

Instituto de Engenharia Nuclear - IEN

**MEDIDAS DE INTERAÇÕES HIPERFINAS EM
COMPOSTOS BIOLÓGICOS: O CASO DA
HIDROXIAPATITA.**

Osmar Flávio da Silveira Leite Neto

Rio de Janeiro

2014

Osmar Flávio da Silveira Leite Neto

**MEDIDAS DE INTERAÇÕES HIPERFINAS EM
COMPOSTOS BIOLÓGICOS: O CASO DA
HIDROXIAPATITA.**

Dissertação apresentada ao
IEN como requisito parcial
para o a obtenção do título de
Mestre em Ciência e
Tecnologia Nuclear.

Professores orientadores:
Ralph Santos-Oliveira
Henrique Saitovitch

Rio de Janeiro
2014

“Medidas de Interações Hiperfinas em Compostos Biológicos: o Caso da
Hidroxiapatita”

Osmar Flávio da Silveira Leite Neto

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA NUCLEARES DO INSTITUTO DE ENGENHARIA NUCLEAR COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA NUCLEARES.

Aprovada por:

Prof. Ralph Santos-Oliveira, D.Sc.

Prof. Henrique Saitovitch, D.Sc.

Prof. Celso Marcelo Franklin Lapa, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MAIO DE 2014

Dedico este trabalho,

A minha mãe Heloísa Helena Mena da Silveira Leite,
a minha prima Fabiane Hentschel e a Camila Costa
por estarem sempre ao meu lado me incentivando e
apoiando nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

A Coordenador do Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia Nuclear, que sempre esteve disposta a nos receber e sanar nossas dúvidas, pela paciência e amizade.

Aos meus mestres, pelo modelo que se tornaram do tipo de profissional que desejo me tornar, em especial aos professores Celso Lapa e Domingos Cardoso.

Ao professor Dr. Ralph Santos-oliveira pela primorosa orientação neste trabalho monográfico.

Ao professor Dr. Henrique Saitovitch pela orientação, e por todo conhecimento transmitido ao longo dos anos, que esteve me guiando.

Ao Laboratório de Nanoradiofármacos por ter preparado as amostras utilizadas nesta pesquisa.

Ao Dr. Alexandre Malta Rossi – CBPF/APL por ter, gentilmente, cedido as amostras de hidroxiapatita e TCP.

Ao Laboratório de Cristalografia e Difração do CBPF por ter realizado as medidas de raio-x das amostras.

Ao Dr. Fábio Henrique Cavalcante pelos ensinamentos em preparação de amostras e selagem de quartzo.

Ao Dr. Luciano Fabrício Dias Pereira, pelas inúmeras conversas a respeito da Física da Matéria Condensada.

Ao Servidor José Tadeu P. D. Cavalcante pela ajuda com os programas de conversão de dados e pela amizade.

Aos meus colegas do Curso de pós-graduação do IEN e os do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas - CBPF por toda amizade e incentivo em todos os momentos.

Aos funcionários do IEN e do CBPF, sem os quais esta pesquisa não poderia ter sido realizada.

"Non nobis Domine, non nobis, sed nomini tuo da gloriam".

"Não a nós, Senhor, não a nós, mas ao teu nome dá glória".

Salmo 115:1 Vulgata Latina

RESUMO

O presente trabalho mostra os resultados da pesquisa envolvendo parâmetros hiperfinos, medidos em Hidroxiapatita, um material biológico utilizado como nano carregador de fármacos para sistemas de "*drug delivery*" no tratamento de tumores. A interação hiperfina foi medida através do isótopo sonda $^{111}\text{In} \rightarrow ^{111}\text{Cd}$, pela espectroscopia de correlação angular gama-gama perturbada diferencial no tempo

Palavras-chave: Materiais Biológicos, "*Drug Delivery System*", Radiofármaco, Espectroscopia, Correlação Angular, Interações Hiperfinas, Física da Matéria Condensada.

Hyperfine interaction measurements in biological compounds: the case of hydroxyapatite

Abstract:

The use of nanoparticles in current medicine are under intense investigation. The possible advantages proposed by these systems are very impressive and the results may be quite schemer. In this scenario, the association of nanoparticles with radioactive materials (radionuclide) may be the most important step since the discovery of radioactive for nuclear medicine and radiopharmacy, especially for cancer targeting and therapy.

