

## Avaliação da formação do híbrido $\text{NiFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ e sua performance na imobilização da GOx

### Evaluation of the formation of the hybrid $\text{NiFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ and its performance in the immobilization of GOX

Elvia Leal<sup>1</sup>, Joelda Dantas<sup>1</sup>, Paloma Lima de Oliveira<sup>2</sup>, Líbia de Sousa Conrado<sup>2</sup>, Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos (LabSMaC) – UAEMA/UFCG. Av. Aprígio Veloso - 882, Bodocongó, 58109-970, Campina Grande - PB, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) – UAEQ/UFCG. Av. Aprígio Veloso - 882, Bodocongó, 58109-970, Campina Grande - PB, Brasil.

e-mail: elvialeal@gmail.com, joeldadantas@yahoo.com.br, palomalima\_eq@yahoo.com.br, libiaconrado@yahoo.com.br, ana.cristina@pq.cnpq.br

---

#### RESUMO

Recentes avanços tecnológicos na síntese e projeto de nanopartículas magnéticas (NPMs) vêm abrindo vários caminhos para o uso destes materiais em aplicações médicas e farmacêuticas, como biosensores, carreadores de fármacos, destruição de células tumorais e separação magnética de células e proteínas. Com vista nisso, foi proposto obter o híbrido de  $\text{NiFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$  a partir da modificação da superfície da ferrita de níquel com 3-aminopropiltriethoxissilano, objetivando avaliar a sua formação a partir de suas propriedades estruturais, magnéticas e morfológicas, a fim de estudar a sua capacidade de imobilizar a glicose oxidase (GOx). As amostras foram analisadas por DRX, FTIR, MEV, BET/BJH, medidas magnéticas e testadas na reação de imobilização da GOx. Os resultados revelaram a formação monofásica do espinélio  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  com tamanho de cristalito de 35 e 32 nm para as amostras antes e após a modificação da superfície; presença de bandas de absorção características do espinélio e do grupo silanol do agente silano, confirmando formação do híbrido. A modificação de superfície melhorou a área superficial e o comportamento magnético das NPMs. O estudo demonstrou que a presença do agente silano não contribuiu para a imobilização da GOx.

**Palavras-Chave:** Ferritas de níquel, nanopartículas magnéticas, agente silano, imobilização, biomaterial.

---

#### ABSTRACT

Recent technological advances in the synthesis and design of magnetic nanoparticles (MNPs) have opened up a slew of ways for the use of these materials in medical and pharmaceutical applications, such as biosensors, drug carriers, destruction of tumor cells, and magnetic separation of cells and proteins. In view of this, we propose to obtain the hybrid  $\text{NiFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$  from the surface modification of the nickel ferrite with 3-aminopropyltriethoxysilane, aiming to evaluate its formation by its structural, morphological and magnetic properties, in order to test it for its performance in the immobilization of the glucose oxidase (GOx). The samples were analyzed through XRD, FTIR, SEM, BET/BJH, magnetic measurements and tested in the GOx immobilization. The results showed the single phase formation of the spinel  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  with crystallite size of 35 and 32 nm for the samples before and after surface modification and the presence of characteristic absorption bands for the spinel and the silanol group of the silane agent, confirming the formation of the hybrid. The surface modification improved the surface area and the magnetic behavior of the NPMs. The presence of the silane agent does not contribute for the GOx immobilization.

**Keywords:** Nickel ferrite, magnetic nanoparticles, silane agent, immobilization, biomaterial.

## 1. INTRODUÇÃO

Nanopartículas do tipo espinélio têm como fórmula geral  $A^{2+}Fe_2^{3+}O_4$ , onde  $A^{2+}$  representa íons metálicos divalentes como Co, Cu, Zn, Mn, Ni, etc. Nos últimos anos nanopartículas de ferritas espinélios vêm sendo intensivamente estudadas por conta de suas propriedades elétricas e magnéticas, e pela aplicação em grande escala em áreas tecnológicas como: imagens por ressonância magnética [1], armazenamento magnético de informação de alta densidade [2], absorção de micro-ondas [3], em telecomunicação [4], transformadores de alta frequência [5], catálise [6-8] e aplicações biomédicas [9]. Na área biológica o uso de nanopartículas vêm sendo muito citado em tratamentos médicos como hipertermia [10], carregamento de fármacos [11] e imobilização de enzimas [12, 13].

A ferrita de níquel ( $NiFe_2O_4$ ) é um material cerâmico que apresenta estrutura do tipo espinélio inversa que se origina do momento magnético de spins antiparalelos entre íons tetraédricos de  $Fe^{3+}$  e íons octaédricos  $Ni^{2+}$  [14]. É considerado como um material ferrimagnético mole, pois possui baixo campo coercitivo e alta permeabilidade. Apresenta relativamente alta resistividade elétrica, dureza mecânica, estabilidade química e custos razoáveis, que permitem uma ampla variedade de aplicações. As propriedades magnéticas específicas desse tipo de material dependem do grau de densificação e da microestrutura do produto final que, por sua vez, se vinculam a fatores como características do pó e parâmetros de sinterização [15, 16].

Um fator importante das nanopartículas magnéticas (NPMs) para aplicação como sensor enzimático tem relação com a modificação de superfície destas nanopartículas, visando aumentar sua área superficial, aumentando sua eficiência catalítica, e melhorando o transporte de massa e a habilidade de adsorção [17-19].

Embora as NPMs apresentem uma ótima combinação de propriedades, estas também tendem a se aglomerar devido às fortes interações dipolo-dipolo, e assim causando um grande problema, uma vez que tendem a reduzir a energia associada a área superficial e ao volume de partículas com tamanho nano. Sendo assim, uma grande variedade de revestimentos vem sendo estudado para tentar minimizar este problema. Logo, a modificação de superfície das nanopartículas de  $NiFe_2O_4$  com um material biocompatível e biodegradável vem a ser requerida.

