

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE FÍSICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

*Anderson Costa da Silva*

**Avaliação Experimental e Teórica da Hipertermia  
Magnética de Magnetolipossomos para Tratamento  
Oncológico**

GOIÂNIA

2015

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do material bibliográfico:**       Dissertação       Tese

**2. Identificação da Tese ou Dissertação**

Nome completo do autor: Anderson Costa da Silva

Título do trabalho: Avaliação Experimental e Teórica da Hipertermia Magnética de Magnetolipossomos para Tratamento Oncológico

**3. Informações de acesso ao documento:**

Concorda com a liberação total do documento  SIM       NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Assinatura do (a) autor (a)

Data: 20 / 10 / 2015

---

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

*Anderson Costa da Silva*

**Avaliação Experimental e Teórica da Hipertermia  
Magnética de Magnetolipossomos para Tratamento  
Oncológico**

*Tese apresentada ao Instituto de Física da Uni-  
versidade Federal de Goiás como parte dos re-  
quisitos para a obtenção do título de Doutor em  
Física.*

ORIENTADOR: *Prof. Dr. Andris Figueiroa Bakuzis*

GOIÂNIA

2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Costa da Silva, Anderson

Avaliação Experimental e Teórica da Hipertermia Magnética de Magnetolipossomos para Tratamento Oncológico [manuscrito] / Anderson Costa da Silva. - 2015.

x, 125 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Andris Figueiroa Bakuzis.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Física (IF), Programa de Pós-Graduação em Física, Goiânia, 2015. Bibliografia.

Inclui lista de figuras, lista de tabelas.

1. Magnetolipossomos. 2. Hipertermia Magnética. 3. Birrefringência Magnética Estática. 4. Fluidos Magnéticos. 5. Oncologia. I. Figueiroa Bakuzis, Andris , orient. II. Título.

CDU 53



**Universidade Federal de Goiás**  
**Instituto de Física**  
**Programa de Pós-Graduação em Física**

Ata Nº 20 de defesa de tese de **Anderson Costa da Silva** para obtenção do título de Doutor em Física.

Aos 17 dias do mês de agosto de 2015, às 14h00min, no Miniauditório do Instituto de Física da UFG, reuniu-se a Banca Examinadora indicada pela Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação, aprovada pelo Conselho Diretor e designada pela Diretoria do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás, composta pelo **Prof. Dr. Andris Figueiroa Bakuzis** (orientador e presidente da Banca – IF/UFG), **Prof. Dr. Sebastião William da Silva** (IF/UnB), **Prof. Dr. Ronei Miotto** (CCNH/UFABC), **Prof. Dr. Fernando Pelegrini** (IF/UFG) e **Prof. Dr. Leandro Felix de Sousa Bufaiçal** (IF/UFG) para julgar a tese de doutorado de **Anderson Costa da Silva**, intitulada: **"Avaliação experimental e teórica da hipertermia magnética de magnetolipossomos para tratamento oncológico"**. O Presidente abriu os trabalhos agradecendo a presença dos membros da Banca Examinadora e concedeu a palavra a **Anderson Costa da Silva**, que expôs detalhadamente seu trabalho. Em seguida, os membros da Banca fizeram suas considerações e procederam à arguição do candidato. Concluída essa etapa, a Banca, em sessão fechada, deu prosseguimento ao julgamento do trabalho, atribuindo os seguintes conceitos:

Prof. Dr. Andris Figueiroa Bakuzis (orientador)

APROVADO

Prof. Dr. Sebastião William da Silva (IF/UnB)

Aprovado

Prof. Dr. Ronei Miotto (CCNH/UFABC)

aprovado

Prof. Dr. Fernando Pelegrini (IF/UFG)

APROVADO

Prof. Dr. Leandro Felix de Sousa Bufaiçal (IF/UFG)

APROVADO

Novamente em sessão aberta, o presidente da Banca anunciou o resultado final do julgamento, declarando o candidato **Anderson Costa da Silva** APROVADO pela Banca Examinadora. Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada e lavrou-se a presente ata que segue assinada pelos membros da Banca Examinadora.


Goiânia, 17 de agosto de 2015.

  
Prof. Dr. Andris F. Bakuzis

  
Prof. Dr. Sebastião W. da Silva

  
Prof. Dr. Ronei Miotto

  
Prof. Dr. Fernando Pelegrini

  
Prof. Dr. Leandro F. de Sousa Bufaiçal

*Aos meus pais e ao meu irmão.*

# Agradecimentos

- Ao professor Dr. Andris Figueiroa Bakuzis pelo apoio total a este projeto em todas as situações.
- À professora Dr. Eliana Martins Lima da Farmatec FF-UFG por todo apoio e empenho para obtenção das amostras de lipossomos.
- Aos alunos de doutorado da FF-UFG: Marilisa Pedroso Nogueira Gaeti, Livia Palmerston Mendes e Emílio Ramos Cintra pelas extensas horas dedicadas à preparação das amostras de magnetolipossomos para este trabalho. A vocês, muito obrigado mesmo!
- Ao Laboratório de Microscopia do LabMic UFG (Laboratório Microscopia de alta resolução) pelo uso do Microscópio Eletrônico de Transmissão de Alta Resolução.
- Aos alunos de doutorado do IF-UFG: Nicholas Zufelato, (Responsável pela síntese da amostra de ferrofluido utilizada neste trabalho), Marcus Carrião, pelo apoio operacional em muitas horas e Victor Romero, pela ajuda em horas que precisava.
- Ao técnico do IF-UFG Juracy Leandro dos Santos por todo apoio prestado durante a realização deste trabalho.
- À minha família, em especial, minha mãe (Dona Olga), meu irmão Alessandro C. Silva, minha cunhada Karen Silva e minhas lindas sobrinhas Isabella e Yasmin.
- À FAPEG pelo apoio financeiro, especificamente pela bolsa de doutorado.
- À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

*Este trabalho recebeu apoio financeiro da FAPEG, CAPES e CNPq.*

# Resumo

Neste trabalho investigamos a eficiência magneto-térmica de dois nanocarreadores, fluidos magnéticos (FMs) e magnetolipossomos (MLs), com potencial para terapia oncológica. Fluidos magnéticos a base de nanopartículas de ferrita de manganês recobertas com ácido cítrico foram sintetizados. Magnetolipossomos, vesículas contendo as mesmas nanopartículas, foram preparados pelo método de extrusão. A difração de raios-X confirmou a estrutura cristalina das nanopartículas, do tipo espinélio, enquanto a microscopia eletrônica de transmissão indicou partículas esféricas com distribuição do tipo lognormal e diâmetro médio de  $\langle D \rangle = 11,1 \pm 3,5$  nm. Os dados de magnetometria de amostra vibrante (MAV) revelaram partículas no regime superparamagnético em condição quasi-estática. A redução da magnetização de saturação da nanopartícula em relação a amostra bulk foi explicada pela existência de uma casca fracamente magnética com espessura de 1,1 nm. A concentração e distribuição de diâmetros dos lipossomos (diâmetro médio de 180 nm) foram obtidos pela técnica de análise de monitoramento de nanopartículas (NTA). Os dados de NTA e MAV permitiram obter a fração de partículas encapsuladas nas vesículas, que variou de 0,26 a 0,83%. Medidas de birrefringência magnética revelaram uma maior fração de partículas formando agregados nos MLs em relação aos FMs. Medidas de hipertermia magnética foram feitas variando a frequência (111-632 kHz) e amplitude de campo magnético (até 250 Oe) em amostras de FMs e MLs com diferentes concentrações de partículas. Em geral, encontramos que a eficiência magnetotérmica dos MLs foi menor que a dos FMs, apesar deste efeito ser menos significativo em baixas frequências ( $< 170$  kHz). A explicação para o fenômeno foi fornecida por um novo modelo teórico que considerou, além do efeito da interação dipolar na anisotropia magnética, a redução da susceptibilidade devido a partículas bloqueadas. Esta contribuição foi fortemente dependente da frequência, amplitude do campo alternado e de agregados no colóide.

# Abstract

In this work we investigated the magnetothermal efficacy of two nanocarriers, magnetic fluids (MF) and magnetoliposomes (ML), with potential for oncology therapy. Ferrofluids based on manganese ferrite nanoparticles, surface coated with citric acid, were synthesized. Magnetoliposomes, vesicles containing magnetic nanoparticles inside, were prepared by the extrusion method. X-ray diffraction confirmed the spinel structure, while transmission electron microscopy revealed spherical nanoparticles with a lognormal size distribution and mean diameter of  $\langle D \rangle = 11,1 \pm 3,5$  nm. Magnetization curves, at quasi-static conditions revealed particles at the superparamagnetic regime. A reduction in the saturation magnetization in comparison with bulk samples were explained by a nonmagnetic shell with thickness of 1.1 nm. The concentration and particle size distribution of the liposomes (mean diameter of 180 nm) were obtained from the nanoparticle tracking analysis (NTA). The combination of magnetometry and NTA data revealed an encapsulation particle volume fraction in the range of 0.26 to 0.83% for the samples. Magnetic birefringence data showed a higher fraction of aggregates in ML in comparison to MF. Magnetic hyperthermia experiments were performed at distinct frequencies (111-632 kHz) and field amplitudes (up to 250 Oe) for distinct ML and MF samples. In general, we found a reduction of magnetothermal efficacy for magnetoliposomes when compared to MF. although the effect is less evident at lower frequencies ( $<170$  kHz). The explanation was obtained through a new theoretical model that, not only takes into account the effect of dipolar interaction in the magnetic anisotropy, but also the reduction of susceptibility due to blocked nanoparticles. This contribution was shown to be strongly dependent upon field frequency, amplitude and aggregates in the suspension.

# Conteúdo

<b>Lista de Figuras</b>	<b>v</b>
<b>Lista de Tabelas</b>	<b>ix</b>
<b>1 Introdução</b>	<b>1</b>
<b>2 Nanocarreadores Magnéticos</b>	<b>7</b>
2.1 Fluidos Magnéticos - Características Gerais . . . . .	7
2.1.1 Métodos de Preparação . . . . .	7
2.1.2 Método de Preparação da Ferrita de Manganês Passivada . . . . .	10
2.1.3 Estabilidade . . . . .	11
2.2 Lipossomos . . . . .	14
2.2.1 Classificação dos Lipossomos . . . . .	15
2.2.2 Magnetolipossomos . . . . .	15
2.2.3 Método de Preparação dos Magnetolipossomos . . . . .	16
<b>3 Fundamentos Teóricos</b>	<b>18</b>
3.1 Monodomíos Magnéticos . . . . .	18
3.2 Modelo de Langevin . . . . .	19
3.3 Birrefringência . . . . .	22
3.3.1 Birrefringência Óptica . . . . .	23
3.3.2 Birrefringência Magnética Estática (BME) . . . . .	23
3.4 Diâmetro Superparamagnético . . . . .	31
3.5 Susceptibilidade Magnética . . . . .	35
3.5.1 Susceptibilidade DC . . . . .	35

3.5.2	Susceptibilidade Magnética em Regime AC . . . . .	37
3.6	Magnetohipertermia - Teoria da resposta linear . . . . .	41
3.6.1	Campo Eletromagnético em um meio Material Linear . . . . .	41
3.6.2	Dissipação de Calor por Nanopartículas Magnéticas . . . . .	45
3.6.3	Potência Dissipada por Nanopartículas Magnéticas . . . . .	47
3.7	Efeito da Interação Dipolar na Anisotropia Magnética . . . . .	53
<b>4</b>	<b>Metodologia Experimental</b>	<b>57</b>
4.1	Difração de Raios - X . . . . .	57
4.2	Magnetometria . . . . .	58
4.2.1	Cálculo da Fração Volumétrica de NPMs . . . . .	61
4.2.2	Birrefringência Magnética Estática . . . . .	63
4.3	Microscopia Eletrônica de Transmissão - TEM . . . . .	65
4.4	NanoSight - NTA . . . . .	66
4.5	Magnetohipertermia - MH . . . . .	67
<b>5</b>	<b>Caracterizações das Amostras</b>	<b>70</b>
5.1	Fluido Magnético . . . . .	70
5.1.1	Difração de Raios X . . . . .	70
5.1.2	Caracterização Morfológica - TEM . . . . .	71
5.1.3	Caracterização Magnética - VSM . . . . .	73
5.2	Caracterização dos Magnetolipossomos . . . . .	75
5.3	Número de Partículas Encapsuladas por Lipossomo . . . . .	78
<b>6</b>	<b>Resultados e Discussões</b>	<b>81</b>
6.1	Birrefringência Magnética dos Nanocarreadores . . . . .	81
6.2	Magnetohipertermia dos Nanocarreadores . . . . .	92
6.3	Modelo de Hipertermia Magnética (HM) . . . . .	97
<b>7</b>	<b>Conclusões e Perspectivas</b>	<b>107</b>
7.1	Conclusões . . . . .	107
7.2	Perspectivas . . . . .	111



# Lista de Figuras

2.1	Representação esquemática de um fluido magnético surfactado em três escalas de comprimento. Na escala macroscópica (esquerda), o fluido magnético aparece como um fluido comum. Na escala coloidal (centro), o fluido aparece como uma dispersão coloidal de diversas partículas sólidas. À direita, mostra-se o revestimento das nanopartículas . . . . .	8
2.2	Interações entre partículas: (a) e (b) correspondem a configurações de interação do tipo atrativas e em (c) configura-se uma interação dipolar repulsiva . . . . .	13
2.3	Representação esquemática de um fluido magnético iônico . . . . .	14
2.4	Ilustração de um lipossomo magnético ou magnetolipossomo. . . . .	16
2.5	Representação do processo de preparação de um lipossomo. . . . .	17
3.1	Representação esquemática da divisão de um domínio magnético e a minimização de energia magnetostática . . . . .	18
3.2	Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão Criogênica de uma mistura binária de partículas com diâmetros diferentes. A micrografia (a) foi tomada em campo nulo, e (b) em campo $H \neq 0$ . A barra de escala é de 200nm [1]. . . . .	24
3.3	Esquema de orientação de um aglomerado com relação ao referencial no laboratório. . . . .	27
3.4	Representação da energia de anisotropia em termos do ângulo entre a magnetização e o eixo de anisotropia sem campo externo aplicado. . . . .	32
3.5	Comportamento do campo coercitivo com relação ao diâmetro. . . . .	34
3.6	Dependência da energia com ângulo $\theta$ com campo nulo e com campo aplicado na direção $\varphi = \pi$ . . . . .	39
3.7	Tempo de relaxação em função do diâmetro para nanopartículas magnéticas. . . . .	53

3.8	(a) Diagrama de interações atrativa e repulsiva e (b) Representação esquemática de dímeros com rotações tipo Fanning e Coerente. . . . .	54
3.9	Anisotropia magnética efetiva em função do número de partículas na cadeia. Observa-se também a saturação da anisotropia efetiva para um maior número de partículas e um comportamento similar pra partículas de grandes tamanhos. Simulação consierando o caso Fanning . . . . .	56
4.1	Diagrama ilustrativo da diferença de caminho de feixes de raio-x sobre um cristal.	57
4.2	Diagrama esquemático da Magnetometria de Amostra Vibrante (VSM - Sigla em inglês) . . . . .	60
4.3	Magnetômetro de amostra vibrante do laboratório de Magnetometria do Instituto de Física da UFG. Figura 1 . . . . .	60
4.4	Magnetômetro de amostra vibrante do laboratório de Magnetometria do Instituto de Física da UFG. Figura 2 . . . . .	61
4.5	Diagrama de bloco das medidas de birrefringência magnética estática. . . . .	64
4.6	Equipamento de BME do Laboratório de Magnetoóptica IF-UFG. . . . .	64
4.7	TEM do LabMic IF-UFG. . . . .	65
4.8	Equipamento NanoSight NS500, à esquerda, e à direita uma imagem feita pelo software NTA Software Suite referente a visualização da população de uma amostra em análise . . . . .	67
4.9	Equipamento do sistema de Magnetohipertermia do Laboratório de Medicina Térmica do IF-UFG. . . . .	68
5.1	DRX da amostra Mn 29-01-2014 . . . . .	71
5.2	Imagem de TEM feita no Laboratório de Microscopia da UFG, Labmic. A barra de escala é de 100 nm . . . . .	72
5.3	Imagem de TEM feita no Laboratório de Microscopia da UFG, Labmic. A barra de escala é de 10 nm . . . . .	72
5.4	Distribuição de tamanhos através de imagens de TEM. A linha escura corresponde ao ajuste pela função lognormal . . . . .	73
5.5	VSM do pó da amostra e do fluido amostra Mn 29-01-2014, respectivamente . .	74

5.6	Distribuição de tamanhos de lipossomos, conforme dados de NTA . . . . .	75
5.7	Micrografia de um lipossomo. A barra de escala é de 50 nm . . . . .	76
5.8	Micrografia de um lipossomo com partículas encapsuladas. A barra de escala é de 20 nm . . . . .	77
5.9	Micrografia de um lipossomo com partículas na superfície e fora da vesícula. A barra de escala é de 20 nm . . . . .	77
5.10	Distribuição de tamanhos de partículas fora dos lipossomos. A linha escura corresponde ao ajuste pela função lognormal . . . . .	78
5.11	Comparação entre as distribuições de partículas fora dos lipossomos e fluido magnético . . . . .	78
5.12	Curvas de magnetização dos magnetolipossomos com diferentes concentrações de partículas magnéticas. . . . .	79
5.13	Curvas de magnetização dos magnetolipossomos com diferentes de partículas magnéticas (3 menos concentradas) . . . . .	80
6.1	Intensidade de Birrefringência da amostra controle de Fluido Magnético Mn 29-01-2014 em diferentes concentrações. . . . .	83
6.2	Intensidade de Birrefringência de amostras de Magnetolipossomos com diferentes concentrações de partículas magnéticas. . . . .	83
6.3	Intensidade de Birrefringência de amostras de Magnetolipossomos em diferentes concentrações de partículas magnéticas com análise de deslocamento do pico de maior intensidade. . . . .	84
6.4	Comportamento de $\langle \chi_{//} - \chi_{\perp} \rangle$ em termos do tamanho da cadeia de agregados para diferentes valores de distâncias superfície-superfície. . . . .	85
6.5	Dados de simulação do modelo de BME para número de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico aumentando com tamanho da cadeia de agregados fixo. . . . .	86
6.6	Dados de simulação do modelo de BME para o tamanho da cadeia de agregados aumentando e o número de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico fixo. . . . .	86
6.7	Dados agrupados de BME de FM e ML. . . . .	88

6.8	Percentual de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico em termos da fração volumétrica considerando trimeros ( $Q_{ag} = 3$ ) em todas as frações volumétricas dadas na figura (6.7). . . . .	89
6.9	Tamanho médio da cadeia de aglomerados em termos da fração volumétrica. . .	91
6.10	Percentual de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico em termos da fração volumétrica. . . . .	91
6.11	Dados de SLP x H para a amostra de Fluido Magnético . . . . .	93
6.12	Dados de SLP x H para as amostras de Magnetolipossomos . . . . .	94
6.13	Dados de SLP x $\phi$ com frequência de 111 kHz em 250 Oe. . . . .	95
6.14	Dados de SLP x $\phi$ em frequências diferentes e em maior amplitude campo. . . .	95
6.15	Dados de SLP x H para as amostras de FM em $\phi_{fm} = 0,25\%$ e ML em $\phi_{ml} = 0,26\%$ . 96	
6.16	Dados de SLP x $H^2$ para as amostras de FM em $\phi_{fm} = 0,25\%$ e ML em $\phi_{ml} = 0,26\%$ . . . . .	97
6.17	Distribuição $P(D) \times D$ para a amostra de FM ilustrando as regiões de partículas superparamagnéticas e bloqueadas em termos da frequência e tamanho da cadeia de agregados. . . . .	100
6.18	Diâmetro superparamagnético em termos (a) da frequência e (b) em termos do tamanho do agregado . . . . .	101
6.19	Valores calculados de SLP em termos da frequência do campo magnético alternado. 103	
6.20	$SLP_{ef}/SLP_{Q=1}$ em termos da fração de agregados $f$ . . . . .	104
6.21	SLP x f onde os pontos são dados experimentais e as linhas representam valores simulados. . . . .	106

# Lista de Tabelas

1.1	Informações sobre alguns nanocarreadores extraídas de Cheng et al. e Weissleder et al. [2,3] . . . . .	6
3.1	Diâmetro crítico de monodmínios magnéticos [4]. . . . .	19
4.1	Relação de equipamentos utilizados nesta Tese. . . . .	69
5.1	Características das amostras de Magnetolipossomos. . . . .	75
5.2	Dados de VSM das amostras de magnetolipossomos - MLs. . . . .	80
6.1	Tabela referente as análises de BME do FM e dos MLs considerando $Q_{ag} = 3$ . . . . .	88
6.2	Tabela referente as análises de BME do controle feito com fluido magnético. . . . .	90
6.3	Tabela referente as análises de BME das amostras de magnetolipossomos. A primeira linha se referente a amostra ML 11 e a segunda linha se refere a amostra ML 12. . . . .	90
6.4	Parâmetros das amostras para análises . . . . .	101

# Capítulo 1

## Introdução

Esta tese relata o estudo de propriedades magnetotérmicas de magnetolipossomos (ML). Os ML's são definidos como vesículas lipídicas nanométricas (diâmetro de 100-200 nm) contendo nanopartículas magnéticas (tamanho da ordem de 10-20 nm). Talvez tal sistema tenha sido proposto pela primeira vez em 1988 por De Cuyper e Joniau [5]. Estas nanoestruturas não devem ser confundidas com os magnetossomos, nos quais nanopartículas magnéticas são recobertas por uma dupla camada lipídica. Estes nanocarreadores têm várias aplicações biomédicas, alguns inclusive aprovados há algum tempo para uso clínico, como o Doxil - lipossomo contendo doxorubicina - aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration - USA) em 1995 [6] (Vide Tabela 1.1 no final deste capítulo).

O lipossomo pode conter diversos agentes terapêuticos como quimioterápicos, “primers” (sequência de DNA ou RNA), moléculas fluorescentes (no caso de aplicações *in vivo* na faixa do infravermelho próximo), agentes de contraste, traçadores radioativos, entre outros [7–9]. O agente terapêutico pode ser inserido tanto na camada lipídica (se for lipofílico e/ou hidrofóbico) quanto em sua cavidade esférica, como no caso de drogas hidrofílicas. Para garantir maior tempo de circulação na corrente sanguínea pode-se acoplar a seus lipídeos moléculas de PEG, neste caso denominamos o carreador de lipossomo PEGylado [10]. Tal procedimento é relevante, pois permite que o nanocarreador possa ter mais tempo para encontrar tumores e se beneficiar de um efeito descoberto por Maeda em 1986 [11], no qual fenestrações no tecido endotelial (devido a angiogênese - criação de novos vasos) são observadas próximo ao tumor,

permitindo o vazamento de estruturas da ordem de 100 nm para o interior da região tumoral. A especificidade com as células tumorais pode então, em teoria, ser obtida ao acoplar na superfície dos lipossomos anticorpos, peptídeos ou outros marcadores moleculares que possuem especificidade para determinadas linhagens tumorais [2].

Por sua vez, ao inserir neste nanocarreador partículas magnéticas pode-se beneficiar de diversas características destes materiais. Por exemplo, nanopartículas magnéticas atuam como agentes de contraste para a técnica de Ressonância Magnética Nuclear por Imagem (RMNI). Por essa razão, foram utilizadas na marcação de células-tronco [12] ou ainda na detecção precoce de metástases de câncer de próstata [13], entre outros. Em geral, estas partículas são ferritas (óxido de ferro) e possuem diversas vantagens em relação a outros materiais já que são biocompatíveis, biodegradáveis e já foram aprovadas pela FDA para o uso clínico (em geral como agente de contraste) [3] (Vide Tabela 1.1). Por outro lado, partículas magnéticas aquecem quando são submetidas a campo magnético alternado, fenômeno conhecido como hipertermia magnética. Tal efeito tem grande importância no tratamento de várias doenças [14,15], inclusive câncer.

A ideia da hipertermia com nanopartículas não é nova, sendo a primeira publicação de 1957 com o trabalho pioneiro de Gilchrist et al. nos EUA [16]. Possivelmente, pela ausência de boas nanopartículas e devido a questões técnicas associadas a geração de campo magnético alternado de alta intensidade, apenas no início da década de 90 é que a ideia retornou com Jordan et al. [17]. Este grupo alemão desenvolveu vários estudos pré-clínicos e finalmente montou uma empresa (MagForceAG), a qual desenvolveu um equipamento de hipertermia magnética para uso clínico em seres humanos [18]. As primeiras publicações acerca de seus estudos clínicos iniciaram em 2005 [19–22]. Posteriormente, devido a excelentes resultados clínicos, em particular para o glioblastoma (câncer de cérebro extremamente agressivo), a empresa recebeu autorização da comunidade europeia para tratar pacientes com câncer de cérebro [23]. A estratégia da empresa tem sido desenvolver fluidos magnéticos (suspensões coloidais de nanopartículas magnéticas) para tal aplicação biomédica.

Paralelamente, praticamente na mesma época que os alemães, um grupo japonês liderado por Kobayashi, propôs a utilização de magnetolipossomos catiônicos para a hipertermia magnética [24]. Este grupo desenvolveu (em 1998) também um sistema de hipertermia magnética para estudos em ratos e coelhos, operando em 118 kHz e com amplitude de campo magnético de até 380 Oe [25]. Diversos estudos pré-clínicos já foram publicados utilizando (quase sempre) magnetolipossomos catiônicos. Destaco aqui o desenvolvimento de imunomagnetolipossomos anti-Her2 [26], efeito sinérgico de hipertermia com quimioterapia [27] e a magneto imunoterapia [24, 28]. Mais recentemente este grupo iniciou estudos clínicos em fase I no Japão [28].

Apesar de todo o progresso nos estudos pré-clínicos utilizando magnetolipossomos, e alguns *reviews* recentes sobre magnetolipossomos e hipertermia [7, 29], ainda se sabe muito pouco a respeito da eficiência magnetotérmica desses nanocarreadores. Além disso, sabe-se que a interação partícula-partícula pode ter forte influência na hipertermia magnética [30]. Entretanto, poucos trabalhos foram capazes de aferir como as nanopartículas estão organizadas dentro da vesícula. Talvez um dos pioneiros neste assunto seja o trabalho do nosso grupo publicado em 2009 [31], no qual a autoorganização de nanopartículas no lipossomo foi investigada por meio da birrefringência magnética estática. Note que magnetolipossomos também são interessantes agentes de contraste em RMNI [29, 32] e como contém muitas partículas encapsuladas, possuem boa propriedade magnetoforética, i.e, sob condições adequadas pode-se, em princípio, usar de gradiente de campo magnético para atrair ou vetorizar seus agentes terapêuticos para uma região específica [33, 34]. De fato, nosso maior interesse nesta tese é investigar o efeito magnetotérmico de magnetolipossomos sob condição controlada. Nós iremos focar na comparação entre a eficiência magnetotérmica de fluidos magnéticos e magnetolipossomos.

Na literatura, existem poucos artigos que investigaram de forma adequada a hipertermia de magnetolipossomos. Em 2012, Bealle et al. relataram que seus magnetolipossomos possuíam uma eficiência magnetotérmica maior que os fluidos magnéticos (i.e. que as nanopartículas não encapsuladas em vesículas) [35]. Por outro lado, De Cuyper et al. não encontraram diferenças na hipertermia magnética de magnetolipossomos [36]. Em um estudo computacio-

nal utilizando a técnica de Monte Carlo (“Kinetic Monte Carlo”) Tan et al. encontraram que a eficiência magnetotérmica pode ser tanto aumentada quanto diminuída em magnetolipossomos dependendo de diversos parâmetros, como fração de partículas encapsuladas, diâmetro das nanopartículas, anisotropia magnética, interação partícula-partícula, entre outros fatores [37].

Um dos estudos recentes mais intrigantes relacionados ao efeito da organização de nanopartículas na hipertermia, talvez seja o de Di Corato et al. [38]. Neste trabalho foi investigada a eficiência magnetotérmica de diversas nanoestruturas (inclusive magnetolipossomos) durante o processo endocitótico de nanopartículas por células tumorais. Os autores encontraram que a eficiência reduzia drasticamente quando as nanopartículas eram endocitadas. É muito curioso notar que neste processo a célula encapsula as partículas em vesículas. O efeito foi visto com nanopartículas de diferentes diâmetros, formas ou carreadores. Nesta tese iremos mostrar, dependendo das condições experimentais, que os magnetolipossomos possuem uma eficiência magnetotérmica menor do que quando as nanopartículas não estão encapsuladas. Devido a baixa amplitude de campo iremos usar um modelo de regime linear (TRL). Entretanto, diferentemente de outros modelos da literatura, incluiremos não apenas o efeito da interação partícula-partícula [30], como também uma nova contribuição devido a partículas bloqueadas. O modelo é válido no caso de amplitude de campo menor que o campo de anisotropia, condição satisfeita em nosso regime experimental. Esta será uma importante contribuição teórica da tese já que generaliza o modelo TRL ao incluir partículas bloqueadas.

A tese foi dividida da seguinte forma. No capítulo 2 iremos discutir o que é um fluido magnético e magnetolipossomos e quais interações são relevantes para garantir a estabilidade coloidal. No capítulo 3 apresentaremos os fundamentos teóricos necessários para entender os resultados experimentais e os fenômenos envolvidos. Em particular, este capítulo conta com uma discussão a respeito das diferenças entre susceptibilidade DC e AC e a consequência para a hipertermia magnética, que é proporcional a susceptibilidade imaginária da amostra. O capítulo 4 apresenta a metodologia experimental, i.e. as técnicas básicas utilizadas neste estudo. No capítulo 5 apresentamos algumas caracterizações das amostras de fluidos magnéticos

e magnetolipossomos. O leitor encontrará informações sobre a distribuição de tamanho de partículas, magnetização de saturação e concentração de partículas encapsuladas (ou não) nos lipossomos. O capítulo 6 apresenta os nossos resultados experimentais. Primeiramente, os dados de birrefringência magnética, que permitem entender como as nanopartículas estão organizadas no interior dessas vesículas. Depois apresentamos os dados de hipertermia magnética. A discussão dos resultados é apresentada conjuntamente, quando possível, e será baseada no modelo TRL considerando a contribuição de partículas bloqueadas e a influência da interação partícula-partícula. Finalmente, no capítulo 7, apresentamos nossas conclusões e perspectivas de trabalhos futuros.

Nanocarreadores para uso clínico			
Produto	Nanocarreadores	Indicação	Status
Doxil/Caelyx	Lipossomo PEGlato com doxorrubicina	Câncer de Ovário/Sarcoma Kaposi	Aprovado [2]
DaunoXome(Galen)	Lipossomo com Daunorrubicina	Sarcoma Kaposi	Aprovado [2]
Myocet(Sopherion)	Lipossomo com N-PEGlato doxorrubicina	Câncer de mama	Aprovado [2]
MCC-465	Lipossomo com PEGlato doxorrubicina e agente marcador do anticorpo GAH	Metástase de Câncer de Estômago	Fase clínica 1 [2]
MBP-426	Lipossomo com oxaliplatina e receptor de Transferrina humana	Metástase avançada de tumores sólidos	Fase clínica 1/2 [2]
SGT-53	Lipossomo p53 cDNA e receptor de transferina	Tumores Sólidos	Fase clínica 1 [2]
Ferumoxytrol	Nanopartículas Magnéticas recobertas c/ Carboximetildextran (17 - 31 nm)	Tratamento de Anemia	Aprovado pela FDA [3]
Ferucarbotran	Nanopartículas Magnéticas recobertas c/ Carboxidextran (45 - 60 nm)	Imagiamento (Longo tempo de Circulação)	Aprovado pela FDA [3]
Ferumoxides	Nanopartículas Magnéticas cobertas c/ Dextran (100 nm)	Imagiamento por RMNI (Fígado e Baço)	Aprovado pela FDA (Retirado do mercado) [3]
NanoSPARK <sup>TM</sup> , AngioSPARK <sup>TM</sup>	Nanopartículas Magnéticas fluorescentes cobertas c/ PVA	Imagiamento vascular por fluorescência em infravermelho próximo e Imagiamento intravital (Tempo real com resolução microscópica)	Pré-clínico [3]

**Tabela 1.1** : Informações sobre alguns nanocarreadores extraídas de Cheng et al. e Weissleder et al. [2,3]

# Capítulo 2

## Nanocarreadores Magnéticos

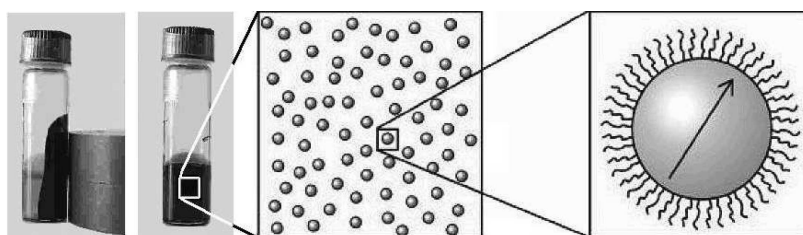
### 2.1 Fluidos Magnéticos - Características Gerais

**Sistemas coloidais** são misturas heterogêneas formadas basicamente por duas fases, uma contínua e outra dispersa. Por exemplo, o leite é um sistema coloidal no qual a fase contínua é a água e a fase dispersa são vários tipos de partículas presentes em sua composição estrutural. Em dispersões coloidais, a fase contínua pode ser um solvente fluido e fase dispersa partículas sólidas. Estas partículas, geralmente, tem diâmetro entre 2nm e 100nm e são chamadas de **nanopartículas** pelo fato de seu diâmetro ser da ordem do **nanometro**( $10^{-9}m$ ).

**Fluidos magnéticos**, também denominados *ferrofluidos*, são dispersões coloidais cuja fase dispersa é composta por nanopartículas ferro ou ferrimagnéticas ( $Fe_3O_4$ ,  $MnFe_2O_4$  e outros), e cuja a fase contínua é um solvente líquido polar ou apolar (vide fig.2.1). As nanopartículas magnéticas são aproximadamente esféricas e geralmente são *monodomínios magnéticos*, ou seja, toda a nanopartícula magnética representa uma região onde os spins se acoplam ferro ou ferrimagneticamente.

#### 2.1.1 Métodos de Preparação

Na obtenção de amostras de fluidos magnéticos, requer-se como material de partida nanopartículas magnéticas estáveis. As nanopartículas devem apresentar uniformidade de forma e dimensão de modo que possuam propriedades físicas e químicas estáveis. Estas nanoestruturas



**Figura 2.1** : Representação esquemática de um fluido magnético surfactado em três escalas de comprimento. Na escala macroscópica (esquerda), o fluido magnético aparece como um fluido comum. Na escala coloidal (centro), o fluido aparece como uma dispersão coloidal de diversas partículas sólidas. À direita, mostra-se o revestimento das nanopartículas

devem ter um alto controle de várias variáveis como, por exemplo, a sua dimensão, estabilidades química e estrutural, possuindo, desta forma, tamanhos uniformes e que possam transformar-se em fluidos magnéticos estáveis, sem aglomerados ou agregados. Tais características, podem influenciar as propriedades magnéticas dos materiais nas mais diversas aplicações, sejam bio-médicas, como drug delivery (liberação controlada de fármacos) [39], ou tecnológicas como em transformadores elétricos [40].

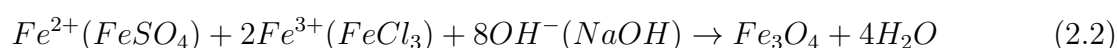
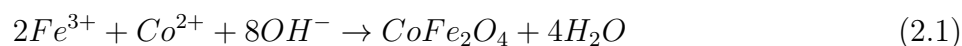
As nanopartículas de ferritas possuem diversas técnicas de preparação, sendo estas físicas, químicas ou uma combinação das duas. Nos meios físicos estão inclusos a redução de tamanho por meio de moagem de partículas micrométricas [41] e a de deposição a vapor [42], como exemplos. Entre os processos de preparação química, temos a coprecipitação por meio de hidrólise alcalina em meio aquoso [43, 44] em microemulsão [45], micelas reversas [46] e decomposição térmica [47].

No princípio, na preparação de fluidos magnéticos, as nanopartículas eram obtidas através do método de moagem de um material magnético na presença de um solvente e de um surfactante [41]. O material surfactante atua nas fissuras das micropartículas, facilitando a sua fragmentação. Sendo assim, a dureza, a cristalinidade, microfissuras e plasticidade são as características essenciais que influenciam diretamente no tamanho final do material desejado. Na obtenção de nanopartículas da ordem de 50 nm ou de menor diâmetro, o processo de moagem pode perdurar por alguns dias. Dentro deste processo, um surfactante é adsorvido na superfície das nanopartículas fornecendo-lhes a estabilidade na suspensão coloidal por meio de repulsão

estérica (mecanismo proveniente da camada de cobertura das partículas).

O método de coprecipitação em meio aquoso é o mais conveniente e usado, pois, caracteriza-se por ser um método de baixo custo na obtenção de nanopartículas em grandes quantidades. Este método permite-nos produzir pequenas partículas com altos índices de pureza e estequiometria. Por sua vez, o melhor ajuste de tamanhos das nanopartículas depende de algumas condições de preparação, tais como, o pH das soluções, a temperatura de reação, tempo decorrido desde o precipitado já pronto, a velocidade de agitação, a concentração de íons e o tipo de base utilizada ( $NaOH$ ,  $KOH$ ,  $NH_4OH$ ) [48]. A cristalinidade da nanopartícula, o diâmetro médio e sua dispersão podem ser ajustados fazendo-se a precipitação na presença de ligantes iônicos tais como tartarato, fosfato e citrato ou na presença de solventes orgânicos.

Para uma melhor visualização destes processos, as equações (2.1) e (2.2) representam métodos de precipitação de ferrita de cobalto [49] e de magnetita em meio aquoso [50], respectivamente.



A ferrita de manganês, que é a nanopartícula base neste estudo, pode ser obtida pela reação:



Este fluido magnético foi sintetizado por **Nicholas Zufelato**, aluno de doutorado do professor Dr. Andris F. Bakuzis.

A formação de pequenos aglomerados entre partículas precipitadas nestas soluções é inevitável se não houver um agente que estabilize as interações entre elas. Logo, deve-se realizar o tratamento superficial nas nanopartículas para que as mesmas venham a ter os dois tipos de repulsão entre elas, a eletrostática, que é resultado da adsorção de cargas na superfície das

nanopartículas e a estérica entre as partículas provinda dos surfactantes, por exemplo, polímeros ou outras moléculas orgânicas ligadas a superfície. Conforme a aplicação a que são destinadas, elas podem ser sintetizadas com vários tipos de moléculas como ácido oléico, dextrana, entre outros [40]. Para aplicações biomédicas, modifica-se a superfície da nanopartícula realizando ligações de moléculas que direcionem o sistema à estabilidade coloidal em meio biológico, ou seja, em pH da ordem de 7,4 e salinidade fisiológica [51]. Além disso, é importante que possuam grupos funcionais livres para ligarem-se a agentes biológicos.

Logo, podemos dizer que o método de síntese por coprecipitação química tem se tornado uma ferramenta relativamente simples e de baixo custo na obtenção de nanopartículas magnéticas em grande escala e, ainda, possuindo estas amostras um controle razoável de formato e dimensões de suas nanopartículas gerando, assim, fluidos magnéticos altamente estáveis e adequados para aplicações biomédicas.

### 2.1.2 Método de Preparação da Ferrita de Manganês Passivada

Uma solução com 90 mL de metilamina  $CH_3NH_2$  em 400 ml de água em ebulição foi preparada e mantida em aquecimento. Outra solução de 50 ml de cloreto de manganês tetrahidratado  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  a 0,5 mol/L e 50 mL de cloreto férrico hexahidratado  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  a 1,0 mol/L foi preparada e adicionada à primeira, sendo, em seguida, mantida em ebulição e agitação controlada por um período de 30 minutos. Após esse período, a solução foi resfriada e o material magnético formado foi separado através de um ímã e lavado três vezes com água destilada.