The hyperfine interaction of the nuclear probe ^{111}Cd in the Hydroxyapatite compounds has been investigated by perturbed angular correlation (PAC) spectroscopy in room temperature for the hydroxyapatite made in the temperatures of 90°C , 35°C and with Ho doped, both thermalized and not. The thermalized samples were heated to $T = 1273\text{ K}$ for 6 h. The ^{111}Cd was broadcast in the structure of the material by diffusion, closing in quartz tubes were heated – together with the radioactive PAC probe $^{111}\text{In}/^{111}\text{Cd}$ to $T = 1073\text{ K}$ for 12 h.

In not thermalized samples the PAC spectra indicate a distribution of frequency, but in the thermalized samples, the PAC spectra shows the presence of β -tri calcium phosphate in the structure of this kind of Hydroxyapatites.

Supported by CAPES, CNEN and CNPq (Brazil)

1 – INTRODUÇÃO.....	9
2 – CORRELAÇÃO ANGULAR GAMA-GAMA.....	14
2.1 - Interação de Partículas Carregadas com a Matéria.....	14
2.2 - Interação de Fótons com a Matéria.....	15
2.3 – Interações Hiperfinas.....	16
2.3.1 – <i>Spin</i> e Momentos Nucleares.....	17
2.4 – Correlação Angular Gama-Gama Não Perturbada.....	24
2.5 - Correlação Angular Perturbada (CAP).....	28
2.7 - Interação de Quadrupolo Elétrico.....	30
2.8 – Interação Dinâmica.....	31
2.9 – Núcleo Radioativo (Isótopo Sonda).....	32
3 – MATERIAIS E METODOS.....	34
3.1 – Fotomultiplicadora.....	34
3.2 - Pré-amplificador.....	35
3.3 - Amplificador.....	36
3.4 - Osciloscópio.....	38
3.5 - Analisador monocanal (analisador de canal simples).....	39
3.6 – Conversor analógico digital e multicanal.....	40
3.7 – Sistema de alto vácuo.....	42
3,8 – Forno de resistência.....	42
3.9 – Hidroxiapatita.....	42
3.10 – Métodos.....	43
3.10.1 – Tratamento térmico.....	43
3.10.2 – Difusão do Núcleo Radioativo (Isótopo Sonda).....	43
3.10.3 – Arranjo experimental.....	44
3.9.4 – Difração de raios-x.....	49
3.9.5 – Tratamento dos Dados CAP.....	52
4- ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	54
5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

1 – INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novas fórmulas terapêuticas tem se mostrado um desafio na área de saúde. Entre as possibilidades para esse propósito vem-se experimentando a nanotecnologia, a qual surge como uma importante ferramenta. Uma das principais aplicações da nanotecnologia vem sendo tanto para diagnóstico como para tratamento de tumores (Jain, 2005).

As últimas décadas trouxeram grandes avanços no diagnóstico e tratamento do câncer, incluindo o desenvolvimento de tratamentos com radiação (radiofármacos), a telecirurgia e cirurgia robótica, assim a utilização de nano partículas como sistema de entrega de drogas (“*drug delivery system*”) (Reuvenie, 2011).

Estas técnicas dependem da delimitação e visualização exata dos alvos tumorais, e também exigem uma precisão em escala milimétrica. Novos meios de diagnósticos e de terapia estão em desenvolvimento utilizando inovadores métodos de entrega, em especial, a utilização de nanocompósitos (Reuvenie, 2011).

A aplicação da nanotecnologia na forma de “*drug delivery sytem - DDS*” em oncologia mudará o panorama das indústrias farmacêuticas e de biotecnologia, tendo em vista que o desenvolvimento destes produtos pode desempenhar uma importante adição de agentes terapêuticos para combater o câncer (Reuvenie, 2011). Utilizando a nanotecnologia, pode ser possível melhorar a entrega de drogas fracamente solúveis em água, entregar a substancia desejada em uma célula ou tecido específico, fazer a transcitose do medicamento através de barreiras epiteliais e endoteliais estreitas, levar macromoléculas aos locais intracelulares, fornecer dois ou mais fármacos ou modalidades de terapia, além de propiciar a visualização dos locais de entrega através da combinação de agentes terapêuticos

e métodos de imagem, resultando no acompanhamento, em tempo real, da eficácia do tratamento “*in vivo*” de um agente terapêutico (Jain, 2007). Dentre os materiais de escolha para os nano-DDS, os biomateriais vêm se apresentando como uma alternativa bastante viável.

Os biomateriais inorgânicos baseados em ortofosfato de cálcio têm a sua ampla gama de aplicações na medicina. Entre eles, a hidroxiapatita (HA) sintética ($\text{HAP}, \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) é o mais promissor devido à sua biocompatibilidade, bioatividade, e osteocondutividade (Zhun, 2011).