A modificação de nanopartículas por meio de tratamentos químicos tais como a absorção de agentes silano de acoplamento, reportado por PLUEDDEMANN e seus colaboradores [20], é um método útil para melhorar a estabilidade e a capacidade de dispersão das nanopartículas em vários meios líquidos, uma vez que as transforma num híbrido inorgânico/orgânico. Outras pesquisas para modificação de superfícies de partículas visando melhorar a compatibilidade entre as superfícies partículas/polímero e as propriedades dos materiais compósitos são relatadas em trabalhos científicos [21,22].

A superfície de uma nanopartícula não modificada é coberta por apenas grupos  $-OH$ , enquanto a superfície de uma nanopartícula modificada com silano é coberta com as moléculas do próprio agente silano, permitindo um comportamento diferenciado dentro de solventes orgânicos ou matrizes poliméricas quando comparados com as partículas não modificadas, ou seja, as partículas modificadas apresentam uma melhor dispersão em ambos os meios [23].

Os materiais híbridos na área médica vêm apresentando grandes avanços inovadores, uma vez que oferecem a oportunidade de combinar as propriedades desejáveis do polímero orgânico, como elasticidade e flexibilidade, com as propriedades dos sólidos inorgânicos, como rigidez, resistência química, estabilidades térmica e química [24].

Aplicações de nanomateriais em biossensores têm recebido muito interesse nos últimos anos. Entre os vários tipos de biossensores estudados, sensores de glicose têm recebido destaque devido a sua importância em diagnósticos clínicos [25,26]. A glicose oxidase (GOx) é de considerável importância comercial. Ela tem sido utilizada no cozimento, na produção de ovo em pó, na produção de vinho e na produção de ácido glucônico, entre outros [27]. Porém, as suas aplicações não se resumem apenas a aplicações industriais. A GOx é a enzima mais bem estudada para a atuação em biossensores de glicose devido a sua alta especificidade, estabilidade e baixo custo de obtenção quando comparada a outras enzimas [28-30]. Neste caso, a GOx pura deve ser imobilizada na superfície do eletrodo, de modo que se mantenha presa a este suporte, mantendo sua atividade catalítica. Além de permitir a difusão de substratos e produtos para dentro e para fora da interface biocatalítica, a enzima imobilizada pode ser reutilizada, o que diminui o custo consideravelmente. O suporte ideal para a imobilização de enzimas deve ser insolúvel em água, se ligar facilmente à enzima e ser inerte quimicamente. Os métodos mais comuns para imobilização de enzimas se dão através de encapsulamento ou através de ligações físicas ou químicas da enzima ao suporte [31].

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição do agente silano 3-aminopropiltrióxido-silano sobre a superfície das nanoferritas  $NiFe_2O_4$  visando a formação do híbrido  $NiFe_2O_4@SiO_2$  e avaliar a capacidade de imobilização da glicose oxidase (GOx).

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para a síntese das ferritas em estudo foram utilizados os seguintes reagentes: nitrato de níquel hexahidratado (145,40 g/mol), nitrato de ferro monohidratado (808,0 g/mol) e ureia (60,06 g/mol). Todos os reagentes com grau de pureza entre 98 a 99%.

O processo de síntese das ferritas por reação de combustão envolveu uma mistura de íons metálicos, como reagentes oxidantes (nitratos), e o combustível (ureia) como agente redutor. Para a realização da reação de combustão, a proporção da mistura inicial de cada reagente foi calculada de acordo com as valências dos elementos reativos estabelecidos pela estequiometria da reação, de acordo com os conceitos da química dos propelentes e explosivos [32]. Como produto da reação, obteve-se a ferrita  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ , a qual foi desaglomerada em um almofariz e peneirada em malha #325 (45  $\mu\text{m}$ ).

Em seguida, a ferrita  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  foi silanizada com o agente 3-aminopropiltriétoxissilano [ $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ ] com grau de pureza de 97%. A metodologia adotada para esse processo foi com base no método de refluxo [33,34], onde 5g da ferrita  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  previamente seca em estufa a 100°C foi misturado com 5 mL do agente silano 3-aminopropiltriétoxissilano e com 50 mL de tolueno anidro  $\text{C}_6\text{H}_5\text{C}(\text{O})\text{OH}$  utilizando um balão de fundo redondo de 250 mL apoiado em uma manta aquecida à 100°C e acoplado ao sistema de refluxo por um período de 72 h. Após este processo, a solução foi transferida para tubos de ensaios para centrifugação em um equipamento FANEM modelo Baby I com velocidade 500 rpm/30 min, a fim de promover a sedimentação e separação das NPM's. Posteriormente, o produto foi submetido a um processo de lavagem utilizando álcool etílico  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ , até a aparente remoção do tolueno ainda presente, seguido de secagem em estufa FANEM Modelo 315 a 150°C/12 h; obtendo o híbrido  $\text{NiFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$  (amostra silanizada).

As amostras de  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  pura e silanizada, nomeadas de FNi e FNiS, respectivamente, foram caracterizadas por difração de raios-X em um difratômetro da Shimadzu (modelo LAB 6000) com varredura na região de 15 a 75° 2 $\theta$ , radiação  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ). A cristalinidade foi determinada a partir da razão entre a área integrada do pico referente à fase cristalina e a área referente à fração amorfa. O tamanho médio do cristalito foi calculado a partir da linha de alargamento de raios-X ( $d_{311}$ ) por meio da deconvolução da linha de difração secundária do cério policristalino (utilizado como padrão) utilizando-se a equação de Scherrer [35]. Os espectros de FTIR foram obtidos usando um espectrômetro modelo 400 FT-IR/FT-NIR da marca Perkin Elmer, entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 20 varreduras. A morfologia dos aglomerados de partículas das amostras foi investigada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando um microscópio modelo XL30 FEG da Philips. A análise da textura foi obtida por adsorção-dessorção de  $\text{N}_2$  por meio do método BET/BJH fazendo uso de analisador Quantachrome modelo Nova 3200e para obtenção de parâmetros como área superficial, tamanho e volume de poro.