O procedimento seguinte é de passivação. Para tal, foi feita uma nova lavagem em 100 ml de solução de ácido nítrico  $HNO_3$  a 0,5 mol/L seguida de agitação. Outra vez, as nanopartículas são separadas magneticamente e o sobrenadante descartado. Depois, acrescentada de 50 ml de uma solução de nitrato de ferro  $Fe(NO_3)_3$ , o produto é submetido a tratamento hidrotérmico por mais 30 minutos. Resfriada a solução após essa etapa, efetua-se mais uma separação do material magnético e descarte do sobrenadante. Por fim, a amostra é lavada três

vezes com acetona, sendo que na última, a acetona é posta a evaporar.

Para o recobrimento das nanopartículas utiliza-se citrato de sódio tribásico dihidratado  $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$  na proporção de 1mol de citrato de sódio para 10 mols de íons ferro presentes na amostra. Quando próximo de 150 mL (partículas em pó da primeira síntese mais 150 ml de água) a serem recobertos, foram adicionados 2.2 mg de citrato de sódio e a solução foi colocada sob agitação a  $80^\circ C$  por 30 minutos. Em seguida, já resfriada a amostra, efetuou-se o procedimento de separação magnética e descarte do sobrenadante além de três repetições de lavagem com acetona, onde na terceira repetição, adiciona-se água destilada e coloca-se o produto para evaporar a acetona, como feito anteriormente. O que se tem ao fim de todo o processo é um fluido magnético estável, de pH fisiológico, e biocompatível pela cobertura de citrato.

### 2.1.3 Estabilidade

A estabilidade do fluido magnético é de importância fundamental para qualquer aplicação tecnológica desse sistema. A mesma pode ser alterada por mecanismos intrínsecos, por exemplo, as interações via *potencial de van der Waals*, *dipolar magnética* e *dupla camada elétrica* entre partículas, ou ainda, por mecanismos extrínsecos, tais como campo gravitacional, campo magnético e temperatura.

Note que uma das condições primordiais para que as partículas continuem suspensas no líquido carreador é a agitação térmica. Obviamente que as partículas não podem ser muito massivas, caso contrário, a ação do campo gravitacional não permitirá que fiquem suspensas no líquido carreador ocasionando, portanto, a precipitação das mesmas. Por outro lado, as interações atrativas e repulsivas devem ser balanceadas, caso contrário, favorece-se a formação de aglomerados que, por sua vez, podem destruir a estabilidade do fluido.

#### Interação de van der Waals

A energia de interação van der Waals entre duas partículas esféricas idênticas é dada

por

$$U_v = -\frac{A}{6} \left[ \frac{2}{s^2 - 4} + \frac{2}{s^2} + \ln \left( \frac{s^2 - 4}{s^2} \right) \right] \quad (2.4)$$

onde  $A$  é o coeficiente de Hamaker e  $s = 2(x/d + 1)$  com  $x$  sendo a distância entre as superfícies das partículas e  $d$  o diâmetro de cada uma delas. O coeficiente de Hamaker, por sua vez, depende das propriedades da partícula e do solvente no qual está suspensa podendo ser escrito por

$$A = \frac{3}{4} K_B T \left( \frac{\epsilon_p - \epsilon_s}{\epsilon_p + \epsilon_s} \right)^2 + \frac{3h\nu_c(n_p^2 - n_s^2)^2}{16\sqrt{2}(n_p^2 - n_s^2)^{2/3}} \quad (2.5)$$

onde  $\epsilon_p$  é a constante dielétrica da partícula,  $\epsilon_s$  a constante dielétrica do solvente,  $h$  a constante de Plank,  $\nu_c$  a frequência característica de absorção,  $n_p$  o índice de refração da partícula e  $n_s$  o índice de refração do solvente. A interação à distância, no limite de partículas muito próximas, é proporcional a  $x^{-1}$  e proporcional a  $x^{-6}$  quando distantes uma da outra.

### Interação Dipolar Magnética

A interação dipolar magnética entre duas partículas depende tanto da posição quanto da orientação de seus momentos magnéticos, sendo dada por

$$U_d = \frac{\mu_o}{4\pi} \left( \frac{\vec{\mu}_i \cdot \vec{\mu}_j}{r^3} - \frac{3(\vec{\mu}_i \cdot \vec{r})(\vec{\mu}_j \cdot \vec{r})}{r^5} \right) \quad (2.6)$$

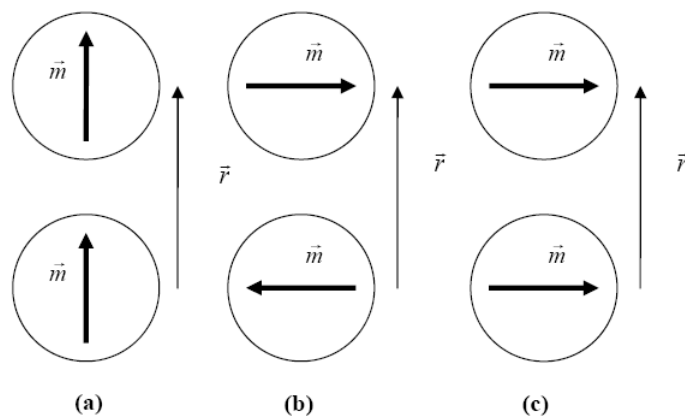
com  $\mu = \pi M_s d^3 / 6$  sendo o módulo do momento magnético de uma nanopartícula magnética,  $M_s$  a magnetização de saturação da amostra e  $\mu_o$  a permeabilidade magnética do meio.

A interação entre partículas magnéticas pode ser tanto repulsiva quanto atrativa como mostra a figura (2.2)

De acordo com a orientação dos momentos magnéticos pode-se favorecer a formação de aglomerados. Portanto, é necessário introduzir de alguma forma interações repulsivas entre partículas. Isto pode ser feito através de repulsão estérica (*força de contato*), repulsão eletrostática ou uma combinação das duas.

### Repulsão Estérica

Fluidos magnéticos que utilizam este mecanismo para manter a estabilidade coloidal



**Figura 2.2 :** Interações entre partículas: (a) e (b) correspondem a configurações de interação do tipo atrativas e em (c) configura-se uma interação dipolar repulsiva

são denominados, em geral, **surfactados**. A repulsão estérica entre duas partículas esféricas idênticas é dada por [41]

$$\frac{U_{re}}{K_B T} = \frac{\pi d^2 \xi}{2} \left[ 2 - \frac{l+2}{t} \ln \left( \frac{1+t}{1+l/2} - \frac{l}{t} \right) \right], \quad \text{para } x \leq 2\delta \quad (2.7)$$

ou

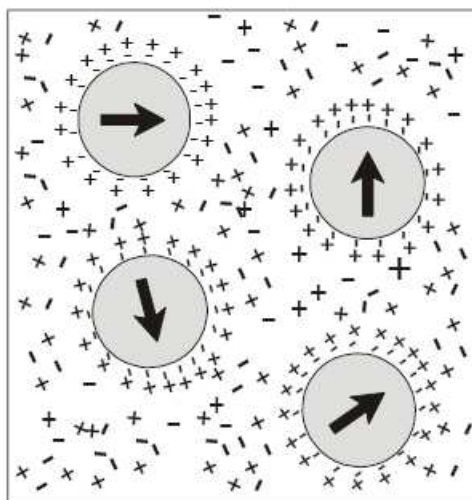
$$\frac{U_{re}}{K_B T} = 0 \quad \text{para } x > 2\delta \quad (2.8)$$

com  $l = 2x/d$  e  $t = 2\delta/d$  sendo  $\delta$  a espessura da camada de cobertura. Na equação acima,  $\xi$  é um parâmetro chamado de *grafting* que descreve a densidade superficial de moléculas absorvidas na superfície da nanopartícula.

### Repulsão Eletrostática

Fluidos magnéticos que possuem este mecanismo, em geral, são denominados **iônicos** e caracterizam-se pela presença de uma densidade de cargas em torno da superfície das partículas. Apresentam em torno da superfície da nanopartícula uma dupla camada elétrica, que caracteriza-se pela presença de regiões distintas, uma denominada interna formada por íons que são absorvidos na superfície da partícula magnética e outra formada por contra-íons, íons opostos que se formam na camada iônica (vide figura 2.3).

Veja que a concentração dos últimos decresce quanto maior for a camada interna. O raio de ação desta dupla camada elétrica é chamado de raio de Debye e depende tanto da força



**Figura 2.3 :** Representação esquemática de um fluido magnético iônico

iônica quanto da temperatura. A interação eletrostática entre duas partículas idênticas com dupla camada elétrica pode ser escrita como

$$U_{el} = 4\epsilon d^2 \left( \frac{K_B T}{q} \gamma \right)^2 \frac{e^{-\kappa(r-d)}}{r} \quad (2.9)$$

onde

$$\gamma = \tanh \left( \frac{q\psi_s}{4K_B T} \right) \quad (2.10)$$

sendo  $\epsilon$ ,  $q$ ,  $\kappa$  e  $\psi_s$  a permissividade do líquido carreador, a carga do contra-íon da dupla camada elétrica, o inverso do raio de Debye e o potencial de Stern (Potencial Zeta), respectivamente [52].

## 2.2 Lipossomos

Lipossomos são vesículas esféricas de tamanho entre nanômetros e alguns micrômetros, constituídas por uma ou mais bicamadas lipídicas que encapsulam um meio aquoso em seu interior [53]. Estas estruturas foram apresentadas primeiramente por Bangham et al. na década de 60 [54].

As bicamadas lipídicas que formam um lipossomo tem características parecidas à membrana biológica [55]. Estas bicamadas são compostas de materiais biodegradáveis, biocompatíveis e não tóxicos podendo ser empregados na sua preparação lipídios naturais ou

sintéticos [54,56]. Por estas propriedades, as vesículas lipídicas se tornam possíveis carreadores de fármacos [54]. A espessura da membrana dos lipossomos gira em torno de 4 nm, podendo conter polímeros e/ou ligantes com funções específicas [57].

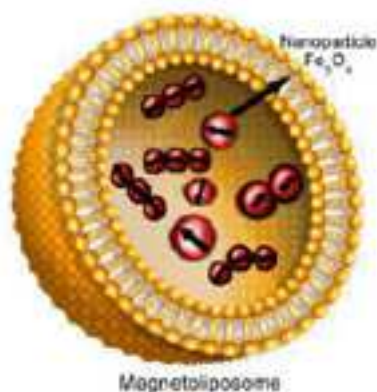
Apesar de sua composição lipídica ser parecida com a membrana de uma célula, os lipossomos sozinhos são como corpo estranho para as células do organismo, resultando em uma rápida remoção da circulação sanguínea [58]. Uma maneira de contornar este problema foi relatado por Gregoriadis et al. [54] quando aumentaram a meia vida do lipossomo na corrente sanguínea através da modificação de sua membrana acrescentando polímeros hidrofílicos como polietilenoglicol (PEG), fazendo com que não sejam detectáveis ao sistema imunológico, tornando-se desta forma, lipossomas de longa circulação [59].

### 2.2.1 Classificação dos Lipossomos

Lipossomos são classificados de acordo com o número de bicamadas lipídicas presentes na sua estrutura ou pelo seu tamanho. Quando classificados pelo número de bicamadas, eles recebem as seguintes denominações: Vesículas Unilamelares (ULV) ou Vesículas Multilamelares (MLV). Quando a classificação se dá pelo seu tamanho, são denominados Vesículas Unilamelares Grandes (LUV) ou Vesículas Unilamelares Pequenas (SUV). Além destas, os lipossomos também recebem classificações de acordo com o método de preparação. Tal classificação não é muito utilizada [55].

### 2.2.2 Magnetolipossomos

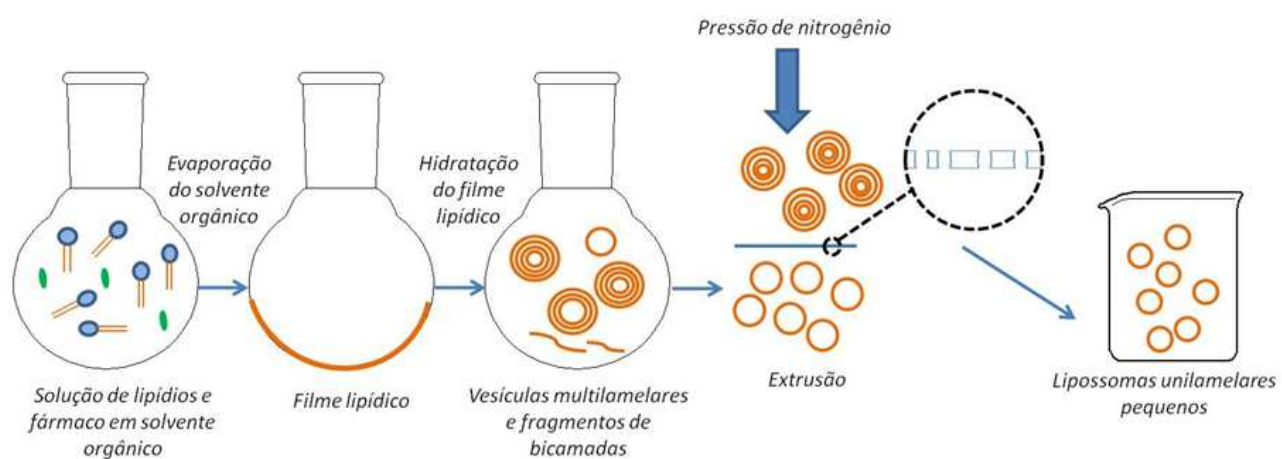
Na década de 80, lipossomos com nanopartículas magnéticas encapsuladas no seu interior foi proposto por De Cuyper e Joniau [5]. Os lipossomos magnéticos ou magnetolipossomos consistem em vesículas fosfolipídicas com nanopartículas magnéticas encapsuladas no seu interior (vide figura 2.4). Devido a sua biocompatibilidade, estes sistemas são apropriados para uso em diversas aplicações biomédicas [60].



**Figura 2.4** : Ilustração de um lipossomo magnético ou magnetolipossomo.

### 2.2.3 Método de Preparação dos Magnetolipossomos

Os magnetolipossomos são preparados através do método de hidratação do filme lipídico seguido de extrusão, conforme diagrama apresentado na figura (2.5). Primeiramente se prepara o filme lipídico em um balão por uma solução de fosfatidilcolina levada a estufa a 25°C sob vácuo de 500 mmHg, permanecendo *overnight*. Hidrata-se depois o filme lipídico adicionando 3 ml de meio de hidratação com diferentes quantidades de partículas magnéticas e aguardando por uma hora. Depois agita-se o balão em vortéx durante 5 min ou até todo o filme se desprender do fundo do balão. E seguida, extrusa-se os lipossomos em membrana de 600 nm por 6 vezes, utilizando uma pressão entre 100 psi e 450 psi. Para separação de partículas magnéticas livres, utiliza-se a ultrafiltração em vivaspin de 300.000 Daltons. Leva-se em seguida para a centrifuga a 20°C, a 5000 rpm durante 2 min. Para finalizar, dilui-se 100  $\mu$ L dos lipossomos em 1 ml de solução tampão TES para as medidas de NTA.



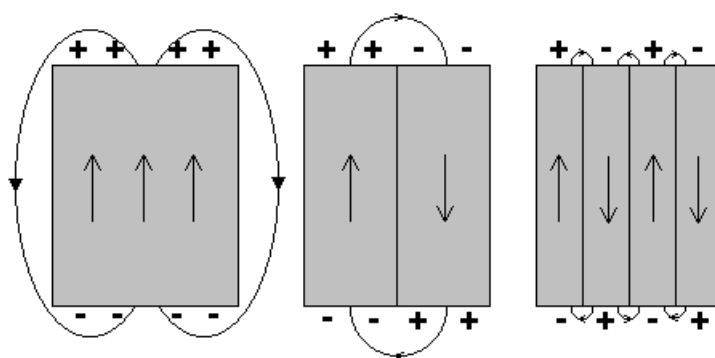
**Figura 2.5 :** Representação do processo de preparação de um lipossomo.

# Capítulo 3

## Fundamentos Teóricos

### 3.1 Monodomínios Magnéticos

Domínios magnéticos são regiões nas quais os spins do material magnético se encontram orientados na mesma direção. Esta organização se dá pela superposição de dois mecanismos de interação existentes nos materiais que apresentam orientações espontâneas, interações dipolar e de troca. Nestes domínios a curta distância, a interação de troca prevalece fazendo assim os spins se orientarem paralelamente uns aos outros. Quando os domínios ficam grandes o suficiente, há uma tendência de se orientarem de forma que a energia dipolar seja minimizada, como mostra o esquema da figura (3.1).



**Figura 3.1 :** Representação esquemática da divisão de um domínio magnético e a minimização de energia magnetostática

Os domínios magnéticos são delimitados por regiões onde há uma mudança gradual da orientação dos spins, denominadas paredes de domínio, que são também conhecidas como paredes de Bloch. Quando aplica-se um campo magnético externo ao material, podem ocorrer

dois processos. Os spins no domínio podem alinhar-se ao campo externo ocorrendo, assim, um deslocamento das paredes de domínio, i.e. , um crescimento dos domínios que já se encontram na direção do campo externo aplicado.

Os materiais ferro-ferrimagnéticos podem ter muitos domínios magnéticos, denominados multidomínios. Porém, estes materiais podem ser reduzidos a monodomínios magnéticos. O diâmetro crítico para que haja essa mudança é dada por [61]

$$D_C = \frac{72\sqrt{AK_{ef}}}{\mu_o M_S^2} \quad (3.1)$$

onde  $A$  é uma constante oriunda da interação de troca,  $K_{ef}$  é a constante de anisotropia efetiva do material e  $M_S$  é a magnetização de saturação da amostra. A tabela (3.1) mostra o diâmetro crítico de alguns materiais.

Material	$D_C$ (nm)
$\alpha - Fe$	20
$Ni$	48
$Co$	112
$Fe_3O_4$	76

**Tabela 3.1 :** Diâmetro crítico de monodomínios magnéticos [4].

## 3.2 Modelo de Langevin

O material superparamagnético caracteriza-se pela ausência de coercividade, ou seja, ausência de histerese. A origem da palavra superparamagnetismo deve-se a Bean e Livingston que observaram semelhanças entre esse material e o comportamento dos materiais paramagnéticos. A diferença encontra-se na ordem de grandeza da magnetização que é aproximadamente  $10^2 - 10^3$  vezes maior que de materiais paramagnéticos típicos.

Quando se aplica um campo magnético a uma amostra de fluido magnético, suas nanopartículas magnéticas tendem a ter seus momentos magnéticos alinhados com esse campo, de modo que, quanto maior a intensidade desse campo, mais alinhados estarão os momentos magnéticos das nanopartículas. Esse fenômeno é responsável pelo comportamento *superparamagnético* que o fluido magnético apresenta.

Representando cada nanopartícula pelo seu momento de dipolo magnético ( $\vec{\mu}$ ), o torque ( $\vec{\tau}$ ) devido ao campo  $\vec{B}$  aplicado pode ser escrito da forma

$$|\vec{\tau}| = |\vec{\mu} \times \vec{B}| = |\vec{\mu} \times (\mu_0 \vec{H})| = \mu_0 \mu H \sin\theta \quad (3.2)$$

onde  $\theta$  é o ângulo entre o momento magnético e o campo magnético.

O trabalho realizado para girar o momento magnético da nanopartícula de  $\theta = 0$  até  $\theta = \theta'$  é dado por

$$W = \int_0^{\theta'} \tau d\theta = \int_0^{\theta'} \mu_0 \mu H \sin\theta d\theta = \mu_0 \mu H (1 - \cos\theta') \quad (3.3)$$

Esse trabalho pode ser usado como energia no *fator de Boltzmann* a partir do qual será calculado o valor esperado do momento de dipolo magnético. Como  $W = \Delta U$ , onde  $U$  é a energia potencial, pode-se definir a energia potencial como sendo nula quando  $\theta = 0$  de modo que teremos  $W = U$ . Como a variável de integração  $\theta$  não será mais usada, passaremos a usar simplesmente  $\theta$  ao invés de  $\theta'$ .

Se qualquer orientação do momento de dipolo de uma nanopartícula for igualmente provável, a probabilidade  $p(\theta)d\theta$  de que ele faça um ângulo entre  $\theta$  e  $\theta + d\theta$  com  $\vec{H}$  será simplesmente igual a razão entre a área de um anel infinitesimal de raio  $\sin\theta$  e espessura  $d\theta$  e a área da superfície de uma esfera de raio unitário, portanto

$$p(\theta)d\theta = \frac{2\pi \sin\theta}{4\pi(1)^2} d\theta = \frac{\sin\theta}{2} d\theta \quad (3.4)$$

Havendo  $N$  nanopartículas de mesmo momento de dipolo magnético o número  $n(\theta)d\theta$  de momentos alinhados entre  $\theta$  e  $\theta + d\theta$  é obtido multiplicando-se  $n(\theta)d\theta$  por  $N$ . Segue-se que

$$n(\theta)d\theta = \frac{N}{2} \sin\theta d\theta \quad (3.5)$$

Porém, existem algumas orientações mais prováveis e, para evidenciar esse efeito, deve-se acrescentar o *fator de Boltzmann* na função  $n(\theta)$ , portanto

$$n'(\theta)d\theta \propto e^{-W/k_B T} n(\theta)d\theta = e^{-W/k_B T} \frac{N}{2} \sin\theta d\theta \quad (3.6)$$

onde o uso do símbolo  $\propto$  indica que para  $n'(\theta)d\theta$  ser uma densidade de probabilidade, esse fator deve ser normalizado pela integral do fator de Boltzmann sobre o *espaço de configurações*. Nesse caso, a constante de proporcionalidade é dada pela seguinte condição

$$\int_0^\pi n'(\theta)d\theta = N \quad (3.7)$$

A componente de cada momento de dipolo magnético na direção do campo é  $\mu \cos \theta$  de modo que o valor esperado para o momento de dipolo magnético é a integral sobre essa componente, visto que componentes perpendiculares se cancelarão. Portanto,

$$\langle \mu \rangle = \frac{\int_0^\pi \mu \cos \theta n(\theta)d\theta}{\int_0^\pi n(\theta)d\theta} \quad (3.8)$$

Substituindo a eq(3.6) em (3.8), tem-se

$$\begin{aligned} \langle \mu \rangle &= \frac{\int_0^\pi \mu \cos \theta \frac{N}{2} e^{-\mu_0 \mu H (1 - \cos \theta) / k_B T} \text{sen} \theta d\theta}{\int_0^\pi \frac{N}{2} e^{-\mu_0 \mu H (1 - \cos \theta) / k_B T} \text{sen} \theta d\theta} \\ &= \frac{\int_0^\pi \mu \cos \theta \frac{N}{2} e^{\mu_0 \mu H \cos \theta / k_B T} \text{sen} \theta d\theta}{\int_0^\pi \frac{N}{2} e^{\mu_0 \mu H \cos \theta / k_B T} \text{sen} \theta d\theta} \end{aligned} \quad (3.9)$$

Fazendo a seguinte mudança de variáveis:

$$u = \frac{\mu_0 \mu H}{K_B T} \cos \theta \Rightarrow -\frac{\mu_0 \mu H}{K_B T} \text{sen} \theta d\theta = du \quad (3.10)$$

e substituindo (3.10) em (3.9) obtemos

$$\langle \mu \rangle = \frac{\mu}{\xi} \frac{\int_{-\xi}^{\xi} u e^u du}{\int_{-\xi}^{\xi} e^u du}, \quad \xi = \frac{\mu_0 \mu H}{K_B T} \quad (3.11)$$

Integrando o denominador da eq(3.11) por partes e recordando a relação de arco hiperbólico  $e^\alpha - e^{-\alpha} = 2 \sinh \alpha$  teremos

$$\langle \mu \rangle = \frac{\mu}{\xi} \left( \frac{\xi \cosh \xi - \sinh \xi}{\sinh \xi} \right) = \mu \left( \coth \xi - \frac{1}{\xi} \right) \quad (3.12)$$

$$\frac{\langle \mu \rangle}{\mu} = \coth \xi - \frac{1}{\xi} = L(\xi) \quad (3.13)$$

A função (3.13) é chamada de *Langevin de primeira ordem* e  $\mu = M_{sol} \langle D^3 \rangle / 6$ . Logo, a quantidade  $\langle \mu \rangle / \mu$  é igual a  $M / M_s$ , ou seja, a razão entre a magnetização da amostra e sua *magnetização de saturação*. Essa última é a magnetização máxima que ela poderia ter caso todos os

momentos de dipolo magnético estivessem totalmente alinhados com o campo magnético aplicado. A magnetização de saturação do sistema, em geral, é numericamente igual ao produto da magnetização do sólido, de que as nanopartículas são feitas ( $M_{sol}$ ), pela fração de volume do sistema ocupada por essas nanopartículas, quantidade essa denominada **fração volumétrica**  $\phi$  ( $\phi = N\pi\langle D^3 \rangle/6$ ), onde  $N$  é o número de partículas por unidade de volume.

$$\frac{M}{M_s} = \frac{M}{\phi M_{sol}} = L(\xi) \quad (3.14)$$

Portanto, podemos determinar através das curvas de magnetização o valor de  $\phi$ . Pois, quando a amostra satura, ou seja, quando o campo magnético é muito grande ( $H \rightarrow \infty$ ), a função de Langevin tende a 1 ( $L(\xi) \rightarrow 1$ ). Logo, nesta condição, temos

$$\phi = \frac{M_{vsm}}{M_{sat}} \quad (3.15)$$

onde  $M_{vsm}$  e  $M_{sat}$  são a magnetização de saturação da amostra e a magnetização de saturação do pó. Em nossos experimentos, determinamos a concentração de nanopartículas magnéticas utilizando o cálculo proposto na equação (3.15).

No regime de baixo campo, a função de Langevin é aproximadamente  $L(\xi) \approx \xi/3$ , onde  $\xi = \mu B/K_B T$ . Isso nos dá uma magnetização da ordem de

$$M = M_S \frac{\xi}{3} \quad (3.16)$$

Utilizando a definição de susceptibilidade magnética, a susceptibilidade de Langevin é dada por

$$\chi_L = \frac{\partial M}{\partial H} = \frac{\mu_o M_S^2 V_p}{3K_B T} \quad (3.17)$$

### 3.3 Birrefringência

Fluidos magnéticos na presença de campo magnético externo tornam-se opticamente anisotrópicos. Isso ocorre devido a orientação de nanopartículas isoladas anisométricas, pequenos aglomerados (dímeros, trímeros e etc) ou a formação de cadeias sob ação de campo

externo. O fenômeno pode ser detectado utilizando a técnica de Birrefringência Magnética Estática (BME). O modelo utilizado neste trabalho é o de dipolos elétricos induzidos em cadeias lineares de nanopartículas magnéticas [62].

### 3.3.1 Birrefringência Óptica

A birrefringência é medida pela diferença entre os índices de refração das direções dos feixes extraordinário e ordinário:

$$\Delta n = n_e - n_o \quad (3.18)$$

A observação de mudança no comportamento óptico do material em função do campo magnético, quando a propagação da onda ocorre na direção perpendicular a das linhas de campo é denominado Efeito *Cotton-Mouton*.

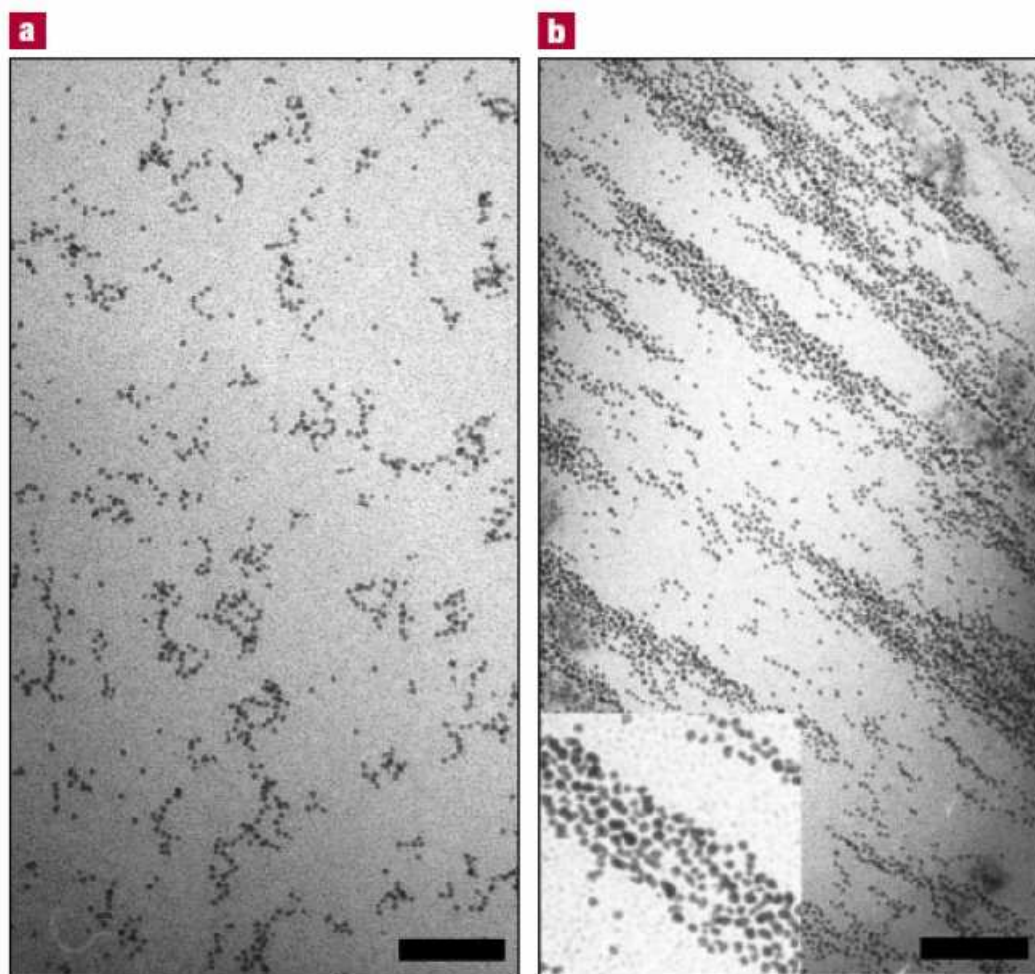
As partículas do fluido tendem a girar e orientar seus momentos magnéticos, em relação a um campo aplicado, podendo, inclusive, formar estruturas auto-organizadas como mostram fotografias de microscopia eletrônica criogênica na figura (3.2). A diferença no índice de refração  $\Delta n$  é proporcional ao campo aplicado como será discutido adiante. O eixo óptico se orienta segundo o campo aplicado, e o material comporta-se como um cristal anisotrópico, assim a equação (3.18) pode ser escrita como

$$\Delta n = n_{//} - n_{\perp} \quad (3.19)$$

com  $n_{//}$  o índice de refração na direção do campo magnético aplicado e  $n_{\perp}$  a orientação perpendicular ao campo aplicado.

### 3.3.2 Birrefringência Magnética Estática (BME)

A birrefringência em fluidos magnéticos pode ser determinada de acordo com a observação da mudança no comportamento óptico do material em função do campo magnético externo aplicado. Define-se, então a birrefringência magnética como a diferença entre o ín-



**Figura 3.2** : Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão Criogênica de uma mistura binária de partículas com diâmetros diferentes. A micrografia (a) foi tomada em campo nulo, e (b) em campo  $H \neq 0$ . A barra de escala é de 200nm [1].

dice de refração na direção paralela ao campo aplicado ( $n_{//}$ ) e o índice de refração na direção perpendicular ( $n_{\perp}$ ), vide eq.(3.19).

O modelo aqui utilizado para analisar tal fenômeno considera o alinhamento de aglomerados nos colóides (dímeros, trímeros e outros) como o responsável por sua anisotropia óptica. Cada nanopartícula é considerada como um dipolo elétrico induzido  $\vec{p}$ , que, sob ação do campo elétrico oscilante  $\vec{E}$  da luz incidente, é

$$\vec{p} = \epsilon \overleftrightarrow{\alpha}_p \vec{E} \quad (3.20)$$

onde  $\epsilon$  é a permissividade elétrica do meio e  $\overleftrightarrow{\alpha}_p$  o tensor polarizabilidade elétrica de um aglomerado ou nanopartícula isolada anisométrica, representado, num sistema de coordenadas

adequado (eixo de simetria do aglomerado), pela matriz

$$\overleftrightarrow{\alpha}_p = \begin{pmatrix} \alpha_{\perp} & 0 & 0 \\ 0 & \alpha_{\perp} & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_{//} \end{pmatrix} \quad (3.21)$$

sendo  $\alpha_{\perp}$  e  $\alpha_{//}$  as componentes do tensor para um campo elétrico aplicado perpendicular e paralelamente ao eixo de simetria do aglomerado do qual a nanopartícula faz parte.

Por aplicação direta das equações de Maxwell obtemos uma forma explícita para o índice de refração para uma onda eletromagnética incidente numa região de permissividade elétrica  $\epsilon$ . Então, sejam as equações de Maxwell na ausência de cargas ( $\rho = 0$ ) e de densidade de corrente ( $\vec{J} = 0$ )

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \quad (3.22)$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{D} = 0 \quad (3.23)$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{H} = \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \quad (3.24)$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad (3.25)$$

Sabendo que  $\vec{D} = \epsilon_o \vec{E} + \vec{P}$  e  $\vec{B} = \mu_o \vec{H}$

$$\begin{aligned} \vec{\nabla} \times \vec{H} &= \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \\ \frac{1}{\mu_o} \vec{\nabla} \times \vec{B} &= \frac{\partial}{\partial t} (\epsilon_o \vec{E} + \vec{P}) \\ \vec{\nabla} \times \vec{B} &= \mu_o \epsilon_o \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} + \mu_o \frac{\partial \vec{P}}{\partial t} \end{aligned} \quad (3.26)$$

Aplicando o  $\nabla \times$  em (3.25), substituindo (3.24) e (3.26)

$$\begin{aligned} \vec{\nabla} \times \vec{E} &= -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \\ \vec{\nabla} \times (\vec{\nabla} \times \vec{E}) &= -\frac{\partial}{\partial t} (\vec{\nabla} \times \vec{B}) \\ \vec{\nabla} \times (\vec{\nabla} \times \vec{E}) &= -\mu_o \epsilon_o \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} - \mu_o \frac{\partial^2 \vec{P}}{\partial t^2} \end{aligned} \quad (3.27)$$

Usando a identidade  $\vec{\nabla} \times (\vec{\nabla} \times \vec{A}) = \vec{\nabla} (\vec{\nabla} \cdot \vec{A}) - \nabla^2 \vec{A}$ , considerando que  $\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = 0$  na

ausência de carga, a eq.(3.27) fica

$$\begin{aligned}\vec{\nabla} \left( \vec{\nabla} \cdot \vec{E} \right) - \nabla^2 \vec{E} &= -\mu_o \epsilon_o \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} - \mu_o \frac{\partial^2 \vec{P}}{\partial t^2} \\ \nabla^2 \vec{E} &= \mu_o \epsilon_o \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} + \mu_o \frac{\partial^2 \vec{P}}{\partial t^2}\end{aligned}\quad (3.28)$$

A solução de (3.28) é do tipo onda plana. Considere, então, uma onda propagando-se na direção  $\hat{x}$  da forma

$$\vec{E} = \vec{E}_o e^{i(\omega t - kx)} \quad (3.29)$$

Sabemos que em um fluido magnético com  $N$  partículas com momentos de dipolo  $\vec{p}$  a polarização é dada por

$$\vec{P} = N\vec{p} \quad (3.30)$$

sendo  $\vec{p}$  dado por (3.20). Logo, utilizando as relações

$$\nabla^2 \vec{E} = (ik)^2 \vec{E} \quad (3.31)$$

$$\frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} = (i\omega)^2 \vec{E} \quad (3.32)$$

$$\frac{\partial^2 \vec{P}}{\partial t^2} = \epsilon_o N \langle \alpha \rangle \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} = \epsilon_o N \langle \alpha \rangle (i\omega)^2 \vec{E} \quad (3.33)$$

Substituindo as relações acima em (3.28) obtemos

$$\begin{aligned}(ik)^2 \vec{E} &= \mu_o \epsilon_o (i\omega)^2 \vec{E} + \mu_o \epsilon_o (i\omega)^2 N \langle \alpha \rangle \vec{E} \\ k^2 \vec{E} &= \omega^2 \mu_o \epsilon_o (1 + N \langle \alpha \rangle) \vec{E} \\ k^2 &= \omega^2 \mu_o \epsilon_o (1 + N \langle \alpha \rangle)\end{aligned}\quad (3.34)$$

sendo  $\langle \alpha \rangle$  a média do tensor polarizabilidade sobre  $N$  partículas no fluido magnético. Portanto, realizando uma passagem simples considerando as relações  $k^2 = n^2 \omega^2 / c^2$  e  $c = 1 / \sqrt{\mu_o \epsilon_o}$ , obtemos:

$$\begin{aligned}k^2 &= \omega^2 n^2 \mu_o \epsilon_o \\ n^2 &= \frac{k^2}{\omega^2 \mu_o \epsilon_o}\end{aligned}\quad (3.35)$$

Logo, de (3.35) e (3.34) segue que:

$$n^2 = (1 + N\langle\alpha\rangle) \quad (3.36)$$

Para o caso de partículas muito pequenas comparadas com o comprimento de onda da luz incidente e dispersas numa suspensão não magnética (líquido carreador) com constante dielétrica  $\epsilon_1$ , (3.34) pode ser escrita como

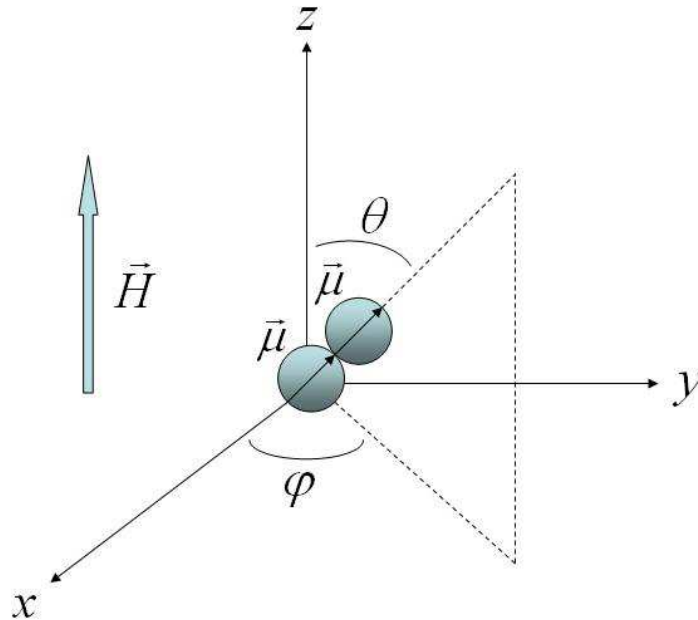
$$k^2 = \omega^2 \mu_o \epsilon_1 (1 + N\langle\alpha\rangle) \quad (3.37)$$

que assume a forma

$$n^2 = n_1^2 (1 + N\langle\alpha\rangle) \quad (3.38)$$

onde  $n$  é o índice de refração da suspensão e  $n_1$  o índice de refração do líquido carreador.

