}

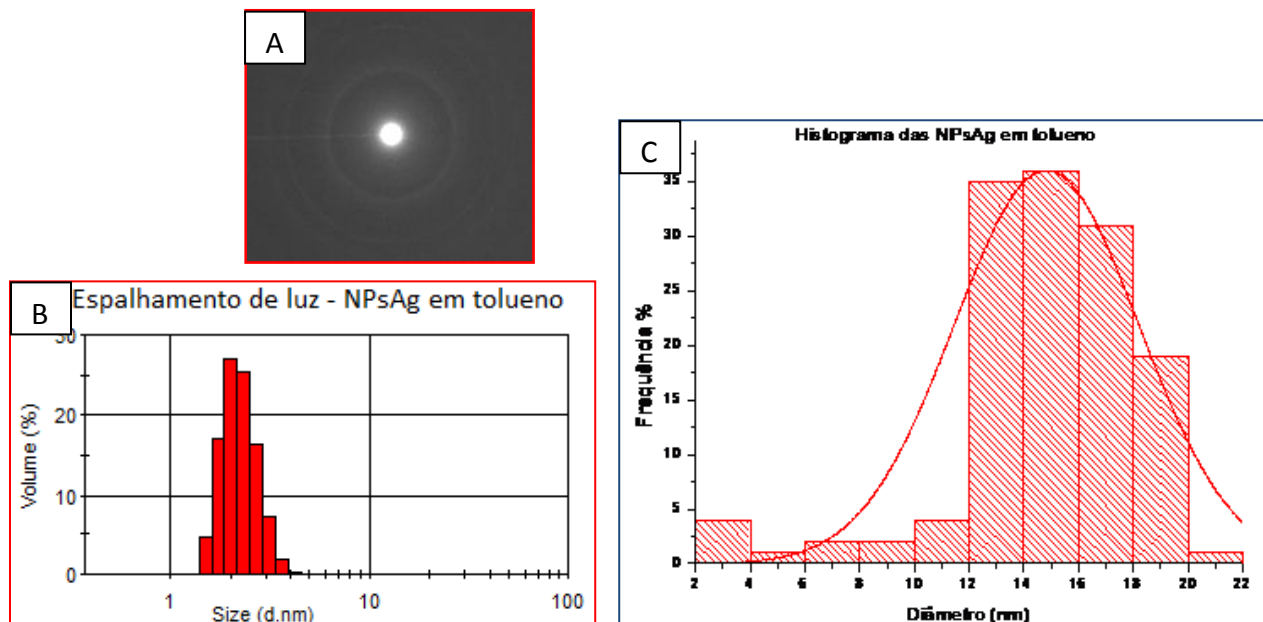
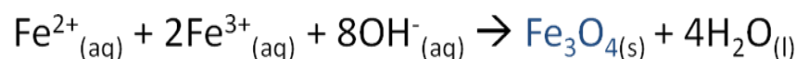


Figura 9: (A) Padrão de difração de elétrons através de MET das NPsAg em tolueno, (B) Histograma obtido por DLS sobre as NPsAg em tolueno, (C) Histograma obtido em análise de micrografias de MET das NPsAg em tolueno.

Na análise em MET realizada das nanopartículas, empregou-se também a técnica de difração de elétrons, sendo obtido o padrão de difração das NPsAg (figura 9 (A)). Através do padrão de difração poderão ser determinadas em estudos posteriores as fases cristalinas presentes.

5.2 Nanopartículas de óxido de ferro

As NPsFe foram sintetizadas através da reação de co-precipitação dos sais de cloreto férrico e cloreto ferroso em meio alcalino, conforme representado pela equação abaixo. A síntese ocorre livre de oxigênio para evitar a oxidação do Fe^{2+} para Fe^{3+} .



Como resultado são obtidas nanopartículas de óxido de ferro II e III ($\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$), pouco solúveis no meio aquoso e de caráter básico. Com o auxílio de um ímã estas partículas foram decantadas e descartou-se o sobrenadante. Em seguida adicionou-se sob agitação o estabilizante ácido oleico para evitar a aglomeração das partículas, e por último o solvente tolueno.

O ácido oleico é um surfactante aniônico composto por uma cabeça polar negativa, formada pela presença de um ácido carboxílico, e uma cauda apolar, formada por cadeia carbônica. São formadas ligações entre a cabeça polar negativa do surfactante e as cargas positivas superficiais das nanopartículas. Na figura 10 (A) são apresentadas as possíveis interações entre as moléculas de ácido oleico com as cargas superficiais das nanopartículas, sendo estas ligações monodentada, bidentada e/ou em ponte.

As NPsFe são envolvidas pelas moléculas do surfactante formando uma micela reversa (figura 10 (B)), em que a parte polar permanece voltada para o centro e a parte apolar permanece voltada para fora. O conjunto micelar nanopartícula-surfactante é hidrofóbico e resulta então, em uma suspensão coloidal estável em solvente apolar, como o tolueno. A agregação das nanopartículas é evitada por forças repulsivas estéricas conferidas pelo grupo de proteção, o surfactante ácido oleico.

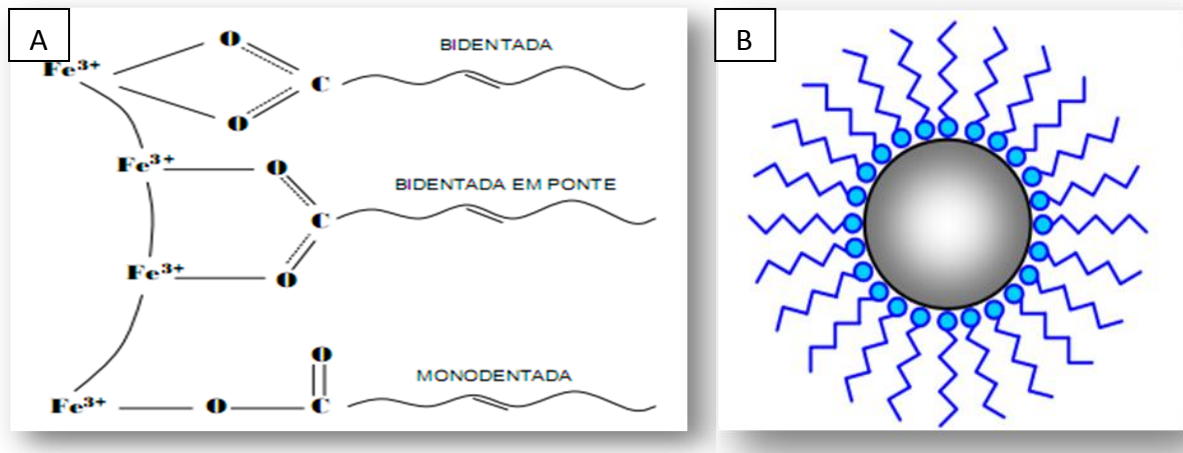


Figura 10: (A) Ligações entre as moléculas de ácido oleico e as NPsFe,²⁰ e (B) A formação das micelas nanopartícula-surfactante.³³