O teste de imobilização da GOx, foi realizada diluindo 0,005 g de GOx, em 100 mL da solução tampão de fosfato de sódio 0,1 M. A seguir, 0,003 g de cada amostra (FNi e FNiS) foi colocado em porta amostras de vidro juntamente com 2 mL da solução preparada de GOx. Estas porta-amostras foram devidamente tampadas e transferidos para o Shaker incubadora refrigerada, modelo SL-223 da SOLAB, onde a reação prosseguiu por um período de 4h a 4 °C, sob pressão atmosférica de 1 atm e agitação de 125 rpm.

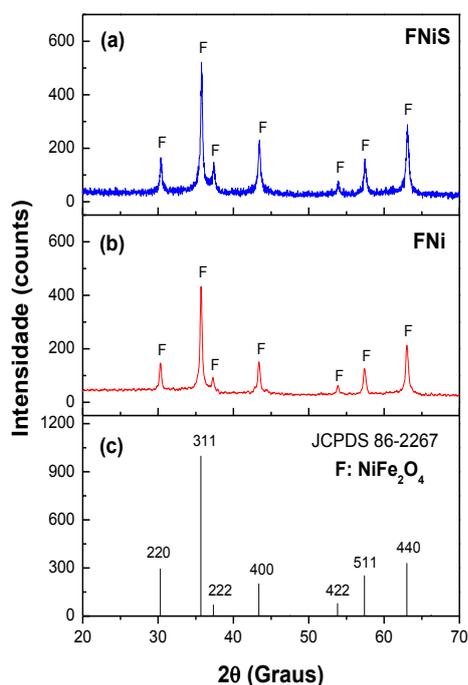
Completadas as 4h, uma alíquota de 0,25 mL foi retirada da amostra e transferida para um tubo de ensaio enrolado em papel alumínio, adicionando 0,75 mL de solução tampão e 1 mL do reagente Bradford. Esperar a reação durante exatos 10min e ler a absorbância da mistura no espectrofotômetro (marca BEL photonics, modelo SP 2000UV). A absorbância foi comparada com uma curva de calibração previamente feita com albumina do soro bovino (BSA), e assim a concentração de GOx na solução foi obtida. A quantidade de GOx imobilizada pelas nanopartículas foi mensurada subtraindo a proteína residual contida na solução do conteúdo inicial de GOx. O teste da imobilização da GOx foi realizado em triplicata.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Figura 1 são apresentados os difratogramas de raios X da ferrita pura de  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  obtida por reação de combustão (FNi) e da ferrita silanizada com o agente de acoplamento 3-aminopropiltrimetoxissilano  $\text{NiFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$  (FNiS), além da presença do padrão JCPDS 86-2267 referente ao espinélio  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ . De acordo com os difratogramas apresentados, observa-se que as amostras revelaram picos característicos da formação monofásica da estrutura cúbica do espinélio  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  (os picos 220, 311, 222, 400, 422, 511 e 440) [36,37], indicando que a síntese por reação de combustão foi eficiente para a formação completa da fase desejada, e que o processo de silanização não exerceu grande influência sobre estrutura do material, uma vez que seus picos mantiveram praticamente a mesma intensidade, porém com um pouco mais de ruído devido à presença do agente silano que possui característica de um material amorfo, e portanto, interfere na difração das partí-

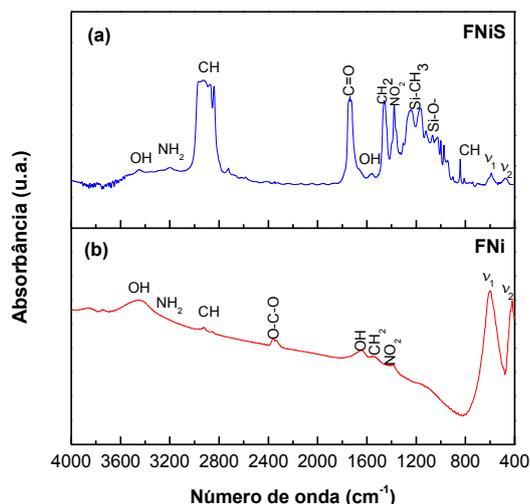
culas do pó, causando uma leve redução na intensidade dos picos, o que tende a interferir na cristalinidade das nanopartículas magnéticas. A reflexão mais intensa do plano (311) é característica da estrutura em espínlio inversa (JCPDS 86-2267), pertencente ao grupo espacial  $Fd\bar{3}m$  [37-39]. Esse efeito pôde ser confirmado pelos resultados de tamanho de cristalito e cristalinidade medidos para o pico principal 311 das amostras FNi e FNiS, cujos valores foram de 35 nm e 63%, e 32 nm e 59%, respectivamente.

Sabe-se que as partículas quando submetidas a um tratamento térmico, os cristalitos tendem a crescer e modificar as propriedades físicas do material. Como o tamanho de cristalito das amostras antes e após silanização foram praticamente o mesmo, isto indica que o aquecimento no processo de refluxo por 72h durante a reação de silanização não foi suficiente para causar crescimento do tamanho de cristalito, e então, afetar as propriedades físicas das nanopartículas magnéticas. O mesmo comportamento foi observado por YAMAURA et al. [40] quando revestiram as NPMs de magnetita com o agente silano APTES durante reação de silanização. Os autores reportaram que as amostras de magnetita pura e silanizada apresentaram o mesmo valor de tamanho de cristalito, 12 nm, e que isto foi resultado da baixa influência da temperatura alcançada durante as 3h do processo de silanização.



**Figura 1:** Perfis de difração de raios X da ferrita  $NiFe_2O_4$  (a) silanizada com o agente 3-aminopropiltrimetoxissilano ( $NiFe_2O_4@SiO_2$  - FNiS), (b) da ferrita  $NiFe_2O_4$  como sintetizada (FNi) e (c) do padrão JCPDS 86-2267 da ferrita  $NiFe_2O_4$ .

A Figura 2 ilustra os espectros vibracionais na região do infravermelho, na faixa de  $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ , das amostras FNi e FNiS em estudo.