Se o eixo de simetria do aglomerado for representado em relação ao sistema de coordenadas de laboratório pelos ângulos polar  $\theta$  e azimutal  $\varphi$  e adotando um sistema de coordenadas conveniente, no qual o campo externo está ao longo da direção  $\hat{z}$  (figura 3.3), a polarizabilidade



**Figura 3.3 :** Esquema de orientação de um aglomerado com relação ao referencial no laboratório.

da partícula em coordenadas do laboratório será

$$\overleftarrow{\alpha} = R \overleftarrow{\alpha}_p R^{-1} \quad (3.39)$$

onde  $R$  é a matriz rotação dada por

$$R = \begin{pmatrix} \sin\varphi & \cos\theta \cos\varphi & \sin\theta \cos\varphi \\ -\cos\varphi & \cos\theta \sin\varphi & \sin\theta \sin\varphi \\ 0 & -\sin\theta & \cos\theta \end{pmatrix} \quad (3.40)$$

Então, aplicando (3.39) temos

$$\begin{aligned} \overleftrightarrow{\alpha} &= \begin{pmatrix} \sin\varphi & \cos\theta \cos\varphi & \sin\theta \cos\varphi \\ -\cos\varphi & \cos\theta \sin\varphi & \sin\theta \sin\varphi \\ 0 & -\sin\theta & \cos\theta \end{pmatrix} \overleftrightarrow{\alpha}_p \begin{pmatrix} \sin\varphi & -\cos\varphi & 0 \\ \cos\theta \cos\varphi & \cos\theta \sin\varphi & -\sin\theta \\ \sin\theta \cos\varphi & \sin\theta \sin\varphi & \cos\theta \end{pmatrix} \\ \overleftrightarrow{\alpha} &= \begin{pmatrix} \alpha_{\perp} \sin\varphi & \alpha_{\perp} \cos\theta \cos\varphi & \alpha_{//} \sin\theta \cos\varphi \\ -\alpha_{\perp} \cos\varphi & \alpha_{\perp} \cos\theta \sin\varphi & \alpha_{//} \sin\theta \sin\varphi \\ 0 & -\alpha_{\perp} \sin\theta & \alpha_{//} \cos\theta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \sin\varphi & -\cos\varphi & 0 \\ \cos\theta \cos\varphi & \cos\theta \sin\varphi & -\sin\theta \\ \sin\theta \cos\varphi & \sin\theta \sin\varphi & \cos\theta \end{pmatrix} \end{aligned}$$

Fazendo a multiplicação de matrizes e usando as relações entre senos e cossenos ( $\sin^2\delta + \cos^2\delta = 1$ ) e tomando  $a = (\alpha_{//} - \alpha_{\perp})$

$$\overleftrightarrow{\alpha} = \begin{pmatrix} \alpha_{\perp} + a(\sin^2\theta \cos^2\varphi) & 0 & 0 \\ 0 & \alpha_{\perp} + a(\sin^2\theta \sin^2\varphi) & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_{\perp} + a \cos^2\theta \end{pmatrix} \quad (3.41)$$

De acordo com a definição de birrefringência magnética, os termos de interesse são o perpendicular  $\alpha_{xx}$  e o paralelo  $\alpha_{zz}$  ao campo aplicado, logo

$$\alpha_{xx} = \alpha_{\perp} + (\alpha_{//} - \alpha_{\perp})(\sin^2\theta \cos^2\varphi) \quad (3.42)$$

$$\alpha_{zz} = \alpha_{\perp} + (\alpha_{//} - \alpha_{\perp})\cos^2\theta \quad (3.43)$$

Calculando a polarizabilidade média sobre as  $N$  partículas do fluido magnético usando (3.38), temos

$$n_i^2 = n_1^2(1 + N\langle\alpha\rangle_{ii}) \quad (3.44)$$

sendo  $i = x, z$ . Utilizando a seguinte expansão

$$(1 + x)^n = 1 + nx + \frac{n(n-1)}{2}x^2 + \dots \quad (3.45)$$

e aplicando em cada uma das componentes, a birrefringência  $\Delta n$  fica da forma

$$\Delta n(\theta, \varphi) = n_z - n_x \approx \frac{1}{2}n_1N(\alpha_{//} - \alpha_{\perp})(\cos^2\theta - \sin^2\theta \sin^2\varphi) \quad (3.46)$$

A média é calculada considerando-se o fator de Boltzmann sendo dada por

$$\langle \Delta n(\theta, \varphi) \rangle = \frac{1}{Z} \int_0^{2\pi} \int_0^\pi \Delta n(\theta, \varphi) e^{\xi \cos \theta} d(\cos \theta) d\varphi \quad (3.47)$$

onde  $Z$  é a função partição

$$Z = \int_0^{2\pi} \int_0^\pi e^{\xi \cos \theta} d(\cos \theta) d\varphi \quad (3.48)$$

com  $\xi = \mu_o \mu H / K_B T$  e  $\mu = \pi D^3 M_S / 6$ , para o caso de uma nanopartícula anisométrica. A energia de interação Zeeman do dipolo magnético com o campo magnético externo  $U = -\vec{\mu} \cdot (\mu_o \vec{H})$ , onde  $\mu_o$  é a permeabilidade magnética do líquido,  $\mu$  o módulo do momento magnético de uma partícula,  $K_B$  a constante de Boltzmann,  $D$  o diâmetro da partícula e  $M_S$  a magnetização de saturação da amostra. Portanto, resolvendo (3.47) temos

$$\langle \Delta n(\theta, \varphi) \rangle = \frac{1}{2} n_1 N(\alpha_{//} - \alpha_{\perp}) \left( 1 - \frac{3}{\xi \tanh \xi} + \frac{3}{\xi^2} \right) \quad (3.49)$$

onde em (3.49) temos a função de Langevin de segunda ordem dada por

$$L_2(\xi) = 1 - \frac{3}{\xi \tanh \xi} + \frac{3}{\xi^2} \quad (3.50)$$

Mas em um fluido magnético monômeros, dímeros, trímeros e agregados maiores coexistem e a birrefringência deve levar em conta o sinal de cada estrutura. Logo, podemos escrever

$$\Delta n = \sum_Q C_Q \Delta n_Q \quad (3.51)$$

sendo  $C_Q$  é a fração volumétrica de agregados constituídos por  $Q$  partículas e  $\Delta n$  a birrefringência de cada agregado, onde o vínculo abaixo deve ser satisfeito.

$$\sum_Q C_Q = 1 \quad (3.52)$$

Deste modo, para uma amostra polidispersa podemos calcular a média da birrefringência da seguinte forma

$$\Delta n = \frac{\int_0^\infty \sum_Q C_Q L_2(\xi) f(D) P(D) dD}{\int_0^\infty D^3 P(D) dD} \quad (3.53)$$

onde  $P(D)$  é a distribuição de diâmetros lognormal com dispersão  $\sigma$  e diâmetro modal  $D_M$  de uma amostra caracterizada, por exemplo, por Microcopia eletrônica de Transmissão (TEM), sendo dada por

$$P(D) = \frac{\exp(-\sigma^2/2)}{\sqrt{2\pi}\sigma D_M} \exp\left[-\frac{\ln^2(D/D_M)}{2\sigma^2}\right] \quad (3.54)$$

com

$$L_2(\xi) = 1 - \frac{3}{\xi_Q \tanh \xi_Q} + \frac{3}{\xi_Q^2} \quad (3.55)$$

e

$$\Delta n_Q = \frac{\pi n_1 Q N_Q}{12} \langle \chi_{//} - \chi_{\perp} \rangle_Q \quad (3.56)$$

Para uma amostra polidispersa, cada cadeia contribui para birrefringência de acordo com o número de partículas que a mesma possui, ou seja,

$$\xi_Q = Q\xi \quad (3.57)$$

onde  $Q$  é o número médio de partículas nos aglomerados. No nosso caso, (3.51) pode ser representado por uma valor médio tal que

$$\Delta n = \Delta n_Q \int_0^{\infty} D^3 L_2(\xi_Q) P(D) dD \quad (3.58)$$

onde  $N_Q$  é o número de aglomerados médio e  $\chi_{ii}$  é a componente do tensor polarizabilidade por unidade de volume (susceptibilidade elétrica). Com esta equação ajustamos os dados experimentais e obtemos as informações sobre a formação de aglomerados no sistema coloidal.

As componentes da susceptibilidade elétrica são fortemente dependentes da distância superfície-superfície entre as nanopartículas. De fato, *Xu e Ridler* [62] utilizaram um modelo de dipolo oscilante para calcular as componentes para uma cadeia constituída de  $Q$  nanopartículas.

Os resultados de  $\chi_{//}$  e  $\chi_{\perp}$  são os seguintes

$$\chi_{\perp} = \frac{1}{Q} \sum_{i=1}^Q \frac{\chi_o}{1 + \kappa_{\perp i} \chi_o} \quad (3.59)$$

$$\chi_{//} = \frac{1}{Q} \sum_{i=1}^Q \frac{\chi_o}{1 - \kappa_{// i} \chi_o} \quad (3.60)$$

com

$$\kappa_{\perp i} = \frac{v_p}{4\pi r^3} \sum_{i \neq j} \frac{1}{|j - i|^3} \quad (3.61)$$

e

$$\kappa_{//i} = 2\kappa_{\perp i} \quad (3.62)$$

Sendo  $\chi_o$  para uma partícula dado por

$$\chi_o = \frac{\epsilon_p - \epsilon_1}{\epsilon_p + N(\epsilon_p - \epsilon_1)} \quad (3.63)$$

onde  $\epsilon_p$ ,  $\epsilon_1$  e  $N$  são a permissividade elétrica da partícula, a permissividade elétrica do líquido carreador e o fator de depolarização.

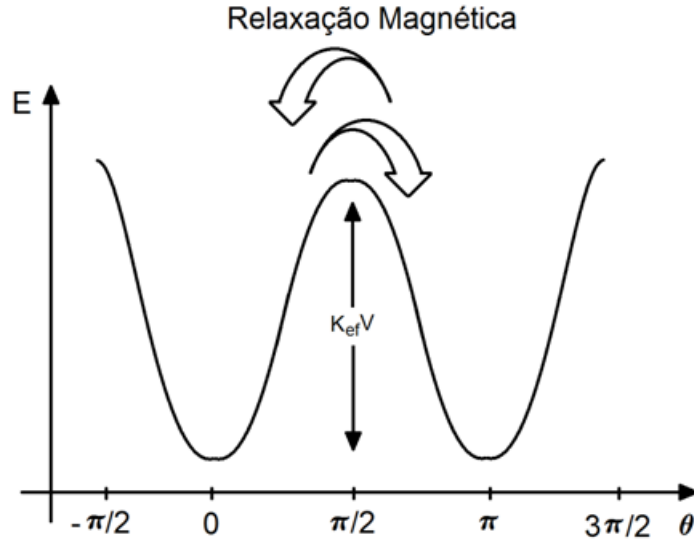
## 3.4 Diâmetro Superparamagnético

Uma partícula, na condição de monodomínio, pode ser suficientemente pequena de tal forma que flutuação térmica afete significativamente a direção de sua orientação. Isso ocorre porque a energia térmica fornecida ao sistema é comparável a barreira imposta pela energia de anisotropia magnética da partícula

$$E = K_{ef} V_p \sin^2 \theta \quad (3.64)$$

onde  $V_p$  é o volume da partícula e  $\theta$  é o ângulo entre a magnetização e o eixo de anisotropia. Esta barreira de anisotropia está ligada a um conjunto de fatores estruturais e geométricos do material e definem seu eixo de fácil magnetização, ou seja, aquele que exige campos menos intensos para orientar a partícula. Quando o tempo de mudança de orientação é menor que o tempo necessário para medir essa orientação, afirma-se que a partícula está no regime superparamagnético (figura 3.4). Nesse regime, o material não apresenta magnetização remanente e nem campo coercitivo. Estes materiais, neste regime, comportam-se de forma semelhante à materiais paramagnéticos, respondendo linearmente a campo aplicado até atingirem a saturação.

O processo de relaxação no qual estes sistemas estão submetidos é conhecido como



**Figura 3.4 :** Representação da energia de anisotropia em termos do ângulo entre a magnetização e o eixo de anisotropia sem campo externo aplicado.

relaxação de Néel-Brown [63]. O tempo de relaxação de Néel-Brown é dado por

$$\tau_N = \tau_o \frac{\sqrt{\pi}}{2} \frac{e^\sigma}{\sqrt{\sigma}} \quad (3.65)$$

com  $\sigma = K_{ef}V_p/K_B T$  e  $\tau_o = 10^{-9}$ s o inverso da frequência com a qual magnetização transpõe a barreira de anisotropia. O tempo de medida é dado pela lei de Arrhenius-Brown [4, 64]

$$t_m = \tau_o e^{\frac{\Delta E}{K_B T}} \quad (3.66)$$

A equação (3.65) é uma aproximação para valores de  $\sigma$  maiores que 2,5, onde para valores menores ela apresenta uma inconsistência matemática. Uma expressão alternativa, válida para qualquer valor de  $\sigma$  foi obtida por Coffey e Kalmykov [65]:

$$\tau_N = \tau_o (e^\sigma - 1) \left( 2^{-\sigma} + \frac{2\sigma^{3/2}}{\sqrt{\pi}(1 + \sigma)} \right)^{-1} \quad (3.67)$$

A equação (3.67) é válida para nanopartículas magnéticas com anisotropia uniaxial, onde

$$\tau_o = \frac{M_S}{2\gamma_o K_{ef}} \frac{1 + \alpha^2}{\alpha} \quad (3.68)$$

com seu valor em torno de  $10^{-10} \sim 10^{-8}$ ,  $\gamma_o$  sendo a razão giromagnética,  $\alpha$  o fator de amortecimento e  $K_{ef}$  a constante de anisotropia efetiva da partícula.

Aplicando um campo magnético na direção do eixo de anisotropia e assumindo que o tempo de medida  $t_m$  é igual a  $\tau_N$ , obtemos

$$t_m = \tau_o e^{\sigma(1-H_C/H_K)^2} \quad (3.69)$$

O campo coercitivo  $H_C$  da amostra em termos do diâmetro é dado por 3.70 [4]

$$H_C = H_K \left[ 1 - \left( \frac{D_{SP}}{D} \right)^{\frac{3}{2}} \right] \quad (3.70)$$

onde  $H_K = 2K_{ef}/\mu_o M_S$  é o campo de anisotropia e  $M_S$  a magnetização de saturação da partícula. A equação (3.70) é válida para diâmetros maiores que o diâmetro crítico (superparamagnético) e, caso  $D \leq D_{SP}$  o campo coercitivo é nulo. O comportamento do campo coercitivo em termos do diâmetro pode ser observado na figura (3.5).

O volume crítico  $V_{Crit}$  ou volume superparamagnético da partícula  $V_{SP}$  usando a equação (3.70) fornece

$$V_{SP} = \frac{K_B T}{K_{ef}} \ln \left( \frac{t_m}{\tau_o} \right) \quad (3.71)$$

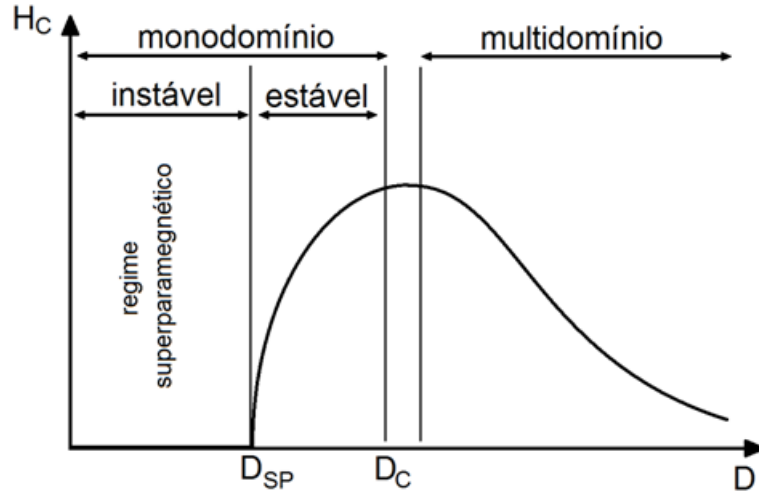
Em técnicas de magnetometria padrões, como Magnetometria de Amostra Vibrante (VSM - sigla em inglês), onde o tempo característico de medida é considerado como sendo  $t_m = 100s$  o volume superparamagnético é aproximadamente

$$V_{SP} \simeq \frac{25K_B T}{K_{ef}} \quad (3.72)$$

Uma estimativa para o caso da magnetita, cuja constante de anisotropia bulk é  $20\text{kJ/m}^3$ ,  $T = 300\text{K}$  e constante de Boltzmann  $K_B = 1,38 \times 10^{-23}\text{J/K}$  fornece um diâmetro superparamagnético da ordem de 21 nm.

Uma abordagem mais completa sobre como o regime superparamagnético com a aplicação de campo magnético alternado foi sugerida no trabalho J. Carrey [66], que é uma expressão proposta por *Usov et al* [67] onde o campo coercitivo  $H_C$  é dado em termos dos seguintes parâmetros de campo alternado

$$H_C = H_K (1 - \kappa^{1/2}) \quad (3.73)$$



**Figura 3.5 :** Comportamento do campo coercitivo com relação ao diâmetro.

com

$$\kappa = \frac{K_B T}{K_{ef} V} \ln \left( \frac{K_B T}{4\mu_o H_{max} M_S V_p f \tau_o} \right) \quad (3.74)$$

onde  $\kappa$  é um parâmetro adimensional com  $H_{max}$  sendo a amplitude de campo magnético externo aplicado AC,  $M_S$  a magnetização da partícula,  $V_p$  o volume da partícula,  $f$  a frequência do campo alternado aplicado e  $\tau_o$  o tempo característico. Por meio da equação (3.74) podemos escrever uma equação do volume superparamagnético em termos da frequência  $f$  e da constante de anisotropia efetiva  $K_{ef}$  de forma que

$$V_{SP} = \frac{K_B T}{K_{ef}} \ln \left( \frac{K_B T}{4\mu_o H_{max} M_S V_p f \tau_o} \right) \quad (3.75)$$

Note que em (3.75) o volume superparamagnético depende do inverso da constante de anisotropia efetiva  $K_{ef}$ , do inverso da amplitude do campo magnético alternado aplicado  $H_{max}$  e do inverso da frequência  $f$ . Isso significa que o volume superparamagnético, assim como o diâmetro superparamagnético, tende a diminuir a sua faixa quanto maiores forem as contribuições citadas. De fato, a hipertermia pode ser afetada por uma combinação destas variáveis. Além disso, esta dependência do volume superparamagnético com estas variáveis pode deslocar a curva dada na figura (3.5) para a esquerda, indicando assim que partículas que antes eram superparamagnéticas podem se tornar bloqueadas, ou seja, o campo externo não será suficiente para girar

a magnetização da partícula, afetando assim a geração de calor pelo conjunto de partículas.

## 3.5 Susceptibilidade Magnética

### 3.5.1 Susceptibilidade DC

A susceptibilidade magnética de uma partícula magnética diz muito sobre a eficiência de sua geração de calor quando submetida a ação de campo magnético AC aplicado. A susceptibilidade de equilíbrio em regime DC é definida pela derivada da magnetização  $M$  em relação ao campo magnético  $H$  para campo baixo [68] como

$$\chi_o = \left. \frac{\partial M}{\partial H} \right|_{H=0} \quad (3.76)$$

Num sistema composto por partículas magnéticas idênticas em regime superparamagnético, a susceptibilidade é obtida no limite de baixo campo da função de Langevin (vide seção 3.2).

Portanto, a susceptibilidade de Langevin é dada por

$$\chi_{SP} = \frac{\mu_o M_S^2 V_p}{3K_B T} \quad (3.77)$$

Além da contribuição de partículas SP, existe também a contribuição das partículas bloqueadas, partículas cujo momento magnético se alinha a uma posição intermediária a do campo e a do eixo de anisotropia. Quando uma partícula bloqueada está sujeita a um campo externo, a magnetização da partícula se alinha numa direção intermediária a do campo e a do eixo de anisotropia. Quando isso ocorre, a componente da magnetização da partícula na direção do campo aplicado é (figura 3.6)

$$M = M_S \cos(\varphi - \theta) \quad (3.78)$$

A posição  $\theta$  de equilíbrio da magnetização quando campo aplicado faz um ângulo  $\phi$  com eixo de anisotropia é obtida minimizando a densidade de energia dada pela equação

$$\varepsilon = K_{ef} \sin^2(\theta) - \mu_o M_S H \cos(\varphi - \theta) \quad (3.79)$$

O segundo termo do lado direito de (3.79) refere-se ao termo *Zeeman* de energia por volume da partícula. Então, encontra-se as posições de máximo e mínimo de energia para magnetização por meio de:

$$\frac{d\varepsilon}{d\theta} = \mu_o M_S H \sin(\theta - \varphi) + K_{ef} \sin(2\theta) = 0 \quad (3.80)$$

$$\frac{d^2\varepsilon}{d\theta^2} = \mu_o M_S H \cos(\theta - \varphi) + K_{ef} \cos(2\theta) > 0 \quad (3.81)$$

Quando o campo externo  $H$  aplicado é suficientemente menor que o campo de anisotropia da partícula,  $H_K = 2K/\mu_o M_S$ , a posição de equilíbrio do momento magnético da partícula está próximo do eixo de anisotropia e pode-se fazer  $\sin(2\theta) \approx 2\theta$  e  $\sin(\theta - \varphi) \approx -\sin\varphi$  [68]. Substituindo estas relações em (3.80) obtém-se

$$\theta = \frac{\mu_o M_S H}{2K_{ef}} \sin\varphi \quad (3.82)$$

Determinado o valor de  $\theta$ , usa-se a equação (3.78) juntamente com a definição de susceptibilidade magnética para calcular a susceptibilidade inicial de uma partícula bloqueada, ou seja,

$$\chi_o = \left. \frac{\partial M}{\partial H} \right|_{H=0} = \mu_o M_S \sin(\varphi - \theta) \frac{\partial \theta}{\partial H} = \frac{\mu_o M_S^2}{2K_{ef}} \sin^2\varphi \quad (3.83)$$

A susceptibilidade de um sistema de partículas bloqueadas com orientações randômicas de seus eixos de anisotropia é obtida tomando a média sobre todas as direções possíveis de (3.83) por

$$\chi_{bl} = \frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} \int_0^\pi \left( \frac{\mu_o M_S^2}{2K_{ef}} \sin^2\varphi \right) \sin\varphi d\varphi d\phi = \frac{\mu_o M_S^2}{3K_{ef}} \quad (3.84)$$

Em (3.84)  $M_S$  é a magnetização de saturação da partícula e  $K_{ef}$  a constante de anisotropia efetiva.

A susceptibilidade real de uma amostra sob ação de campo magnético aplicado é composta pelas duas contribuições, partículas superparamagnéticas e partículas bloqueadas. Uma maneira de se estimar a susceptibilidade média de um sistema misto é considerar a distribuição de cada uma destas partes. Isso pode ser calculado por

$$\chi_{ZFC} = \frac{\mu_o M_S^2}{3K_B T} \int_0^{V_{SP}} V P(V) dV + \frac{\mu_o M_S^2}{3K_{ef}} \int_{V_{SP}}^\infty P(V) dV \quad (3.85)$$

$$\chi_{FC} = \frac{\mu_o M_S^2}{3K_{BT}} \int_0^{V_{SP}} VP(V)dV + \frac{25\mu_o M_s^2}{3K_{ef}} \int_{V_{SP}}^{\infty} P(V)dV \quad (3.86)$$

Em (3.86), o primeiro termo se refere a distribuição de partículas superparamagnéticas e o segundo, a distribuição de partículas bloqueadas. As duas contribuições tratam de um sistema polidisperso onde  $P(V)$  é uma distribuição normal que dá a fração de partículas entre  $V$  e  $V + dV$  com  $V_{sp} = 25K_{BT}/K_{ef}$ . O fator 25 decorre do fato de estarmos considerando uma medida quasi-estática, curvas de magnetização do tipo Field Cooled (FC). Note, também, que esta equação está definida em termos da distribuição de volume, contudo ela é facilmente convertida para distribuição de diâmetros. Além disso, note que as integrais dependem do volume superparamagnético.

No nosso caso, além da susceptibilidade dependente da frequência, estamos considerando que o volume superparamagnético também depende da frequência, amplitude do campo e constante de anisotropia efetiva, como proposto por *Usov et al* [67]. Para esta situação, trocamos os termos da segunda integral de (3.86), pois o volume superparamagnético passa a ser

$$V_{SP} = \frac{K_{BT}}{K_{ef}} \ln \left( \frac{K_{BT}}{4\mu_o H_{max} M_S V_p f \tau_o} \right) \quad (3.87)$$

Portanto, a equação (3.86) fica da forma

$$\chi_{ZFC} = \frac{\mu_o M_S^2}{3K_{BT}} \int_0^{V_{SP}} VP(V)dV + \frac{\mu_o M_s^2}{3K_{ef}} \int_{V_{SP}}^{\infty} P(V)dV \quad (3.88)$$

$$\chi_{FC} = \frac{\mu_o M_S^2}{3K_{BT}} \int_0^{V_{SP}} VP(V)dV + \frac{\mu_o M_s^2}{3K_{ef}} \int_{V_{SP}}^{\infty} \ln \left( \frac{K_{BT}}{4\mu_o H_{max} M_S V_p f \tau_o} \right) P(V)dV \quad (3.89)$$

Note que nas equações (3.89) e (3.88), o primeiro termo refere-se ao termo superparamagnético, enquanto o segundo deve-se as partículas bloqueadas.

### 3.5.2 Susceptibilidade Magnética em Regime AC

Neste caso, podemos escrever o campo aplicado e a magnetização pelas expressões [69]

$$H(t) = H_o + h(t) = H_o + h_o \cos \omega t \quad (3.90)$$

e

$$M(t) = M_o + m(t) = M_o + m_o \cos(\omega t - \phi) \quad (3.91)$$

Onde  $H_o$  é o campo estático,  $M_o$  é o valor de equilíbrio da magnetização em  $H_o$  aplicado e  $\phi$  é o ângulo de fase que entre a magnetização e o campo aplicado. Tratando (3.90) e (3.91) em termos de varáveis complexas, podemos escrever

$$h(t) = h_o e^{i\omega t} \quad (3.92)$$

$$M(t) = M_o + \frac{m_o}{h_o} e^{-i\phi} h(t) \quad (3.93)$$

Calculando a susceptibilidade magnética em campo alternado, susceptibilidade complexa, obtemos

$$\chi = \frac{m_o}{h_o} = \chi' - i\chi'' \quad (3.94)$$

As duas componentes da susceptibilidade complexa dependem indiretamente da frequência angular de oscilação por meio da fase  $\phi$ . Na próxima seção iremos mostrar que a parte que nos interessa é a parte imaginária da susceptibilidade, pois tal grandeza é responsável pela geração de calor por partículas magnéticas sob ação de campo externo AC aplicado.  $\chi''$  é conhecida também como absorção, por ser proporcional a energia que a partícula absorve do campo.

A susceptibilidade AC de um sistema de partículas pode ser descrita pelo modelo de *Gittleman* [70]. Neste modelo, considera-se a susceptibilidade complexa do sistema quando o mesmo possui uma distribuição de tamanhos, dada por

$$\chi(\omega) = \int_0^{\infty} \chi_V P(V) dV \quad (3.95)$$

onde  $P(V)$  é a distribuição de volumes (ou diâmetros),  $P(V)dV$  a fração de partículas com volume entre  $V$  e  $V + dV$  e  $\omega$  a frequência angular do campo magnético aplicado.

Na ausência de campo magnético, para chegarmos a magnetização, o número de partículas com momentos apontando na direção  $Oz'$  (vide figura 3.6) pode ser escrita pela equação mestra [71]

$$dN_+ = \frac{N - N_+}{\tau} dt - \frac{N_+}{\tau} dt, \quad (3.96)$$

onde  $N_+$  é o número de momentos que estão alinhados na direção do eixo  $Oz'$  e  $N - N_+$  são os momentos restantes alinhados na direção do eixo  $Oz$ . Potanto, podemos obter a magnetização

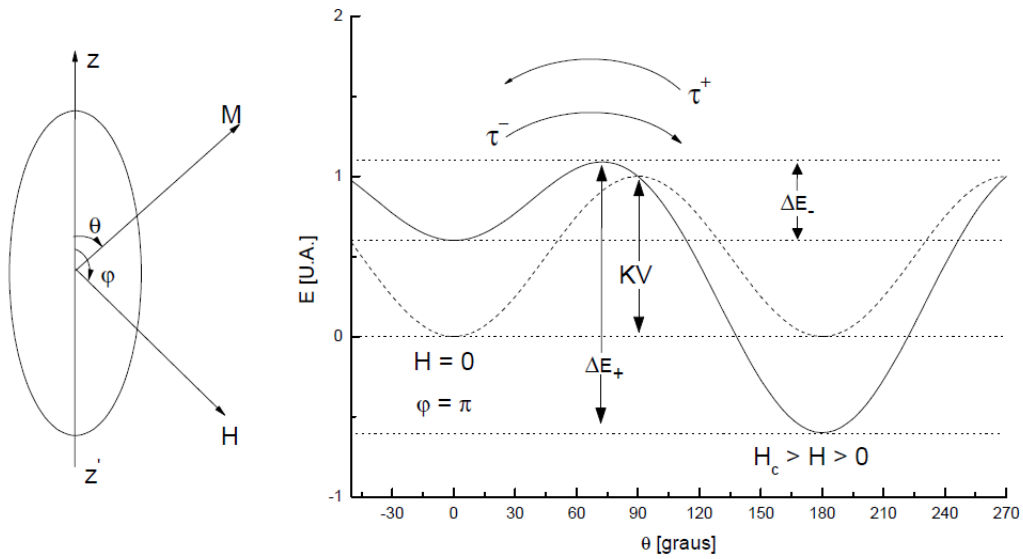
do sistema na direção do eixo  $Oz'$  por

$$M = \frac{M_s}{N} [N_+^{eq} + (N_+^o - N_+^{eq})e^{-2t/\tau}] \quad (3.97)$$

onde

$$N_+^{eq} = \frac{N}{2} \quad (3.98)$$

Note que enquanto os momentos levam um tempo  $\tau$  para saltar de um lado para o outro da barreira de anisotropia, a magnetização do sistema relaxa com um tempo  $\tau/2$ . No limite em que  $t \gg \tau/2$  ou  $N_+^o = N_+^{eq}$ , o equilíbrio é atingido e teremos  $N/2$  partículas com momentos apontando na direção do eixo  $Oz'$  e a mesma quantidade de momentos apontando na direção  $Oz$ . Portanto, neste caso a magnetização é nula.



**Figura 3.6 :** Dependência da energia com ângulo  $\theta$  com campo nulo e com campo aplicado na direção  $\varphi = \pi$ .

Quando se aplica um campo magnético os mínimos deixam de ser equivalentes. Surgindo assim um mínimo global na direção do campo e com as suas respectivas probabilidades por unidade de tempo não iguais agora. Assumindo que o campo esteja na direção do eixo  $Oz'$ , a equação (3.96) passa a ser dada por:

$$dN_+ = \frac{N - N_+}{\tau^-} dt - \frac{N_+}{\tau^+} dt, \quad (3.99)$$

com

$$\tau^{\pm} = \tau_o e^{\frac{\Delta E_{\pm}}{K_B T}} \quad (3.100)$$

e a magnetização ao longo do eixo  $Oz'$  dada por

$$M = \frac{M_s}{N} [N_+^{eq} + (N_+^o - N_+^{eq})e^{-t/\tau}] \quad (3.101)$$

onde

$$N_+^{eq} = \frac{N\tau^+}{\tau^- + \tau^+} \quad (3.102)$$

e

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau^-} + \frac{1}{\tau^+} \quad (3.103)$$

Neste caso, a magnetização não é mais nula. Quando os momentos magnéticos estão alinhados com a direção do campo,  $\Delta E_+$  e  $\Delta E_-$  são dados analiticamente por

$$\Delta E_{\pm} = k_{ef} V_p \left( 1 \pm \frac{\mu_o H M_s}{2K_{ef}} \right) \quad (3.104)$$

Identificando os termos da equação (3.101) da forma [71]

$$h_o \chi_{sp} = \frac{M_s N_+^{eq}}{N} \quad (3.105)$$

e

$$h_o \chi_{bl} = \frac{M_s N_+^o}{N}, \quad (3.106)$$

a equação (3.101) pode ser reescrita em termos das susceptibilidades das partículas na forma

$$M = h_o [\chi_{sp} + (\chi_{bl} - \chi_{sp}) e^{-t/\tau}] \quad (3.107)$$

onde  $\chi_{sp}$  é susceptibilidade das partículas superparamagnéticas e  $\chi_{bl}$  a susceptibilidade das partículas bloqueadas. Tomando a transformada de Fourier da magnetização (3.107)

$$\int_{-\infty}^{\infty} h_o [\chi_{sp} + (\chi_{bl} - \chi_{sp}) e^{-t/\tau}] e^{i\omega t} dt \quad (3.108)$$

obtemos a susceptibilidade complexa

$$\chi_V(\omega) = \frac{\chi_{SP} + i\omega\tau\chi_{bl}}{1 + i\omega\tau} = \chi' - i\chi'' \quad (3.109)$$

onde

$$\chi' = \frac{\chi_{SP} + \omega^2 \tau^2 \chi_{bl}}{1 + \omega^2 \tau^2} \quad (3.110)$$

e

$$\chi'' = \frac{(\chi_{SP} - \chi_{bl})\omega\tau}{1 + \omega^2 \tau^2} \quad (3.111)$$

são as susceptibilidades real e imaginária, respectivamente. Estas susceptibilidades dadas em (3.111) são calculadas pelas médias dadas por

$$\chi_{sp} = \frac{\mu_o M_S^2}{3K_B T} \int_0^{V_{SP}} VP(V) dV \quad (3.112)$$

e

$$\chi_{bl}^{ZFC} = \int_{V_{SP}}^{\infty} \frac{\mu_o M_S^2}{3K_{ef}} P(V) dV \quad (3.113)$$

onde (3.112) e (3.113) são as contribuições de partículas superparamagnéticas e bloqueadas, respectivamente.

## 3.6 Magnetohipertermia - Teoria da resposta linear

Nesta seção apresentaremos a formulação teórica da dissipação de calor para o regime em que a magnetização das nanopartículas magnéticas respondam linearmente com o campo aplicado. Este regime é válido para um campo magnético aplicado suficientemente pequeno, o que resulta em pequenos loops de histerese elipsoidais cujas áreas destas curvas estão diretamente ligadas a dissipação de calor.

### 3.6.1 Campo Eletromagnético em um meio Material Linear

Considere um meio material linear tal que possua uma permissividade elétrica  $\epsilon$  e permeabilidade magnética  $\mu$  sob ação de campo eletromagnético externo  $\vec{E}(\vec{r}, t)$  e  $\vec{B}(\vec{r}, t)$ . O balanceamento energético que ocorre numa amostra magnética sob ação de campo eletromagnético externo é dado pelo vetor de Poynting [72]. Inicialmente, considere a energia armazenada no campo elétrico dada por

$$W_E = \frac{\epsilon_o}{2} \int_V E^2 dV \quad (3.114)$$

onde  $E$  é o módulo do campo elétrico resultante da distribuição de cargas.

De maneira igual, o trabalho necessário para se gerar uma densidade de corrente  $J$ , trabalho esse que será armazenado como energia potencial no campo magnético  $B$  produzido por uma densidade de corrente é dado por

$$W_M = \frac{1}{2\mu_o} \int_V B^2 dV \quad (3.115)$$

Logo, a energia armazenada no campo eletromagnético é dada por

$$U_{EM} = \frac{1}{2} \int_V \left( \epsilon_o E^2 + \frac{1}{\mu_o} B^2 \right) dV \quad (3.116)$$

O teorema de Poynting afirma que o trabalho realizado sobre uma carga pela força de Lorentz, devido aos campos elétrico e magnético, é igual a diminuição na energia armazenada nos campos menos o fluxo de energia através da superfície de contorno que limita o volume que encerra as cargas e as densidades de corrente. Este teorema pode ser expresso por [72]

$$\frac{dW}{dt} = -\frac{d}{dt} \int_V \frac{1}{2} \left( \epsilon_o E^2 + \frac{1}{\mu_o} B^2 \right) dV - \frac{1}{\mu_o} \oint_S \left( \vec{E} \times \vec{B} \right) \quad (3.117)$$

A energia transportada pelo campo eletromagnético por unidade de área e por unidade de tempo é dada pelo módulo do vetor de Poynting que na sua forma vetorial é dada por (3.118).

$$\vec{S} = \frac{1}{\mu_o} \vec{E} \times \vec{B} \quad (3.118)$$

Na situação estacionária temos que a potência  $P$  absorvida pelo meio magnético na presença do campo é igual a menos o fluxo de energia através da superfície de contorno do material  $S$ , dado por (3.118). Então, devemos ter

$$Pot = \frac{dW}{dt} = -\frac{1}{\mu_o} \oint_S \left( \vec{E} \times \vec{B} \right) \cdot \hat{n} dS = -\oint_S \vec{S} \cdot \hat{n} dS \quad (3.119)$$

Agora precisamos escrever a potência  $P$  em termos das propriedades do material que está sob ação deste campo eletromagnético. Para isso, consideramos primeiramente a lei de Ampère-Maxwell [72] e fazemos o produto escalar pelo vetor campo elétrico  $\vec{E}$ , ou seja,

$$\vec{E} \cdot \left( \vec{\nabla} \times \vec{H} \right) = \vec{E} \cdot \left( \vec{J} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \right) \quad (3.120)$$

De maneira semelhante, fazemos o produto escalar do vetor campo magnético  $\vec{H}$  pela Lei de Faraday. Isso nos dá

$$\vec{H} \cdot (\vec{\nabla} \times \vec{E}) = -\vec{H} \cdot \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad (3.121)$$

Utilizando a identidade vetorial  $\vec{\nabla} \cdot (\vec{a} \times \vec{b}) = (\vec{\nabla} \times \vec{a}) \cdot \vec{b} - \vec{a} \cdot (\vec{\nabla} \times \vec{b})$  chegamos a

$$\begin{aligned} (\vec{\nabla} \times \vec{E}) \cdot \vec{H} - \vec{E} \cdot (\vec{\nabla} \times \vec{H}) &= -\vec{H} \cdot \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} - \vec{E} \cdot \vec{J} - \vec{E} \cdot \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \\ -\vec{\nabla} \cdot (\vec{E} \times \vec{H}) &= -\vec{H} \cdot \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} - \vec{E} \cdot \vec{J} - \vec{E} \cdot \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \\ -\vec{\nabla} \cdot \vec{S} &= -\vec{H} \cdot \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} - \vec{E} \cdot \vec{J} - \vec{E} \cdot \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \end{aligned} \quad (3.122)$$

Integrando (3.122) em todo volume e usando o teorema do divergente temos

$$-\int_V (\vec{\nabla} \cdot \vec{S}) dV = -\oint_S \vec{S} \cdot \hat{n} dS = \int_V \left( \vec{E} \cdot \vec{J} + \vec{E} \cdot \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} + \vec{H} \cdot \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \right) dV \quad (3.123)$$

Comparando este resultado com (3.119) e integrando nos dois membros no intervalo  $t-t_0$  temos

$$\begin{aligned} \int_{t_0}^t \frac{dW}{dt} dt &= \int_{W(t_0)}^{W(t)} dW = -\int_{t_0}^t \left( \oint_S \vec{S} \cdot \hat{n} dS \right) \\ &= \int_{t_0}^t \left\{ \int_V \left( \vec{E} \cdot \vec{J} + \vec{E} \cdot \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} + \vec{H} \cdot \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \right) dV \right\} dt \end{aligned} \quad (3.124)$$

Se a fonte de campo externo estiver em repouso em relação ao material, os vetores de polarização  $\vec{P}$  e indução  $\vec{B}$  não possuem dependências temporais nas suas coordenadas espaciais. Portanto, podemos substituir as derivadas parciais no tempo em (3.124) por derivadas totais no tempo.

Logo, temos

$$\begin{aligned} \int_{W(t_0)}^{W(t)} dW &= \int_{t_0}^t \left( \int_V \vec{E} \cdot \vec{J} dV \right) dt + \int_{t_0}^t \left( \int_V \vec{E} \cdot \frac{d\vec{D}}{dt} dV \right) dt + \int_{t_0}^t \left( \int_V \vec{H} \cdot \frac{d\vec{B}}{dt} dV \right) dt \\ &= \int_{t_0}^t \left( \int_V \vec{E} \cdot \vec{J} dV \right) dt + \int_V \left( \int_{D(t_0)}^{D(t)} \vec{E} \cdot d\vec{D} + \int_{B(t_0)}^{B(t)} \vec{H} \cdot d\vec{B} \right) dV \end{aligned} \quad (3.125)$$

A equação (3.125) descreve o trabalho realizado pelo campo eletromagnético sobre a amostra.