As nanopartículas em tolueno foram analisadas em MET (Microscopia Eletrônica de Transmissão) no Centro de Microscopia Eletrônica da UFSC - LCME, e suas imagens seguem abaixo.

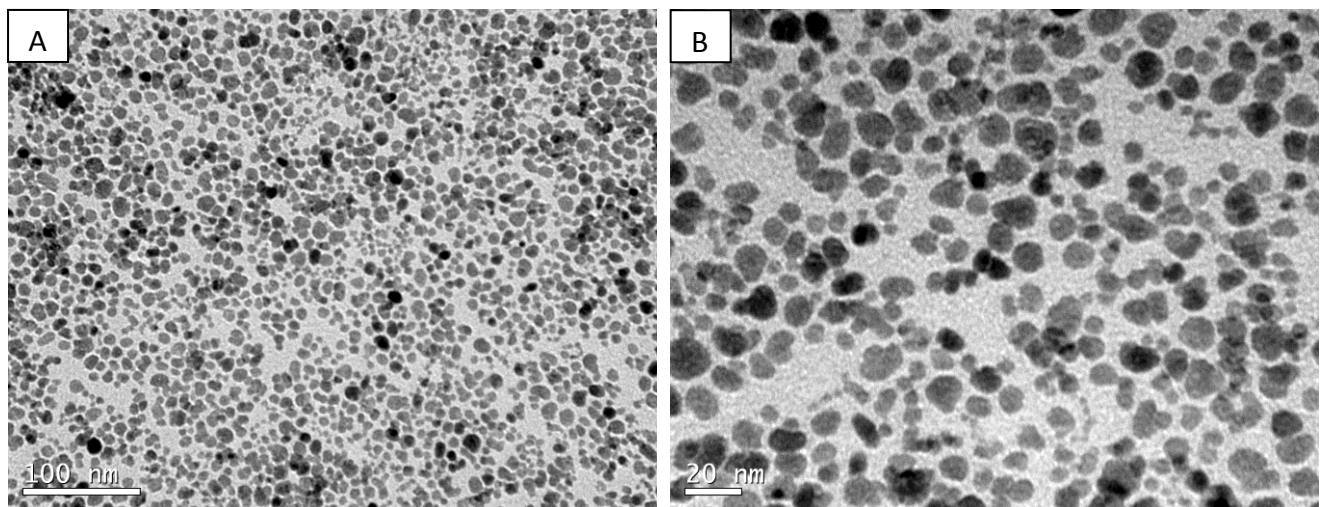


Figura 11: Micrografias em MET (A) e (B) das NPsFe em meio orgânico estabilizadas com ácido oleico.

Como se pode observar na figura 11, a suspensão de nanopartículas estava bastante concentrada, porém sem sinais de agregação, o que sugere que o ácido oleico funciona como um bom estabilizante através da formação de barreira estérica que impede a aglomeração das partículas.

Através das imagens obtidas em MET observa-se que as partículas possuem formas indefinidas, porém foi feita uma aproximação para a forma esférica para o cálculo dos diâmetros das partículas de ferro em tolueno, mensurados utilizando e

as micrografias e o *software ImageJ*. Com os dados obtidos um histograma foi construído (figura x (A)) e o diâmetro médio de 7 nm determinado.

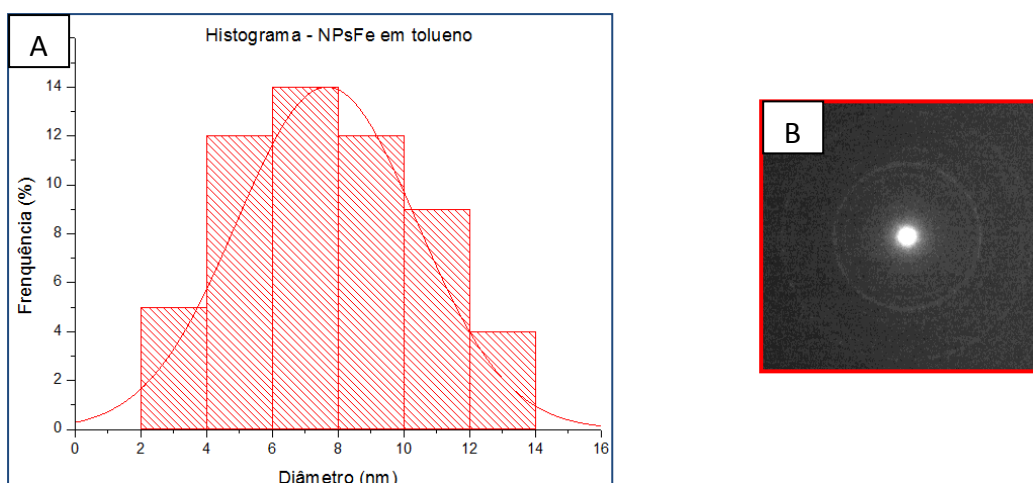


Figura 12: (A) Histograma, e (B) Padrão de difração de elétrons, obtidos através de análise das NPsFe em tolueno em MET.

Na análise em MET realizada das nanopartículas, empregou-se também a técnica de difração de elétrons, sendo obtido o padrão de difração das NPsFe (figura 12 (B)). Através do padrão de difração poderão ser determinadas em estudos posteriores as fases cristalinas presentes.