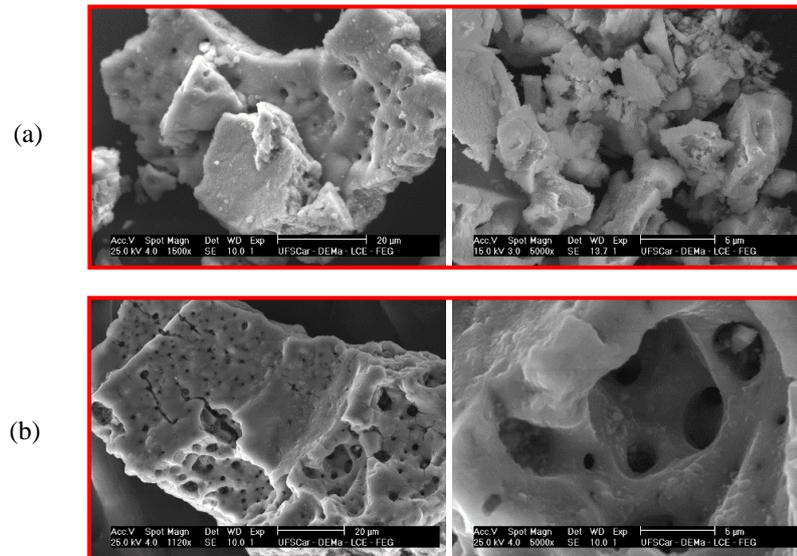


**Figura 2:** Espectros na região do infravermelho das ferritas: (a)  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  silanizada com o agente 3-aminopropiltrimetoxissilano,  $\text{NiFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$  (FNiS) e (b)  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  como sintetizada (FNi).

De acordo com os espectros de infravermelho (Figura 2), duas bandas de absorção abaixo de  $1000\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_1$  e  $\nu_2$ ), características do espinélio  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  em estudo podem ser observadas. Estas bandas são caracterizadas por vibrações de íons na rede do cristal, onde, para a amostra FNi,  $\nu_1$ , localizada na faixa de aproximadamente  $606\text{ cm}^{-1}$ , é atribuída às vibrações dos sítios tetraédricos, e  $\nu_2$ , localizada na faixa de aproximadamente  $425\text{ cm}^{-1}$ , corresponde às vibrações dos sítios octaédricos [41]. Na amostra FNiS, estas bandas  $\nu_1$  e  $\nu_2$  se encontram a aproximadamente  $600\text{ cm}^{-1}$  e  $472\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Esse pequeno deslocamento, provavelmente pode ter relação com a presença do silano. GHARAGOZLOU et al. [42] quando produziram a ferrita  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  dispersa em uma matriz de sílica ( $\text{SiO}_2$ ), também observaram a banda  $\nu_2$  do espinélio a aproximadamente  $470\text{ cm}^{-1}$ . Em ambos espectros, em aproximadamente  $3660\text{ cm}^{-1}$ , observa-se uma banda larga proveniente das ligações do grupo O–H–O, que possivelmente está relacionada a presença de água adsorvida na superfície da amostra, uma vez que se fez uso de KBr para a preparação das amostras, o qual é tido como um material de alta higroscopicidade. Em torno de  $1500\text{ cm}^{-1}$ , banda vibracional de estiramento do grupo O-H referente à água livre e/ou fisicamente adsorvida, grupos hidroxilas, resultantes da reação de combustão. Em  $1380\text{ cm}^{-1}$ , uma banda de estiramento simétrico do grupo  $\text{NO}_2$  proveniente possivelmente de nitratos que não reagiram durante a combustão. Observa-se também uma banda entre  $3450$  e  $3200\text{ cm}^{-1}$  referente a absorções fracas atribuídas a ligações N-H de amins primárias. No espectro de FNi, em  $2370\text{ cm}^{-1}$ , uma banda relacionada a vibração do grupo O-C-O foi observada.

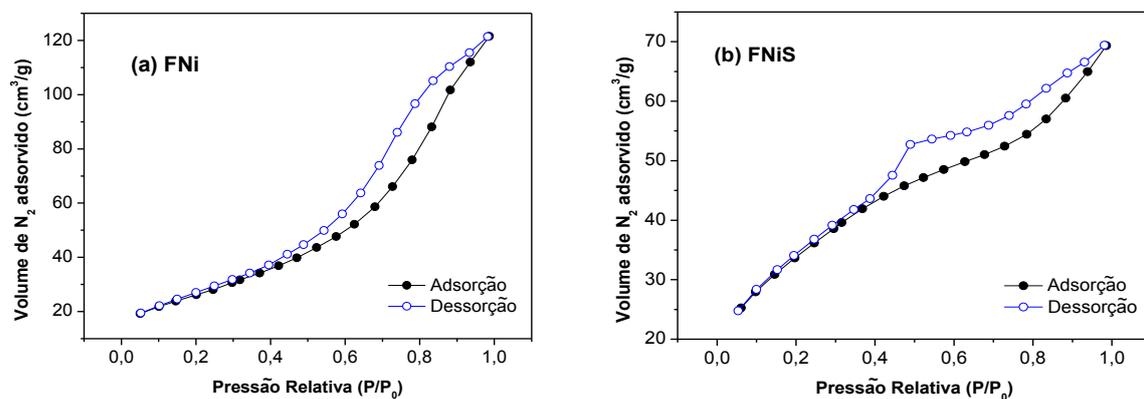
Analisando o espectro da amostra silanizada FNiS, entre  $2914\text{ cm}^{-1}$  e  $2773\text{ cm}^{-1}$ , observa-se uma larga banda atribuída a vibrações de estiramento simétrico e assimétrico de grupos alifáticos  $\nu(\text{C-H})$  tipo  $\text{sp}^3$ . Em  $1735\text{ cm}^{-1}$ , observou-se uma banda intensa referente ao estiramento do grupo C=O, que possivelmente indica a coordenação com metais. As bandas múltiplas em torno de  $1124\text{ cm}^{-1}$  e  $1033\text{ cm}^{-1}$  correspondem ao estiramento assimétrico do grupo Si-O-. Na faixa de  $1456\text{ cm}^{-1}$  e  $1364\text{ cm}^{-1}$  ocorre uma absorção que pode ser atribuída à deformação simétrica de C-H. Em  $1254\text{ cm}^{-1}$  observa-se uma banda referente ao estiramento Si-CH<sub>3</sub> e em  $1177\text{ cm}^{-1}$  uma banda atribuída ao estiramento assimétrico Si-O-Si. Estas bandas confirmam de certo modo a presença de materiais orgânicos, que no caso associamos ao agente silano.