Vamos admitir que os campos  $\vec{E}(t)$  e  $\vec{B}(t)$  oscilem harmonicamente no tempo com frequência angular  $\omega$  e que o período de oscilação seja dado por  $T = 2\pi/\omega$ . Se o trabalho é realizado no tempo de uma oscilação completa  $T$ , isso implica que  $D(t_0) = D(t_0 + T)$  e

$B(t_o) = B(t_o + T)$ , com  $t = t_o + T$ , além disso, que as integrais que dependem de  $D$  e  $B$  em (3.125) são fechadas neste ciclo. Portanto, escrevendo as diferenciais totais da forma

$$d(\vec{E} \cdot \vec{D}) = \vec{E} \cdot d\vec{D} + \vec{D} \cdot d\vec{E} \quad (3.126)$$

e

$$d(\vec{H} \cdot \vec{B}) = \vec{H} \cdot d\vec{B} + \vec{B} \cdot d\vec{H} \quad (3.127)$$

podemos fazer

$$\begin{aligned} \int_V \left( \int_{D(t_o)}^{D(t)} \vec{E} \cdot d\vec{D} \right) dV &= \int_V \left( \oint_{Ciclo} d(\vec{E} \cdot \vec{D}) - \oint_{Ciclo} \vec{D} \cdot d\vec{E} \right) dV \\ &= \int_V \left( \oint_{Ciclo} d(\vec{E} \cdot \vec{D}) - \oint_{Ciclo} (\epsilon_o \vec{E} + \vec{P}) \cdot d\vec{E} \right) \\ &= \int_V \left( \oint_{Ciclo} d(\vec{E} \cdot \vec{D}) - \oint_{Ciclo} \epsilon_o \vec{E} \cdot d\vec{E} - \oint_{Ciclo} \vec{P} \cdot d\vec{E} \right) dV \end{aligned} \quad (3.128)$$

onde utilizamos a relação  $\vec{D} = \epsilon_o \vec{E} + \vec{P}$ . Em (3.128) a primeira e a segunda integrais do segundo membro da equação são nulas em um ciclo. Portanto, chegamos em

$$\int_V \left( \int_{D(t_o)}^{D(t)} \vec{E} \cdot d\vec{D} \right) dV = - \int_V \left( \oint_{Ciclo} \vec{P} \cdot d\vec{E} \right) dV \quad (3.129)$$

Fazendo agora  $\vec{B} = \mu_o (\vec{H} + \vec{M})$  e procedendo de maneira semelhante chega-se que

$$\int_V \left( \int_{B(t_o)}^{B(t)} \vec{H} \cdot d\vec{B} \right) dV = - \int_V \left( \oint_{Ciclo} \mu_o \vec{M} \cdot d\vec{H} \right) dV \quad (3.130)$$

Portanto, conclui-se que o trabalho realizado sobre a amostra em um ciclo fechado é descrito da forma

$$\oint_{Ciclo} dW = \int_V \left( \int_{t_o}^t \vec{E} \cdot \vec{J} dt - \oint_{Ciclo} \vec{P} \cdot d\vec{E} - \oint_{Ciclo} \mu_o \vec{M} \cdot d\vec{H} \right) dV \quad (3.131)$$

A primeira integral da equação (3.131) representa a dissipação por correntes parasitas, que surgem pela movimentação de portadores de carga na presença do campo elétrico aplicado. Com o surgimento de uma densidade de corrente, há a dissipação de energia na forma de calor

por efeito Joule. A segunda integral da equação (3.131) é chamada de perda dielétrica, e ocorre devido a polarização elétrica do meio devido a aplicação do campo elétrico alternado enquanto a terceira integral de (3.131) representa a dissipação por movimento da magnetização da amostra. Tal dissipação é que exploraremos mais adiante.

### 3.6.2 Dissipação de Calor por Nanopartículas Magnéticas

Para Hipertermia Magnética o tipo de material utilizado deve responder fortemente à campo magnético externo. Materiais que tem estas características são as ferritas. Uma característica importante de materiais ferro-ferrimagnéticos é que eles apresentam histerese. E a histerese ocorre devido a anisotropia magnética destes materiais, ou seja, apresentam direções preferenciais para magnetização sem ação de campo magnético externo. Numa curva de  $M \times H$  para estes materiais a integral

$$Area = \oint_{Ciclo} \mu_o \vec{M} \cdot d\vec{H} \quad (3.132)$$

corresponde a área sob a curva; no caso de não haver histerese, esta área é nula.

Considerando materiais ferro-ferrimagnéticos e admitindo que uma nanopartícula deste material seja grande o suficiente para aplicarmos as leis da termodinâmica, seja a primeira lei dada por

$$dU = dQ - dW \quad (3.133)$$

onde  $dU$  é a variação de energia interna,  $dQ$  o calor absorvido ou sedido e  $dW$  o trabalho realizado ou sofrido por um sistema termodinâmico. Neste caso, em que temos uma variação harmônica de  $\vec{H}$  no tempo, em um período  $T$  o sistema termodinâmico se encontra novamente em seu estado inicial. Isso implica que a variação de energia interna  $dU$  é nula. Portanto, podemos escrever (3.133) da forma

$$dQ = dW \quad (3.134)$$

Integrando (3.134) em um ciclo obtemos

$$\oint_{Ciclo} dQ = \oint_{Ciclo} dW \quad (3.135)$$

Isso nos diz que o trabalho realizado pelo campo eletromagnético sobre o sistema (nanopartícula magnética) é dissipado em forma de calor.

O teorema de Poynting nos permitiu calcular o trabalho realizado sobre um material magnético quando colocado na presença de campo eletromagnético oscilando no tempo. Além disso, o calor dissipado por material magnético com condutividade *sigma* é dado por

$$\oint_{Ciclo} dQ = \int_V \left( \int_{t_0}^t \vec{E} \cdot \vec{J} dt - \oint_{Ciclo} \vec{P} \cdot d\vec{E} - \oint_{Ciclo} \mu_o \vec{M} \cdot d\vec{H} \right) dV \quad (3.136)$$

onde a terceira integral em (3.136), que é área sob a curva de histerese, representa a dissipação de calor por histerese. Isso ocorre devido ao movimento da magnetização em relação ao campo externo harmônico aplicado num intervalo de tempo igual ao período  $T$  de oscilação. A primeira e segunda integrais representam, respectivamente, a dissipação por correntes parasitas, que surgem por corrente elétrica induzida pelo campo elétrico, e a perda dielétrica que ocorre devido a polarização do meio sob ação de campo elétrico.

Em (3.136) podemos ignorar as perdas por correntes parasitas e dielétricas. Essa aproximação é boa, pois nanopartículas magnéticas (ferritas) não são boas condutoras, em geral. Prevalece assim a perda por histerese que, diferente das outras perdas, ferritas interagem fortemente com campo magnético externo.

Vamos admitir que a magnetização  $\vec{M}$  da partícula seja uniforme em todo volume e que  $\vec{H}$  e  $V$  variem independente um do outro. Isso significa que podemos calcular as integrais independente uma da outra. Portanto, considerando

$$\int_V dV = V_p \quad (3.137)$$

onde  $V_p$  é o volume da partícula, podemos fazer

$$\begin{aligned} - \oint_{Ciclo} dQ &= \int_V dV \oint_{Ciclo} \mu_o \vec{M} \cdot d\vec{H} \\ - \oint_{Ciclo} dQ &= V_p \oint_{Ciclo} \mu_o \vec{M} \cdot d\vec{H} \\ - \frac{1}{V_p} \oint_{Ciclo} dQ &= \oint_{Ciclo} \mu_o \vec{M} \cdot d\vec{H} \end{aligned} \quad (3.138)$$

A equação (3.138) nos diz que a área da curva de histerese nos dá a energia dissipada em forma de calor por unidade de volume quando o material está sob ação de campo magnético harmônico no tempo.

### 3.6.3 Potência Dissipada por Nanopartículas Magnéticas

Nesta seção iremos descrever o comportamento da resposta da amostra em termos do campo harmônico externo aplicado. Esta resposta se dá através do comportamento da magnetização quando a amostra está sujeita ao campo magnético externo aplicado. Então, admitamos uma nanopartícula como monodomínio magnético com magnetização uniforme e rotação coerente da magnetização em relação ao campo aplicado. Além disso, vamos admitir também que a amplitude de campo magnético não seja alto para valer a teoria de resposta linear. Portanto, devemos escrever  $H(t)$  e  $M(t)$  que resolvam

$$Area = \oint_{Ciclo} \mu_o M dH \quad (3.139)$$

Quando a magnetização e o campo estão defasados, a integração (3.139) produz um resultado positivo indicando a conversão de trabalho magnético em calor. Isto é mais conveniente expresso em termos da susceptibilidade complexa do ferrofluido  $\chi = \chi' - i\chi''$  [63, 73]. Então com um campo magnético aplicado da forma

$$H(t) = Re [H_o e^{i\omega t}] = H_o \cos \omega t \quad (3.140)$$

Isto resulta numa magnetização da forma

$$M(t) = Re [\chi H(t)] \quad (3.141)$$

Substituindo a susceptibilidade complexa e (3.140) em (3.141), temos

$$\begin{aligned} M(t) &= Re [\chi' - i\chi'' H_o e^{i\omega t}] \\ &= Re [(\chi' - i\chi'') H_o (\cos \omega t + i \text{sen} \omega t)] \\ &= H_o (\chi' \cos \omega t + \chi'' \text{sen} \omega t) \end{aligned} \quad (3.142)$$

A diferencial do campo pode ser escrita como

$$dH = d(H_o \cos \omega t) = -\omega H_o \text{sen}(\omega t) dt \quad (3.143)$$

Substituindo (3.142), (3.143) em (3.139), temos

$$\begin{aligned} \oint_{Ciclo} \mu_o M dH &= \mu_o \oint_{Ciclo} H_o (\cos \omega t + \text{sen} \omega t) [-\omega H_o \text{sen}(\omega t)] dt \\ &= -\mu_o H_o^2 \oint_{Ciclo} (\omega \chi' \cos \omega t \text{sen} \omega t + \chi'' \text{sen}^2 \omega t) dt \\ &= -\mu_o H_o^2 \left[ \chi' \int_0^{2\pi/\omega} \omega \cos \omega t \text{sen} \omega t dt + \chi'' \int_0^{2\pi/\omega} \omega \text{sen}^2 \omega t dt \right] \end{aligned} \quad (3.144)$$

A primeira integral de (3.144) é nula, pois num intervalo simétrico temos o produto de uma função ímpar por uma função par, enquanto a segunda integral, no intervalo  $[0, 2\pi/\omega]$ , tem valor  $\pi$ . Portanto, (3.144) se torna

$$\oint_{Ciclo} \mu_o M dH = -\mu_o \pi H_o^2 \chi'' \quad (3.145)$$

Isso significa que o calor dissipado num ciclo depende do quadrado da amplitude do campo magnético aplicado e da parte imaginária da susceptibilidade da nanopartícula magnética. Logo, para sabermos o calor dissipado da amostra em vários ciclos basta multiplicarmos (3.145) pela frequência  $f = 1/T$  dos ciclos, portanto

$$\begin{aligned} -\frac{1}{V_p} \oint_{Ciclo} dQ &= -\mu_o \pi H_o^2 \chi'' \\ f \frac{1}{V_p} \oint_{Ciclo} dQ &= \mu_o \pi H_o^2 f \chi'' \\ \frac{1}{T} \frac{1}{V_p} \oint_{Ciclo} dQ &= \pi H_o^2 f \chi'' \\ \frac{Pot}{V_p} &= \pi H_o^2 f \chi'' \end{aligned} \quad (3.146)$$

A equação (3.146) é denominada SAR (Specific Absorption Rate - Sigla em inglês) volumétrico da amostra.

Falta-nos agora relacionar o SLP com parâmetros da amostra e essa relação deve estar na parte imaginária  $\chi''$  da susceptibilidade complexa da partícula. A dinâmica da magnetização

em resposta a um campo harmônico pode ser descrita pela equação de relaxação de Shiliomis [63], dada por

$$\frac{\partial M(t)}{\partial t} = \frac{1}{\tau} [M_o(t) - M(t)] \quad (3.147)$$

onde  $\tau$  é o termo de relaxação da magnetização e

$$M_o(t) = \chi_o H_o e^{i\omega t} = \chi_o H_o (\cos \omega t + i \text{sen} \omega t) \quad (3.148)$$

com  $\chi_o$  a susceptibilidade de equilíbrio da partícula. Além disso, escrevendo a magnetização da forma

$$M(t) = (\chi' - i\chi'') H_o e^{i\omega t} = H_o (\chi' - i\chi'') (\cos \omega t + i \text{sen} \omega t) \quad (3.149)$$

$$\begin{aligned} M(t) &= H_o (\chi' - i\chi'') (\cos \omega t + i \text{sen} \omega t) \\ &= H_o [\chi' (\cos \omega t + i \text{sen} \omega t) - i\chi'' (\cos \omega t + i \text{sen} \omega t)] \end{aligned} \quad (3.150)$$

Derivando (3.150) em relação a  $t$  obtemos

$$\frac{\partial M}{\partial t} = H_o [\omega(-\chi' + i\chi'') \text{sen} \omega t + \omega(\chi'' + i\chi') \cos \omega t] \quad (3.151)$$

O lado esquerdo de (3.147) fica da forma

$$\frac{1}{\tau} [M_o(t) - M(t)] = \frac{1}{\tau} [(\chi_o - \chi' + i\chi'') \cos \omega t + (i\chi_o - i\chi' - \chi'') \text{sen} \omega t] \quad (3.152)$$

Comparando os lados direito e esquerdo de (3.147) dados em (3.151) e (3.152), podemos igualar os termos que multiplicam  $\text{sen} \omega t$  e  $\cos \omega t$ . Logo, chegamos a

$$\chi' - i\chi'' = \frac{1}{\omega\tau} [\chi'' + i(\chi' - \chi_o)] \quad (3.153)$$

e

$$\chi'' - i\chi' = \frac{1}{\omega\tau} [\chi_o - (\chi' - i\chi'')] \quad (3.154)$$

Usando a susceptibilidade complexa da amostra dada por  $\chi = \chi' - i\chi''$  em (3.153) temos

$$\begin{aligned}
 \chi = \chi' - i\chi'' &= \frac{1}{\omega\tau}[\chi_o - (\chi' - i\chi'')] \\
 &= \frac{1}{\omega\tau}[\chi'' + i(\chi + i\chi'') - i\chi_o] \\
 &= \frac{1}{\omega\tau}(i\chi - i\chi_o) \\
 &= \frac{-i\chi_o}{(\omega\tau - i)} \\
 &= \frac{\chi_o}{1 + i\omega\tau}
 \end{aligned} \tag{3.155}$$

Da equação (3.154) temos

$$\begin{aligned}
 \chi'' + i\chi' &= \frac{1}{\omega\tau}[\chi_o - (\chi' - i\chi'')] \\
 &= \frac{1}{\omega\tau}(\chi_o - \chi) \\
 &= \frac{1}{\omega\tau} \left( \chi_o - \frac{\chi_o}{1 + i\omega\tau} \right) \\
 &= \frac{\chi_o}{\omega\tau} \left( 1 - \frac{1}{1 + i\omega\tau} \right) \\
 &= \frac{\chi_o}{\omega\tau} \left( \frac{1 + i\omega\tau - 1}{1 + i\omega\tau} \right) \\
 &= \frac{i\chi_o}{1 + i\omega\tau} \cdot \frac{1 - i\omega\tau}{1 - i\omega\tau} \\
 &= \frac{\chi_o\omega\tau}{1 + (\omega\tau)^2} + i \frac{\chi_o}{1 + (\omega\tau)^2}
 \end{aligned} \tag{3.156}$$

Portanto, de (3.156) conclui-se que

$$\chi'' = \frac{\chi_o\omega\tau}{1 + (\omega\tau)^2} \tag{3.157}$$

e

$$\chi' = \frac{\chi_o}{1 + (\omega\tau)^2} \tag{3.158}$$

onde (3.157) é a parte que nos interessa, pois está ligada diretamente com a dissipação de calor da amostra quando submetida ao campo magnético harmônico externo aplicado. Note que (3.157) relaciona agora essa dissipação com parâmetros da amostra que são a susceptibilidade de equilíbrio  $\chi_o$  e o tempo de relaxação da magnetização  $\tau$ . Através desta análise e voltando à

equação (3.146) podemos escrever o SAR da forma

$$\begin{aligned}
 \frac{Pot}{V_p} &= \mu_o \pi H_o^2 f \chi'' \\
 &= \mu_o \pi H_o^2 f \cdot \frac{\chi_o \omega \tau}{1 + (\omega \tau)^2} \\
 &= \mu_o \pi H_o^2 f \cdot \frac{\chi_o 2\pi f \tau}{1 + (2\pi f \tau)^2} \\
 &= \pi \mu_o \chi_o H_o^2 f \cdot \frac{2\pi f \tau}{1 + (2\pi f \tau)^2}
 \end{aligned} \tag{3.159}$$

Na literatura (3.159) é também conhecida como SLP (Specific Losses Power - Sigla em inglês). O SLP é usualmente dado em W/g (Watt por grama). Por não haver restrições sobre quais unidades a serem usadas, iremos utilizar as unidades no CGS, onde o resultado de (3.159) será dado em erg/s · cm<sup>3</sup>. Contudo, para obtermos o resultado em W/g, fazemos uma modificação em (3.159). Ela nos dá a potência por unidade de volume do material, cuja dimensão já é cm<sup>3</sup>. Fazendo uma análise dimensional convertemos este resultado para potência por unidade de massa, W/g, dividindo (3.159) pela densidade do material magnético  $\rho_p$  dado geralmente em g/cm<sup>3</sup>. Para obtermos a potência em Watt, basta convertermos erg em Joule, o que pode ser feito multiplicando a energia dado em erg por 10<sup>-7</sup>. Temos, então, que o SLP teórico, devido somente a dissipação histerética no regime de resposta linear (TRL), dado em W/g, desde que todos os parâmetros na expressão sejam substituídos com valores no CGS, pode ser escrito como

$$P_{TRL} = \frac{10^{-7}}{\rho_p} \cdot \pi \mu_o \chi_o H_o^2 f \cdot \frac{2\pi f \tau}{1 + (2\pi f \tau)^2} \tag{3.160}$$

O que nos resta agora é tratar sobre o tempo de relaxação  $\tau$ . O tempo de relaxação tem, basicamente, duas contribuições [63]. A primeira delas é o tempo de relaxação de Brown. Esta relaxação está relacionada com o tempo gasto pela magnetização da partícula para alinhar-se na direção do campo harmônico externo aplicado. Esse movimento é devido ao alinhamento da partícula, permanecendo assim a magnetização estática em relação a rede cristalina. Quando ocorre este tipo de movimento,  $\tau$  é denominado tempo de relaxação Browniano ( $\tau_B$ ). Esta

relaxação Browniana é expressa por

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{K_B T} \quad (3.161)$$

onde  $\eta$  é o coeficiente de viscosidade do líquido carreador,  $K_B$  a constante de Boltzmann,  $T$  a temperatura,  $V_H$  o volume hidrodinâmico que é maior que o volume da nanopartícula de raio  $R$ , dado por  $V_p = 4\pi R^3/3$ . O volume hidrodinâmico de uma nanopartícula pode ser calculado por  $V_H = (1 + \delta/R)^3 V_p$ , onde  $\delta$  representa a espessura da camada de cobertura da nanopartícula adsorvida em sua superfície.

Contudo, os dois processos podem ocorrer simultaneamente. Neste caso, escreve-se o tempo de relaxação efetivo como uma combinação entre os (3.161) e (3.65). Esta combinação é dada por

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_B} + \frac{1}{\tau_N} \quad (3.162)$$

A relação (3.162) nos permite estudar o comportamento do tempo de relaxação efetivo em termos de  $\tau_B$  e  $\tau_N$  utilizando parâmetros experimentais das nossas amostras. Considerando uma ferrita de Manganês típica, temos  $K_{ef} = 2,5 \times 10^4 \text{erg/cm}^3$ ,  $\delta = 1,1 \text{nm}$ ,  $\eta = 0,01002 \text{erg} \cdot \text{s/cm}^3$ ,  $T = 300 \text{K}$  e  $\tau_o = 10^{-9} \text{s}$ . O comportamento em termos do diâmetro da nanopartícula é descrito pelo gráfico da figura (3.7)

De acordo com este gráfico (3.7), para diâmetros menores que 24nm, a relaxação que prevalece é a de Néel-Brown, enquanto, para diâmetros maiores que 28nm, prevalece a relaxação de Brown. Para os nossos estudos, a relaxação Browniana não é relevante. Então, nos preocuparemos apenas com a relaxação de Néel

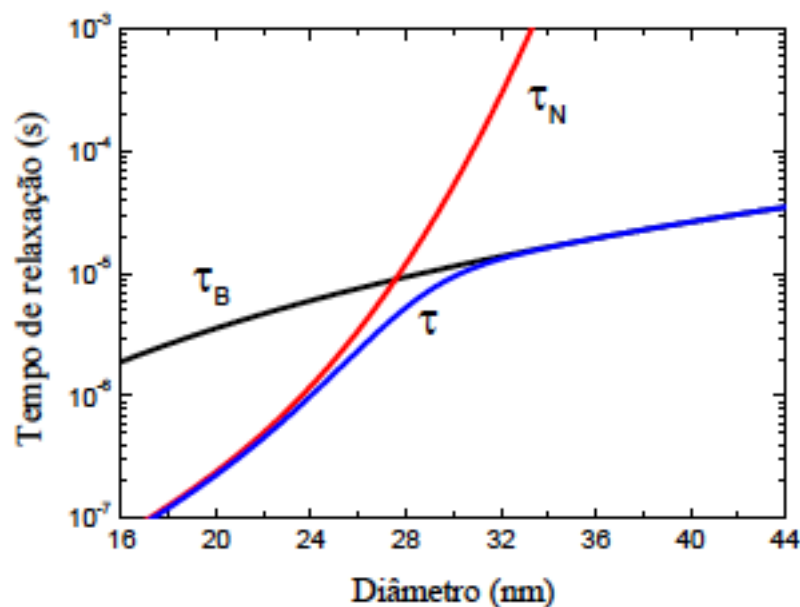


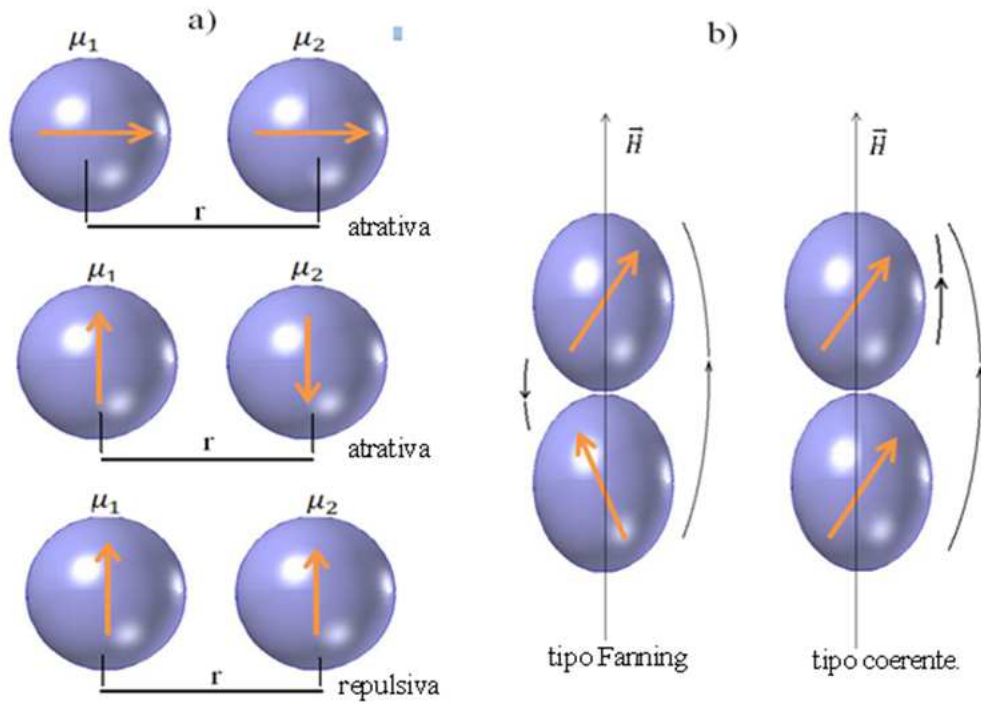
Figura 3.7 : Tempo de relaxação em função do diâmetro para nanopartículas magnéticas.

### 3.7 Efeito da Interação Dipolar na Anisotropia Magnética

O estudo da interação entre nanopartículas em um fluido magnético e a formação de estruturas auto-organizadas, como cadeias lineares, é importante para o entendimento do efeito dessas estruturas em vários processos físicos e biológicos, incluindo a magnetohipertermia [74]. Em particular, Bakuzis e Branquinho et al. mostraram que a anisotropia magnética aumenta com a interação dipolar entre nanopartículas formando cadeias lineares [30,75]. Como a resposta da magnetização ao campo magnético depende da anisotropia é fundamental entender como incluir este efeito.

A interação magnética entre duas partículas com mesmo momento magnético  $\vec{\mu}$  pode ter duas configurações: atrativa e repulsiva dependendo da orientação de seus dipolos (figura 3.8).

Note que há dois processos básicos de rotação da magnetização quando tem-se uma cadeia linear de agregados sob ação de campo magnético aplicado. Considerando um dímero, cadeia linear com duas partículas, temos a rotação do tipo fanning onde os momentos magné-



**Figura 3.8 :** (a) Diagrama de interações atrativa e repulsiva e (b) Representação esquemática de dímeros com rotações tipo Fanning e Coerente.

tipos das partículas adjacentes giram em direções opostas, e do tipo coerente onde assume-se que os momentos magnéticos das partículas estão todos na mesma direção. Veja diagrama na figura (3.8).

Na configuração coerente, temos um dímero com momentos magnéticos sempre paralelos. Se as partículas idênticas tem diâmetros  $D_p$  e estão separadas centro a centro de  $r = D_p + d_{ss}$ , onde  $d_{ss}$  é a distância superfície-superfície das partículas, a energia de interação dipolar entre partículas com momentos magnéticos iguais,  $\vec{\mu} = \vec{\mu}_1 = \vec{\mu}_2$ , é dada por:

$$\begin{aligned}
 U_{Coe} &= -\frac{\mu_o \vec{\mu}_1}{4\pi r^3} [3(\vec{\mu}_2 \cdot \hat{r}) \hat{r} - \vec{\mu}_2] \\
 &= -\frac{\mu_o}{4\pi (D_p + d_{ss})^3} [3\mu^2 \cos^2 \theta - \mu^2]
 \end{aligned} \tag{3.163}$$

onde  $\hat{r}$  é o vetor que aponta na direção que une as duas partículas centro a centro,  $\theta$  é ângulo entre o momento magnético e o eixo maior do aglomerado. Ao dividir a energia pelo volume do dímero, ou seja,  $2V_p$ , teremos então a contribuição do termo dipolar para a densidade de

energia por partícula, que fica da forma

$$E_{Coe} = \frac{\mu_o}{4\pi} \frac{3V_p M_S^2}{2(D_p + d_{ss})^3} \text{sen}^2\theta - \frac{\mu_o}{4\pi} \frac{V_p M_S^2}{(D_p + d_{ss})^3} \quad (3.164)$$

No caso de rotações do tipo fanning, a energia de um dímero nesta situação é dada por:

$$\begin{aligned} U_{Fann} &= \frac{\vec{\mu}_1}{r^3} [3(\vec{\mu}_2 \cdot \hat{r})\hat{r} - \vec{\mu}_2] \\ &= -\frac{1}{(D_p + d_{ss})^3} [3\mu^2 \cos^2\theta - \mu^2 \cos 2\theta] \end{aligned} \quad (3.165)$$

Procedendo de maneira análoga a da anterior, ao dividirmos pelo volume do dímero  $2V_p$ , a densidade de energia na interação tipo fanning é dada por

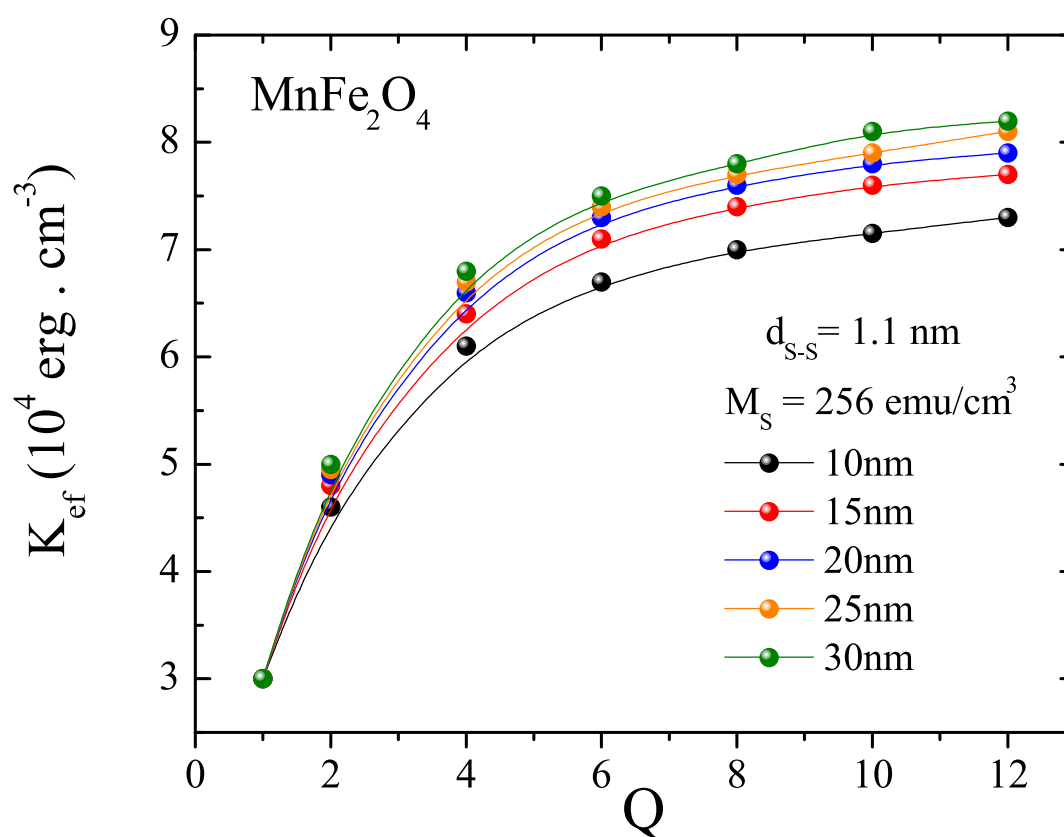
$$E_{Fann} = \frac{\mu_o}{4\pi} \frac{V_p M_S^2}{2(D_p + d_{ss})^3} \text{sen}^2\theta - \frac{\mu_o}{4\pi} \frac{V_p M_S^2}{(D_p + d_{ss})^3} \quad (3.166)$$

Note que em ambos os casos, há uma contribuição uniaxial à densidade de energia do sistema.

Esta abordagem pode ser generalizada para o caso de uma cadeia contendo  $Q$  partículas. Esta contribuição de anisotropia efetiva pode ser generalizada [30, 75] e escrita da forma

$$K_{ef} = \frac{\pi M_S^2}{6} \frac{1}{\left(1 + \frac{d_{ss}}{D_p}\right)^3} \left( \sum_{i=\text{impar}}^Q \frac{Q-i}{i^3} + 3 \sum_{i=\text{par}}^Q \frac{Q-i}{i^3} \right) \quad (3.167)$$

Neste caso, percebe-se claramente um aumento da anisotropia efetiva da amostra quanto maior for a cadeia de agregados nela contida. Uma análise sobre a constante de anisotropia efetiva  $K_{ef}$  para o caso fanning pode ser vista no gráfico da figura (3.9).



**Figura 3.9** : Anisotropia magnética efetiva em função do número de partículas na cadeia. Observa-se também a saturação da anisotropia efetiva para um maior número de partículas e um comportamento similar pra partículas de grandes tamanhos. Simulação consierando o caso Fanning

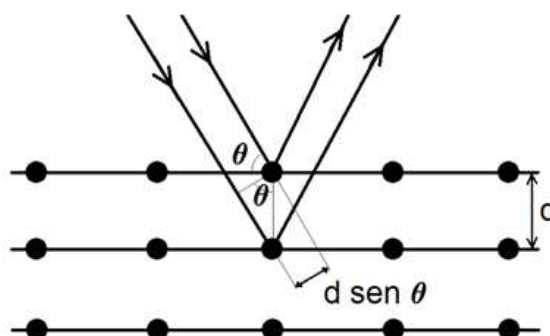
# Capítulo 4

## Metodologia Experimental

### 4.1 Difração de Raios - X

A difração de raios-x (DRX) é baseada no fenômeno de difração. Este fenômeno ocorre quando as ondas eletromagnéticas interagem com fendas na rede cristalina da mesma ordem de grandeza de seu comprimento de onda.

Nos sistemas cristalinos, que possuem estrutura organizada, os feixes de raio-x que são espalhados, sofrem interferências muito características (figura 4.1). Formando assim um padrão de interferências construtivas e destrutivas, capaz de informar sobre várias características qualitativas e quantitativas da amostra. O objetivo principal desta técnica neste trabalho é mostrar que as amostras que foram usadas são mesmo ferritas.



**Figura 4.1 :** Diagrama ilustrativo da diferença de caminho de feixes de raio-x sobre um cristal.

A formação do padrão de interferências características se dá ao fato da amostra mudar seu ângulo com relação aos feixes de raio-x. Fazendo isso, é possível que os feixes sejam

espalhados por todos os planos cristalinos da amostra, e então obter o padrão de difração da amostra e informações sobre sua estrutura cristalina.

Para que haja interferências construtivas, a condição que deve ser obedecida é dada pela lei de Bragg

$$2d \operatorname{sen}\theta = n\lambda \quad (4.1)$$

onde  $\lambda$  é o comprimento de onda de Raios-X,  $d$  a distância entre os planos cristalinos,  $\theta$  o ângulo de incidência e  $n$  é um número inteiro positivo. Esta técnica não dá informação apenas sobre a estrutura cristalina do material, ela também nos permite determinar o tamanho médio do cristalito, ou no nosso caso, o tamanho médio da partícula. O diâmetro médio extraído da DRX é dado pela relação de Scherrer (4.2)

$$D_{RX} = \frac{0,93\lambda}{\Delta \cos \theta'} \quad (4.2)$$

sendo  $\Delta$  a largura a meia altura do pico, a qual é corrigida com base em um padrão do silício da seguinte forma:  $\Delta = \sqrt{\Delta_{sample}^2 - \Delta_{sil}^2}$ , com  $\Delta_{sample}$  sendo a largura a meia altura do pico mais intenso da amostra e  $\Delta_{sil}$  a largura a meia altura do pico mais intenso do silício, ambos calculados em radianos.

Neste trabalho, utilizou-se um difratômetro modelo SHIMADZU XDR-6000, da central Analítica do Instituto de Química da UFG, que utiliza radiação  $Cu - K_{\alpha 1}$  de comprimento de onda 1,5406 Angstrom, a 40 kV e 30,0 mA, em uma varredura de  $10^\circ$  a  $80^\circ$  em passos de  $0,02^\circ$  e duração de 3 s.

## 4.2 Magnetometria

A magnetometria é uma técnica muito poderosa para a investigação de sistemas magnéticos. Esta técnica permite, por meio da análise das curvas de magnetização, obter informações sobre a quantidade de partículas por unidade de volume, ou seja, a fração volumétrica de nanopartículas magnéticas de uma suspensão coloidal de nanopartículas magnéticas (ferrofluidos), entre outras. Esta é uma boa aproximação para o objetivo de nosso estudo mesmo sabendo que

as curvas de magnetização são um pouco mais complexas do que parecem ser mostradas neste trabalho. Necessitando as mesmas de um ajuste teórico considerando a função de Langevin de primeira ordem, diâmetro modal e a polidispersão da amostra.

Medidas de magnetização podem ser realizadas basicamente por três métodos distintos: métodos indutivos, através de força magnética quando um material é submetido a um gradiente de campo magnético ou mesmo via propriedade intrínseca do material tal como efeito Hall, magneto-resistência [76].

Um exemplo de método indutivo é o desenvolvido por Foner em 1955 [77] o Magnetômetro de Amostra Vibrante (Vibrating Sample Magnetometer, VSM) que é provavelmente um dos equipamentos mais usados nos laboratórios de pesquisa, caracterizando-se pela sua boa performance, baixo custo e simplicidade de funcionamento.

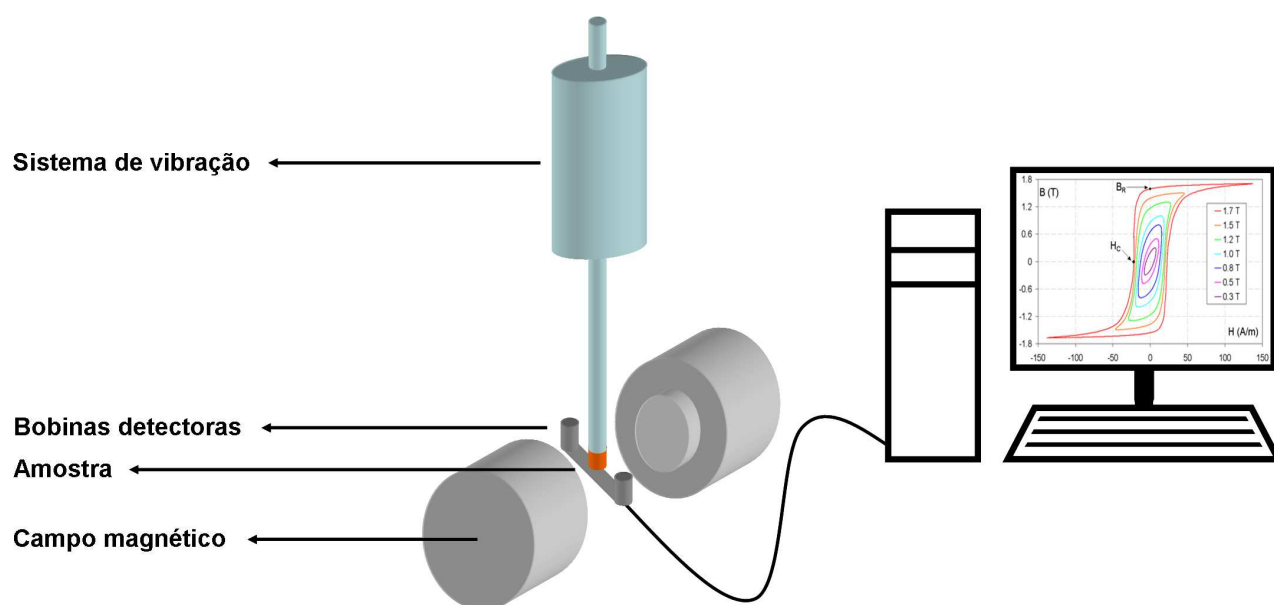
Na Fig.(4.2) mostramos um diagrama do VSM. Fazendo uma amostra vibrar à frequência  $f$ , induzir-se-á uma voltagem alternada nas bobinas de detecção. Esta voltagem é dada por

$$V = \sigma GA 2\pi f \cos(2\pi ft) \quad (4.3)$$

onde  $\sigma$  é o momento magnético da amostra,  $G$  é função da geometria das bobinas de detecção e  $A$  a amplitude de vibração da amostra.

A amostra é fixada na extremidade de uma haste rígida, enquanto a outra extremidade da haste é fixada à membrana de um alto-falante ou a um motor com um sistema de polias ou engrenagens. Vale a pena destacar dois detalhes: um deles é que a medida de magnetização feita com o deslocamento da amostra permite eliminar outras contribuições que não as oriundas da amostra; o segundo é que a medida é realizada com o auxílio de detecção síncrona com o uso de um amplificador lock-in, o que proporciona um grande aumento de sensibilidade, pois este componente capta apenas o sinal de interesse para a medida, suprimindo o efeito de ruídos ou interferência de componentes ativos [77].