A fase de apatita de cálcio, formando a parte mineral principal dos ossos e dentes, contém vários íons em diferentes quantidades em substituição de cálcio e fósforo na rede HA. A hidroxiapatita tem sido usada para preencher uma ampla gama de defeitos ósseos em cirurgias ortopédicas, odontológicas e maxilo-faciais. Este material ($\text{HAP}, \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) é uma fase pura, que está bem estabelecido como material de substituição óssea em ortopedia e odontologia (Lima, 2011).

As possíveis substituições de cálcio e fósforo provocam mudanças na estrutura da superfície da HA e em sua carga, aumentando a sua solubilidade e também a sua capacidade sintética, para estar envolvida em um processo de remodelação óssea natural (Alexis, 2007). Assim, a importância do silício na formação óssea e calcificação foi confirmada em diferentes estudos (Carlisle EM, 1970; Alexis, 2007; Xu, 2007). Neles se mostrou que uma redução no Si do osso, resulta numa diminuição do número de osteoblastos, o colágeno osseomatricial, e glicosaminoglicanos. A nano fase da hidroxiapatita é química, estruturalmente semelhante aos minerais dos ossos naturais e é biodegradável (Zapata, 2012). Além disso, as nano-partículas de hidroxiapatita (HA) apresentam um número baixo de defeitos cristalinos, com superfícies altamente ativas e, utilizado como

veículo em sistemas de entrega de drogas, bem como para a separação de proteínas, como um material absorvente (Yan-Zhong et al, 2011; Liu, 2011; Ibrahim et al , 2011; Ciobanu et al, 2011).

O conhecimento do comportamento das biomoléculas é de fundamental importância para a compreensão dos fenômenos relacionados com a dinâmica metabólica dos sistemas biológicos, processos imunológicos, processos terapêuticos, entre outros. Outra questão importante é como os íons metálicos, essenciais ou não, entram nas células já que são muito reativos com diferentes alvos presentes no conteúdo celular (Hemmingsen *et al*, 2004).

Na bioquímica, um dos problemas chaves do estudo de proteínas compostas com metal é a compreensão da sua estrutura, dinâmica molecular e a posição da ligação do metal. Nesse sentido, muitos estudos são realizados visando à compreensão de todo este processo tais como os elaborados por Hemmingsen *et al* em 2004 e 2010.

De certa forma para se compreender melhor o sistema biológico há a necessidade de se entender o que ocorre microscopicamente, investigando as interações locais (em nível molecular). Uma das formas de se investigar tais interações é através do estudo de interações hiperfinas em biomoléculas que pode ser realizado por meio de diversas técnicas tais como Ressonância Magnética Nuclear e a Correlação Angular Gama-Gama (Hemmingsen, 2010). .

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é reconhecidamente a técnica mais importante para investigação em nível molecular, permitindo obter informação estrutural e dinâmica para qualquer estado da matéria. Em particular é um método decisivo na determinação de estruturas tridimensionais de moléculas no estado líquido, mas é incapaz de observar dinâmicas locais. Neste sentido a espectroscopia de Correlação Angular Perturbada (CAP) permite a obtenção dos

parâmetros hiperfinos tanto estáticos quanto dinâmicos que correspondem a vários fenômenos que podem ocorrer em diversos materiais ou em uma única molécula, auxiliando na elucidação estrutural e biológica dos compostos sob estudo (Forker, 1985) .

A técnica CAP tem sido aplicada com sucesso para o estudo das interações entre átomos metálicos radioativos (isótopo-sonda) inseridos em um determinado material e sua vizinhança (Forker, 2013). Como por exemplo os estudos de gradiente de campo elétrico e magnético que vem avaliando a interação hiperfina entre terras raras e metais (Forker, 2013).

A Correlação Angular pode existir entre radiações nucleares emitidas por núcleos instáveis (Rinneberg, 1979).

A espectroscopia de Correlação Angular Gama-Gama está baseada na lei de conservação do momento angular de um estado nuclear, que estabelece um compromisso entre o *spin* nuclear e a direção de emissão do fóton Gama em um decaimento radioativo (Rinneberg, 1979).

Em um conjunto de núcleos (amostra), todos orientados ao acaso, os fótons por eles emitidos formam um padrão isotrópico de emissão. Porém em um núcleo, cujo decaimento, ocorre em cascata de dois fótons gama sucessivos, a detecção do segundo deles em coincidência com a detecção do primeiro uma vez que a direção de emissão deste tenha sido determinada produz um padrão de emissão anisotrópico. Este padrão sofre uma perturbação sempre que houver alguma interação entre os momentos nucleares e os campos hiperfinos elétricos e magnéticos vizinhos ao isótopo sonda. Dessa forma, pode-se ter informações microscópicas localizadas em nível atômico (interações hiperfinas) da estrutura cristalina do material e ainda a distribuição de carga na vizinhança do núcleo, devido à presença de defeitos ou impurezas ou não (Goertzel, 1946).