A Figura 3 ilustra as caracterizações morfológicas obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras FNi e FNiS em estudo. As microestruturas apresentaram aglomerados na forma de blocos rígidos e porosos, com indícios de pré-sinterização, mas constituído por partículas finas interligadas. Observou-se blocos com tamanhos superiores a  $80\text{ }\mu\text{m}$  e inferiores a  $5\text{ }\mu\text{m}$ , com elevada porosidade que provavelmente se deve à grande quantidade de gases gerados durante a síntese por combustão. Nada foi observado quanto ao efeito do silano sobre a superfície morfológica do material.



**Figura 3:** Micrografias obtidas por MEV das amostras: (a) FNi e (b) FNiS, nas escalas de 20  $\mu\text{m}$  e 5  $\mu\text{m}$ .

Na Figura 4 estão ilustradas as isotermas de adsorção/dessorção de  $\text{N}_2$  das amostras FNi e FNiS como resultado da caracterização textural destas NPM's. De acordo com a classificação da IUPAC [43], as isotermas são do tipo IV mesclada com o tipo II, que correspondem a materiais com característica mesoporosa, podendo apresentar regiões não porosas ou macroporosas. Na Figura 4b, o ponto de inflexão a uma pressão relativa ( $P/P_0$ ) de aproximadamente 0,2 se torna mais nítido, indicando uma maior capacidade de adsorção da monocamada, isto é, a quantidade de adsorbato necessária para cobrir a superfície com uma monocamada completa. Neste ponto começa a formação das multicamadas. Com relação ao tipo de histerese, a amostra FNiS apresentou perfil do tipo H3, que corresponde a materiais com poros no formato de cunha, cones ou placas paralelas. Enquanto que a amostra FNi apresentou histerese do tipo H3 conjuntamente com o tipo H1, indicando tanto a presença de poros no formato de cunha, cones ou placas paralelas, como também poros com formatos regulares, cilíndricos ou poliédricos com suas extremidades abertas.



**Figura 4:** Curvas de adsorção/dessorção de  $\text{N}_2$  referentes às amostras: (a) FNi e (b) FNiS.

Na Tabela 1 encontram-se os valores de área superficial específica ( $S_{\text{BET}}$ ), tamanho de partícula ( $D_{\text{BET}}$ ), volume de poro ( $V_p$ ) e raio de poro ( $R_p$ ), referentes às amostras FNi e FNiS. De acordo com os resultados, pode-se confirmar a eficiência do processo de silanização das NPMs da ferrita de níquel, uma vez que foi observado um aumento de 27% na área superficial específica, passando de um valor de 96,165  $\text{m}^2/\text{g}$  para 122,174  $\text{m}^2/\text{g}$ . Com relação ao diâmetro de partícula observou-se uma redução de aproximadamente 30% após processo de silanização, o que contribuiu para o aumento de sua área superficial. Uma vez que o tamanho das NPMs diminuiu, consequentemente, o raio e o volume de poro também reduziram. BENRABAA et al. [44], quando sintetizaram a ferrita de níquel pelos métodos de co-precipitação e sol-gel, obtiveram ferritas com áreas superficiais variando de 2 a 21  $\text{m}^2/\text{g}$  quando obtidas por co-precipitação e de 32

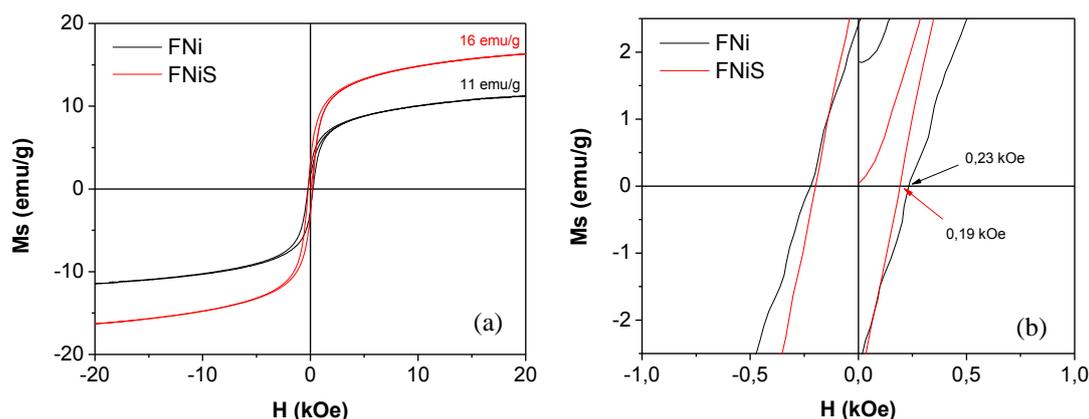
a  $52 \text{ m}^2/\text{g}$  quando obtidas por sol-gel. No presente estudo, a ferrita de níquel obtida com sucesso pelo método simples e rápido de reação de combustão, e chegou a alcançar área superficial relativamente alta de aproximadamente  $96 \text{ m}^2/\text{g}$ .

**Tabela 1:** Valores de área superficial específica, tamanho de partícula, volume e diâmetro de poro das amostras em estudo.

Amostras	$S_{\text{BET}}$ ( $\text{m}^2\text{g}^{-1}$ )	$D_{\text{BET}}$ (nm)	$V_p$ ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	$R_p$ (Å)
FNi	96,165	13,02	0,183	31,841
FNiS	122,174	9,15	0,061	18,755

Na Figura 5 pode ser observado o comportamento da magnetização ( $M$ ) em função do campo magnético aplicado ( $H$ ) por meio do laço de histerese referente às ferritas FNi e FNiS em estudo. As amostras apresentaram ciclos  $M_s \times H$  estreitos, caracterizando materiais de característica magnética mole “soft” (onde se tem fácil magnetização e desmagnetização). Ambas as amostras apresentaram ciclos  $M_s \times H$  típicos de materiais superparamagnéticos e de comportamento ferrimagnético.