É possível observar uma resposta magnética da suspensão das NPsFe em tolueno com a simples aproximação de um campo magnético, como ilustrado pela Figura 13 abaixo. A suspensão coloidal das nanopartículas de óxido de ferro é chamada na literatura comumente de ferrofluido.



Figura 13: Resposta magnética da suspensão coloidal de NPsFe em tolueno a aproximação de um ímã.

Apesar da resposta magnética fez-se necessário caracterizar o tipo de magnetismo presente na suspensão de nanopartículas, e para isso realizou-se uma curva de magnetização, ou curva de histerese. Nesta análise um campo magnético foi incidido sobre a amostra sendo variado de um mínimo a um máximo, em seguida feito o contrário, de um máximo a um mínimo. As respostas magnéticas observadas deram origem ao gráfico mostrado pela figura 14.

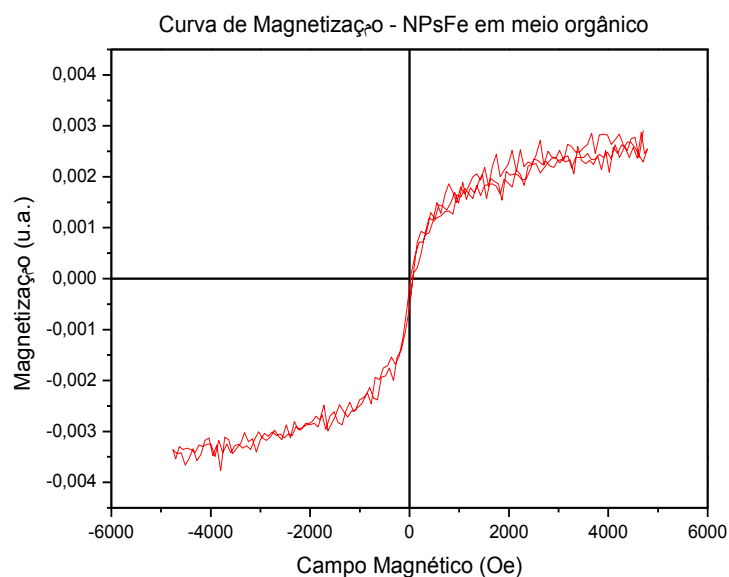


Figura 14: Curva de histerese da suspensão de NPsFe em meio orgânico.

O caminho de ida de volta da resposta magnética ocorreu da mesma forma, sendo obtidos os mesmos valores, o que é característico do efeito superparamagnético. Ou seja, não houve um atraso (histerese) da resposta magnética no caminho de volta com a variação do campo aplicado, característica própria das NPsFe. O ruído observado no gráfico se deve a variedade de tamanho das partículas analisadas, entretanto não afeta ao resultado obtido.

5.3 Microesferas poliméricas

5.3.1 Microesferas poliméricas de estireno-divinilbenzeno

A síntese de microesferas poliméricas de sty-dvb ocorre pela suspensão em fase aquosa da fase orgânica, sob forte agitação e sob aquecimento, sendo a razão entre a fase aquosa e a fase orgânica de 4/1 (v/v).

A fase aquosa é composta por NaCl, usado para diminuir a solubilidade da fase orgânica, e pelo tensoativo hidroxietilcelulose, usado para reduzir a tensão superficial da água e evitar o processo de coalescência das gotas poliméricas, estabilizando as partículas de polímero, especialmente no período em que as partículas se tornam muito viscosas. A fase orgânica é composta pelos copolímeros e pelo diluente tolueno.

Abaixo segue a equação envolvida na reação de polimerização das microesferas de sty-dvb (figura 15).

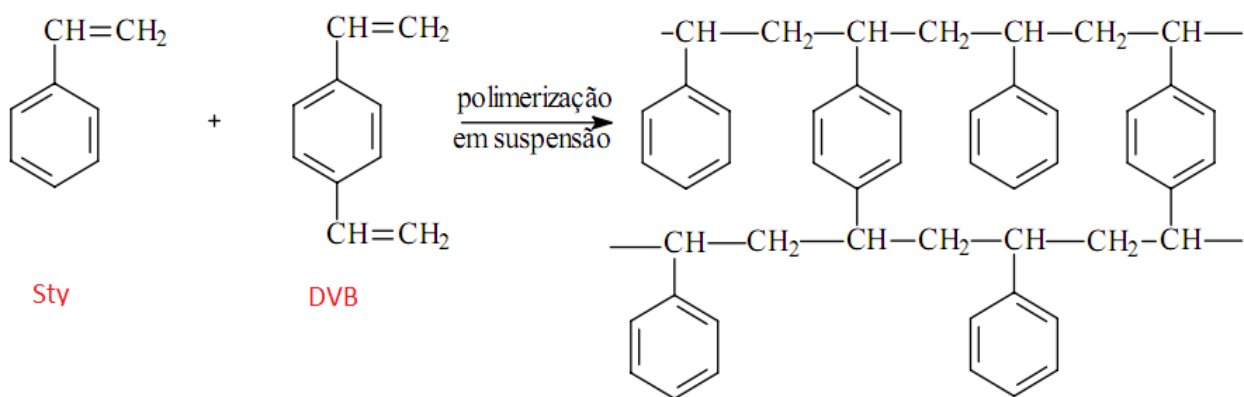


Figura 15: Representação da reação de polimerização das microesferas de sty-dvb.

Para que a reação entre os copolímeros aconteça faz-se necessário a adição de um iniciador solúvel em fase orgânica, neste caso o peróxido de benzoíla (perben). Devido ao aquecimento ocorre a clivagem da ligação entre os oxigênios e dois radicais são formados, derivados do ácido benzóico. Tais radicais dão início a reação de polimerização em suspensão em fase aquosa.

Abaixo segue a estrutura do perben (figura 16), que sofre clivagem homolítica na ligação em destaque sob aquecimento.

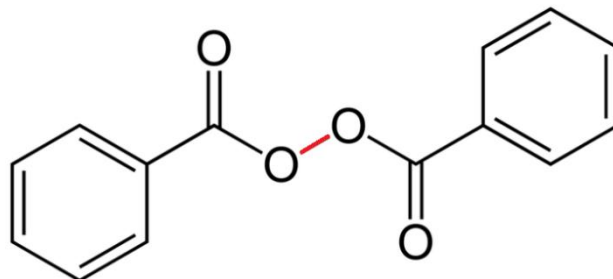


Figura 16: Estrutura do iniciador perben.