Neste trabalho será apresentado o estudo da hidroxiapatita através do método de correlação angular gama-gama perturbada diferencial no tempo. Será apresentada uma revisão bibliográfica acerca do tema descrito, o arranjo e procedimentos experimentais para a elaboração das amostras e realização das medidas. Por fim, serão mostrados os resultados experimentais obtidos e a conclusão desta pesquisa.

Cabe ressaltar que o presente estudo foi desenvolvido no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas – CBPF, no Laboratório de Correlação Angular (LCA/EXP), onde foram realizadas as preparações das amostras, as medidas e o tratamento computacional dos dados obtidos.

2 – CORRELAÇÃO ANGULAR GAMA-GAMA

A existência de uma correlação angular entre as direções de propagação das radiações emitidas por núcleos radioativos já é bastante conhecido em Espectroscopia Nuclear. Isso ocorre devido à existência do princípio de conservação do momento angular do núcleo. O fenômeno de correlação angular foi observado pela primeira vez por Dunworth em 1940 e desde então este método tem sido utilizado em medidas nucleares. Cabe ressaltar que ainda em 1940, Hamilton descreveu a teoria de correlação angular gama usando o modelo de Perturbações. Goertzel ampliou a teoria sugerindo a presença de perturbações extra nucleares (Rinneberg, 1979).

Neste capítulo será feita uma revisão bibliográfica a respeito da correlação angular.

2.1 - Interação de Partículas Carregadas com a Matéria

A detecção de partículas carregadas (prótons, alfas e íons pesados) se dá através da interação dessas partículas com o meio detector. Exceto no caso de detecção de nêutrons, os processos de interação nuclear são negligíveis, devido a sua baixa probabilidade. O processo dominante é o de colisões íon-átomo, com transferência de energia do íon para o meio, em processos de ionização e excitação dos elétrons atômicos. Devido à grande diferença de massa, a transferência de energia do íon para os elétrons se dá em pequenas quantidades e um enorme número de colisões é realizado até que o íon seja totalmente freado. Um íon altamente energético, ao penetrar num meio material, adquire um alto estado de ionização independente de seu estado inicial, antes de atingir o meio; à medida que o íon perde velocidade, a probabilidade de captura de elétrons orbitais aumenta e o íon é

gradualmente neutralizado. Quando a velocidade do íon é bastante baixa, os processos de ionização e excitação de átomos do meio já não são mais importantes, e as perdas de energia por colisões elásticas com o átomo do meio começam a ser dominantes, dando origem a espalhamentos de ângulos grandes e desvios significativos da trajetória inicialmente reta são então observados (Knoll, 2012).

Os processos de perda de energia por colisões inelásticas com elétrons (freamento eletrônico) e por colisões elásticas átomo-átomo (freamento nuclear) são basicamente independentes, de modo que a taxa de perda de energia por unidade de comprimento pode ser expressa como a soma das duas contribuições (Knoll 2012).

Embora os mecanismos de freamento sejam bem conhecidos e estudados desde o início do século XX, ainda hoje não há boas previsões teóricas quantitativas para o chamado freamento eletrônico. Previsões para o freamento eletrônico são, portanto baseadas em modelos semi-empíricos, com base em um grande número de medidas experimentais (Stabin, 2007).

2.2 - Interação de Fótons com a Matéria

Os raios gama interagem com a matéria por basicamente três mecanismos: absorção fotoelétrica, espalhamento Compton e produção de pares. Todos estes processos terminam por transferir, total ou parcialmente, a energia do fóton para um elétron. Contrário ao que sucede no caso de partículas carregadas, essas interações são bruscas e toda energia é transferida ao elétron, no caso da absorção fotoelétrica e produção de pares (Leo, 1994).

No caso do espalhamento Compton, embora apenas uma fração da energia seja transferida, há em geral uma brusca mudança no momento (direção) e energia do fóton (Ferber et al, 2003).

No efeito fotoelétrico toda energia do fóton é transferida para o meio, este é o mecanismo mais importante no caso de detectores de energia de fótons (Stabin 2007).