O superparamagnetismo das nanopartículas magnéticas é um atributo importante para as diversas aplicações nas ciências biológicas, pois o risco de formação de aglomerados passa a ser desprezível à temperatura ambiente, e também, pelo fato das nanopartículas se dispersarem mais rapidamente quando o campo magnético é removido [45].



**Figura 5:** Comportamento magnético das amostras em estudo: (a) Curvas de histerese magnética referente às amostras FNi e FNiS; (b) Zoom da região central das curvas de histerese das amostras FNi e FNiS.

Ao contrário do que era de se esperar, visto que o agente silano tem característica orgânica, a funcionalização da ferrita  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  com a adição do agente silano levou a um aumento significativo da magnetização de saturação, passando de  $11 \text{ emu/g}$  da amostra FNi para  $16 \text{ emu/g}$  da amostra FNiS (Figura 5a). Os valores de coercividade foram de  $0,23$  e  $0,19 \text{ kOe}$ , respectivamente (Figura 5b). Esta melhoria da sua característica magnética somada ao aumento da sua área superficial, a ferrita de níquel silanizada (FNiS) vêm ampliar suas chances de sucesso no campo da indústria biomédica.

Comportamento oposto foi reportado ALBUQUERQUE et al. [46] quando estudaram o comportamento magnético da ferrita  $\text{MnZn}$  pura e silanizada com APTES, uma vez que a amostra silanizada apresentou valor de magnetização de saturação inferior ao da amostra de ferrita pura, cujos valores foram de  $25$  e  $29 \text{ emu/g}$ , respectivamente. PHADATARE et al. [47] ao analisar o comportamento magnético das nanopartículas de  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  sintetizadas por reação de combustão utilizando os combustíveis PVA, glicina e ureia, observaram o mesmo comportamento ferrimagnético observado nas amostras em estudo, porém, com magnetização de saturação relativamente superior, com valores variando de  $39$  a  $44 \text{ emu/g}$ .

Na Figura 6 encontra-se os resultados da quantidade de GOx imobilizada pelas amostras FNi e FNiS. De acordo com os resultados, observa-se que a amostra da nanoferrita  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  pura (FNi) conseguiu imobilizar uma quantidade do GOx 6 vezes maior que a amostra silanizada (FNiS), ou seja, ao contrário do que se esperava, o processo de tratamento de superfície da ferrita  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  com o agente silano não contribuiu

de forma efetiva para o processo de imobilização da GOx. Isto provavelmente pode ter relação com o alto teor de silano utilizado no processo de silanização, que pode ter se desprendido em meio a solução da GOx, mascarando o real valor de GOx imobilizada. LEE et al. [48] sintetizou nanopartículas magnéticas de cobalto revestida com silano e testou na imobilização da GOx. Durante o processo de silanização, os autores utilizaram uma proporção de 1/100 em mL na relação silano/solvente, enquanto no presente estudo foi utilizado uma proporção de 1/10 em mL silano/solvente. Ou seja, no presente estudo foi utilizado uma solução com maior concentração de silano. Nos estudos de LEE et al. [48], as nanopartículas de cobalto silanizadas apresentaram uma boa atividade enzimática alcançando valores de 24 U/g.

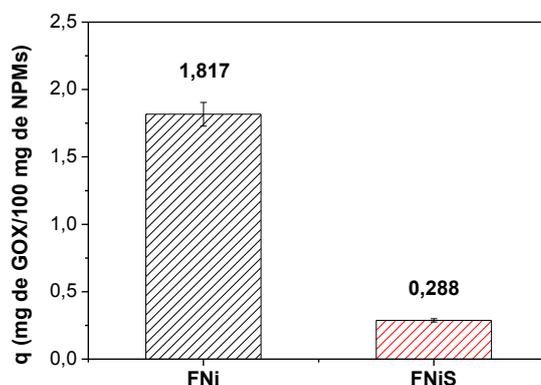


Figura 6: Gráfico comparativo dos resultados de imobilização da GOx nas amostras FNi e FNiS.

#### 4. CONCLUSÕES

A funcionalização da ferrita  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  com a impregnação do agente silano na superfície das suas partículas, tornou possível a obtenção do híbrido  $\text{NiFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ , melhorando características importantes como suas propriedades magnéticas e morfológicas como a sua área superficial, que são de grande importância para diversas aplicações tecnológicas, no âmbito industrial e biomédico. Foi observado um bom comportamento da ferrita  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  na imobilização da GOx, porém, o mesmo não foi observado para a ferrita silanizada. No entanto, tal resultado não desmerece os ótimos resultados obtidos com a modificação de superfície após silanização e formação do híbrido  $\text{NiFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ , de modo que estes possam ser testados para outras aplicações, como por exemplo, no carreamento de fármacos.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, ao CNPq e ao Inct-INAMI, pelo apoio financeiro.

#### 6. BIBLIOGRAFIA

- [1] GULDRIS, N., ARGIBAY, B., KOLEN'KO, Y.V., *et al.*, "Influence of the separation procedure on the properties of magnetic nanoparticles: Gaining in vitro stability and T1–T2 magnetic resonance imaging performance", *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 472, pp. 229-236, 2016.
- [2] SHANMUGAVEL, T., GOKUL RAJ, S., RAMESH KUMAR, G., *et al.*, "Cost effective preparation and characterization of nanocrystalline nickel ferrites ( $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ ) in low temperature regime", *Journal of King Saud University – Science*, v. 27, pp. 176-181, 2015.
- [3] LI, W., LV, J., ZHOU, X., *et al.*, "Enhanced and broadband microwave absorption of flake-shaped Fe and FeNi composite with Ba ferrites", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 426, pp. 504-509, 2017.
- [4] VELMURUGANA, K., KARUPPANANVENKATACHALAPATHY, V., SENDHILNATHAN, S., "Synthesis of nickel zinc iron nanoparticles by coprecipitation technique", *Materials Research*, v. 13, pp. 299-303, 2010.
- [5] PRAVEENA, K., CHEN, H.-W., LIU, H.-L., *et al.*, "Enhanced magnetic domain relaxation frequency and low power losses in  $\text{Zn}^{2+}$  substituted manganese ferrites potential for high frequency applications", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 420, pp. 129-142, 2016.
- [6] DANTAS, J., LEAL, E., MAPOSSA, A.B., *et al.*, "Síntese, caracterização e performance catalítica de nanoferritas mistas submetidas a reação de transesterificação e esterificação via rota metílica e etílica para biodiesel", *Revista Matéria*, v. 21, n. 4, pp. 1080-1093, 2016.