Como resultado da síntese, foram obtidas pérolas, e estas foram analisadas em MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) no Centro de Microscopia Eletrônica da UFSC (LCME), e suas imagens seguem abaixo.

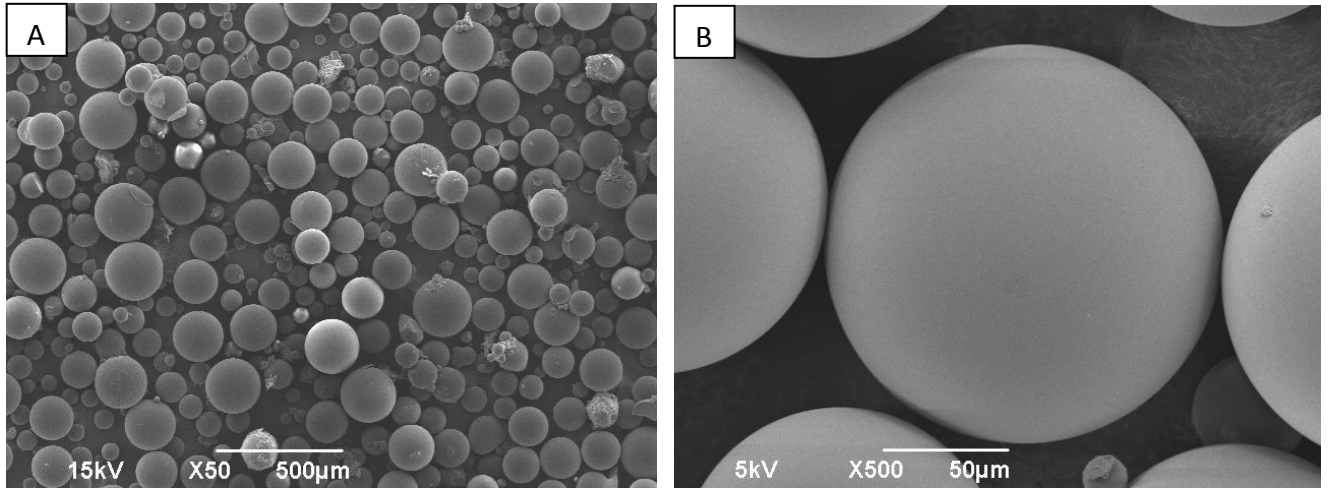


Figura 17: Micrografias em MEV das microesferas de sty-dvb em (A) e (B).

Juntamente com a análise de MEV utilizou-se a técnica de EDX, capaz de identificar os elementos presentes em uma amostragem local. Observando a figura 18 pode-se constatar apenas a presença de um composto orgânico, como esperado.

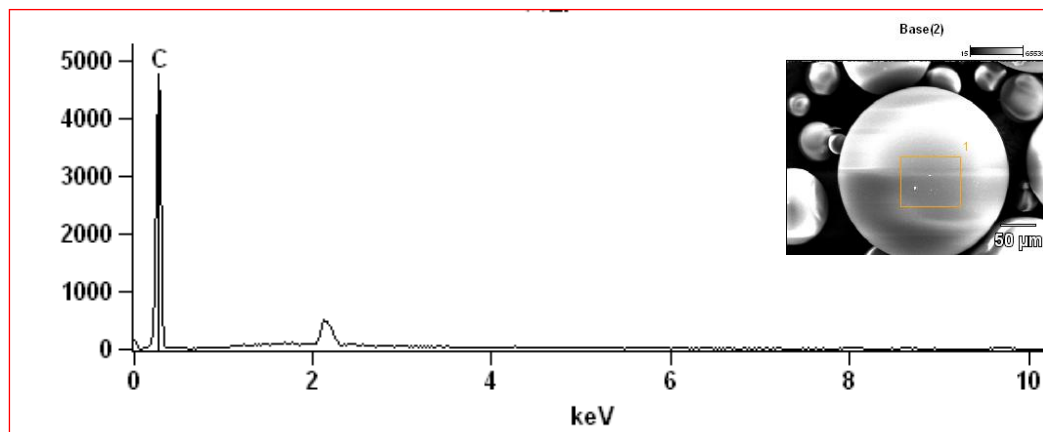


Figura 18: Análise de EDX das microesferas de sty-dvb.

As pérolas de sty-dvb possuem formas perfeitamente esféricas e com superfície lisa como pode ser observado na figura 17. O diâmetro médio de 150 μm foi mensurado utilizando as micrografias e o *software ImageJ*, representado pelo histograma da figura 19.

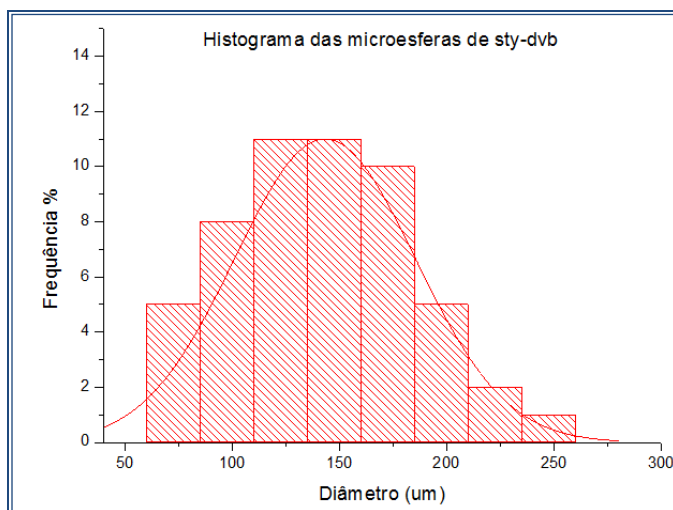


Figura 19: Histograma das microesferas de sty-dvb obtido através de análise MEV.

5.3.2 Microesferas poliméricas com nanopartículas de prata

Para impregnar as NPsAg na matriz polimérica de sty-dvb seguiu-se a metodologia de síntese das microesferas a risca, apenas substituiu-se o solvente tolueno da fase orgânica pela suspensão de NPsAg em tolueno.