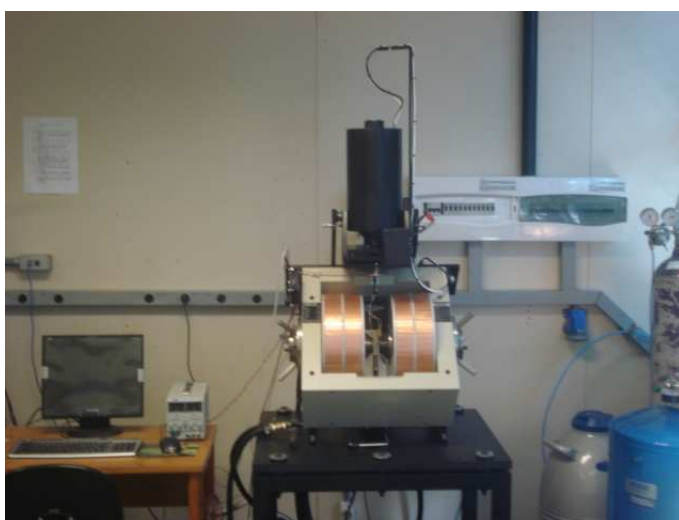
As figuras (4.3) e (4.4) mostram o magnetômetro utilizado em nossos experimentos. Este VSM é o modelo EV9 fabricado pela empresa ADE-MAGNETICS. A precisão das medi-



**Figura 4.2 :** Diagrama esquemático da Magnetometria de Amostra Vibrante (VSM - Sigla em inglês)

das deste VSM é de  $10^{-6}$  emu. As bobinas são resfriadas a água e podem atingir um campo magnético de até 2T.

À temperatura ambiente uma fração considerável das nanopartículas magnéticas podem encontrar-se no regime superparamagnético (SP). Torna-se importante, então, discutir a curva de magnetização deste sistema.



**Figura 4.3 :** Magnetômetro de amostra vibrante do laboratório de Magnetometria do Instituto de Física da UFG. Figura 1



**Figura 4.4** : Magnetômetro de amostra vibrante do laboratório de Magnetometria do Instituto de Física da UFG. Figura 2

#### 4.2.1 Cálculo da Fração Volumétrica de NPMs

Em um sistema superparamagnético, o comportamento da curva de magnetização é uma Langevin de primeira ordem como na equação (4.4)

$$M_{vsm} = \phi M_s^b L(\xi) \quad (4.4)$$

Na saturação, ou seja, quando o campo magnético é muito grande podemos afirmar que a Langevin tende a um valor unitário ( $L(\xi) \rightarrow 1$ ). Logo

$$M_{vsm} = \phi M_s^b \quad (4.5)$$

Esta última equação nos fornece uma relação para o cálculo da fração volumétrica de nanopartículas magnéticas diretamente de (4.5). Logo

$$\phi = \frac{M_{vsm}}{M_s^b} \quad (4.6)$$

onde  $M_s^b$  a magnetização de saturação do material bulk e  $M_{vsm}$  é o valor da magnetização de saturação da amostra medida no VSM. Neste caso as magnetizações estão em unidade de emu/cm<sup>3</sup>. Muitas vezes é mais fácil trabalhar em emu/g. Neste caso podemos tratar como exposto a seguir.

As curvas de magnetização que medimos no VSM são dadas em unidades de momento magnético (emu). Ao dividirmos pela massa total da amostra obtém-se curva de magnetização em unidades de emu/g. Note que a equação (4.6) pode ser usada desde que os valores de magnetização estejam em emu/cm<sup>3</sup>. Logo, para extrairmos a fração volumétrica de nosso sistema devemos proceder da seguinte forma. Lembrando que o momento magnético médio da amostra é dado por

$$\langle \mu \rangle = N \mu_p L(\xi) \quad (4.7)$$

onde  $N$  e  $\mu_p$  são o número total de partículas e o momento magnético de uma partícula, se dividimos (4.7) pela massa total obtém-se

$$\frac{\langle \mu \rangle}{m_T} = \frac{1}{m_T} \times N \mu_p L(\xi) \quad (4.8)$$

Na equação (4.8) podemos identificar os valores de magnetização da amostra ( $M_{vsm}$ ) em emu/g, ou seja, pode-se escrever esta equação como

$$M_{vsm} = \frac{1}{m_T} \times N \mu_p L(\xi) \quad (4.9)$$

Para avaliarmos os dados medidos em termos de valores conhecidos, multiplicamos e dividimos o segundo membro pela massa da partícula ( $m_p$ ). Logo,

$$M_{vsm} = \frac{m_p}{m_T} \times \frac{\mu_p}{m_p} N L(\xi) = \frac{m_p}{m_T} \times M_p N L(\xi) \quad (4.10)$$

sendo agora  $M_p$  a magnetização da partícula em unidades de emu/g.

Utilizando a relação entre massa e densidade dada por  $m = \rho v$  podemos escrever (4.10) da forma

$$M_{vsm} = \frac{\rho_p v_p}{\rho_T v_T} \times N M_p L(\xi) = \frac{N v_p}{v_T} \times M_p L(\xi) \times \frac{\rho_p}{\rho_T} = \phi M_p L(\xi) \times \frac{\rho_p}{\rho_T} \quad (4.11)$$

onde  $\phi$  é a fração volumétrica de partículas magnéticas dada por

$$\phi = \frac{N v_p}{v_T} \quad (4.12)$$

Como já dito anteriormente, a amostra medida é composta por nanopartículas magnéticas de maghemita e do líquido carreador (água). Então, a densidade total da amostra pode ser escrita em termos da fração volumétrica de nanopartículas magnéticas e das densidades da partícula e do líquido carreador de forma que

$$\rho_T = \phi\rho_p + (1 - \phi)\rho_c = \rho_c + \phi(\rho_p - \rho_c) \quad (4.13)$$

No caso de  $\phi \ll 1$  o termo  $\phi(\rho_p - \rho_c) \approx 0$ . Então, podemos escrever (4.13) como

$$\rho_T \approx \rho_c \quad (4.14)$$

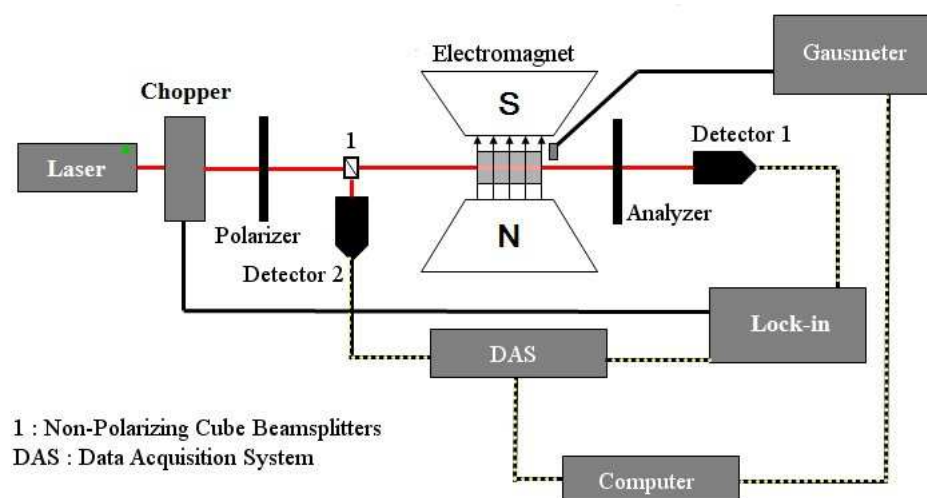
Em condições de alto campo magnético aplicado, a função de Langevin  $L(\xi) \rightarrow 1$ . Então, substituindo (4.14) e isolando  $\phi$  em (4.11) temos

$$\phi = \frac{M_{vsm}}{M_p} \times \frac{\rho_c}{\rho_p} \quad (4.15)$$

Na equação (4.15) temos a fração volumétrica em termos das magnetizações de saturação da amostra e da partícula em emu/g. Para estes cálculos utilizamos a densidade do líquido carreador  $\rho_c = 1g/cm^3$ , a densidade das ferritas de manganês, amostras utilizadas neste trabalho,  $\rho_p = 5,0g/cm^3$ .

## 4.2.2 Birrefringência Magnética Estática

O diagrama de bloco para aplicação da técnica de birrefringência magnética consiste, basicamente, de uma luz (um laser, com comprimento de onda  $\lambda = 632nm$ ) que passa por um modulador (chopper), atravessando posteriormente um polarizador, em seguida o feixe é subdividido em dois ao passar por um separador de feixes que mantém a polarização da luz incidente. Um sinal de referência é obtido no detector 2 que está acoplado a um sistema de aquisição de dados. O outro feixe incide sobre a amostra, passa pelo analisador alcançando enfim o detector 1 (ambos os detectores são da marca OPTRON FT850-3) que envia um sinal ao amplificador lock-in que usa a frequência do chopper como referência (vide figs 4.5 e 4.6).



**Figura 4.5 :** Diagrama de bloco das medidas de birrefringência magnética estática.



**Figura 4.6 :** Equipamento de BME do Laboratório de Magnetoóptica IF-UFG.

Nesta montagem a direção de propagação do feixe de luz do laser e o campo magnético aplicado encontram-se perpendiculares entre si. Também, os eixos do polarizador são posicionados perpendiculares entre si, de modo que na ausência da amostra não há detecção de qualquer sinal, já que de acordo com a lei de Malus

$$I_p = I_a \cos^2 \beta \quad (4.16)$$

sendo  $I_p$  e  $I_a$  as intensidades de luz que saem do polarizador e analisador, respectivamente e  $\beta$  o ângulo entre os planos de polarização dos mesmos, ou seja, para  $\beta = \pi/2$ ,  $I_p = 0$ . Dessa maneira, quando a amostra é colocada entre os polarizadores, caso seja birrefringente, há uma

rotação do eixo de polarização da luz ao atravessar a amostra permitindo que um sinal seja detectado.

Para esse tipo de montagem, desconsiderando possíveis efeitos de dicroísmo, a intensidade do sinal que atinge o analisador varia com a birrefringência da amostra na forma

$$I = I_o \text{sen}^2(2\nu) \text{sen}^2\left(\frac{\pi l}{\lambda} \Delta n\right) \quad (4.17)$$

onde  $I_o$  é a intensidade do sinal incidente,  $l$  a espessura do porta amostras,  $\lambda$  o comprimento de onda do laser,  $\Delta n$  a birrefringência do material da amostra e  $\nu$  o ângulo entre o analisador e o campo magnético aplicado. Em nossa configuração  $\nu = \pi/4$ .

### 4.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão - TEM

Na realização deste trabalho, foi utilizado a microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HR-TEM). Esta técnica permite que possamos extrair informações como o tamanho da partícula e a poilidispersão do sistema de partículas. Além disso, foi possível através desta técnica fazer micrografias dos lipossomos brancos com partículas encapsuladas no seu interior. O equipamento utilizado está no Laboratório de Microscopia do Instituto de Física da UFG (LabMic / IF-UFG), tendo o mesmo as seguintes especificações: 200 KV e resolução de 2,5 Anrgstron. O modelo é um JEOL - 2100, equipado com EDS e Thermo Scientific (Figura 4.7).



**Figura 4.7 :** TEM do LabMic IF-UFG.

## 4.4 NanoSight - NTA

A análise de localização de partículas (NTA - Nanoparticle Tracking Analysis) é um método usado para a análise e visualização direta e em tempo real de nanotransportadores em meio líquido baseado no movimento Browniano destas e nas suas propriedades de dispersão de luz. Este método permite analisar partículas com tamanhos entre os 10 nm e os 2000 nm. O movimento Browniano realizado por estas partículas é avaliado em tempo real por uma câmara digital científica, em que cada partícula é visualizada e monitorada (rastreada) por um software de análise e monitorização de imagem [78]. A visualização das partículas da amostra é possível devido à dispersão da luz quando iluminada por um laser. A intensidade de luz dispersa pelos nanotransportadores é captada por uma câmara de vídeo e o movimento das partículas é monitorado frame a frame. Neste método a taxa de movimento das partículas está relacionada com o raio hidrodinâmico equivalente a uma esfera, calculado através da equação de Stokes-Einstein. Este método permite calcular o tamanho da partícula, a concentração da população de partículas e o potencial zeta. O cálculo do tamanho das partículas é realizado partícula a partícula. A distância média percorrida por cada partícula (no eixo x e y) é calculada automaticamente. A partir deste valor, é possível calcular o coeficiente de difusão de partículas ( $D_t$ ), identificar a viscosidade do solvente ( $\eta$ ) e o diâmetro hidrodinâmico ( $d$ ) e conhecer a temperatura da amostra ( $T$ ). Uma vez que o movimento browniano das partículas é feito em 3 dimensões, o tamanho das partículas é calculado através da análise em 2 dimensões com o uso de uma variação da equação de Stokes-Einstein, (4.18), onde  $K_B$  é a constante de Boltzmann [78].

$$\frac{[\overline{(x, y)}]^2}{4} = D_t = \frac{K_B T}{3\pi\eta d} \quad (4.18)$$

Este software permite visualizar as nanopartículas em tempo real, analisar partícula a partícula, contar e medir o tamanho das partículas e fornece histogramas das distribuições de tamanho das partículas analisadas (nomeadamente um ficheiro com os dados retirados da análise e o vídeo dessa mesma análise). A Figura (4.8) mostra o equipamento e uma imagem

exemplo do modo de visualização de nanopartículas em tempo real.



**Figura 4.8** : Equipamento NanoSight NS500, à esquerda, e à direita uma imagem feita pelo software NTA Software Suite referente a visualização da população de uma amostra em análise

## 4.5 Magnetohipertermia - MH

A eficiência de aquecimento de fluidos e materiais magnéticos é quantificada pela potência específica dissipada (SLP - Specific Loss Power), definida como a potência térmica dissipada por unidade de massa do material quando está sob ação de campo magnético AC. O SLP de uma amostra é dado experimentalmente por [79]:

$$SLP = \frac{\rho_a c_a}{1000 \rho_p \phi_m} \left( \frac{dT}{dt} \right)_{t \rightarrow 0} \quad (4.19)$$

onde  $\rho_a = 1000 \text{ kg/m}^3$  é a densidade do carreador (água),  $c_a = 4190 \text{ J/kg.K}$  é o calor específico da água,  $\rho_p = 5000 \text{ kg/m}^3$  é densidade da partícula e  $\phi_m$  é fração volumétrica magnética. Utilizar a inclinação inicial da curva  $T \times t$  fornece uma estimativa mais real do SLP em unidade de W/g, pois perdas iniciais ainda são desprezíveis e a distribuição de temperatura dentro da amostra ainda é mais homogênea [79, 80].

O equipamento de MH permite que possamos extrair curvas de temperatura versus tempo, com intuito de calcular o SLP de cada amostra. O equipamento aqui utilizado é o modelo Nanotherics fabricado pela empresa Magnetherm TM do Laboratório de Física Térmica do IF-UFG (Figura 4.9).



**Figura 4.9** : Equipamento do sistema de Magnetohipertermia do Laboratório de Medicina Térmica do IF-UFG.

Uma síntese das técnicas utilizadas neste trabalho, seus objetivos e recursos experimentais (equipamentos e laboratórios) está apresentada na Tabela (4.1).

Relação de Equipamentos Utilizados nesta Tese				
Técnica	Função	Modelo	Empresa	Local da Medida
DRX	Avaliar a estrutura cristalina das partículas	XDR 600	Shimadzu Japão	IQ - UFG
TEM	Análise morfológica mais distribuição de tamanhos das partículas	JEOL - 2100, 200 KV, Resolução 2,5 Anrgstron	JEOL	LabMic IF-UFG
VSM	Análise das propriedades magnéticas das nanopartículas bem como a concentração do material magnético	EV9 - Campo de até 2T	ADE Magnetics	Laboratório de Magnetometria e Magnetotransporte IF-UFG
NTA	Análise da distribuição de tamanhos dos liposmos e de sua concetração	NanoSight NS500	Malvern	Lab. Nanotecnologia e Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos FF-UFG
BME	Análise de propriedades magnetoópticas. Avalia a auto-organização de estruturas magnéticas na suspensão coloidal	Equipamento construído no Laboratório de Nanodots Magnéticos	Grupo de Nanodots Magnéticos	Laboratório de Magnetoóptica IF-UFG
MH	Avaliar a capacidade magnetotérmica das amostras sob ação de campo magnético alternado	Magnetherm TM $f = 100 \sim 900$ KHz com $H_o \leq 300$ Oe	Nanotherics	Laboratório de Medicina Térmica IF-UFG

**Tabela 4.1** : Relação de equipamentos utilizados nesta Tese.

# Capítulo 5

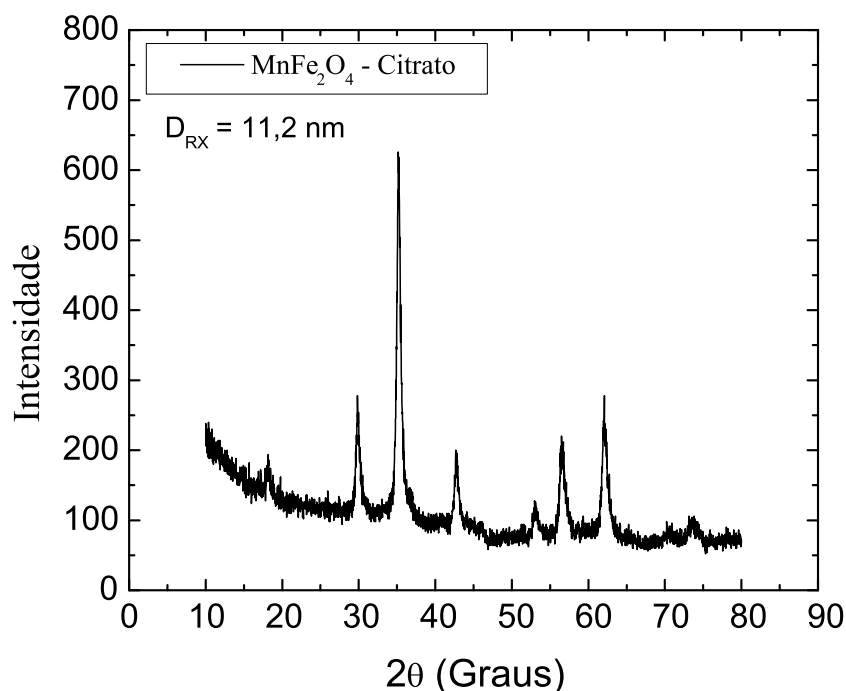
## Caracterizações das Amostras

Para este trabalho foram utilizadas uma amostra de fluido magnético e lipossomos com partículas magnéticas encapsuladas pelo método de extrusão. A amostra magnética é um fluido magnético com nanopartículas de ferrita de manganês recobertas com citrato ( $MnFe_2O_4$ ) e suspensas em água, em pH fisiológico. A amostra de fluido magnético foi sintetizada pelo doutorando Nicholas Zufelato do grupo de Nanodots Magnéticos da UFG coordenado pelo professor Dr. Andris F. Bakuzis. As amostras de lipossomos com partículas encapsuladas foram preparadas pela equipe da Faculdade de Farmácia (FF-UFG), composta pelos alunos de doutorado Marilisa Gaeti e Emílio Ramos Cintra, coordenada pela professora Dra Eliana Martins Lima. Neste capítulo apresentaremos as características e caracterizações destas amostras e os parâmetros relevantes para avaliação de nossos resultados.

### 5.1 Fluido Magnético

#### 5.1.1 Difração de Raios X

O difratograma de Raios-X da figura (5.1) revela que a amostra é uma ferrita, com estrutura cristalina do tipo espinélio, e diâmetro médio do cristalito de 11,2 nm.



**Figura 5.1** : DRX da amostra Mn 29-01-2014

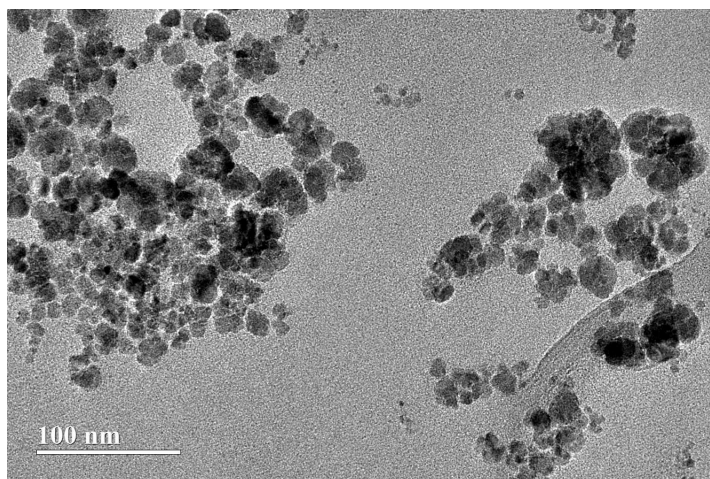
### 5.1.2 Caracterização Morfológica - TEM

A maneira mais simples, porém, muito eficiente de obter a forma e as dimensões das nanopartículas é utilizando a técnica Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM). Em sua maioria, as amostras são preparadas diluindo (tipicamente na ordem 1:2000) e secando o fluido magnético em um porta amostra coberto por uma membrana de carbono. Em se tratando de partículas esféricas, os histogramas são obtidos medindo-se os diâmetros, por meio de um software adequado, de um certo número grande de nanopartículas nas imagens obtidas por microscopia. Os parâmetros relevantes que nos fornecem perfis de tamanho das nanopartículas são obtidos utilizando o procedimento padrão da literatura que consiste em ajustar o histograma de distribuição de tamanhos com a distribuição lognormal [81–83] descrita pela equação (5.1).

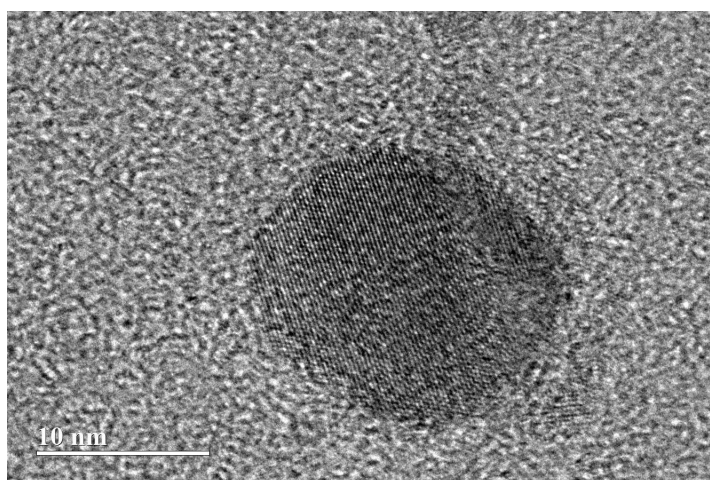
$$P(D) = \frac{\exp(-\sigma^2/2)}{\sqrt{2\pi}\sigma D_M} \exp\left[-\frac{\ln^2(D/D_M)}{2\sigma^2}\right] \quad (5.1)$$

Nesta equação,  $\sigma$  é a dispersão e  $D_M$  é o diâmetro médio de TEM da amostra. As medidas de TEM foram realizadas no LabMic - UFG. O microscópio utilizado foi um Jeol JEM-2100,

operando a 300KV, com resolução de  $1,7\text{\AA}$ . As figuras (5.2 e (5.3)) apresentam imagens de micrografia da amostra utilizada. As imagens de TEM do fluido magnético utilizado em nossos estudos indicam que as nanopartículas são aproximadamente esféricas (vide figura 5.3).

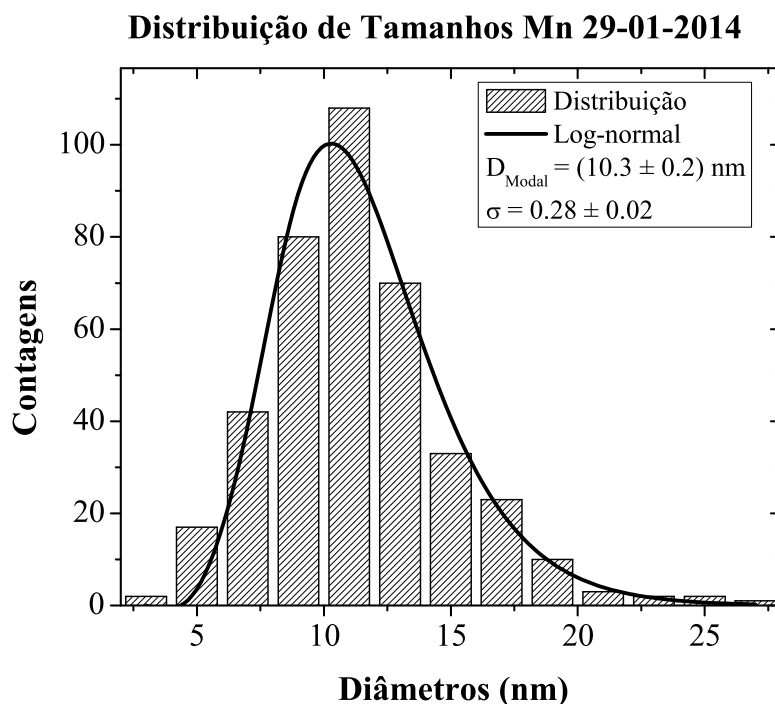


**Figura 5.2** : Imagem de TEM feita no Laboratório de Microscopia da UFG, Labmic. A barra de escala é de 100 nm



**Figura 5.3** : Imagem de TEM feita no Laboratório de Microscopia da UFG, Labmic. A barra de escala é de 10 nm

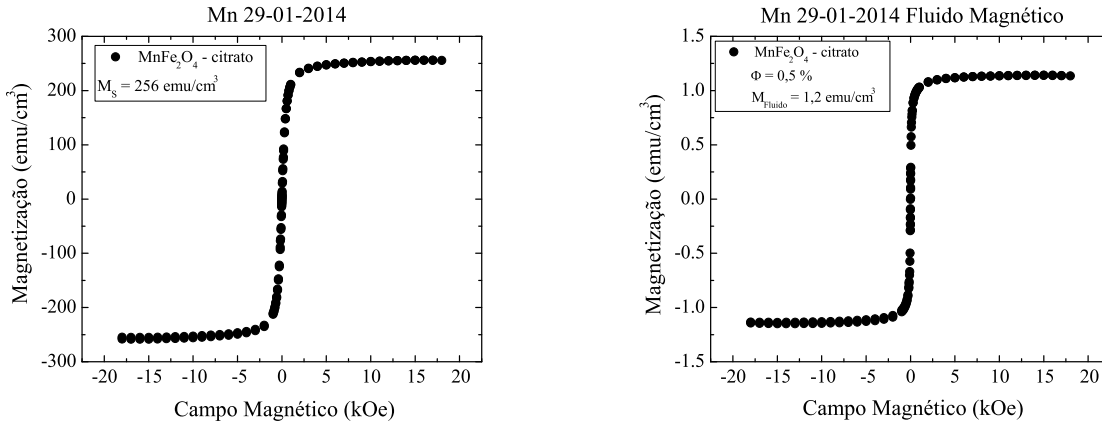
Por meio do ajuste numérico do histograma da distribuição de tamanhos (figura 5.4), utilizando a função lognormal (5.1) foi possível obter o valor do diâmetro modal de  $D_M = (10.3 \pm 0, 2)\text{nm}$  e a polidispersão de  $\sigma = 0, 28 \pm 0, 02$ . Esta informação, por sua vez, é fundamental para as análises dos dados de Magnetometria (VSM) e de Birrefringência Magnética Estática (BME).



**Figura 5.4** : Distribuição de tamanhos através de imagens de TEM. A linha escura corresponde ao ajuste pela função lognormal

### 5.1.3 Caracterização Magnética - VSM

A técnica de VSM nos dá informações sobre a concentração de partículas magnéticas no meio, fração volumétrica e susceptibilidade de equilíbrio. As figuras em (5.5) são as curvas de magnetização do pó e do fluido magnético da amostra Mn 29-01-2014, respectivamente. Pelas análises das curvas de magnetização, a amostra apresenta as seguintes características: magnetização de saturação  $M_S = 256 \text{emu/cm}^3$  e magnetização específica de  $51.2 \text{emu/g}$ ; magnetização do fluido  $M_f = 1,2 \text{emu/cm}^3$  e magnetização específica de  $1,2 \text{emu/g}$ , o que implica em uma fração volumétrica magnética de  $\phi = 0,5\%$  e número de partículas por volume de  $7 \times 10^{15}$  Part/ml.



**Figura 5.5 :** VSM do pó da amostra e do fluido amostra Mn 29-01-2014, respectivamente

Cabe aqui fazer um comentário sobre a obtenção da magnetização da partícula. É de conhecimento na literatura que a magnetização da partícula pode ser alterada por efeitos de superfície. A magnetização de uma partícula magnética é dada de fato por

$$M_p = f_c M_s^b + (1 - f_c) M_s^s \quad (5.2)$$

onde  $M_s^b$  e  $M_s^s$  são as magnetizações da ferrita bulk e da casca, respectivamente, e  $f_c$  é o percentual de caroço (core) com que a partícula é formada. Se a casca (shell) é fracamente magnética, podemos considerar  $M_s^s \approx 0$  o que nos dá a magnetização da partícula da forma

$$M_p \simeq f_c M_s^b \quad (5.3)$$

Considerando a magnetização da ferrita de manganês bulk  $M_s^b = 500 \text{ emu/cm}^3$  e magnetização da partícula  $M_p = 256 \text{ emu/cm}^3$ , obtemos uma fração de core da ordem de

$$f_c = 0,512 \quad (5.4)$$

A fração de core pode ser escrita pela razão entre os volumes do core e do de TEM da forma

$$f_c = \frac{V_c}{V_{TEM}} = \left( \frac{D_c}{D_{TEM}} \right)^3 \Rightarrow \frac{D_c}{D_{TEM}} \simeq 0,8 \quad (5.5)$$

Escrevendo  $D_{TEM} = D_c + 2\delta$  onde  $\delta$  é a espessura da camada de cobertura, chega-se que

$$\delta = 0,1 D_{TEM} \quad (5.6)$$

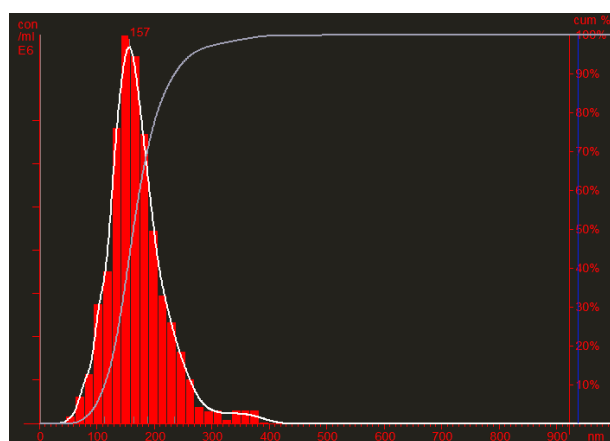
e considerando o diâmetro médio da amostra  $\langle D \rangle = 11,1$  nm, a espessura da casca é da ordem de 1,1 nm

## 5.2 Caracterização dos Magnetolipossomos

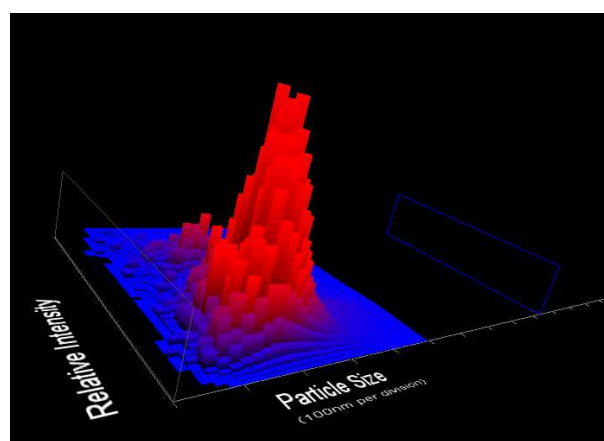
A tabela (5.1) apresenta os dados das amostras de magnetolipossomos obtidos pela técnica de Nanosight (NTA - vide figura 5.6). Esta Tabela relaciona o nome das amostras, o diâmetro médio, a polidispersão PDI e o número de lipossomos por unidade de volume. Estes dados foram utilizados para calcular a fração de nanopartículas magnéticas dentro dos lipossomos, considerando as polidispersões das nanopartículas magnéticas bem como as respectivas polidispersões dos lipossomos.

Dados de NTA dos magnetolipossomos				
Amostras	Amostra	D(nm)	PDI	Part/ml
1	ML 10	183,6	0,494	$1,19 \times 10^{14}$
2	ML 105	178,0	0,176	$1,17 \times 10^{14}$
3	ML 11	170,8	0,191	$1,23 \times 10^{14}$
4	ML 12	180,8	0,342	$1,36 \times 10^{14}$

**Tabela 5.1 :** Características das amostras de Magnetolipossomos.



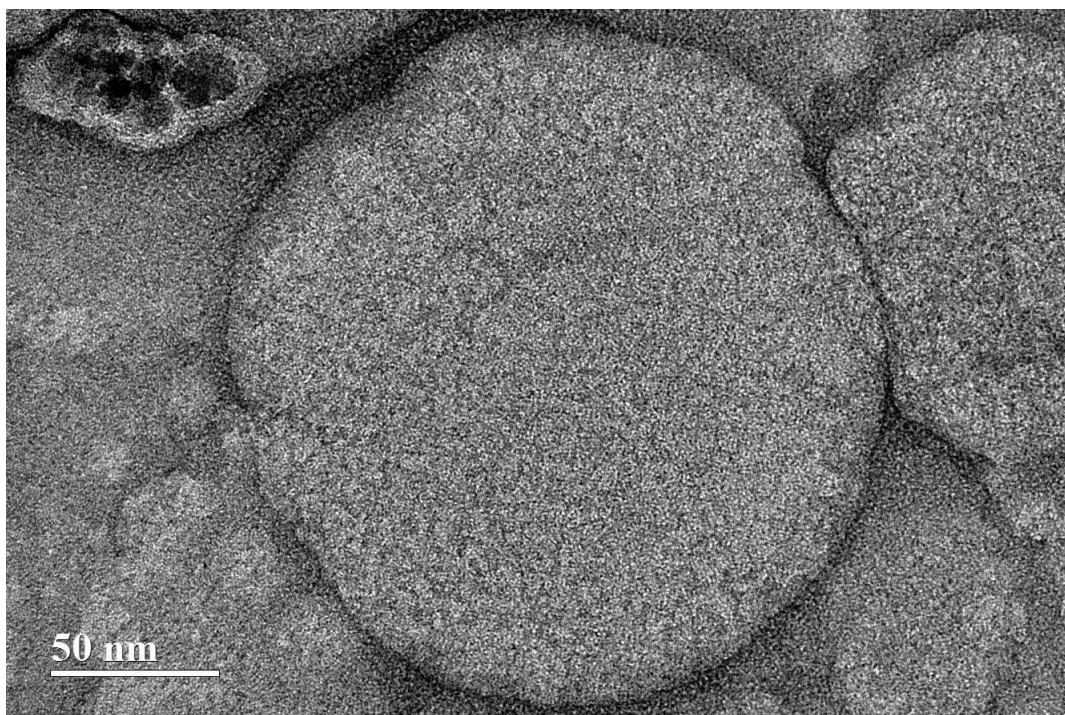
(a) Distribuição de Lipossomos - Dados de NTA.



(b) Distribuição de Lipossomos - Dados de NTA em 3D

**Figura 5.6 :** Distribuição de tamanhos de lipossomos, conforme dados de NTA

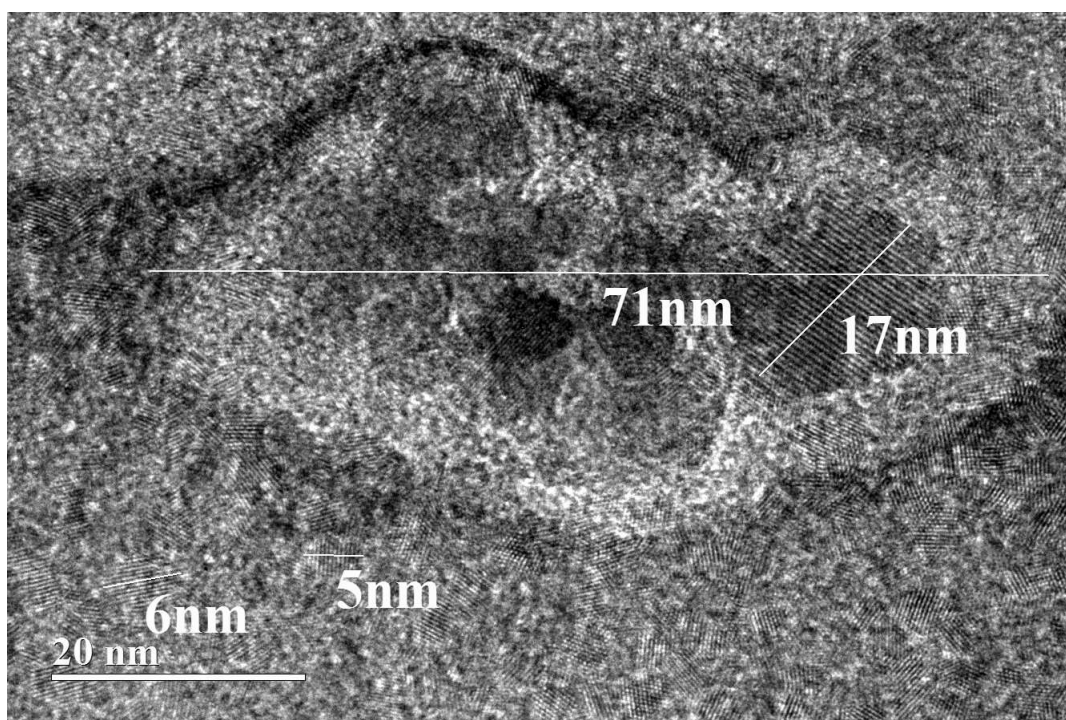
Imagens de TEM de magnetolipossomos foram obtidas afim de conhecer a organização das partículas na estrutura, bem como para averiguar se realmente as partículas estavam encapsuladas. As figuras (5.7) e (5.8) são imagens TEM de magnetolipossomos produzidos pelo método de extrusão. Observe que partículas menores ainda ficam na parte de fora do lipossomo e que partículas maiores estão encapsuladas.



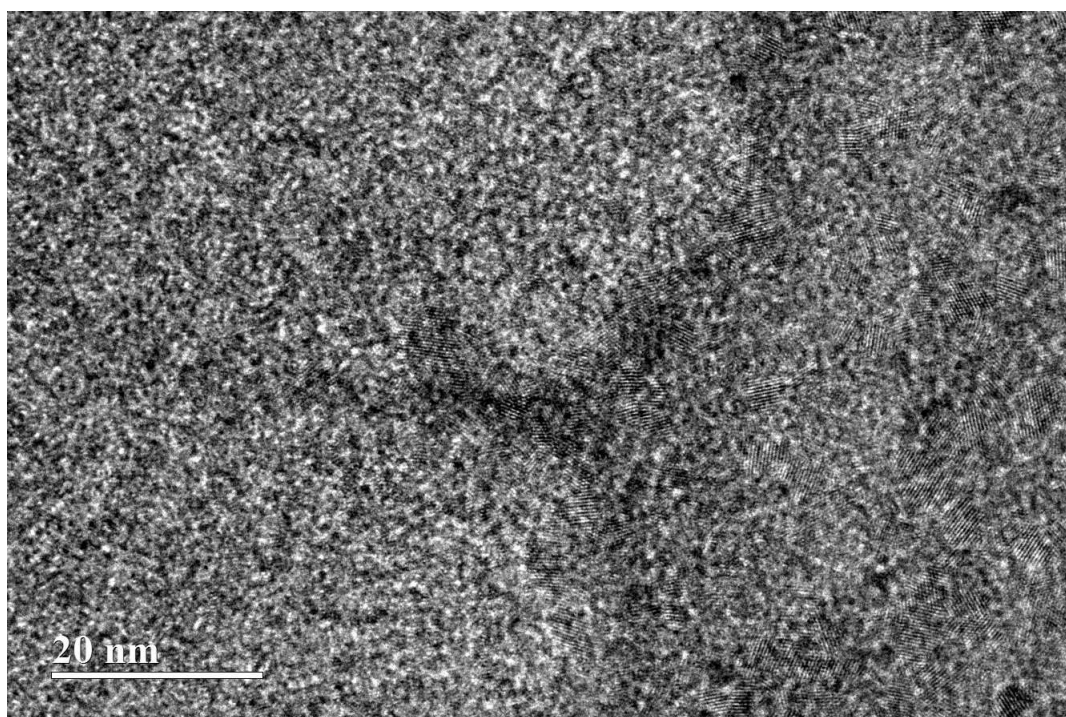
**Figura 5.7 :** Micrografia de um lipossomo. A barra de escala é de 50 nm

Com as micrografias dos lipossomos podemos mostrar que boa parte das partículas menores estão na borda ou na superfície destes lipossomos. Podemos ainda fazer uma distribuição de partículas fora do lipossomo como mostra o gráfico da figura (5.10). A figura (5.10) mostra que fora do lipossomo predominam partículas menores, de diâmetro modal  $D_M = (3,02 \pm 0,06)$  nm e cuja polidispersão é  $\sigma = 0,32 \pm 0,03$ .