- [7] SANO, N., YAMADA, K., TSUNAUCHI, S., TAMON, H., “A novel solid base catalyst for transesterification of triglycerides toward biodiesel production: Carbon nanohorn dispersed with calcium ferrite”, *Chemical Engineering Journal*, v. 307, pp. 135-142, 2017.
- [8] DANTAS, J., LEAL, E., MAPOSSA, A.B., *et al.*, “Magnetic nanocatalysts of  $\text{Ni}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  doped with Cu and performance evaluation in transesterification reaction for biodiesel production”, *Fuel*, v. 191, pp. 463-471, 2017.
- [9] EL AZIM, H.A. “Magneto-electric nanocarriers for drug delivery: An overview”, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 37, pp. 46-50, 2017.
- [10] TSENG, C.-L., CHANG, K.-C., YEH, M.-C., *et al.*, “Development of a dual-functional Pt-Fe-HAP magnetic nanoparticles application for chemo-hyperthermia treatment of cancer”, *Ceramics International*, v. 40, pp. 5117-5127, 2014.
- [11] FOROUGHI, F., HASSANZADEH-TABRIZI, S.A., BIGHAM, A., “In situ microemulsion synthesis of hydroxyapatite- $\text{MgFe}_2\text{O}_4$  nanocomposite as a magnetic drug delivery system”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 68, pp. 774-779, 2016.
- [12] ZIEGLER-BOROWSKA, M., SIÓDMIK, T., CHEŁMINIAK, D., *et al.*, “Magnetic nanoparticles with surfaces modified with chitosan-poly[Nbenzyl-2-(methacryloxy)-N,N-dimethylethanaminium bromide] for lipase immobilization”, *Applied Surface Science*, v. 288, pp. 641-648, 2014.
- [13] HELI, H., SATTARAHMADY, N., HATAM, G.R., *et al.*, “An electrochemical genosensor for Leishmania major detection based on dual effect of immobilization and electrocatalysis of cobalt-zinc ferrite quantum dots”, *Talanta*, v. 156-157, pp. 172-179, 2016.
- [14] MAENSIRI, S., MASINGBOON, C., BANJONG, B., *et al.*, “A simple route to synthesize nickel ferrite ( $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ ) nanoparticles using egg white”, *Scripta Materialia*, v. 56, pp. 797-800, 2007.
- [15] DOMENICHINI, B., CAILLOT, T., “Sintering of  $\text{Fe}_2\text{NiO}_4$  with an internal binder: a way to obtain a very dense material”, *Acta Materialia*, v. 51, pp. 4815-4821, 2003.
- [16] COSTA, A.C.F.M., VIANA, K.M.S., MIOLA, E.J., *et al.*, “Análise estrutural e morfológica de ferrita  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  dopada com cromo”, *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 6.1, pp. 06-10, 2011.
- [17] SONG, Q., WANG, J., JIE-LIE, K., *et al.*, “Magnetic loading of carbon nanotube/nano- $\text{Fe}_3\text{O}_4$  composite for electrochemical sensing”, *Talanta*, v. 71, pp. 1096-1102, 2007.
- [18] XU, Z., SHEN, C., HOU, Y., *et al.*, “Oleylamine as both reducing agent and stabilizer in a facile synthesis of magnetite nanoparticles”, *Chemistry of Materials*, v. 21, pp. 1778-1780, 2009.
- [19] ZHANG, D., TONG, Z., XU, G., *et al.*, “Templated fabrication of  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  nanorods: characterization, magnetic and electrochemical properties”, *Solid State Sciences*, v. 11, pp. 113-117, 2009.
- [20] PLUEDDEMANN, E.P., CLARK, H.A., NELSON, L.E., *et al.*, “Silane coupling agents for reinforced plastics”, *Modern Plastics*, v.39, p. 135-187, 1962.
- [21] BERTUOLI, P.T., PIAZZA, D., SCIENZA, L.C., *et al.*, “Preparation and characterization of montmorillonite modified with 3-aminopropyltriethoxysilane”, *Applied Clay Science*, v. 87, pp. 46-51, 2014.
- [22] MALLAKPOUR, S., NIKKHOO, E., “Production and characterization of nanocomposites based on poly(amide-imide) containing 4,4'-methylenebis(3-chloro-2,6-diethylaniline) using nano- $\text{TiO}_2$  surface-coupled by 3-aminopropyltriethoxysilane”, *Progress in Organic Coatings*, v. 76, pp. 231-237, 2013.
- [23] KANGO, S., KALIA, S., CELLI, A., *et al.*, “Surface modification of inorganic nanoparticles for development of organic-inorganic nanocomposites: A review”, *Progress in Polymer Science*, v. 38, pp. 1232-1261, 2013.
- [24] KURAYAMA, F., SUZUKI, S., OYAMADA, T., *et al.*, “Facile method for preparing organic/inorganic hybrid capsules using amino functional silane coupling agent in aqueous media”, *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 349, pp. 70-76, 2010.
- [25] FIDAL, V.T.K.P., INGUVA, S., KRISHNAMURTHY, S., *et al.*, “Mediator-free interaction of glucose oxidase, as model enzyme for immobilization, with Al-doped and undoped ZnO thin films laser-deposited on polycarbonate supports”, *Enzyme and Microbial Technology*, v. 96, pp. 67-74, 2017.
- [26] HAGHIGHI, N., HALLAJ, R., SALIMI, A., “Immobilization of glucose oxidase onto a novel platform based on modified  $\text{TiO}_2$  and graphene oxide, direct electrochemistry, catalytic and photocatalytic activity”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 73, pp. 417-424, 2017.