A impregnação das nanopartículas nas microesferas podem ser claramente observadas pela mudança de coloração no produto final, de branca para laranja pálido, como é mostrado na figura 20.



Figura 20: À esquerda fotografia das microesferas de sty-dvb, à direita microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsAg.

As microesferas impregnadas com as nanopartículas foram analisadas em MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) no Centro de Microscopia Eletrônica da UFSC (LCME), e suas imagens seguem abaixo.

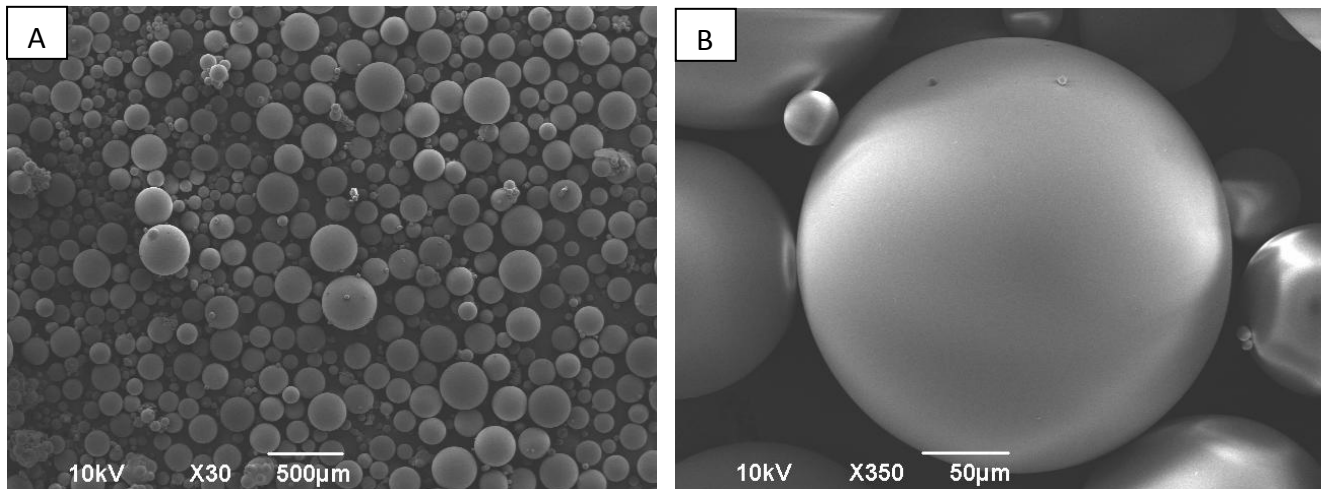


Figura 21: Micrografias das microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsAg obtidas em MEV, em (A) e (B).

Conforme observado na figura 21, não houve alteração na morfologia das microesferas com a impregnação das nanopartículas, ou seja, continuaram a ser obtidas na forma esférica e com superfície lisa.

Aliada a análise em MEV utilizou-se a técnica de EDX, na tentativa de se conhecer os elementos presentes nas amostras. Porém, não se conseguiu determinar a presença da prata nas microesferas, apenas a constatação de um composto orgânico pela presença do elemento carbono (figura 22).

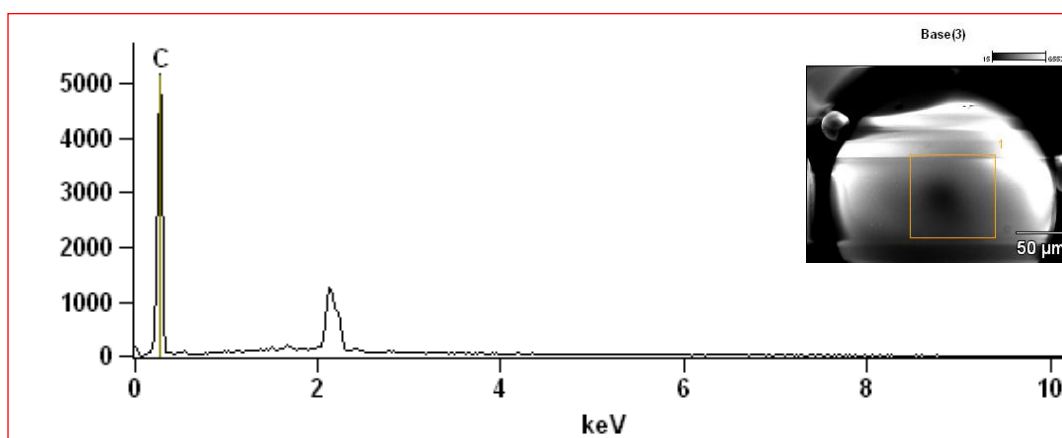


Figura 22: Análise de EDX das microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsAg.

Provavelmente a baixa concentração das NPsAg no polímero, característica marcante na dispersão de nanopartículas, influenciou negativamente na detecção da prata. A pequena faixa de superfície analisada da amostra por tal técnica também deve ser considerada. E outro ponto, é a possibilidade das nanopartículas terem se concentrado no interior das microesferas, entretanto este estudo não foi explorado, devendo ser realizado futuramente.

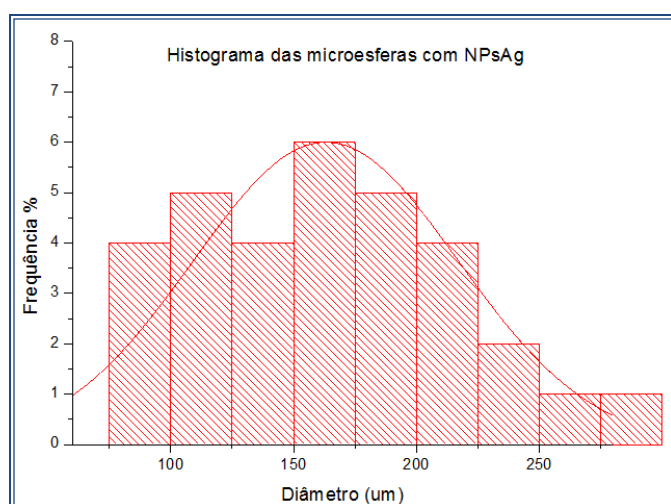


Figura 23: Histograma das microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsAg obtido através de análise MEV.