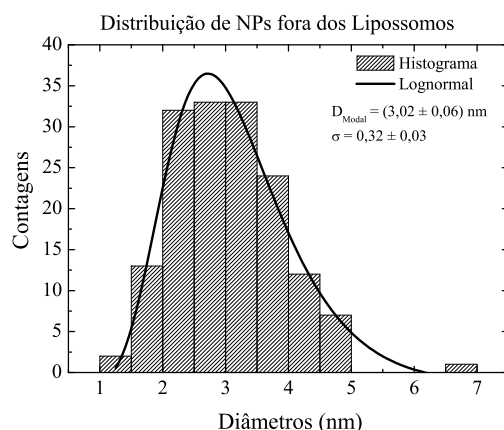
Uma comparação entre a distribuição de partículas fora dos lipossomos com a distribuição de partículas do FM é mostrada na figura (5.11).



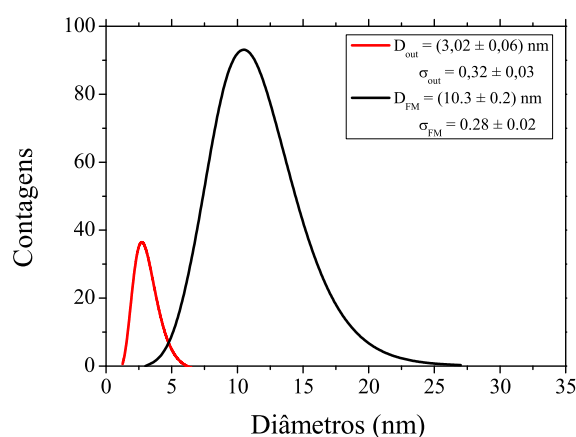
**Figura 5.8 :** Micrografia de um lipossomo com partículas encapsuladas. A barra de escala é de 20 nm



**Figura 5.9 :** Micrografia de um lipossomo com partículas na superfície e fora da vesícula. A barra de escala é de 20 nm



**Figura 5.10 :** Distribuição de tamanhos de partículas fora dos lipossomos. A linha escura corresponde ao ajuste pela função lognormal



**Figura 5.11 :** Comparação entre as distribuições de partículas fora dos lipossomos e fluido magnético

### 5.3 Número de Partículas Encapsuladas por Lipossomo

Para estimar o número de partícula magnéticas por lipossomo (fração volumétrica por lipossomos), fizemos o seguinte procedimento: (a) Medimos a concentração de patículas magnéticas no meio por VSM; (b) Através das micrografias do FM, extraímos o diâmetro e a polidispersão da amostra; (c) Medimos a concentração de lipossomos por mL por NTA, bem como as suas respectivas polidispersões. (d) Em seguida, utilizando estas informações, calculamos a fração volumétrica por lipossomo  $\phi_{inLip}$  pela equação (5.7) dada por:

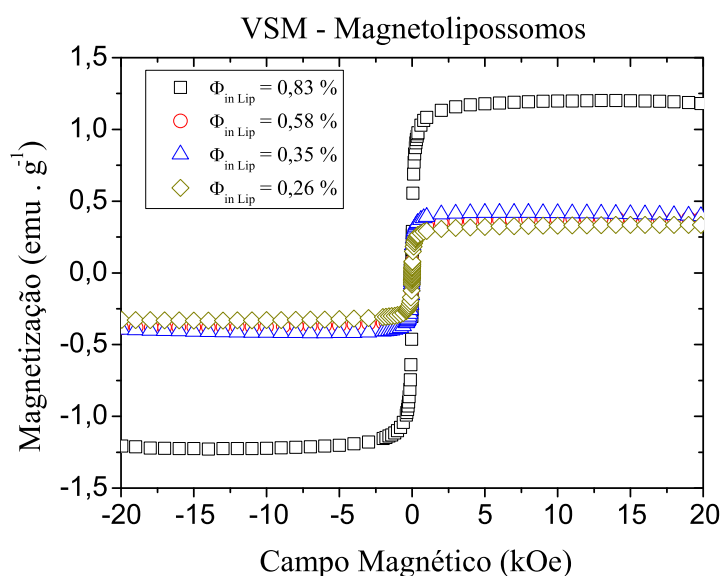
$$\phi_{inLip} = \frac{N_{pm} \langle D_p^3 \rangle}{N_{Lip} \langle D_L^3 \rangle} \quad (5.7)$$

onde  $N_{pm}$  é o número de partículas magnéticas por mL,  $N_{Lip}$  é o número de lipossomos por mL e os termos  $\langle D_p^3 \rangle$  e  $\langle D_L^3 \rangle$  são as médias do diâmetro ao cubo das partículas magnéticas e dos lipossomos, respectivamente, e dados por:

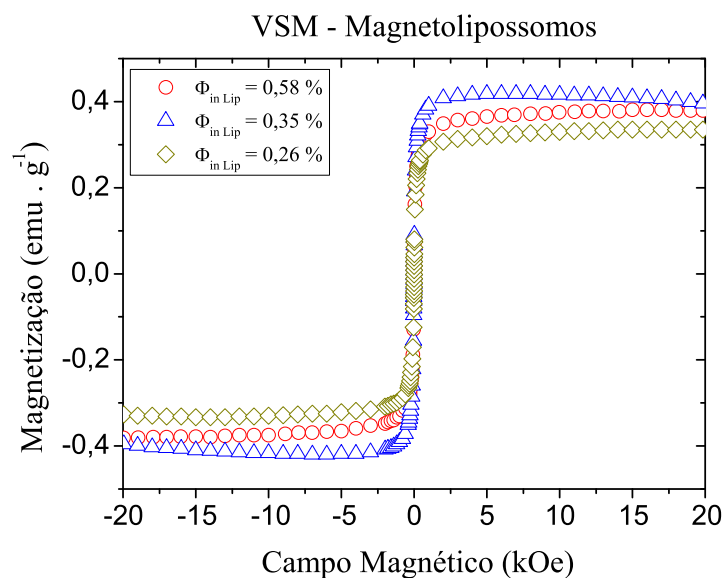
$$\langle D_{pm}^3 \rangle = \int_0^{+\infty} D_p^3 P(D) dD \quad (5.8)$$

$$\langle D_{Lip}^3 \rangle = \int_0^{+\infty} D_L^3 P(D) dD \quad (5.9)$$

com  $P(D)$  uma distribuição lognormal. As curvas de magnetização das amostras de Magnetolipossomos podem ser vistas nas figuras (5.12) e (5.13) e os dados extraídos desta análise estão na tabela (5.2). A figura (5.13) é uma melhor visualização para as amostras de MLs com concentrações magnéticas mais baixas.



**Figura 5.12 :** Curvas de magnetização dos magnetolipossomos com diferentes concentrações de partículas magnéticas.



**Figura 5.13 :** Curvas de magnetização dos magnetolipossomos com diferentes de partículas magnéticas (3 menos concentradas)

Dados de VSM das amostras de magnetolipossomos (MLs)					
Amostra	$D_{ml}$ (nm)	$\sigma_{ml}$	Lip/ml ( $\times 10^{14}$ )	$N_{mag}$ /ml ( $\times 10^{15}$ )	$\phi_{ml}$ (%)
ML12	180,8	0,342	1,36	2,0	0,26
ML11	170,8	0,191	1,23	3,6	0,35
ML105	178,0	0,176	1,17	4,3	0,59
ML10	183,6	0,494	1,19	6,8	0,83

**Tabela 5.2 :** Dados de VSM das amostras de magnetolipossomos - MLs.

# Capítulo 6

## Resultados e Discussões

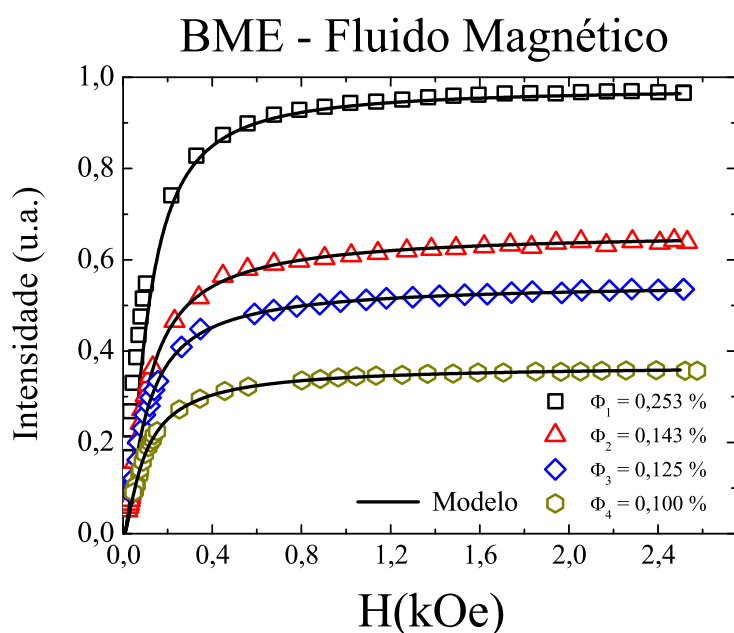
Iniciamos este capítulo analisando as propriedades magnetoópticas dos nanocarreadores magnéticos, i.e. dos fluidos magnéticos (FM) e magnetolipossomos (ML). Nosso objetivo nesta primeira etapa é esclarecer como as nanopartículas estão autoorganizadas. Basicamente queremos determinar a porcentagem de partículas que estão formando pequenos aglomerados no colóide nas duas situações, i.e. FM e ML. Na seção 6.2 apresentamos os dados experimentais de hipertermia magnética, obtidos para várias frequências e em diferentes amplitudes de campo alternado, assim como distintas concentrações de partículas. Ficará claro, nesta seção, que os MLs, sob semelhante condição experimental, tendem a responder magnetotermicamente de maneira inferior ao FM. Tal efeito parece estar relacionado a autoorganização de nanopartículas dentro das vesículas. A explicação para tal fenômeno será apresentada na seção 6.3. Um novo modelo, ainda no regime linear, será desenvolvido levando em conta a contribuição de partículas bloqueadas. Tal efeito parece explicar o decréscimo da eficiência magnetotérmica dos MLs, assim como outros dados recentes da literatura.

### 6.1 Birrefringência Magnética dos Nanocarreadores

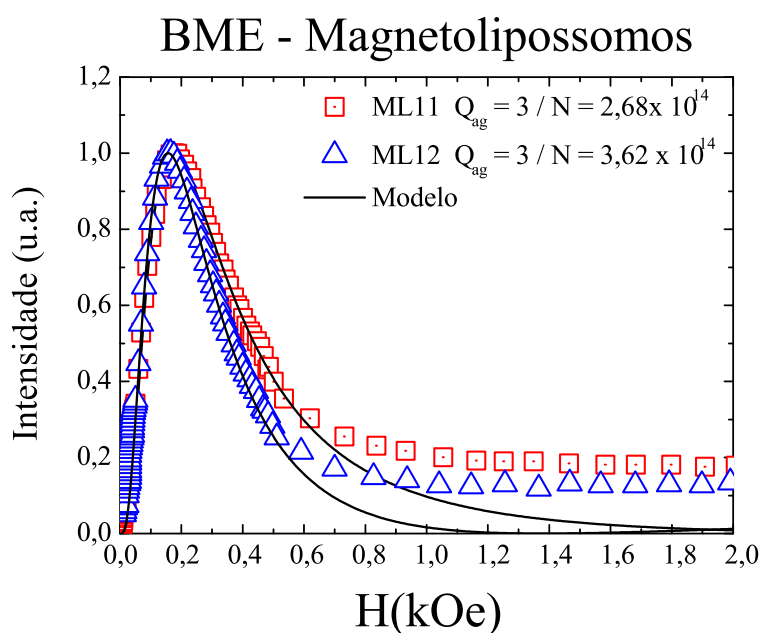
As propriedades magnetoópticas de fluidos magnéticos vem sendo estudadas há décadas, em particular por birrefringência magnética estática [62, 84–88]. Basicamente a origem deste efeito elétrico induzido pelo campo magnético pode ser: (i) a rotação de nanopartículas anisométricas na direção do campo aplicado, (ii) rotação de pequenos aglomerados (dímeros,

trimeros) preexistentes na suspensão coloidal, ou ainda (iii) a formação de cadeias pela ação de campo magnético. Nós iremos modelar os dados experimentais assumindo a pré-existência de aglomerados formados por partículas esféricas (diversas evidências experimentais, assim como resultados de simulação computacional usando a técnica de Monte Carlo, corroboram com nossa hipótese [75]. Portanto, não haverá nenhuma contribuição ao sinal magnetoóptico de partículas isoladas, já que estas, sendo esféricas, não geram birrefringência óptica. Caso tal suposição fosse incorreta ou inadequada, o número de partículas contribuindo para o sinal de BME deveria ser igual ao número total de partículas existentes em solução. Todavia, a análise dos nossos dados de BME indica que tal contribuição é menor que o número total de partículas em solução, como ficará claro mais adiante.

Na figura (6.1) apresentamos os dados de BME dos FMs. Símbolos representam diferentes concentrações de partículas e a curva sólida refere-se ao modelo teórico utilizado para ajustar os dados experimentais. Observe que em campo baixo não há birrefringência, enquanto que aumentando sua intensidade o sinal aumenta e atinge a saturação. O valor máximo do sinal decresce com a redução da fração volumétrica de partículas magnéticas no líquido carreador. Por outro lado, na figura (6.2) apresentamos os dados dos MLs. Na faixa de concentração investigada apenas 2 de 4 amostras deram sinal de BME. Símbolos representam amostras com diferentes frações volumétricas encapsuladas no lipossomo. Aqui cabe ressaltar que, diferentemente de outros trabalhos da literatura, a concentração de partículas encapsuladas no lipossomo foi determinada por meio da combinação de dados de VSM e NTA, conforme discutido anteriormente (vide seção 5.3). Outro fator extremamente importante é que o sinal de BME dos MLs apresentou um pico, e que o mesmo ocorre em diferentes posições dependendo da concentração de partículas dentro da vesícula. Isto fica mais fácil de se observar na figura (6.3) que é a mesma anterior só que numa faixa de campo menor. Para a amostra ML12 encontra-se um pico em  $H = 150$  Oe, enquanto que para a amostra ML11 o pico ocorre em  $H = 175$  Oe. Novamente a curva sólida refere-se a análise dos dados usando um modelo teórico discutido a seguir.



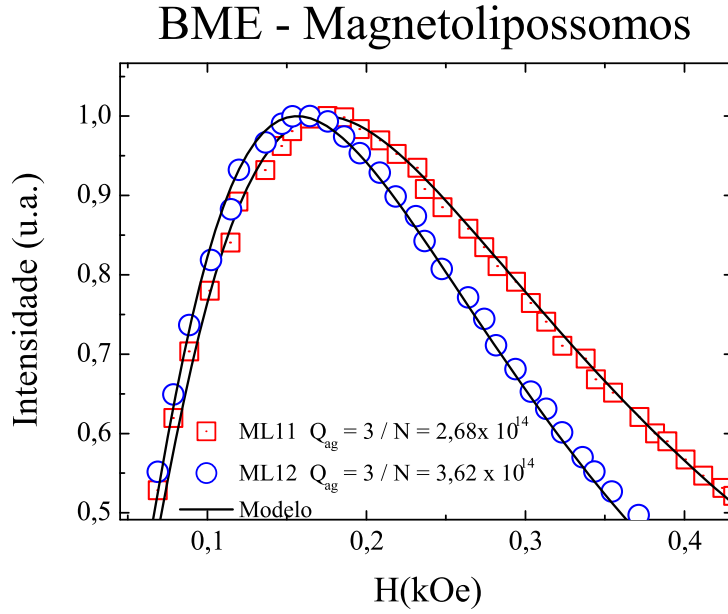
**Figura 6.1** : Intensidade de Birrefringência da amostra controle de Fluido Magnético Mn 29-01-2014 em diferentes concentrações.



**Figura 6.2** : Intensidade de Birrefringência de amostras de Magnetolipossomos com diferentes concentrações de partículas magnéticas.

Primeiramente, é importante lembrar que o sinal de BME é dado por

$$I = I_o \text{sen}^2 \left( \frac{\pi l}{\lambda} \Delta n \right) \quad (6.1)$$



**Figura 6.3 :** Intensidade de Birrefringência de amostras de Magnetolipossomos em diferentes concentrações de partículas magnéticas com análise de deslocamento do pico de maior intensidade.

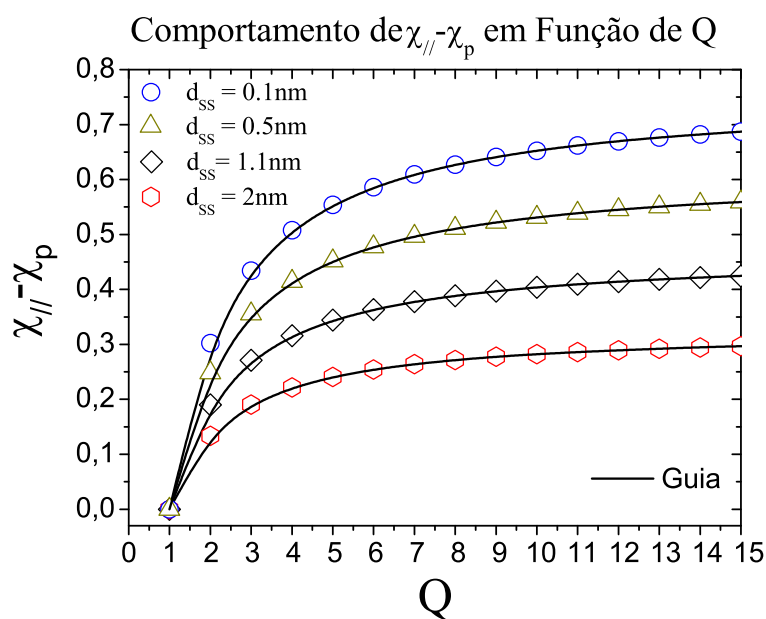
sendo

$$\Delta n = \Delta n_Q \int_0^{\infty} D^3 L_2(\xi_Q) P(D) dD \quad (6.2)$$

e

$$\Delta n_Q = \frac{\pi n_1 Q N_Q}{12} \langle \chi_{//} - \chi_{\perp} \rangle_Q \quad (6.3)$$

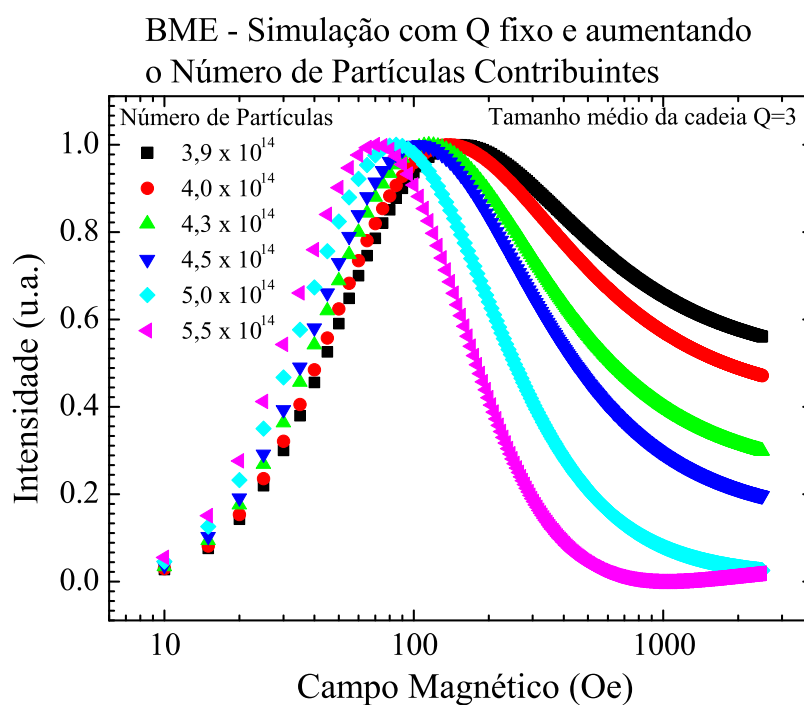
com  $\xi_Q = Q\xi$ , e  $Q$  é o número de partículas formando uma cadeia linear. Portanto, o fato dos dados experimentais de BME dos MLs apresentarem um pico significa que a birrefringência das amostras de MLs é maior que do FM. Tal efeito pode ser explicado em termos do número de partículas formando a cadeia linear ( $Q$ ) e/ou pelo número de partículas agregadas em solução ( $QN_Q$ ). Quanto maior o tamanho do agregado maior é a diferença entre as susceptibilidades elétricas. A figura (6.4) mostra o cálculo  $\langle \chi_{//} - \chi_{\perp} \rangle$  em função de  $Q$  e para diferentes distâncias superfície-superfície ( $d_{ss}$ ). Este termo aumenta com aumento de  $Q$  e com a diminuição de  $d_{ss}$ , já que a contribuição devido ao dipolo elétrico induzido aumenta quanto menor for a distância (vide 3.3.1).



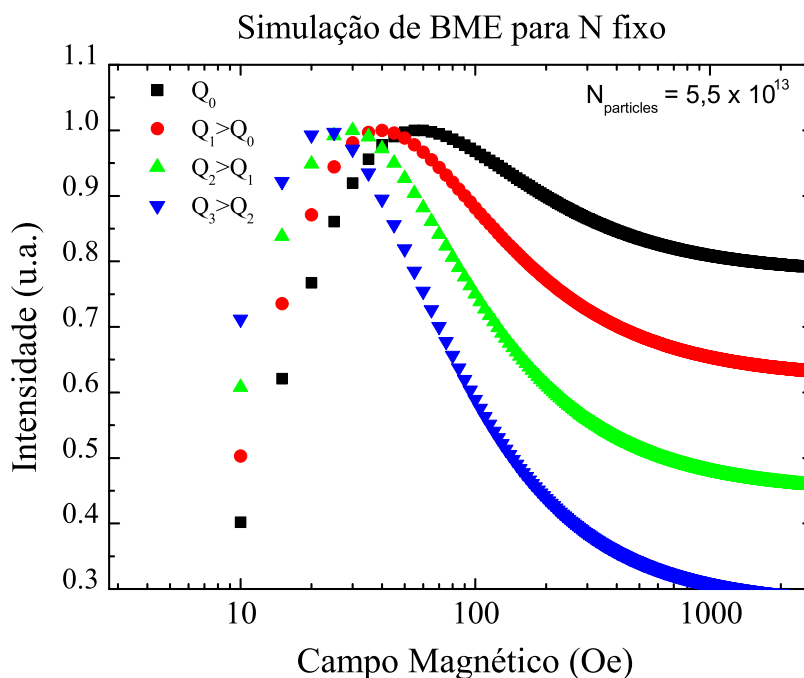
**Figura 6.4 :** Comportamento de  $\langle \chi_{//} - \chi_{\perp} \rangle$  em termos do tamanho da cadeia de agregados para diferentes valores de distâncias superfície-superfície.

Na figura 6.5 mostramos como o sinal de BME é alterado aumentando-se o número de partículas que contribuem para o sinal de BME, i.e. fixando o número de partículas formando o agregado para  $Q = 3$ . Um efeito semelhante é observado aumentando  $Q$  para  $N$  fixo,  $N = 5, 5 \times 10^{13}$  part/cm<sup>3</sup>, como apresentado na figura (6.6). Note que ao aumentarmos  $N$  ou  $Q$  o pico da curva de intensidade versus campo magnético se desloca para esquerda, o que indica um sinal de BME mais elevado em baixa amplitude de campo. Observe também que o pico se desloca mais rapidamente para a esquerda quando aumenta-se o número de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico, em comparação com aumento de  $Q$ .

Na Figura (6.2) a curva sólida foi calculada mantendo-se  $Q = 3$ . Nela estão apresentados os dados das amostras ML 11 e ML 12, cujas frações volumétricas nos lipossomos são de 0,35% e 0,26%, respectivamente. Para o caso da amostra ML 11 encontramos  $N = 2,7 \times 10^{14}$  partículas por cm<sup>3</sup>, enquanto que para a amostra ML 12 obtivemos  $N = 3,6 \times 10^{14}$  partículas por cm<sup>3</sup>. Portanto, a diferença entre as duas amostras refere-se à uma pequena alteração na proporção de partículas contribuindo para o sinal de BME. O aumento do número de partículas contribuintes para o sinal de BME, mesmo que pequeno, é responsável pelo deslocamento



**Figura 6.5 :** Dados de simulação do modelo de BME para número de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico aumentando com tamanho da cadeia de agregados fixo.



**Figura 6.6 :** Dados de simulação do modelo de BME para o tamanho da cadeia de agregados aumentando e o número de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico fixo.

do pico de maior intensidade na curva de BME. Os dados extraídos das análises de BME das amostras de magnetolipossomos podem ser vistos na Tabela (6.3). Nela fica claro que na amostra ML11 a porcentagem de partículas contribuindo para o sinal de BME foi de 35%, enquanto que para a ML12 foi de 22%. As frações volumétricas dentro dos lipossomos foram calculadas considerando a concentração de lipossomos (por meio da análise de NTA - e sua respectiva polidispersão - vide tabela 5.1), e a concentração de partículas magnéticas via dados de magnetometria (VSM).

Curiosamente a análise dos resultados de BME do fluido magnético em diferentes frações volumétricas requer maior cuidado. Utilizando o mesmo  $Q$ , i.e.  $Q = 3$ , pode-se analisar a quantidade de partículas contribuindo para o sinal de BME dos FMs. A figura (6.7) apresenta a análise dos dados do FM considerando também a amostra ML12. Note que o ajuste dos dados de BME do FM só são bons na saturação. A Tabela 6.1 apresenta os resultados obtidos desta análise. Por outro lado, se permitirmos que  $Q$  varie, conseguimos um melhor ajuste dos dados de BME, como foi mostrado na figura (6.1). Neste caso, os dados ajustados sugerem um aumento do tamanho do agregado de 6,0 para 10,0 nas frações volumétricas de 0,25% e 0,10%, respectivamente. Este fato é curioso já que, em geral, espera-se um maior  $Q$  para amostras com maior concentração de partículas [30]. Note, porém, que o percentual de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico diminui de 14% para 6,2% nas frações volumétricas de 0,25% e 0,10%, respectivamente. Apesar disso, o tamanho médio da cadeia no fluido cresce um pouco com o aumento da concentração de partículas no meio. Nas Tabelas 6.2 e 6.3 vemos que o tamanho médio diminui de 2,2, na fração volumétrica de 0,25%, para 1,5 na fração volumétrica de 0,10%. Portanto, apesar dos agregados serem maiores nesta amostra diminuindo a concentração, na média, ainda se obtém o esperado, ou seja, que ocorra um aumento do tamanho médio do agregado no fluido para amostras mais concentradas. No caso dos MLs a situação é a mesma quando comparamos as duas amostras (vide Tabela 6.3). O tamanho médio da cadeia passa de 1,4, para uma fração dentro do lipossomo de  $\phi_{ml} = 0,26\%$ , para 1,7 numa fração dentro do lipossomo de  $\phi_{ml} = 0,35\%$ . De fato, a variação do tamanho médio do

aglomerado no ML não é muito significativa, como pode ser visualizado na figura (6.9).

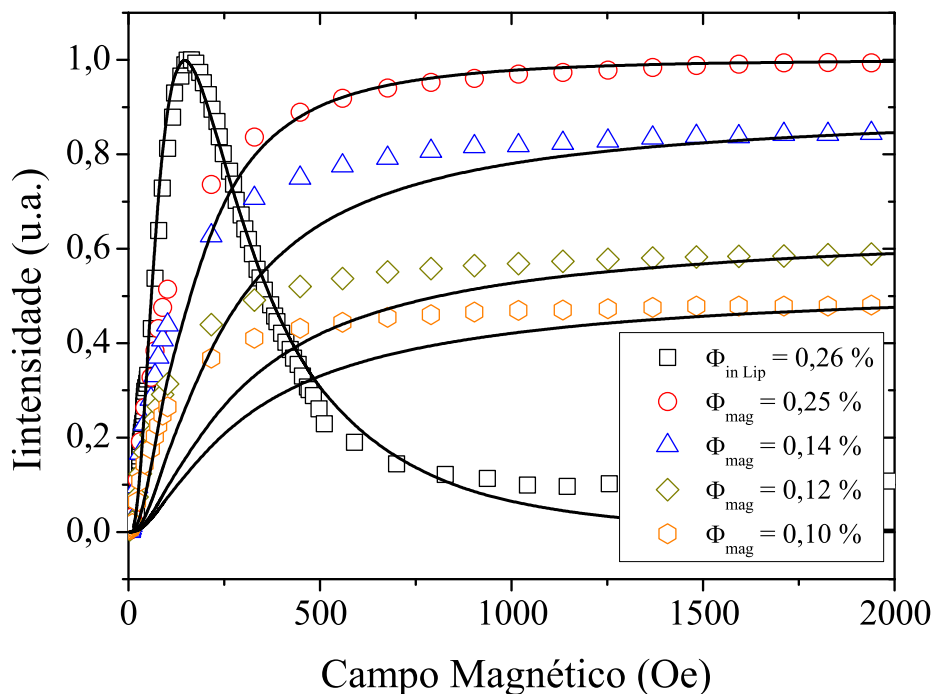
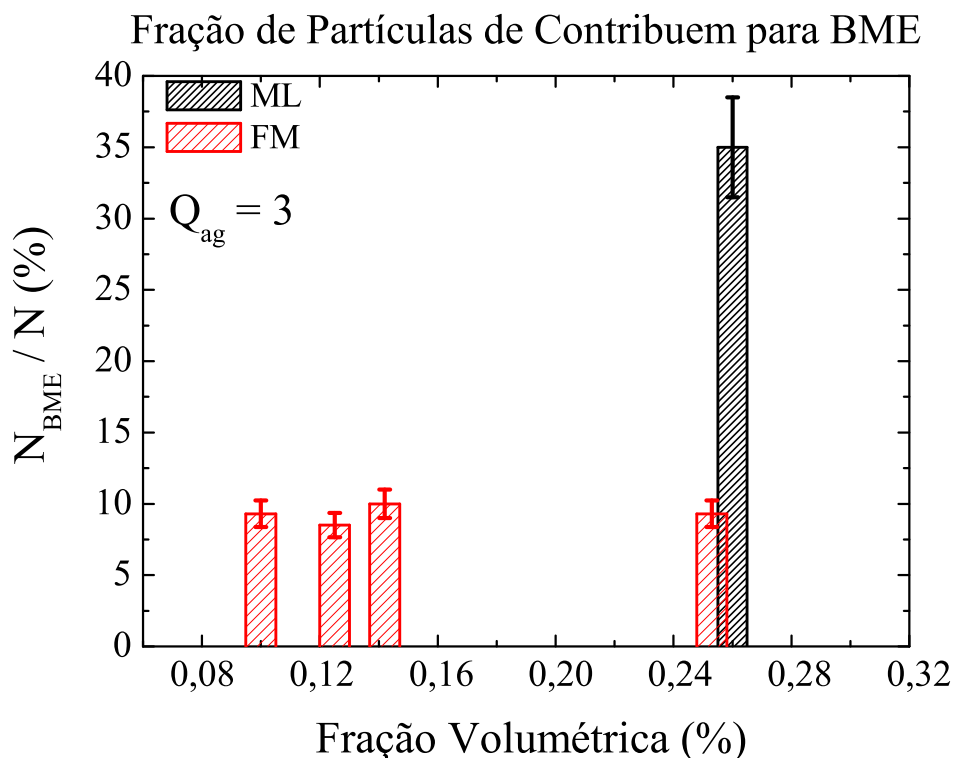


Figura 6.7 : Dados agrupados de BME de FM e ML.

Dados de BME do Fluido Magnético - FM				
$\phi(\%)$	$\Delta n_s \times 10^{17}$	$Q_{ag}$	$N_{bme} \times 10^{14}$	$f(\%)$
0,10	4,73	3	1,35	9,3
0,12	5,43	3	1,55	8,5
0,14	7,24	3	2,06	10
0,25	9,34	3	2,66	7,3
Dados de BME da amostra ML12				
0,26	15,1	-	3,62	35

Tabela 6.1 : Tabela referente as análises de BME do FM e dos MLs considerando  $Q_{ag} = 3$ .



**Figura 6.8** : Percentual de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico em termos da fração volumétrica considerando trímeros ( $Q_{ag} = 3$ ) em todas as frações volumétricas dadas na figura (6.7).

Por outro lado, o gráfico da figura (6.10) mostra que o percentual de partículas contribuintes para BME aumenta de 6,2%, em  $\phi_{fm} = 0,10\%$ , para 14% em  $\phi_{fm} = 0,25\%$ . Enquanto isso, o percentual de partículas contribuintes para BME nos magnetolipossomos sai de 35%, na fração dentro do lipossomo de  $\phi_{ml} = 0,26\%$ , para 22% na fração dentro do lipossomo de  $\phi_{ml} = 0,35\%$ . Tal fato deve-se a uma maior proporção de partículas isoladas nesta amostra. Além disso, talvez o mais importante desses dados seja a comparação entre FMs e MLs com mesma concentração de partículas. Isto ocorreu em apenas uma amostra, com fração volumétrica de 0,25% aproximadamente. Neste caso observa-se que o número de partículas que contribuem para o sinal de BME é duas vezes e meia maior nos magnetolipossomos. Ou seja, enquanto nos magnetolipossomos temos 35% de partículas contribuintes, no FM temos 14%. Portanto, apesar do tamanho do agregado ser maior no FM, o sinal de BME dos magnetolipossomos é maior porque há um percentual maior de partículas contribuindo para o sinal

magnetoóptico.

Dados de BME do Fluido Magnético - FM						
$\phi_{fm}(\%)$	$\Delta n_s \times 10^{18}$	$Q_{ag}$	$Q_m$	$N_{tot} \times 10^{15}$	$N_{bme} \times 10^{14}$	$f(\%)$
0,10	0,62	10	1,5	1,44	0,89	6,2
0,12	0,89	9	1,7	1,81	1,31	7,3
0,14	1,17	8	1,9	2,04	1,75	8,6
0,25	3,17	6	2,2	3,64	5,07	14

**Tabela 6.2 :** Tabela referente as análises de BME do controle feito com fluido magnético.

Dados de BME dos Magnetolipossomos - MLs						
$\phi_{fm}(\%)$	$\Delta n_s \times 10^{18}$	$Q_{ag}$	$Q_m$	$N_{tot} \times 10^{15}$	$N_{bme} \times 10^{14}$	$f(\%)$
0,26	1,51	3	1,4	0,93	3,62	35
0,35	1,24	3	1,7	1,22	2,68	22

**Tabela 6.3 :** Tabela referente as análises de BME das amostras de magnetolipossomos. A primeira linha se referente a amostra ML 11 e a segunda linha se refere a amostra ML 12.

Em resumo, nesta seção mostramos que as partículas se organizam de forma diferente nos FM e ML. No ML a fração de agregados parece ser maior que no caso de FM. Então, a pergunta que surge é qual o impacto dessa autoorganização sobre o efeito magnetotérmico? A resposta a essa pergunta só ficará clara na seção 6.3. Nesta próxima seção iremos mostrar experimentalmente o efeito deletério, i.e. a diminuição do efeito magnetotérmico das partículas quando as mesmas são encapsuladas nos lipossomos.

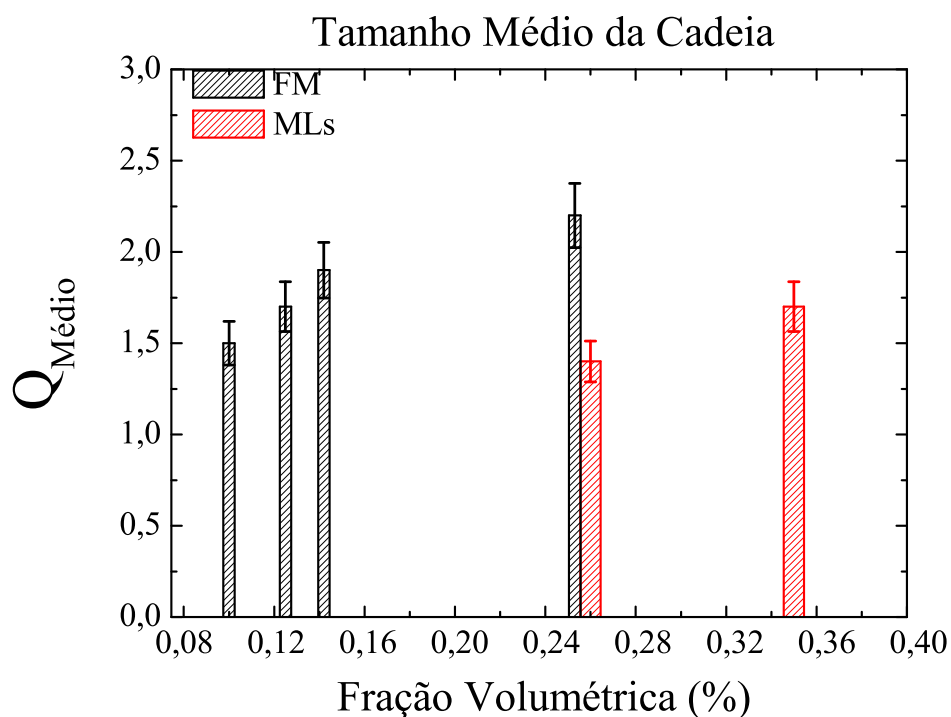


Figura 6.9 : Tamanho médio da cadeia de aglomerados em termos da fração volumétrica.

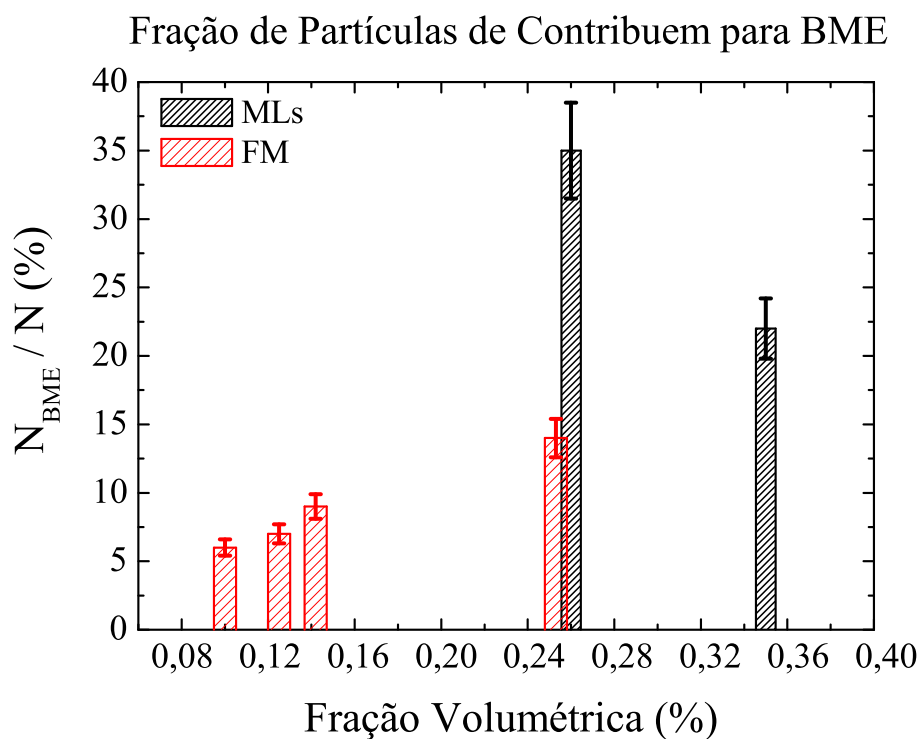
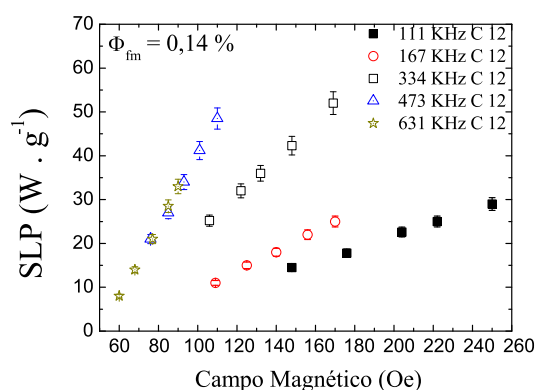


Figura 6.10 : Percentual de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico em termos da fração volumétrica.