- [27] WONG, C.M., WONG, K.H., CHEN, S.D., “Glucose oxidase: natural occurrence, function, properties and industrial applications”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 78, pp. 927-938, 2008.
- [28] VILLALBA, P., RAM, M.K., GOMEZ, H., *et al.*, “GOX-functionalized nanodiamond films for electrochemical biosensor”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 31, pp. 1115-1120, 2011.
- [29] KAUSHIK, A., KHAN, R., SOLANKI, P.R., *et al.*, “Iron oxide nanoparticles-chitosan composite based glucose biosensor”, *Biosensors and Bioelectronics*, v. 24, pp. 676-683, 2008.
- [30] QIU, J.-D., WANG, R., LIANG, R.-P., *et al.*, “Electrochemically deposited nanocomposite film of CS-Fc/Au NPs/GOx for glucose biosensor application”, *Biosensors and Bioelectronics*, v. 24, pp. 2920-2925, 2009.
- [31] AN, N., ZHOU, C.H., ZHUANG, X.Y., *et al.*, “Immobilization of enzymes on clay minerals for biocatalysts and biosensors”, *Applied Clay Science*, v. 114, pp. 283-296, 2015.
- [32] JAIN, S.R., ADIGA, K.C., PAI VERNEKER, V.A. “New approach to thermochemical calculations of condensed fuel – oxidier mixture”, *Combustion and Flame*, v. 40, pp. 71- 79, 1981.
- [33] HUANG, X., SCHMUCKER, A., DYKE, J., *et al.*, “Magnetic nanoparticles with functional silanes: evolution of well-defined shells from anhydride containing silane”, *Journal of Materials Chemistry*, v. 19, pp. 4231-4239, 2009.
- [34] MAHIRE, V.N., PATEL, V.E., CHAUDHARI, A.B., *et al.*, “Silane@TiO<sub>2</sub> nanoparticles-driven expeditious synthesis of biologically active benzo[4,5]imidazo[1,2-a]chromeno[4,3-d]pyrimidin-6-one scaffolds: A green approach”, *Journal of Chemical Sciences*, v. 128, n. 4, pp. 671-679, 2016.
- [35] AZÁROFF, L.V., *Elements of X-ray crystallography*, McGraw-Hill Book Company, 1968.
- [36] LAZAROVA, T., GEORFIEVA, M., TZANKOV, D., *et al.*, “Influence of the type of fuel used for the solution combustion synthesis on the structure, morphology and magnetic properties of nanosized NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>”, *Journal of Alloys and Compounds*, v. 700, pp. 272-283, 2017.
- [37] QI, S., YANG, Y., QIN, Y., WANG, F., “Effect of rare earth substitution on the composite prepared by nickel ferrite with graphite nanosheet”, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 329, pp. 77-83, 2013.
- [38] GUNJAKAR, J.L., MORE, A.M., GURAV, K.V., *et al.*, “Chemical synthesis of spinel nickel ferrite (NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) nano-sheets”, *Applied Surface Science*, v. 254, n. 18, pp. 5844-5848, 2008.
- [39] COSTA, A.C.F.M., VIANA, K.M.S., MIOLA, E.J., *et al.*, “Análise estrutural e morfológica de ferrita NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> dopada com cromo”, *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v.6.1, pp. 06-10, 2011.
- [40] YAMAURA, M., CAMILO, R.L., SAMPAIO, L.C., *et al.*, “Preparation and characterization of (3-aminopropyl) triethoxysilane-coated magnetite nanoparticles”, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 279, pp. 210-217, 2004.
- [41] BOUHADOUZA, N., RAIS, A., KAOUA, S., *et al.*, “Structural and vibrational studies of NiAl<sub>x</sub>Fe<sub>2-x</sub>O<sub>4</sub> ferrites (0 ≤ x ≤ 1)”, *Ceramic International*, v. 41, pp. 11687-11692, 2015.
- [42] GHARAGOZLOU, M., NADERI, R., BARADARAN, Z., “Effect of synthesized NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-silica nanocomposite on the performance of an ecofriendly silane sol-gel coating”, *Progress in Organic Coatings*, v. 90, pp. 407-413, 2016.
- [43] GREGG, S.J., SING, K.S.W., *Adsorption, Surface area and Porosity*, 2<sup>a</sup> ed, 303, Academic Press, London, New York, 1982.
- [44] BENRABAA, R., LÖFBERG, A., RUBBENS, A., *et al.*, “Structure, reactivity and catalytic properties of nanoparticles of nickel ferrite in the dry reforming of methane”, *Catalysis Today*, v. 203, pp. 188-195, 2013.
- [45] LEE, J.H., JANG, J.T., CHOI, J.S., *et al.*, “Exchange-coupled magnetic nanoparticles for efficient heat induction”, *Nature Nanotechnology*, v. 6, pp. 418-422, 2011.
- [46] ALBUQUERQUE, I.L.T., PEREIRA, K.R.O., SANTOS, M.R.F., *et al.*, “Avaliação das propriedades magnéticas da ferrita MnZn modificada com agente silano, objerivando seu uso como biosensor”, In: *XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química*, Florianópolis/SC, 2014.
- [47] PHADATARE, M.R., SALUNKHE, A.B., KHOT, V.M., *et al.*, “Thermodynamic, structural and magnetic studies of NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles prepared by combustion method: Effect of fuel”, *Journal of Alloys and Compounds*, v. 546, pp. 314-319, 2013.



[48] LEE, H.U., PARK, C., KIM, S.W., “Immobilization of glucose oxidase onto cobalt based on silica core/shell nanoparticles as carrier”, *Process Biochemistry*, v. 47, pp. 1282-1286, 2012.