O diâmetro médio das microesferas aumentou de 150 μm para 160 μm com a impregnação das nanopartículas, e foi mensurado utilizando as micrografias obtidas por MEV e o *software ImageJ*, representado pelo histograma da figura 23.

5.3.3 Microesferas poliméricas com nanopartículas de óxido de ferro

As microesferas de sty-dvb são tingidas com a suspensão de NPsFe para estender a propriedade magnética ao polímero. As pérolas são recobertas com a suspensão e levadas a estufa para evaporação do solvente tolueno. O aquecimento é feito por aproximadamente 2 horas a 60°C.

Após o processo de secagem são obtidas microesferas de coloração grafite que apresentam magnetismo, podendo este ser observado com a simples aproximação de um campo magnético. A figura 24 mostra o produto final sob a ação de um ímã.



Figura 24: Fotografia das microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsFe sob ação de um campo magnético.

As microesferas impregnadas com as nanopartículas foram analisadas em MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) no Centro de Microscopia Eletrônica da UFSC (LCME), e suas imagens seguem abaixo.

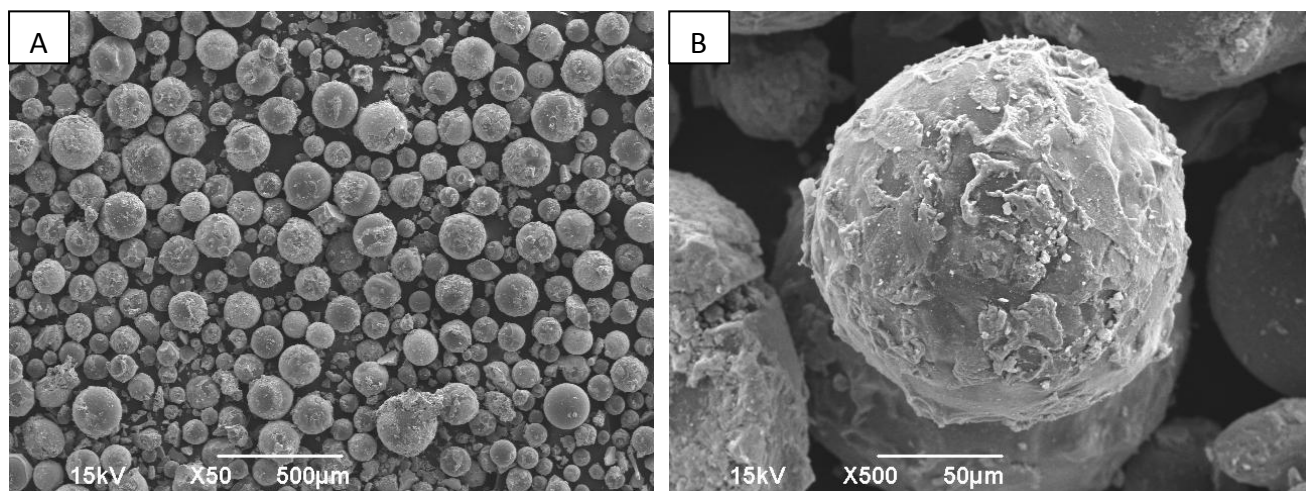


Figura 25: Micrografias das microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsFe obtidas em MEV, em (A) e (B).

Conforme observado na figura 25, apesar de esféricas as microesferas apresentaram alteração na superfície com impregnação das nanopartículas, ou seja, passaram de superfície lisa para superfície rugosa. Tal fenômeno se deve, possivelmente, a deposição irregular nas partículas de óxido de ferro na superfície do polímero com a evaporação do tolueno.

Juntamente com a análise em MEV utilizou-se a técnica de EDX, com o intuito de se conhecer os elementos presentes nas amostras. Como pode ser observado pela figura 26, detectou-se a presença de carbono característico do polímero orgânico, além de ferro e oxigênio, presentes nas NPsFe.

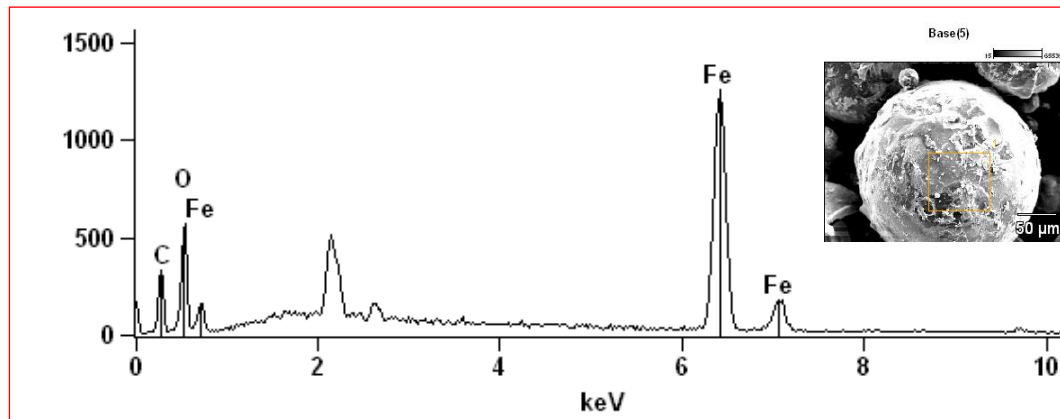


Figura 26: Análise de EDX das microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsFe.

O diâmetro médio das microesferas impregnadas com as nanopartículas foi mensurado utilizando as micrografias obtidas por MEV e o *software ImageJ*. Representado no histograma da figura 27, pode-se perceber que o diâmetro continuou similar ao das microesferas de sty-dvb sem nanopartículas, sendo o valor médio de 150 µm.