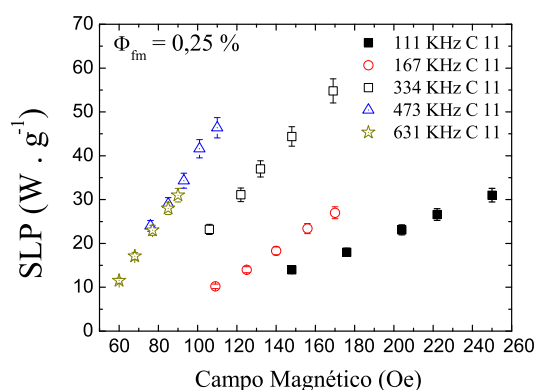
## 6.2 Magnetohipertermia dos Nanocarreadores

Medidas de hipertermia magnética (HM) foram realizadas com as amostras de fluido magnético (FM) e com os magnetolipossomos (ML). Quatro amostras de cada nanocarreador (ML e FM) contendo diferentes concentrações de partículas foram investigadas. Dados foram obtidos em diferentes amplitudes de campo magnético alternado e com as frequências de 111 kHz, 167 kHz, 334 kHz, 473 kHz e 632 kHz. Os valores de SLP (eficiência magnetotérmica - vide equação 4.19) foram extraídos após a análise das curvas de temperatura em função do tempo; para cada uma das amostras foi utilizado um tempo padrão de medida de 30 segundos. Ou seja, por meio destes dados obteve-se a taxa de variação temporal da temperatura. A massa de material magnético foi obtida pela análise dos dados de magnetometria. Logo, usando a equação (4.19), estimamos o valor de SLP de cada amostra. Adicionalmente, medidas em triplicata revelaram um erro no SLP variando entre 8-10%. Nos dados a seguir assumimos o maior valor para o erro experimental (10%).

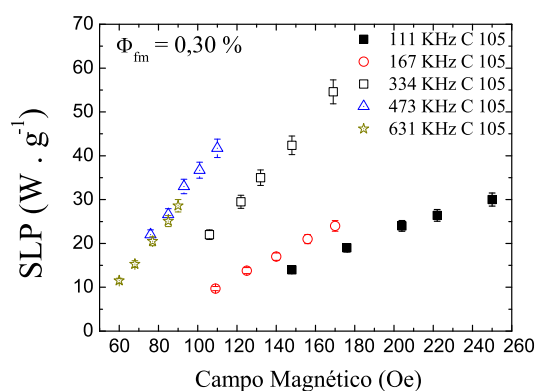
As figuras em (6.11) apresentam os dados de SLP em função da amplitude de campo magnético para o fluido magnético com diferentes concentrações de partículas. Os diferentes símbolos representam os dados experimentais nas frequências investigadas. Como esperado aumentando-se a amplitude de campo o SLP aumenta. Os dados mostram também que o SLP é menor para a frequência de 111 kHz, e aumenta com a frequência, com exceção dos dados entre 473 kHz e 632 kHz, que foram muito próximos para a maior parte das amostras. Isto provavelmente ocorreu porque nesta faixa de frequência estas amostras se aproximam da região em que  $\omega\tau = 1$ , a qual separa as regiões de baixa e alta frequência. Além disso, observa-se que em baixas frequências parece não haver diferença significativa entre amostras com diferentes concentrações. Entretanto a partir de 300kHz é fácil notar um efeito da concentração de partículas. Isto sugere que a interação dipolar entre partículas é mais importante em altas frequências.



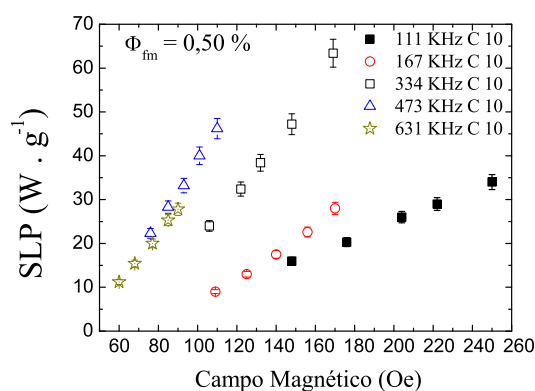
(a) SLP em termos do campo das amostras C12 cuja fração volumétrica é  $\phi_{fm} = 0,14\%$ .



(b) SLP em termos do campo das amostras C11 cuja fração volumétrica é  $\phi_{fm} = 0,25\%$ .



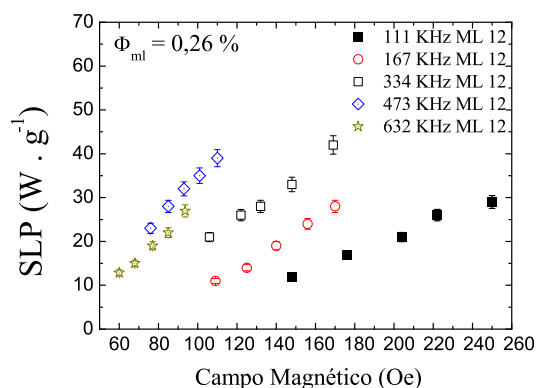
(c) SLP em termos do campo das amostras C11 cuja fração volumétrica é  $\phi_{fm} = 0,30\%$ .



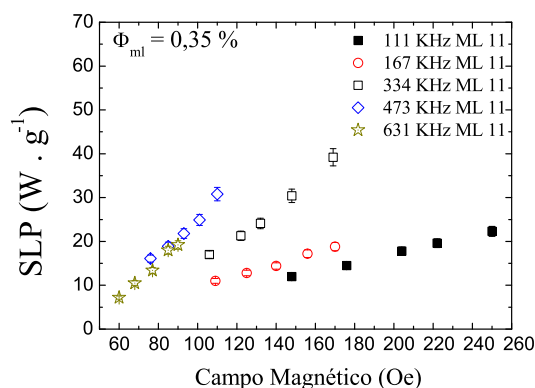
(d) SLP em termos do campo das amostras C12 cuja fração volumétrica é  $\phi_{fm} = 0,50\%$ .

**Figura 6.11** : Dados de SLP x H para a amostra de Fluido Magnético

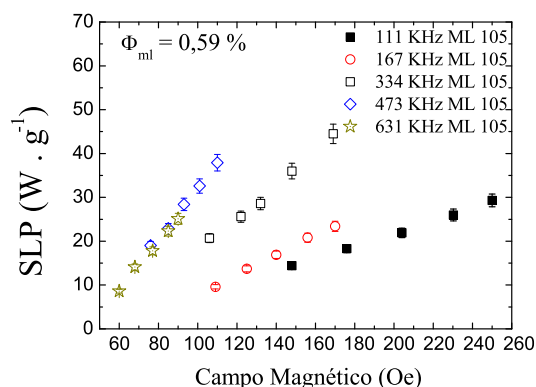
As medidas de HM dos MLs estão apresentados nas figuras (6.12). Novamente, o mesmo comportamento relatado para as amostras de FM foi observado, i.e. SLP cresce com aumento do campo e possui valores próximos para frequências mais altas (473 kHz e 632 kHz). Por outro lado, uma análise comparativa entre os dados de ML e FM sugerem respostas magnetotérmicas distintas, apesar de tal estudo demandar um certo cuidado já que as concentrações das amostras não foram sempre as mesmas (vide Tabelas 6.3 e 6.2). Na verdade apenas 2 amostras podem ser utilizadas para uma comparação quantitativa (a ser feita adiante). Mesmo assim o comportamento geral pode ser investigado na faixa de concentração estudada. As figuras (6.14) e (6.13) mostram o SLP em função da fração volumétrica para as amostras de FM (quadrados)



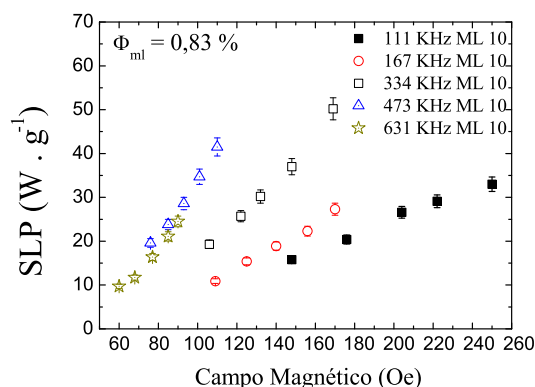
(a) SLP em termos do campo das amostras ML12 cuja fração volumétrica é  $\phi_{ml} = 0,26\%$ .



(b) SLP em termos do campo das amostras ML11 cuja fração volumétrica é  $\phi_{ml} = 0,35\%$ .



(c) SLP em termos do campo das amostras ML105 cuja fração volumétrica é  $\phi_{ml} = 0,59\%$ .



(d) SLP em termos do campo das amostras ML10 cuja fração volumétrica é  $\phi_{ml} = 0,83\%$ .

**Figura 6.12 :** Dados de SLP x H para as amostras de Magnetolipossomos

e ML (círculos cheios). As linhas sólidas são guias para os olhos, cujo intuito é apenas sugerir o comportamento de SLP versus  $\phi$ . Note que os dados de cada figura referem-se a frequência e amplitude de campo distintas. Escolhemos sempre a maior amplitude de campo para uma dada frequência. Por exemplo, na figura (6.13) temos uma frequência de 111 kHz e amplitude de campo de 250 Oe. Analisando estes dados fica claro que, em geral, os ML apresentam uma eficiência magnetotérmica menor do que o FM.

Dos dados anteriores notamos que as amostras de FM com  $\phi_{fm} = 0,25\%$  e ML com  $\phi_{ml} = 0,26\%$  podem ser comparadas entre si para melhor entender o efeito do encapsulamento de nanopartículas no SLP. Lembramos também que a concentração do ML refere-se a fração

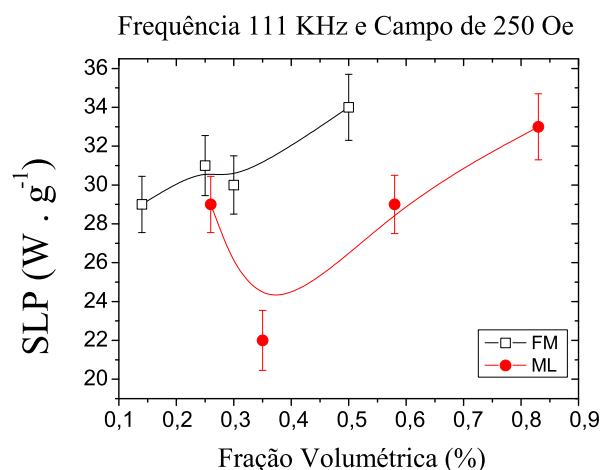
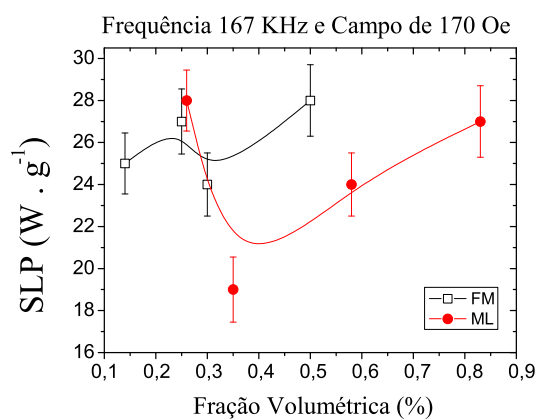
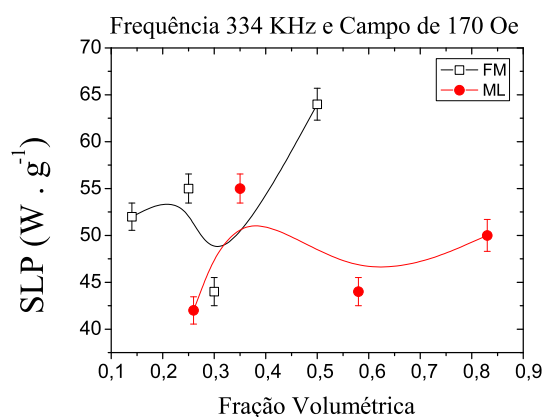


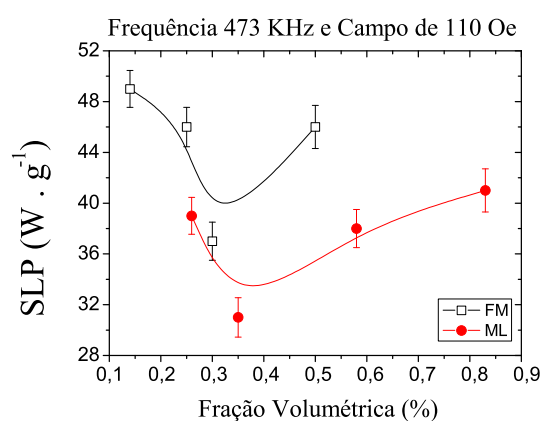
Figura 6.13 : Dados de SLP x  $\phi$  com frequência de 111 kHz em 250 Oe.



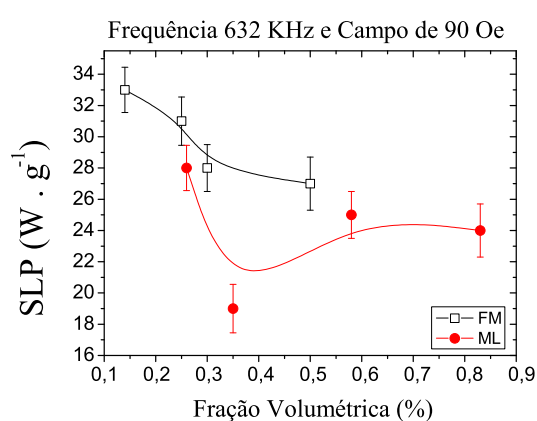
(a) SLP x  $\phi$  em frequência de 167 kHz e 170 Oe de amplitude de campo.



(b) SLP x  $\phi$  em frequência de 334 kHz e 170 Oe de amplitude de campo.



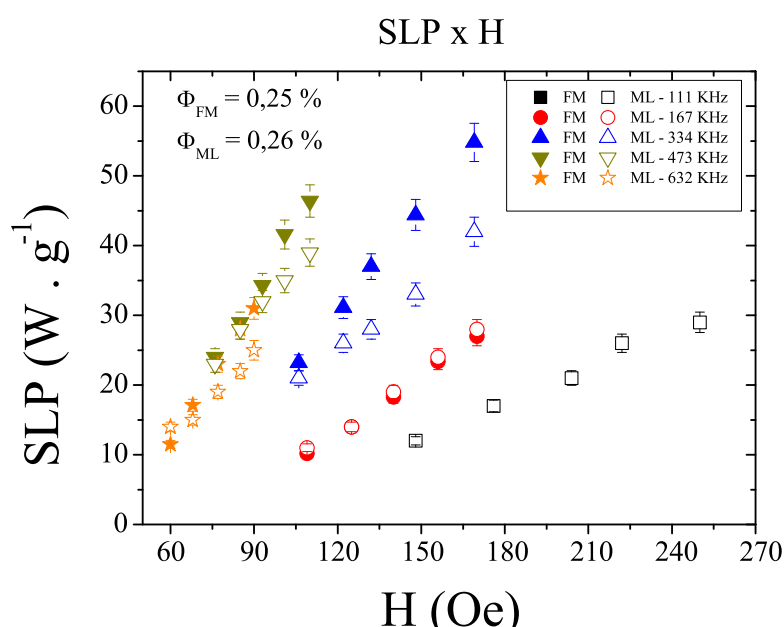
(c) SLP x  $\phi$  em frequência de 473 kHz e 110 Oe de amplitude de campo.



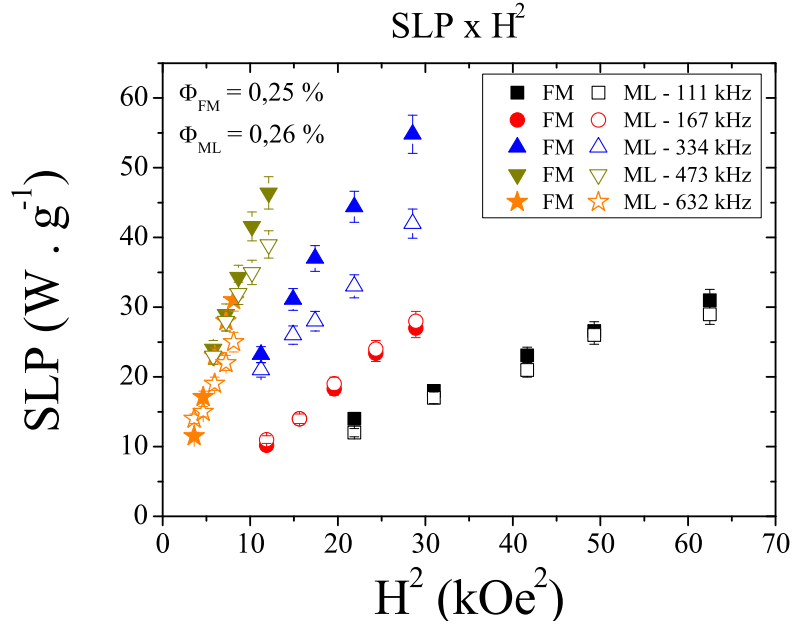
(d) SLP x  $\phi$  em frequência de 632 kHz e 90 Oe de amplitude de campo.

Figura 6.14 : Dados de SLP x  $\phi$  em frequências diferentes e em maior amplitude campo.

de partículas encapsuladas na vesícula, conforme análise feita usando dados de VSM e NTA. Na figura (6.15) apresentamos SLP versus campo magnético para as 2 amostras, FM e ML, em diferentes frequências. Símbolos fechados referem-se aos dados dos FMs, enquanto que os abertos são os obtidos dos MLs. A análise comparativa desses dados indica um menor SLP para o ML quando comparado com o FM para frequências mais altas. Na figura (6.16) apresentamos os mesmos dados agora em função do quadrado da amplitude de campo magnético. Pode-se observar um desvio do previsto teoricamente, ou seja o SLP não escala com  $H^2$  em todas as frequências. Isto sugere que para uma comparação quantitativa com os dados experimentais seria necessário o desenvolvimento de um modelo teórico fora do regime linear. Tal modelo não faz parte dos objetivos desta Tese e será apresentado, no futuro, por outro aluno do grupo. Apesar disso, pode-se entender pelo menos qualitativamente o efeito da diminuição do SLP para os MLs usando um modelo dentro do regime linear. Na próxima seção iremos investigar de forma detalhada um novo modelo, que leva em conta não somente a interação dipolar entre partículas como a contribuição de partículas bloqueadas. Quando possível iremos comparar os resultados teóricos com nossos dados experimentais e outros da literatura.



**Figura 6.15** : Dados de SLP x H para as amostras de FM em  $\phi_{fm} = 0,25\%$  e ML em  $\phi_{ml} = 0,26\%$ .



**Figura 6.16 :** Dados de SLP x  $H^2$  para as amostras de FM em  $\phi_{fm} = 0,25\%$  e ML em  $\phi_{ml} = 0,26\%$ .

### 6.3 Modelo de Hipertermia Magnética (HM)

Nesta seção iremos desenvolver um modelo teórico dentro do regime linear, que leva em conta a interação dipolar entre partículas (conforme discutido na Ref. Sci Rep. Branquinho [30]) e sua influência na anisotropia magnética, e ainda a contribuição de partículas bloqueadas. Esta é, provavelmente, na literatura de hipertermia magnética, a primeira vez que tal efeito é levado em consideração, apesar de bastante conhecido pela comunidade que investiga susceptibilidade dinâmica de materiais magnéticos. A contribuição de partículas bloqueadas para a susceptibilidade dinâmica foi apresentada no capítulo 3. Usando as informações deste capítulo temos que a eficiência da hipertermia magnética (SLP) quando incluímos partículas bloqueadas é dada por

$$SLP = \left( \frac{10^{-7} \mu_o H_{max}^2 f}{\rho_p} \right) \frac{(\chi_{sp} - \chi_{bl}) \omega \tau}{1 + (\omega \tau)^2} = A(\chi''_{sp} - \chi''_{bl}) \quad (6.4)$$

O fator que aparece nessa equação é apenas para que todas as constantes sejam incluídas no sistema CGS. Tal dado fornecerá um resultado para o SLP em W/g. Desta equação fica claro que há uma diminuição do SLP se houver partículas bloqueadas no nanocarreador.

Lembre que este efeito é válido somente para o caso em que o campo aplicado é menor que o campo de anisotropia. Acima desse valor deve-se usar modelo do tipo Stoner-Wohlfarth. No nosso caso sempre estaremos abaixo de  $H_k$ , portanto tal consideração não será necessária. A equação acima indica que a parte imaginária das susceptibilidades superparamagnética (SP) ou bloqueada (BL) são relevantes. Estas podem ser obtidas pelas equações (6.5) e (6.6), dadas por

$$\chi''_{sp} = \int_0^{D_{sp}} \frac{\chi_o \omega \tau}{1 + (\omega \tau)^2} P(D) dD \quad (6.5)$$

e

$$\chi''_{bl} = \frac{\mu_o M_s^2}{3K_{ef}} \int_{D_{sp}}^{\infty} \frac{\omega \tau}{1 + (\omega \tau)^2} P(D) dD \quad (6.6)$$

Note que o limite de integração é diferente para os dois casos e depende do diâmetro superparamagnético, que considerando o modelo de Usov é dado por:

$$D_{sp} = \left[ \frac{6}{\pi} \frac{K_B T}{\langle K_{ef} \rangle} \ln \left( \frac{K_B T}{4\mu_o H_{max} M_s \langle V_p \rangle f \tau_o} \right) \right]^{1/3} \quad (6.7)$$

Neste caso estamos assumindo valores médios para conseguir estimar o  $D_{sp}$ , ou seja

$$\langle V_p \rangle = V_m e^{9(\delta D)^2/2}, \quad (6.8)$$

$$V_p^m = \frac{\pi}{6} D_m \quad (6.9)$$

e

$$\langle K_{ef} \rangle = K_{int} + K_{fan}(\bar{D}) \quad (6.10)$$

O fator 9 no volume médio vem da propriedade da função distribuição Lognormal, que indica que o desvio padrão (dispersidade) no volume é igual a 3 vezes a dispersidade no diâmetro. Note também que na equação (6.6) estamos considerando a susceptibilidade de equilíbrio. Esta é somente igual a susceptibilidade de Langevin quando desprezamos, no cálculo da magnetização, o termo da energia de anisotropia magnética. No nosso caso incluímos a energia de anisotropia já que mesma tem grande relevância para a interação dipolar. Para efeito de cálculo consideramos o caso longitudinal, i.e. campo magnético aplicado na direção

do eixo de anisotropia. Neste caso a magnetização, que já foi obtida em [89], é dada por

$$M = \frac{2i \sinh(\xi)}{\sqrt{\pi\sigma}} \times \frac{\exp(\sigma + \xi^2/4\sigma)}{\operatorname{erf}[i\sqrt{\sigma}(1 - \xi/2\sigma)] + \operatorname{erf}[i\sqrt{\sigma}(1 + \xi/2\sigma)]}, \quad (6.11)$$

onde  $\xi = \mu_o\mu H/K_B T$ ,  $\sigma = K_{ef}V/K_B T$  e

$$\operatorname{erfi}(\sqrt{\sigma}) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^{\sqrt{\sigma}} e^{x^2} dx \quad (6.12)$$

é válida para valores de  $\sigma > 0$ . A expansão em séries da expressão acima fornece a susceptibilidade linear, que já foi usada anteriormente por Branquinho et al. [30], sendo dada por

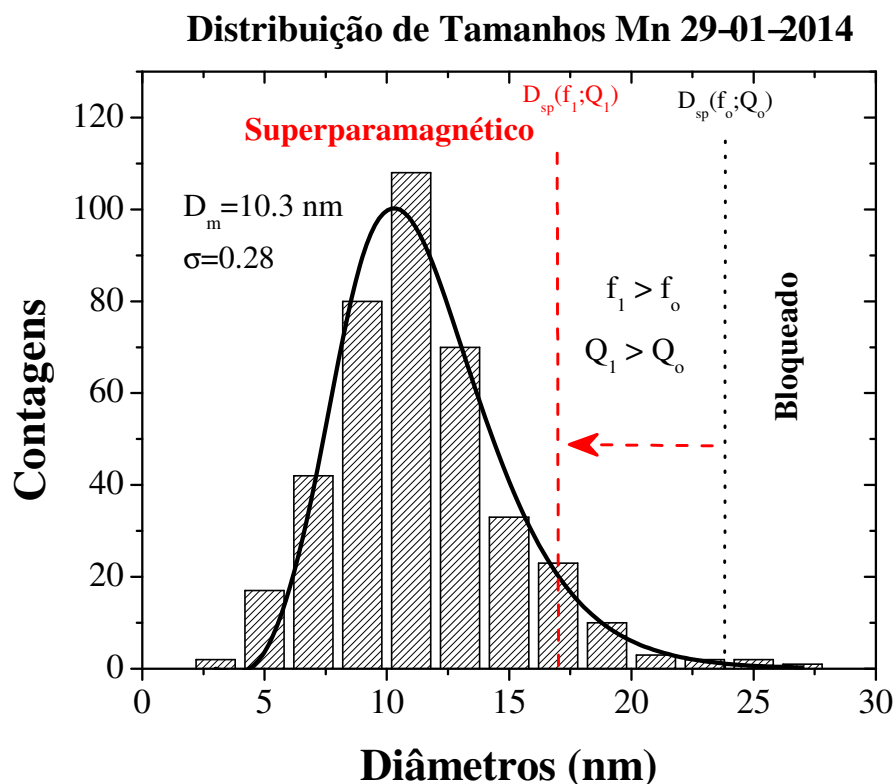
$$\chi_o = \chi_L \left[ \frac{3e^\sigma}{\sqrt{\pi\sigma} \operatorname{erfi}(\sqrt{\sigma})} - \frac{3}{2\sigma} \right] \quad (6.13)$$

onde  $\chi_L$  é a susceptibilidade de Langevin dada por

$$\chi_L = \frac{\pi}{18} \frac{\mu_o M_S^2 D^3}{K_B T} \quad (6.14)$$

Esta susceptibilidade fornece o mesmo resultado de Langevin na ausência de anisotropia e tende a susceptibilidade de Ising para o caso de anisotropia infinita, como esperado teoricamente [30].

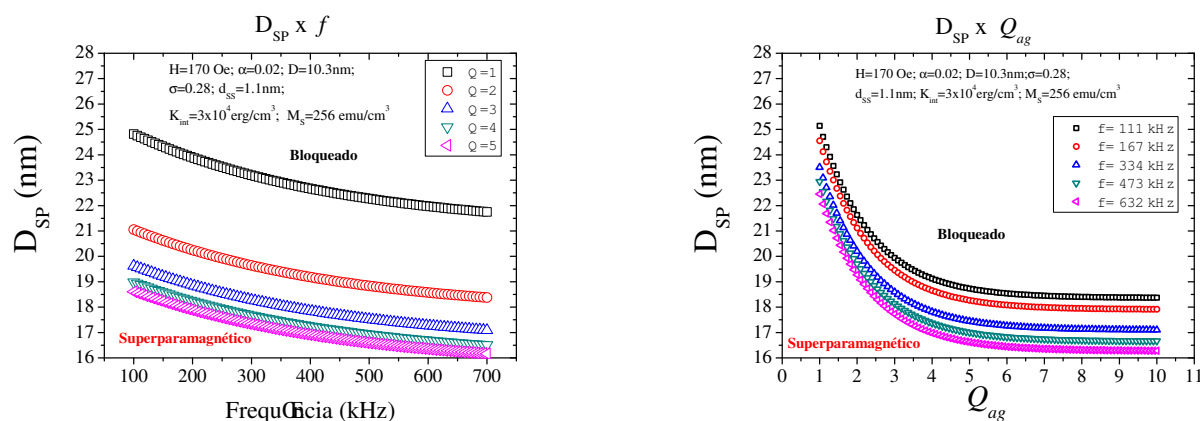
Após essa breve apresentação das equações relevantes para o modelo Linear Bloqueado podemos partir para discutir as consequências da contribuição de partículas bloqueadas. Para tanto apresentamos abaixo a distribuição obtida de nossas partículas magnéticas, que em todas as amostras continham o mesmo diâmetro. De forma qualitativa indicamos também um pequena região (linha tracejada em preto) que separa para uma dada situação experimental o diâmetro superparamagnético, ou seja, separa as regiões contendo partículas superparamagnéticas (SP) das Bloqueadas (BL). A linha mais à esquerda representa o novo diâmetro superparamagnético para o caso em que a frequência do campo alternado ou o tamanho do agregado é aumentado.



**Figura 6.17 :** Distribuição  $P(D) \times D$  para a amostra de FM ilustrando as regiões de partículas superparamagnéticas e bloqueadas em termos da frequência e tamanho da cadeia de agregados.

De fato a representação anterior pode ser melhor entendida a partir da análise dos gráficos da figura (6.18), usando os dados da nossa amostra (vide Tabela 6.4), sendo calculada a influência da frequência 6.18(a) e do tamanho de partículas formando uma cadeia linear ( $Q$ ) 6.18(b) no diâmetro superparamagnético. Especificamente, na F6.18(a) vemos que para  $Q = 1$  (ausência de agregados na amostra) o  $D_{sp}$  sai de 24,8 nm numa frequência  $f=100$  kHz para 21,7 nm em  $f=700$ kHz. Logo, o modelo prevê que o  $D_{sp}$  diminui com o aumento da frequência. Este efeito também depende do tamanho do agregado. Para o caso em que  $Q = 3$  o  $D_{sp}$  cai de 19,6 nm em  $f=100$ kHz para 17,0 nm em  $f=700$ kHz. A 6.18(b) apresenta  $D_{sp}$  versus  $Q_{ag}$  para diferentes frequências. Fica claro que há uma forte influência da interação dipolar no valor de  $D_{sp}$  quando a amostra sai de uma situação na ausência de cadeias ( $Q = 1$ ) para o caso em que existem aglomerados. O  $D_{sp}$  tende para uma saturação para o caso de altos valores de  $Q$ . Portanto, podemos entender estes resultados da seguinte forma. Ao alterarmos a frequência, diminuímos

o  $D_{sp}$ . Isso leva à uma diferente fração de partículas bloqueadas contribuindo para o SLP. Este efeito é oposto ao crescimento de SLP aumentando a frequência quando  $\omega\tau < 1$ . Logo estas duas contribuições podem competir entre si e tem como consequência uma diminuição no valor do SLP quando  $Q$  é maior que 1, em comparação com  $Q = 1$  já que  $D_{sp}(Q = 1) > D_{sp}(Q > 1)$ .



(a) Diâmetro superparamagnético em função da frequência.

(b) Diâmetro superparamagnético em função do tamanho do agregado

**Figura 6.18** : Diâmetro superparamagnético em termos (a) da frequência e (b) em termos do tamanho do agregado .

Dados da Ferrita de Manganês									
Amostra	$d_{ss}$ (nm)	$D_m$ (nm)	$\sigma$	$M_s$ (emu/cm <sup>3</sup> )	$\phi$ (%)	$Q_{ag}$	$f_{ag}$ (%)	$K_{ef}^{bulk}$ (erg/cm <sup>3</sup> )	$\alpha$
FM	1, 1	10, 3	0, 28	256	0, 25	6	14	$3 \times 10^4$	0, 002/0, 02
ML	1, 1	10, 3	0, 28	256	0, 26	3	35	$3 \times 10^4$	0, 002/0, 02
Bulk	-	-	-	500	-	-	-	$3 \times 10^4$	0, 017

**Tabela 6.4** : Parâmetros das amostras para análises

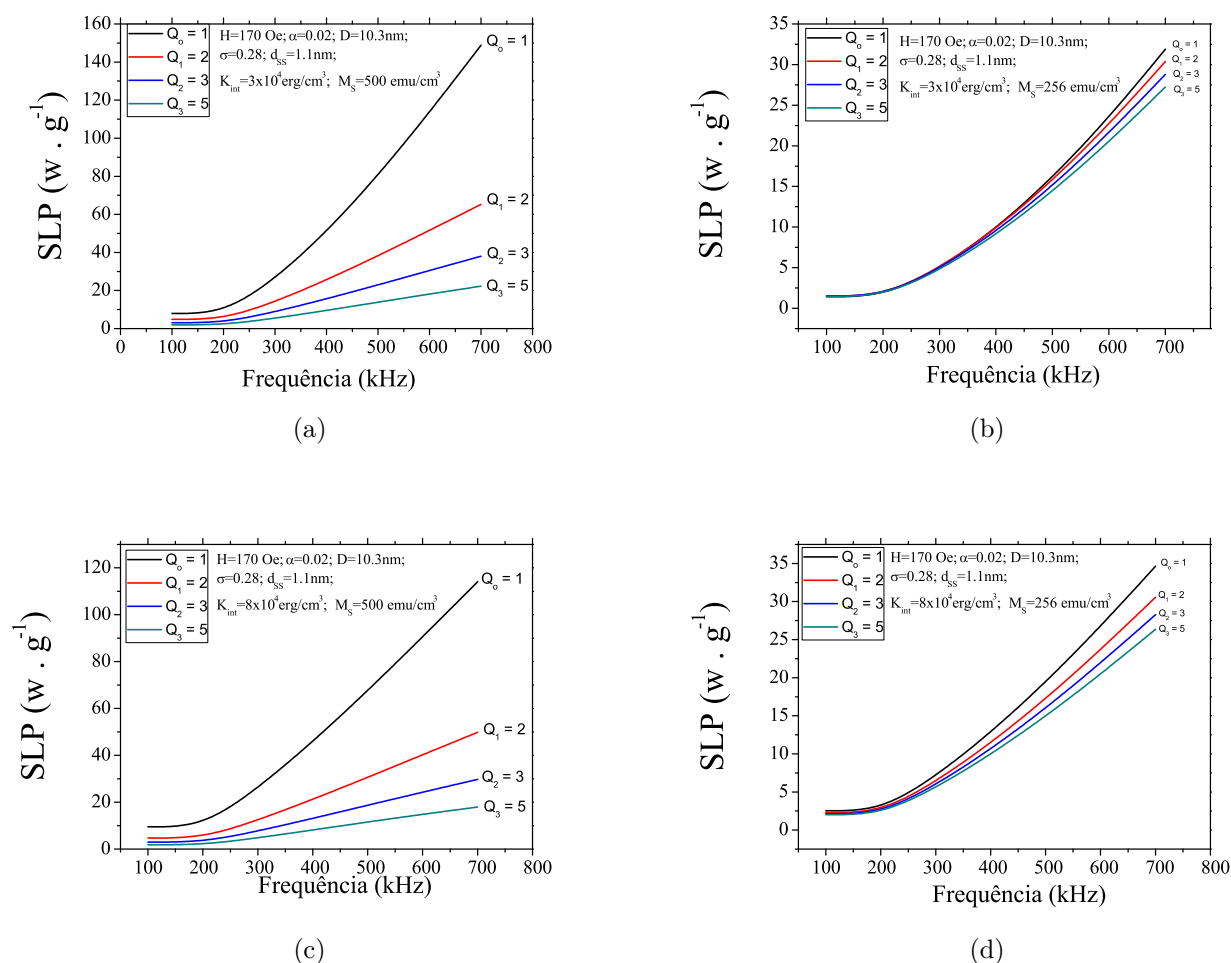
A fim de entender melhor a influência dos diversos parâmetros no cálculo do SLP (que obviamente depende de  $D_{sp}$ ), decidimos simular os dados com diferentes valores de anisotropia magnética e magnetização de saturação. Na Tabela (6.4) apresentamos as constantes consideradas não só para nossa amostra como também para o caso de uma ferrita de manganês

com parâmetros semelhantes ao bulk [90]. Nas Figuras 6.19 (a)-(d) apresentamos os valores calculados de SLP em função da frequência para diferentes valores de  $Q$ . Em (a) dados do bulk ( $M_S$  e  $K_{ef}$ ); (b) dados da amostra assumindo  $K_{bulk}$ ; (c) Aumentamos  $K_{ef}$  e mantivemos a  $M_S$  do bulk; (d)  $M_S$  partícula e  $K_{ef} = 8 \times 10^4 \text{ erg/cm}^3$ . Desses gráficos fica claro que apesar de diferentes valores de SLP, existe uma região em baixa frequência aonde a influência da interação dipolar é menor, em particular considerando parâmetros típicos de nossa amostra. Isto explica qualitativamente porque o efeito em baixa frequência foi menos evidente quando comparamos os dados de FMs e MLs (voltaremos a essa discussão em breve). Ainda para o caso (b) fica claro que uma maior influência da interação dipolar ocorre para  $f$  maior que 200 kHz. Isso novamente corrobora com nossos dados experimentais aonde uma forte diferença entre amostras de FM e ML são observadas para medidas acima de 334kHz.

É importante notar que até o presente momento em nossas análises, quando mostramos um dado simulado para um valor de  $Q$ , assumimos que a fração destes agregados no colóide foi de 100%. Entretanto, de acordo com nossas análises de BME isto não é verdade. Vamos então simular o efeito da fração de agregados. Neste caso o SLP efetivo (experimental)  $SLP_{ef}$  possui contribuição do SLP devido aos agregados e do SLP devido aos monômeros, podendo ser escrito da seguinte forma:

$$SLP_{ef} = f \times SLP_{ag} + (1 - f) \times SLP_{mon} \quad (6.15)$$

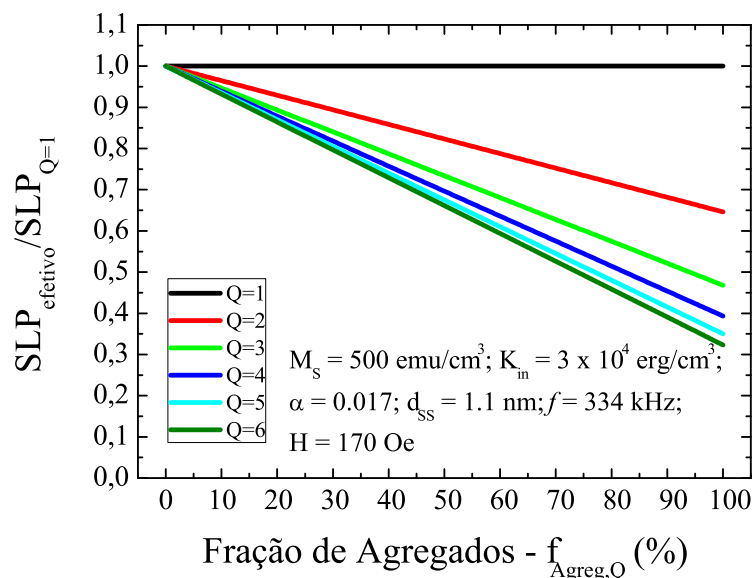
onde  $SLP_{ag}$  e  $SLP_{mon}$  são as contribuições do SLP devido aos agregados e aos monômeros, respectivamente, e  $f$  é a fração de agregados, que pode ser obtida pelas análises de BME. Antes de analisarmos especificamente nossas amostras vamos apresentar uma simulação considerando as constantes típicas de uma ferrita de manganês bulk. Na Figura (6.20) apresentamos a razão entre o SLP efetivo pelo SLP do monômero ( $SLP_{(Q=1)}$ ) em função da fração de agregados para diferentes agregados e  $f=334\text{kHz}$ . As constantes utilizadas na simulação estão apresentadas na figura. Este cálculo indica claramente uma redução do SLP quando há um aumento da fração de agregados. A figura também indica que tal efeito aumenta para um maior  $Q$ , tendendo



**Figura 6.19 :** Valores calculados de SLP em termos da frequência do campo magnético alternado.

a saturação quando o agregado é muito grande. Se compararmos esta simulação com nossos dados de BME (vide Tabelas 6.2 e 6.3) vemos que apesar do agregado no FM ser maior, como sua fração de agregados é menor, seu SLP ( $SLP_{(FM)}$ ) é maior do que o obtido para o ML, com  $Q = 3$ , mas uma fração de 35%. Portanto, o modelo está em acordo qualitativo com o que estamos observando experimentalmente.