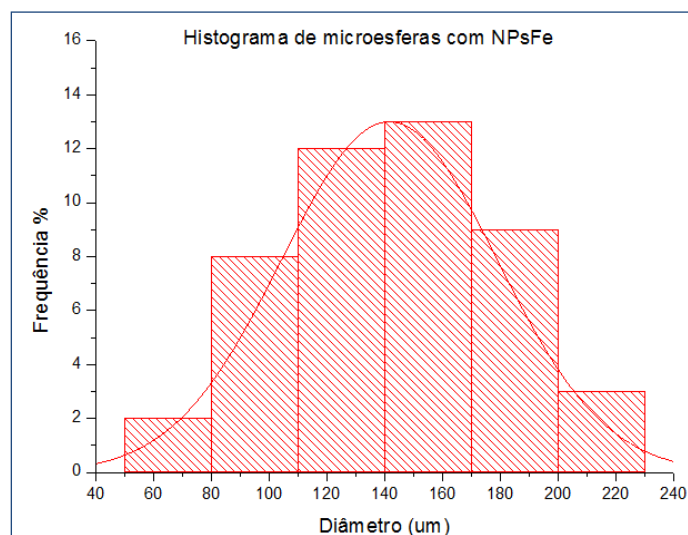


Figura 27: Histograma das microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsFe obtido através de análise MEV.

A resposta magnética da amostra foi caracterizada através da curva de magnetização. O tipo de magnetismo presente é o mesmo encontrado na suspensão

de nanopartículas, o superparamagnetismo. Isto pode ser constatado pela figura 28, na ausência de histerese.

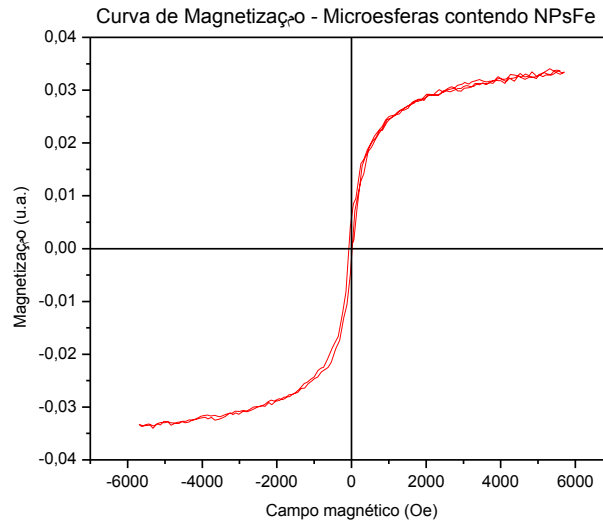


Figura 28: Curva de histerese das microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsFe.

Na figura 29, apresenta-se o padrão de difração da amostra de microesferas impregnadas com nanopartículas de ferro na linha escura na faixa de cima, e logo abaixo, na linha vermelha o padrão da magnetita, Fe_3O_4 , obtido em biblioteca. Tal imagem comprova a presença do óxido no polímero, pelos picos correspondentes, e a base elevada é a resposta do material orgânico, que corrobora com o padrão de difração de elétrons obtido pela análise em MET.

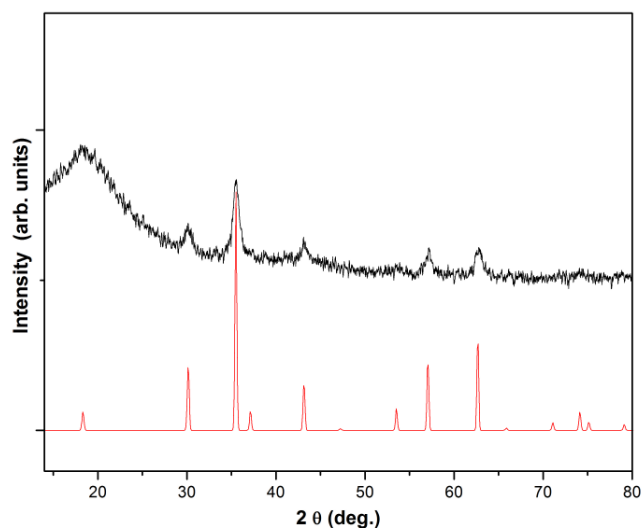


Figura 29: DRX das microesferas de sty-dvb impregnadas com NPsFe.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As sínteses envolvidas na preparação de microesferas poliméricas impregnadas com nanopartículas de prata e nanopartículas de óxido de ferro ocorreram com sucesso, e as caracterizações envolvendo cada etapa geraram bons resultados, cumprindo com o objetivo proposto.

As nanopartículas de prata possuem forma esférica e permanecem estáveis com o surfactante oleilamina em tolueno. O diâmetro médio de 15 nm foi determinado localmente através das micrografias de MET, e no seio da suspensão como sendo 2 nm, através do DLS.

As nanopartículas de óxido de ferro não possuem forma definida e permanecem estáveis com o surfactante ácido oleico em tolueno. O diâmetro médio de 7 nm foi determinado localmente através das micrografias de MET. A curva de magnetização comprovou a presença de superparamagnetismo na suspensão.

As microesferas de estireno e divinilbenzeno sem impregnação de nanopartículas, impregnadas com nanopartículas de prata, e impregnadas com nanopartículas de óxido de ferro foram analisadas em MEV e EDX, sendo obtidos os respectivos resultados quanto a forma e superfície, diâmetro, coloração e elementos: esférica e lisa, 150 μm , branca e de composição orgânica; esférica e lisa, 160 μm , laranja pálido e de composição orgânica; esférica e rugosa, 150 μm , grafite e de composição orgânica com presença de ferro e oxigênio.

Por último comprovou-se a presença de superparamagnetismo nas microesferas de estireno e divinilbenzeno impregnadas com nanopartículas de óxido de ferro, e a impregnação do óxido no polímero por DRX.

Estudos futuros deverão ser realizados com o intuito de comprovar a impregnação das nanopartículas de prata nas microesferas de estireno e divinilbenzeno, além de testes microbiológicos para comprovar se a ação anti-séptica e antimicrobiana foram estendidas ao polímero.

REFERÊNCIAS

1. OVERGAARD, J. **Effect of hyperthermia on malignant cells In vivo.** Cancer. 39, 2637-2646, 1977.
 2. CASTRO, V. F., CELESTINO, J., QUEIROZ, A. A., GARCIA, F. G. **Propriedades magnéticas e biocompatíveis de nanocompósitos para utilização em magnetohipertermia.** Rev. Brasileira de Física Médica. 4, 79-82, 2010.
 3. ESTEVES, A. C. C.; TIMMONS, A. B.; TRINDADE, T. **Nanocompósitos de matriz polimérica: estratégias de síntese de materiais híbridos.** Quim. Nova. 27, 798-806, 2004.
 4. ORIAKHI, C. O. **Polymer Nanocomposition Approach to Advanced Materials.** J. Chem. Educ. 77, 1138, 2000.
 5. SANTOS, R. M. M.; FIALHO, S. L. **Nanopartículas.** Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. 37, 52-59, 2007.
 6. LIMA, K. M.; SILVA, C. L.; JÚNIOR, J. M. R. **Microesferas biodegradáveis.** Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. 12, 10-13, 2000.
 7. OLIVEIRA, A. J.; et al. **How to maintain the morphology of styrene-divinylbenzene copolymer beads during the sulfonation reaction.** Material Letters. 59, 1089-1094, 2005.
 8. LAUS, R.; et al. **Microesferas de quitosana reticuladas com tripolifosfato utilizadas para remoção da acidez, ferro(iii) e manganês(ii) de águas contaminadas pela mineração de carvão.** Quim. Nova. 29, 34-39, 2006.
 9. KLABUNDE, K. J. **Nanoscale materials in chemistry.** New York: John Wiley & Sons. 2001.
 10. ZHAO, S.; CHEN, S.; LI, D.; MA, H. **Phase transfer of Ag nanoparticles by help of centrifugation.** Colloids and Surfaces. 242, 145-149, 2004.
 11. ULKUR, U.; ONCUL, O.; KARAGOZ, H.; CELIKÖZ, B.; CAVUS, S. **Comparison of silver-coated dressing (Acticoat), chlorhexidine acetate 0.5% (Bactigrass), and silver sulfadiazine 1% (Silverdin) for topical antibacterial effect in Pseudomonas aeruginosa-contaminated, full-skin thickness burn wounds in rats.** J Burn Care Rehabil. 26, 430-3, 2005.
 12. FONG, J., WOOD, F. **Nanocrystalline silver dressings in wound management: a review.** Int J Nanomedicine. 1, 441-9, 2006.
-

13. YOON, K.; BYEON, J. H.; PARK, J.; HWANG, J. **Susceptibility constants of Escherichia coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles.** Science of the Total Environment. 373, 572-575, 2007.
14. PANÁČEK, A.; et al. **Silver Colloid Nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity.** The Journal of Physical Chemistry. 110, 16248-16253, 2006.
15. LANSDOWN, A. B. G. **Silver in Health Care: Antimicrobial Effects and Safety in Use.** Curr. Probl. Dermatol. 33, 17-34, 2006.
16. PILLAI, Z. S.; KAMAT, P. V. **What Factors Control the Size and Shape of Silver Nanoparticles in the Citrate Ion Reduction Method?** Journal of Physical Chemistry. 108, 945-951, 2004.
17. SEGALA, K. **Estudo da ação antimicrobiana em diferentes compósitos impregnados com nanopartículas de prata.** Tese de doutorado em Química - CFM, UFSC, Florianópolis, 2007.
18. WEISSLEDER, P. C. C.; et al. **Superparamagnetic Iron Oxide: Pharmacokinetics and Toxicity.** American Journal of Roentgenology. 152, 167-173, 1989.
19. KODAMA, R.H. **Magnetic nanoparticles.** Journal of Magnetism and Magnetic Materials. 200, 359, 1999.
20. ALCÂNTARA, G. P. **Nanopartículas de maguema complexadas com ácido oleico.** Dissertação de mestrado em física – Instituto de Física, UnB, Brasília, 2007.
21. ROSSI, L. M.; et al. **A magnetically recoverable scavenger for palladium based on thiol- modified magnetite nanoparticles.** Applied Catalysis A: General. 330,139-144, 2007.
22. SUN, J.; et al. **Synthesis and characterization of biocompatible Fe₃O₄ nanoparticles.** J. Bio. Mat. Res. 80, 333-341, 2007.
23. PAULUS, P.M.; et al. **Magnetic properties of nanosized transition metal colloids: the influence of noble metal coating.** Eur.Phys.J.D. 9, 501-504, 1999.
24. LEITE, M. S. **Diferenças Estruturais em Nanopartículas de Ag e Au Coloidais.** Dissertação de Mestrado – Unicamp, Campinas, 2003.
25. MORALES, L. F. G.; HINRICHS, R.; FERNANDES, L. A. **A Técnica de Difração de Elétrons Retro-Espalhados (EBSD) em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) e sua Aplicação no Estudo de Rochas Deformadas.** Revista Pesquisas em Geociências. 34, 19-34, 2007.
26. MALVERN. **Zeta Potencial.** Disponível em: <http://www.malvern.com/labeng/products/iwtm/zeta_potential.htm>. Acesso em: 01/06/2010.
-

27. MALISKA, A. M. **Microscopia eletrônica de varredura**. LabMAT – UFSC. Disponível em: <http://www.materiais.ufsc.br/lcm/web-MEV/MEV_Apostila.pdf> Acesso em: 03/06/2010.
28. DEGEO - **Energy Dispersive X-Ray**. Disponível em: <<http://www.degeo.ufop.br/laboratorios/microlab/mev.htm>>. Acesso em: 01/06/2010.
29. MENDONÇA, V. R. **Nanoquistsais de TiO₂: relação entre parâmetros morfológicos, estruturais, e fotocatalise**. Dissertação de mestrado da Universidade de São Carlos, São Carlos, 2010.
30. YANG, J.; et al. **A highly efficient phase transfer method for preparing alkylamine-stabilized Ru, Pt, and Au nanoparticles**. Journal of Colloid and Interface Science. 277, 95-99, 2004.
31. THE Truth About TEM Images of Ionic Silver Solutions. **Silver colloids**. Disponível em: <<http://www.silver-colloids.com/Pubs/TEM.html>> Acesso em: 20/11/2010.
32. MULHOLLAND, G. W. **Development of a One-Micrometer-Diameter Particle Size Standard Reference Material**. Journal of Reseawh of the National Bureau of Standards. 90, 1985.
33. ALVES, T. M. M. T. **Síntese e caracterização de nanopartículas de óxidos de ferro para aplicações biomédicas**. Dissertação de mestrado em física - Instituto de Física “Gleb Wataghin” da UNICAMP, Campinas, 2007.
-