Esta simulação também pode ser utilizada para explicar os dados de Di Corato et al. [38], que observou uma redução do SLP quando as nanopartículas são internalizadas em células neoplásicas. No caso deste grupo, o processo endocitótico sugere uma fração de agregados tendendo a 100% com um  $Q$  tendendo a infinito. Em nosso modelo consideramos cadeias lineares, o que não ocorre dentro das células. Apesar disso sabemos que o efeito da interação



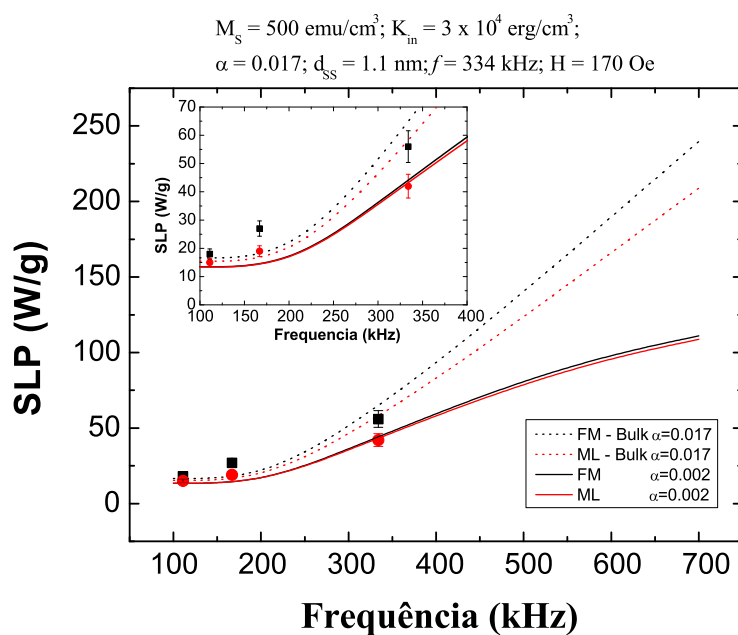
**Figura 6.20 :**  $SLP_{ef}/SLP_{Q=1}$  em termos da fração de agregados  $f$ .

tende a saturação com o aumento de  $Q$ . Portanto, pelo menos qualitativamente, parece razoável supor um  $Q$  grande e 100% de agregados para este processo. Neste caso nossas simulações indicam que a diminuição na eficiência magnetotérmica pode chegar a perto de 80%, dependendo dos parâmetros experimentais. Tais valores foram observados por Di Corato et al [38] em diversas amostras, sejam as partículas grandes ou não, tendo ou não contribuição de relaxação browniana. Os autores deste trabalho [38] não apresentaram nenhum modelo quantitativo para explicar seus dados. Apenas sugeriram uma supressão da contribuição de partículas com relaxação browniana. De acordo com nosso modelo, a melhor explicação para o forte efeito observado por Di Corato et al., é que a diminuição no SLP de partículas internalizadas é consequência da formação de agregados fortemente interagentes e de partículas bloqueadas nas vesículas dentro das células neoplásicas.

Finalmente, podemos tentar usar o nosso modelo para avaliar a possibilidade de se fazer uma análise quantitativa de nossos resultados experimentais. A Figura (6.21) apresenta os dados do FM e ML para um campo da ordem de 170 Oe (note que nem todas as amostras foram medidas na mesma intensidade de campo). Infelizmente, a faixa de campo investigada não coincide em todas as frequências, portanto estamos considerando as medidas próximas a

este valor. De fato, na frequência mais alta de 334 kHz, o SLP do FM é de 45 W/g enquanto no ML é de 33 W/g, correspondendo a uma queda do ML de 27% em relação ao FM. A figura inserida apresenta os mesmos dados numa faixa de frequência menor. Primeiramente, simulamos os dados considerando o damping como  $\alpha = 0,02$  e os parâmetros da amostra (vide Tabela 6.4). Os dados estimados para SLP nesse caso estavam bem abaixo do medido experimentalmente. Para se aproximar dos valores alteramos o único parâmetro que não foi medido experimentalmente, i.e. o damping que agora foi para  $\alpha = 0,002$ . Este valor está dentro da faixa obtida da análise de dados de amostras semelhantes (vide Ref. [30]). Linhas sólidas correspondem a simulação com esses parâmetros experimentais, i.e.  $K_{ef} = 3 \times 10^4$  erg/cm<sup>3</sup>,  $M_s = 256$  erg/cm<sup>3</sup>,  $\alpha = 0,002$ ,  $d_{ss} = 1,1$  nm,  $f = 334$  kHz e  $H_{max} = 170$  Oe. Apesar de se aproximar dos dados experimentais o efeito foi pequeno. As linhas tracejadas correspondem a outra simulação agora com os parâmetros da amostra bulk. Neste caso a coincidência com as medidas experimentais foi melhor, apesar de ainda não estar suficientemente boa. Isto é curioso já que sabe-se que efeitos de superfície são responsáveis por diminuir a magnetização de saturação de amostras na escala nanométrica. Independentemente disso, em ambos os casos, qualitativamente nosso modelo indica que o FM deve responder melhor, pois apresenta um maior SLP. A ausência de boa concordância quantitativa pode estar associada a necessidade de se utilizar um modelo analítico fora do regime linear, ou ainda a necessidade de se considerar efeitos de superfície. Neste último caso seria necessário desenvolver um modelo que leve em conta as diferenças de resposta a campo alternado de spins na superfície e no caroço da nanopartícula. Estes modelos são sofisticados e estão acima dos objetivos desta Tese, mas espera-se que em breve outros alunos do grupo possam incluir tais modelagens para melhor entender os resultados experimentais.

Em resumo, nesta seção ficou claro que a diminuição da eficiência magnetotérmica dos MLs, quando comparados aos FMs contendo as mesmas nanopartículas, deve-se a efeitos de agregação de partículas e sua consequência na proporção de partículas bloqueadas. De acordo com o modelo, quanto maior a proporção de partículas bloqueadas menor a eficiência



**Figura 6.21** : SLP x f onde os pontos são dados experimentais e as linhas representam valores simulados.

magnetotérmica, já que menos partículas contribuem para o aquecimento. Este efeito depende fortemente da amplitude de campo AC, de sua frequência e do estado de agregação na suspensão coloidal, já que estes parâmetros alteram o diâmetro superparamagnético. Em particular, o aumento da interação dipolar (via formação de agregados) aumenta a anisotropia magnética efetiva, o que diminui o diâmetro superparamagnético. O efeito deve ser bastante significativo também em sistemas reais, *in vivo*, já que partículas quando endocitadas encontram-se dentro de vesículas em situações fortemente interagentes.

# Capítulo 7

## Conclusões e Perspectivas

### 7.1 Conclusões

As principais conclusões deste trabalho são as seguintes:

- Fluidos magnéticos (FM) contendo nanopartículas magnéticas a base de ferrita de manganês recobertas com ácido cítrico, sintetizadas pelo método de coprecipitação, foram investigados por diversas técnicas experimentais. A técnica de difração de raios-X (DRX) comprovou a presença de ferritas com estrutura cristalina do tipo espinélio. A microscopia eletrônica de transmissão (MET) mostrou que as nanopartículas são aproximadamente esféricas. A contagem de partículas, por meio de micrografias de MET, indicou que a distribuição de tamanho das nanopartículas corresponde a uma função lognormal contendo um diâmetro modal  $D_m = 10,3 \pm 0,2$  nm e uma dispersidade de  $\sigma = 0,28 \pm 0,02$ . Estes dados, então, foram utilizados para obter o diâmetro médio das nanopartículas  $\langle D \rangle = 11,1 \pm 3,5$  nm.
- A caracterização magnética foi obtida à temperatura ambiente por meio da magnetometria de amostra vibrante (MAV). As nanopartículas não apresentaram campo coercitivo, sugerindo que no regime quasi-estático (regime DC) as partículas estão superparamagnéticas. A magnetização de saturação das nanopartículas foi de  $M_S = 256$  emu/cm<sup>3</sup>. Este valor é menor do que a amostra bulk ( $M_S = 500$  emu/cm<sup>3</sup>) possivelmente devido a efeitos de superfície. A análise da magnetização usando um modelo casca-carço sugere a

existência de uma casca fracamente magnética (em regime quasi-estático) com espessura da ordem de 1,1 nm. Medidas em alto campo do fluido magnético permitiram a obtenção da concentração de partículas na suspensão coloidal.

- Magnetolipossomos (MLs), vesículas contendo as mesmas nanopartículas de ferrita de manganês da amostra de fluido magnético, foram preparados pelo método de extrusão. A técnica de monitoramento de nanopartículas (NTA- Nanoparticle Tracking Analysis) permitiu extrair informação acerca da distribuição de diâmetros dos lipossomos, sua dispersão em tamanhos, e ainda a concentração de vesículas. Magnetolipossomos, com diâmetros na faixa de 170-185 nm e polidispersão (PDI) variando de 0,17 a 0,50, foram obtidos. A MAV foi utilizada para determinar a concentração de partículas magnéticas em solução. Combinando os dados de NTA e MAV foi possível aferir a fração volumétrica de partículas encapsuladas nos lipossomos, as quais variaram de 0,26 a 0,83% nas amostras investigadas.
- Medidas de TEM de magnetolipossomos mostraram nanopartículas distribuídas de forma heterogênea dentro das vesículas. Em alguns lipossomos não foi encontrado nanopartículas magnéticas em seu interior. Além disso, micrografias de MET dos MLs sugeriram uma presença de nanopartículas pequenas fora ou na superfície externa das vesículas, as quais continham um diâmetro médio de  $\langle D \rangle = 4 \pm 2$  nm. O excelente contraste, neste caso, sugere que muitas vezes as amostras de fluidos magnéticos possam conter uma maior quantidade de nanopartículas pequenas, que nem sempre são facilmente observadas.
- Medidas de Birrefringência Magnética Estática (BME) foram obtidas em amostras de FMs e MLs. A origem do efeito elétrico induzido pela ação de campo magnético foi atribuída a orientação de agregados de nanopartículas pré-existentes nos colóides. No caso dos FMs observou-se um BME crescendo com o aumento da concentração de partículas e atingindo a saturação para campos magnéticos mais altos. Por outro lado, as amostras de MLs apresentaram um pico no sinal de BME, mesmo quando a concentração de partículas

encapsuladas era igual ao do FM. Esses resultados indicaram uma maior BME para as amostras de MLs. A posição do pico dependeu da fração de partículas encapsuladas no lipossomo.

- A análise dos dados de BME dos MLs revelou um tamanho do agregado de  $Q_{ag} = 3$  (trímero). O deslocamento do pico nas amostras de MLs foi explicada pela maior quantidade de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico. Na amostra ML12 obtivemos um número de  $3,6 \times 10^{14}$  part/cm<sup>3</sup> e pico a 100 Oe, enquanto que para ML11 encontramos  $2,7 \times 10^{14}$  part/cm<sup>3</sup> com pico em 150 Oe. A comparação entre as análises de BME e MAV permitiu ainda avaliar a fração de partículas formando agregados nos nanocarreadores. Em particular, para a amostra de magnetolipossomos com fração volumétrica de  $\phi_{ml} = 0,26\%$  têm-se 35% das partículas contribuindo para o sinal de BME. Diferentemente, os FMs apresentaram agregados de tamanho distintos dos MLs. Na amostra de FM mais concentrada ( $\phi_{fm} = 0,25\%$ ) o tamanho do agregado encontrado foi de  $Q_{ag} = 6$ , enquanto que na amostra mais diluída ( $\phi_{fm} = 0,10\%$ ) o agregado foi de  $Q_{ag} = 10$ . Porém, o percentual de partículas contribuintes para o sinal magnetoóptico diminuiu de 14% para 6,2% decrescendo as frações volumétricas de 0,25% para 0,10%. Em particular, para a amostra de FM com uma fração volumétrica magnética  $\phi_{fm} = 0,25\%$  têm-se em torno de 14% das partículas contribuindo para o sinal de BME. Portanto, a análise dos dados de BME revelou um maior número de partículas formando agregados nos magnetolipossomos quando comparados aos do fluido magnético.
- Medidas de hipertermia magnética (HM) em larga faixa de frequência (111-632 kHz) e em diferentes amplitudes de campo (até 250 Oe para a menor frequência) foram obtidas para FMs e MLs com diferentes concentrações de partículas. Uma fraca influência da concentração na eficiência magnetotérmica (SLP - specific loss power) foi observada para as frequências mais baixas (111 e 167 kHz). Entretanto, aumentando a frequência o SLP foi claramente dependente da fração volumétrica. Os FMs e MLs apresentaram

diferentes respostas magnetotérmicas para frequências acima de 167kHz. Em particular, considerando amostras com a mesma concentração de partículas, encontramos que o SLP do ML foi menor que o SLP do FM. Em 334 kHz e campo de 170 Oe o SLP do ML foi de 42 W/g, enquanto que para o FM encontramos 55 W/g. Este dado indicou uma redução de eficiência magnetotérmica de 24% para a amostra de ML quando comparada ao FM. Os dados de SLP das amostras (MLs e FMs) também indicaram que, em alta amplitude de campo, o SLP não escala com o quadrado do campo magnético, como esperado pela teoria de regime linear (TRL).

- Um novo modelo teórico, ainda no regime linear, que leva em conta não somente a interação dipolar entre as partículas, mas também a importância da fração de partículas no regime bloqueado foi desenvolvido. O modelo é válido para campos menores do que o campo de anisotropia das nanopartículas, e prevê um decréscimo da eficiência magnetotérmica com o aumento da fração de partículas bloqueadas. O modelo mostra que o diâmetro superparamagnético diminui quanto maior a frequência ou amplitude de campo alternado e quanto maior for o tamanho do agregado. Este último, devido ao aumento da anisotropia magnética efetiva de uma nanopartícula formando uma cadeia linear por causa da interação dipolar.
- A análise da fração de agregados na eficiência magnetotérmica também foi investigada. Considerando uma distribuição de tamanhos das nanopartículas demonstramos que o SLP pode decrescer de até 80%, dependendo dos parâmetros experimentais. Este resultado corrobora outros recentemente publicados revelando uma forte redução do SLP após a internalização de nanopartículas em células neoplásicas. A explicação para tal redução foi o aumento da contribuição de partículas bloqueadas devido a forte interação partícula-partícula.
- O modelo de Regime Linear foi aplicado para explicar os dados de FM e ML na mesma fração volumétrica (0,25%). Neste caso parâmetros experimentais das nanopartículas

magnéticas, fração de agregados e tamanho de agregados das amostras de FM e ML, além de parâmetros do bulk da ferrita de manganês foram considerados. A análise teórica indicou que para uma região de baixa frequência a interação dipolar possui menor influência no SLP. Por outro lado, para frequências acima de 200 kHz, o efeito da interação dipolar começa a ser facilmente evidenciado, estando de acordo com nossas observações experimentais. O modelo foi capaz de explicar as diferenças entre o SLP dos FMs e MLs, i.e. a menor eficiência magnetotérmica dos MLs, como sendo resultado da maior fração de partículas agregadas no ML.

## 7.2 Perspectivas

As perspectivas deste trabalho são as seguintes:

- Existem dados da literatura que apontam para altos valores de SLP para MLs altamente empacotados, i.e. com frações volumétricas extremamente altas (próximo a 30%). Desejamos avaliar se tal efeito é verdadeiro. Para tanto pretendemos preparar novos magnetolipossomos com alta encapsulação de nanopartículas, além disso, encapsular nanopartículas magnéticas de mesmo diâmetro mas diferentes camadas de cobertura. Em particular, uma de pequena espessura (como o ácido cítrico) e outra muito mais espessa para minimizar o efeito da interação dipolar. O SLP dessas amostras será então investigado e analisado de forma crítica. Esperamos provar que nessa situação a camada de cobertura passa a ser uma importante estratégia no desenvolvimento de um nanocarreador mais eficiente do ponto de vista magnetotérmico, visando a terapia oncológica.
- Como o ML apresentou uma redução da eficiência magnetotérmica, planejamos investigar o efeito em magnetossomos, nos quais a camada lipídica recobre a superfície das nanopartículas. De acordo com nossos resultados tal nanocarreador terá um SLP maior que o do ML, mas também possuirá a capacidade de acoplar na camada lipídica diversos agentes terapêuticos.

- Os dados de SLP em mais alta amplitude de campo sugerem desvios da teoria do regime linear (TRL), que prevê SLP escalando com o quadrado da amplitude do campo magnético. Nossos dados experimentais indicaram, para essa amostra, uma dependência menor que a quadrática. Tal efeito necessita ser explicado teoricamente. Portanto, uma perspectiva deste trabalho é o desenvolvimento de uma teoria analítica fora do regime linear.
- A análise dos dados experimentais dos MLs e FMs na mesma concentração foram melhor representados (mas ainda não de forma satisfatória) usando os parâmetros da amostra bulk. Isto é muito curioso, pois efeitos de superfície são conhecidos há muito tempo em nanoferritas, como por exemplo a redução da magnetização de saturação com a diminuição do diâmetro das nanopartículas. Além disso, até o presente momento, apesar de ser conhecido que átomos na superfície devem responder de forma diferente, o modelo analítico mais utilizado (TRL) assume que as partículas são homogêneas, i.e. todos os spins, estejam os mesmos na superfície ou no caroço da nanopartícula, respondem da mesma maneira. Certamente esta hipótese não é correta para nanopartículas nestas dimensões. Portanto, pretendemos desenvolver um novo modelo teórico que leve em conta efeitos de superfície.

# Bibliografia

- [1] P.M. Frederik G.J. Vroege K. Butter, P.H.H Bomans and A.P. Philipse. Direct observation of dipolar chains in iron ferrofluids by cryogenic electron microscopy. *Nature Materials*, **2**, 88–91, 1996.
- [2] James Z. Hui Vladimir R. Muzykantov Zhiliang Cheng, Ajlan Al Zaki and Andrew Tsourkas. Multifunctional Nanoparticles: Cost Versus Benefit of Adding Targeting and Imaging Capabilities. *Science*, **338**, 903–910, 2012.
- [3] Matthias Nahrendorf Ralph Weissleder and Mikael J. Pittet. Imaging macrophages with nanoparticles. *Nature Materials*, **13**, 125 – 138, 2014.
- [4] B. D. Cullity. *Introduction to Magnetic Materials*. Addison-Wesley series in metalurgy an materials, 1972.
- [5] M DeCuyper and M Joniau. Magnetoliposomes. Formation and structural characterization. *Eur Biophys J.*, **15**, 311–319, 1988.
- [6] Robby A. Petros and Joseph M. DeSimone. Strategies in the design of nanoparticles for Therapeutic applications. *Nature Reviews*, **9**, 615–627, 2010.
- [7] Michael Hodenius Stefaan J. H. Soenen and Marcel de Cuyper. Magnetoliposomes: versatile innovative nanoolloids for use in biotechnology and biomedicine. *Nanomedicine*, **4**, 177 – 191, 2009.
- [8] Luce Vander Elst Hassan Fattahi Sophie Laurent Fujun Liu, Nasser Arsalani and Robert N. Muller. Magnetoliposomes as multimodal contrast agents for molecular imaging and cancer nanotheragnostics. *Nanomedicine*, **6**, 529 – 544, 2011.
- [9] Evgeniy P. Naiden Ivan Psakhye Liane Babes Thomas Reinheckel Christoph Peters Robert Zeiser Matthew Bogyo Vito Turk Sergey G. Psakhye Boris Turk Georgy Mikhaylov Ursa-Mikac Anna A. Magaeva, Volya I. Itin and Olga Vasiljeva. Ferri-liposomes as an MRI-visible drugdelivery system for targeting tumours and their microenvironment. *Nature Nanotechnology*, **6**, 594–602, 2011.

- [10] V. P. Torchilin A. L. Klibanov, K. Maruyama and L. Huang. Amphipathic polyethylene-glycols effecteffect prolong the circulation time of liposomes. *FEBS Letters*, **1**, 235–237, 1990.
- [11] Y. Matsumura and H. A. Maeda. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer-chemotherapy - mechanism of tumoritropic acumulation of proteins and the antitumor agent Smancs. *Cancer Res*, **46**, 6387–6392., 1986.
- [12] B. Witwer Su-Chu Zhang E. Strable B.K. Lewis H. Zywicke B. Miller P. van Gelderen B.M. Moskowitz I.D. Duncan J.W.M. Butle, T. Douglas and J.A. Frank. Magnetodendrimers allow endosomal magnetic labeling and in vivo tracking of stem cells. *Nature Biotechnology*, **19**, 1141–1147, 2001.
- [13] Peter F. Hahn Willem M. Deserno Shahin Tabatabaei Christine Hulsbergen van de Kaa Jean de la Rosette Mukesh G. Harisinghani, Jelle Barentsz and Ralph Weissleder. Noninvasive Detection of Clinically Occult Lymph-Node Metastases in Prostate Cancer. *N Engl J Med*, **348**, 2491–2499, 2003.
- [14] Shadi Damanpour Mitsukuni Yoshida Jonathan S. Dordick Jeffrey M. Friedman Sarah A. Stanley, Jennifer E. Gagner. Radio-Wave Heating of Iron Oxide Nanoparticles Can Regulate Plasma Glucose in Mice. *Science*, **336**, 604–608, 2012.
- [15] Hao Zeng Denise M. Ferkey Heng Huang, Savas Delikanli and Arnd Pralle. Remote control of ion channels and neurons through magnetic-field heating of nanoparticles. *Nature Nanotechnology*, **5**, 602–606, 2010.
- [16] W. D. Shorey R. C. Hanselman J. C. Parrott R.K. Gilchrist, R. Medal and C.B. Taylor. Selective inductive heating of lymph nodes. *Annals of surgery*, **146**, 596–606, 1957.
- [17] Fahling H. John W. Hinz A. Jordan A., Wust P. and Felix R. Inductive heating of ferrimagnetic particles and magnetic fluids: physical evaluation of their potential for hyperthermia. *Int J Hyperthermia*, **9**, 51–68., 1993.
- [18] Scholz R. Bruss V. Waldofner N. Ricke J. Feussner A. Hildebrandt B. Rau B Gneveckow U., Jordan A. and Wust P. Description and characterization of the novel hyperthermia - and thermoablation-system MFH (R) 300F for clinical magnetic fluid hyperthermia. *Medical Physics*, **31**, 1444 –1451, 2004.
- [19] Eckelt L. Feussner A. Waldofner N. Scholz R. Deger S. Wust P. Loening S.A. Johannsen M., Gneveckow U. and Jordan A. Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: Presentation of a new interstitial technique. *International Journal of Hyperthermia*, **21**, 637 – 647, 2005.

- [20] Wust P.; Gneveckow U. and Johannsen M. Magnetic nanoparticles for interstitial thermothe-  
rapy - feasibility, tolerance and achieved temperatures. *International Journal of Hyperthermia*,  
**22**, 673–685, 2006.
- [21] Regina Scholz Klaus Maier-Hauff, Ronny Rothe. Intracranial thermotherapy using magnetic  
nanoparticles combined with external beam radiotherapy: Results of a feasibility study on  
patients with glioblastoma multiforme. *Journal of Neuro-oncology*, **81**, 53–60, 2007.
- [22] Thiesen B. Taymoorian K. Cho C.H. Waldofner N. Scholz R. Jordan A. Loening S.A.  
Johannsen M., Gneveckow U. and Wust P. Thermotherapy of prostate cancer using magnetic  
nanoparticles: Feasibility, imaging, and three-dimensional temperature distribution. *European  
Urology*, **52**, 1653 –1662, 2007.
- [23] A. Jordanc Karl-Titus Hoffmannnd U. Gneveckowc R. Scholz B. Thiesenc W. Brucke Frank  
K.H. van Landeghema, K. Maier-Hauffb and A. von Deimlingf. Post-mortem studies in  
glioblastoma patients treated with thermotherapy using magnetic nanoparticles. *Biomaterials*,  
**30**, 52–57, 2009.
- [24] Hiroyuki Honda Akira Ito, Masashige Shinkai and Takeshi Kobayashi. *Medical Application  
of Functionalized Magnetic Nanoparticles*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **100**,  
1–11., 2005.
- [25] Hiroyuki Honda-Toshihiko Wakabayashi Jun Yoshida Mitsugu Yanase, Masashige Shin-  
kai and Takeshi Kobayashi. *Intracellular Hyperthermia for Cancer Using Magnetite Cationic  
Liposomes: An in vivo Study*. *Jpn. J. Cancer Res.*, **89**, 463–470, 1998.
- [26] T. Kikumori T. Kobayashi and M. Sawaki. *Anti-cancer effect of hyperthermia on breast  
cancer by magnetite nanoparticle-loaded anti-HER2 immunoliposomes*. *Breast Cancer Res.  
Treat*, **113**, 435–441, 2009.
- [27] Shinya Sato-Taku Naiki Kenji Yamada-Takahiro Yasui Keiichi Tozawa Takeshi Kobayashi  
Satoru Takahashi Daichi Kobayashi, Noriyasu Kawai and Kenjiro Kohri. *ThermotherapyU-  
singMagnetic Cationic Liposomes Powerfully Suppresses Prostate Cancer Bone Metastasis in  
aNovel RatModel*. *The Prostate*, **73**, 913, 2013.
- [28] Eiichi Nakayama Takeshi Kobayashi, Kazuhiro Kakimi and Kowichi Jimbow. *Antitumor  
immunity by magnetic nanoparticle-mediated hyperthermia*. *Nanomedicine*, **9**, 1715, 2014.
- [29] Fujun Liu-Nasser Arsalani Luce Vander Elst Hassan Fattahi, Sophie Laurent and Robert N.  
Muller. *Magnetoliposomes as multimodal contrast agents for molecular imaging and cancer  
nanotheragnostics*. *Nanomedicine*, **6**, 529 – 544, 2011.

- [30] Luis Cesar Branquinho, Marcus Souza Carriao, Anderson Costa Silva, Nicholas Zufelato, Marcelo H. Sousa, Ronei Miotto, Robert Ivkov, and Andris Figueroa Bakuzis. Effect of magnetic dipolar interactions on nanoparticle heating efficiency: Implications for cancer hyperthermia. *Nature: Scientific Reports*, **3**, 2887, 2013.
- [31] E. R. Cintra, F. S. Ferreira, J. L. Santos Junior, J. C. Campello, L. M. Socolovsky, E.M. Lima, and A. F. Bakuzis. Nanoparticle agglomerates in magnetoliposomes. *Nanotechnology*, **20**, 045103, 2009.
- [32] Christine Menager Olivier Clement Gillian Barratt Cecile Grabielle-Madelmont Florence Gazeau Valerie Cabuil Marie Sophie Martina, Jean-Paul Fortin and Sylviane Lesieur. Generation of Superparamagnetic Liposomes Revealed as Highly Efficient MRI Contrast Agents for in Vivo Imaging. *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 10676 – 10685, 2005.
- [33] Anna A. Magaeva Volya I. Itin Evgeniy P. Naiden Ivan Psakhye-Liane Babes Thomas Reinheckel Christoph Peters Robert Zeiser Matthew Bogyo Vito Turk Sergey G. Psakhye Boris Turk Georgy Mikhaylov, Ursa Mikac and Olga Vasiljeva. Ferri-liposomes as an MRI-visible drug-delivery system for targeting tumours and their microenvironment. *Nature Nanotechnology*, **6**, 594–602, 2011.
- [34] K. Skeff Neto M. S. Carriao and A. F. Bakuzis. Mass magnetophoretic experiment applied to the separation of biocompatible magnetic nanoparticles with potential for magnetohyperthermia. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **47**, 5003, 2014.
- [35] Jelena Kolosnjaj-Tabim Vincent Dupuis Olivier Clement Florence Gazeau-Claire Wilhelm Gaelle Bealle, Riccardo Di Corato and Christine Menager. Ultra Magnetic Liposomes for MR Imaging, Targeting, and Hyperthermia. *Langmuir*, **28**, 11834–1842, 2012.
- [36] M. De Cuyper, M Hodenius, G. Ivanova, M. Baumann, E. Paciok, T. Eckert, S. J. H. Soenen, and T. Schmitz-Rode. Specific heating power of fatty acid and phospholipid stabilized magnetic fluids in an alternating magnetic field. *J. Phys.: Condens. Matter*, **20**, 4131, 2008.
- [37] J. Carrey R. P. Tan and M. Respaud. Magnetic hyperthermia properties of nanoparticles inside lysosomes using kinetic Monte Carlo simulations: Influence of key parameters and dipolar interactions, and evidence for strong spatial variation of heating power. *Phys. Rev. B*, **90**, 4421, 2014.
- [38] Riccardo Di Corato, Ana Espinosa, Lenaic Lartigue, Mickael Tharaud, Sophie Chat, Teresa Pellegrino, Christine Menager, Florence Gazeau, and Claire Wilhelm. Magnetic hyperthermia efficiency in the cellular environment for different nanoparticle designs. *Biomaterials*, **35**, 6400–6411, 2014.

- [39] Pedro Tartaj; Maria del Puerto Morales; Sabino Veintemillas-Verdaguer; Teresita Gonzalez-Carreno and Carlos J Serna. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 36, Number 13, **36**, 182–197, 2003.
- [40] P. P. C. Sartoratto and A. V. S. Neto; E. C. D. Lima; A. L. C. Rodrigues de Sa; P. C. Morais. Preparation and electrical properties of oil-based magnetic fluids. *Journal Applied of Physics*, **97**, 10Q917, 2005.
- [41] R.E. Rosensweig. *Ferrohydrodynamics*. Mineola: Dover Publ. NY, 1997.
- [42] George N. Glavee; Carl F. Kernizan; Kenneth J. Klabunde; Christopher M. Sorensen and George C. Hadjapanayis. Clusters of Immiscible Metals. Iron-Lithium Nanoscale Bimetallic Particle Synthesis and Behavior under Thermal and Oxidative Treatments. *Chem. Mater.*, **3**, 967–976, 1991.
- [43] Massart R. Preparation of Aqueous Magnetic Liquids in Alkaline and Acidic Media. *IEEE Transactions on Magnetics*, **17**, 1247–1248, 1981.
- [44] P.C. Morais; V..K. Garg; A.C. Oliveira; L.P.Silva; R.B. Azevedo; A.M.L. Silva and E.C.D. Lima. Synthesis and characterization of size-controlled cobalt-ferrite-based ionic ferrofluids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **225**, 37–40, 2001.
- [45] Anna C. S. Samia Adam J. Rondinone and Z. John Zhang. A Chemometric Approach for Predicting the Size of Magnetic Spinel Ferrite Nanoparticles from the Synthesis Conditions. *J. Phys. Chem. B*, **104**, 7919–7922, 2000.
- [46] J. A. Lopez Perez, M. A. Lopez Quintela ; J. Mira; J. Rivas, and S. W. Charles. Advances in the Preparation of Magnetic Nanoparticles by the Microemulsion Method. *J. Phys. Chem. B*, 101 (41), pp 8045-8047, **101**, 8045–8047, 1997.
- [47] J.R. Thomas. Preparation and magnetic properties of colloidal cobalt particles. *J. Appl. Phys*, **37**, 2914–2915, 1966.
- [48] R. Aquino; F.A. Tourinho; R. Itri; M.C.F.L. Lara and J. Depeyrot. Size control of MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles in electric double layered magnetic fluid synthesis. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **252**, 23–25, 2002.
- [49] Xuebo Cao and Li Gu. Spindly cobalt ferrite nanocrystals: preparation, characterization and magnetic properties. *Nanotechnology*, **16**, 180–185, 2005.
- [50] Liang Wang You-Wei Du Jian-Min Li, A. C. H. Huan and Duan Feng. Interface effects on magnetoresistance and magnetic-field-reduced Raman scattering in magnetite. *Physical Review B*, **61**, 6876–6878, 2000.

- [51] A. Halbreich, J. Roger, J.N. Pens, D. Geldwerth, M.F. Da Silva, M. Roudier, and J.C. Bacri. Biomedical application of maghemite ferrofluid. *Biochimie*, **80**, 379–390, 1998.
- [52] A.F. Bakuzis. *Propriedades Magnéticas e Magneto-ópticas de Fluidos Magnéticos*. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, 2000.
- [53] M Gulati ; M Grover; S Singh and M Singh. Lipophilic drug derivatives in liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*, **165**, 129 –168, 1998.
- [54] G. Gregoriads. Engineering liposomes for drug delivery: Progress and problems. *Trends in Biotechnology*, **13**, 527–537, 1995.
- [55] S. Vemuri and C. T. Rhodes. Encapsulation of a Water-Soluble drug in a liposome Preparation - Removal of free drug by washing. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **21**, 1329 –1338, 1995.
- [56] S. Sharma and S. U. Sharma. Liposomes in drug delivery: progress and limitations. *International Journal of Pharmaceutics*, **54**, 123 – 140, 1997.
- [57] D. D. Lasic. Novel applications of liposomes. *Trends in Biotechnology*, **16**, 307–321, 1998.
- [58] T. M. Allen and A. Chonn. Large Unilamellar Liposomes with low uptake into the reticulo-endothelial system. *FEBS Letters*, **223**, 42–46, 1987.
- [59] A. Chonn and P. R. Cullis. Recent Advances in Liposomal Drug Delivery Systems. *Current Opinion in Biotechnology*, **6**, 698–708, 1995.
- [60] M. L. Lacava-B. R. Azevedo O. Silva F. Pelegriane M. G. Z. Lacava, P. A. Garcia and P. C. Morais. Biodistribution and biocompatibility investigation in magnetoliposome treated mice. *Spectroscopy an International Journal*, **18**, 587–603, 2004.
- [61] H. Kronmuller and S. Parkins. *Handbook of Magnetism and Advanced Magnetic Materials*. Wiley Interscience, 2007.
- [62] M. Xu and P. J. Ridler. Linear dichroism and birefringence effects in magnetic fluids. *J. Appl. Phys.*, **82**, 326–332, 1997.
- [63] R. E. Rosensweig. Heating magnetic fluid with alternating magnetic field. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **252**, 370–374, 2002.
- [64] W . F. Brown. Thermal Fluctuations of a Single-Domain Particle. *Phys. Rev.*, **130**, 1677 a 1686, 1963.

- [65] W. T. Coffey and Y. P. Kalmykov. Thermal fluctuations of magnetic nanoparticles: Fifty years after Brown. *Journal of Applied Physics*, **37**, 2914, 1966.
- [66] B. Mehdaoui J. Carrey and M. Respaud. Simple models for dynamic hysteresis loop calculations of magnetic single-domain nanoparticles: Application to magnetic hyperthermia optimization. *Journal of Applied Physics*, **08**, 3921, 2011.
- [67] N. A. Usov and Y. B. Grebenshchikov. Hysteresis loops of an assembly of nanoparticles with uniaxial anisotropy. *Journal of Applied Physics*, **106**, 3917, 2009.
- [68] S. Chikazumi. *Physics of Ferromagnetism*. C. D. Graham, 1997.
- [69] A. H. Morrish. *The Physical Principles of Magnetism*. Wiley-VCH, 1965.
- [70] B. Abeles J. I. Gittleman and S. Bozowski. Superparamagnetism and Relaxation: Effects in granular NiSiO<sub>2</sub> and Ni-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> films. *Physical Review B*, **9**, 3891–3897, 1974.
- [71] D. Fiorani J. L. Dormann and E. Tronc. *Magnetic Relaxation in Fine-Particle Systems*. *Advanced in Chemical Physics*, **98**, 494, 1996.
- [72] David J. Griffiths. *Eletrodinamica*. Pearson, 2011.
- [73] P. Debye. *Polar Molecules*. Dover, 1945.
- [74] D. E. Bordelon and C. Cornejo et al. Magnetic nanoparticle heating efficiency reveals magneto-structural differences when characterized with wide ranging and high amplitude alternating magnetic fields. *Journal of Applied Physics*, **109**, 124904, 2011.
- [75] Castro L. L. Eloi M. T. and Miotto R. Bakuzis A. F., Branquinho L. C. Chain formation and aging process in biocompatible polydisperse ferrofluids: experimental investigation and Monte Carlo simulations. *Advances in colloid and interface science*, **191**, 1–21, 2013.
- [76] Luiz C. Sampaio and Armando Y. Takeuchi Flávio Garcia, Geraldo R. C. Cernicchiaro. *Técnicas de Magnetometria*. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, **22**, 406–410, 2000.
- [77] S. Foner. The vibrating sample magnetometer: Experiences of a volunteer (invited). *J. Appl. Phys.*, **79**, 4740–4745, 1996.
- [78] B. Carr and M. Right. *Nanoparticle Tracking Analysis. A Review of Application and Usage*. NanoSight Ltd, **5**, 27, 2012.
- [79] Miguel Castro Eva Natividad and Arturo Mediano. Accurate measurement of the specific absorption rate using a suitable adiabatic magnetothermal setup. *Applied Physics Letters*, **92**, 3116, 2008.

- [80] Peter Wust Horst Fahling Andreas Jordan, Regina Scholz and Roland Felix. Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of bio-compatible superparamagnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 201, (1-3), 413-419, **201**, 413–419, 1999.
- [81] S. Neveu; A. Bee; M. Robineau and D. Talbot. Size-Selective Chemical Synthesis of Tartrate Stabilized Cobalt Ferrite Ionic Magnetic Fluid. *Journal of Colloid and Interface Science*, 255,(2), 293-298, **255**, 293–298, 2002.
- [82] D. Vincent B. Payet, L. Delaunay, and G. Noyel. Influence of particle size distribution on the initial susceptibility of magnetic fluids in the Brown relaxation range. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 186, (1-2), page 168-174, **186**, 168–174, 1998.
- [83] J. Popplewell and L. Sakhnini. The dependence of the physical and magnetic properties of magnetic fluids on particle size. *J. Magnetism and Magnetic Materials*, Volume 149, (1-2), 72-78, **149**, 72–78, 1995.
- [84] A. F. Bakuzis; K. Skeff Neto; P .P. Gravina; L.C. Figueiredo; P.C. Morais; L. P. Silva; R. B. Azevedo; and O. Silva. Magneto-optical properties of a highly transparent cadmium ferrite-based magnetic fluid. *Applied Physics Letters*, **84**, 2355, 2004.
- [85] A. F. Bakuzis, M. F. Da Silva, P. C. Morais, L. S. F. Olavo, and K. Skeff Neto. Zero-field birefringence in magnetic fluids: Temperature, particle size, and concentration dependence. *Journal of Applied Physics*, **87**, 2497–2502, 2000.
- [86] P.C. Morais A.R. Pereira R.B. Azevedo L.M. Lacava K. Skeff Neto, A.F. Bakuzis and Z.G.M. Lacava. The influence of aggregates and relative permeability on the magnetic birefringence in ionic magnetic fluids. *Journal of Applied Physics*, **89**, 3362–3369, 2001.
- [87] A. F. Bakuzis K. L. C. Miranda G.D. Benicio, F. Pelegri and P. P. C. Sartoratto. Magneto-optical properties of ionic magnetic fluids. *Journal of applied physics*, **101**, 09J106, 2007.
- [88] A. F. Bakuzis K. Skeff Neto E. C. D. Lima P.C. Morais, P. P. Gravina. Magneto-optical properties of ionic magnetic fluids: The effect of the nanoparticle surface passivation. *Physica Status Solidi (c)*, **1**, 3575–3578, 2004.
- [89] A. F. Bakuzis and P. C. Morais. On the origin of the surface magnetic anisotropy in manganese-ferrite nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **226**, 1924–1926, 2001.
- [90] J. Coey. *Magnetism and Magnetic Materials*. Cambridge University Press, 2009.