Já na interação por espalhamento Compton, apenas parte da energia é transferida para o meio e o fóton espalhado pode deixar o meio detector. Este processo, no caso de detectores de energia, produz um fundo bastante indesejável. A probabilidade de interação por efeito fotoelétrico em relação à por espalhamento Compton, aumenta com o aumento do número atômico do meio de interação (Stabin 2007).

2.3 – Interações Hiperfinas

Entende-se por interações hiperfinas aquelas interações entre os campos externos ao núcleo e momentos multipolares do núcleo (Cavalcante, 2009).

A interação dos momentos nucleares com os campos elétricos e magnético produzidos em sólidos ou meio aquoso pelas cargas eletrônicas e iônicas em torno do núcleo é chamada de interação hiperfina. Esta interação foi descoberta na espectroscopia atômica e seus efeitos nos espectros atômicos foram extensivamente estudados. Essas interações também são sensíveis aos núcleos tornando possível estudo dos campos internos em sólidos e em diferentes ambientes químicos, inclusive meios biológicos, sendo possível a realização de medidas locais (da ordem de nanômetros), a partir das propriedades nucleares. Algumas das técnicas que permitem o estudo dessas interações são: Efeito Mössbauer (EM), Ressonância Magnética Nuclear

(RMN), Orientação Nuclear (ON) e Correlação Angular gama-gama Perturbada (CAP) (Rinnenberg, 1979).

A interação hiperfina (elétrons+núcleo), que é a interação do momento angular (e^-) e *spin* do núcleo (I). O efeito da interação hiperfina se dá entre os gradientes de campo elétrico e campo hiperfino magnético (Cavalcante, 2009).

2.3.1 – *Spin* e Momentos Nucleares

O momento angular total do núcleo (I) é o somatório de todos os momentos nucleares (orbital I_k , e de spin s_k), de cada nucleon. Cada um deles possui um $j = l + s$ e, a soma dos j de cada núcleo é que dá o momento angular total do núcleo I . O vetor I pode ser descrito como (Oliveira, 2000):

$$I = \sum_{k=1}^A (I_k + s_k) = \sum_{k=1}^A j_k \quad (1)$$

Este modo de somar momentos angulares do núcleo é chamado de acoplamento ($j-j$), e, é indicado quando o núcleo não tem caráter coletivo, e cada um é tratado independentemente. Contudo, há outra forma de encontrar o momento angular total do núcleo:

$$L = \sum_{i=1}^A I_i ; S = \sum_{i=1}^A S_i ; J = L + S \quad (2)$$

É o denominado acoplamento *spin*-órbita, onde A é o número da massa do núcleo. Percebe-se que I será inteiro sempre que A for par e semi-inteiro quando este for ímpar.

Então;

$$I = (I + 1)\hbar^2 \quad (3)$$

Projetando na direção z , teremos;

$$I_z = m_I \hbar \quad (4)$$

Onde $m_I = -I, \dots, I$; substituindo os valores de I , temos o número de componentes.

Há regras que determinam o *spin* do estado fundamental do núcleo:

- Os núcleos que possuam Z (número de prótons) par e N (número de nêutrons) par possuem $I = 0$.
- Os núcleos que tenham A (número de massa) ímpar serão, quase na totalidade dos casos, determinados pelo *spin* do nucleon desemparelhado.
- Se estes possuam Z e N ímpares, o *spin* é determinado pela soma dos *spins* totais do próton e do nêutron desemparelhado ($j_p + j_n$).

As Distribuições de cargas e correntes (momentos elétricos e magnéticos) geram momentos multipolares, que interagem com campos eletromagnéticos, quer gerado dentro da matéria quer aplicados fora dela (Cavalcante, 2009).

A ordem multipolar é dada por 2^L , distribuições mais simples geram ordens multipolares mais baixas. O núcleo atômico tem distribuição esférica ou elipsoidal de cargas com uma sequência alternada de momentos multipolares (magnéticos ímpares e elétricos pares), esta simetria vem da paridade do núcleo (Rinnenberg, 1979).

Esta paridade dos momentos multipolares segue as normas abaixo:

- Momentos elétricos: $\pi = (-1)^L$, notação E_L .
- Momentos magnéticos: $\pi = (-1)^{L+1}$, notação M_L .

As ordens multipolares determinam as ordens das transições eletromagnéticas entre os estados excitados do núcleo (Cavalcante, 2009).

Dessa forma, obtêm-se os momentos nucleares considerando os potenciais gerados pelas distribuições de cargas e correntes em um núcleo qualquer. Se a distribuição de carga de um núcleo for $\rho(r')$, o potencial eletrostático gerado em um ponto “r” do espaço é definido pela equação:

$$V(r) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \int \frac{\rho(r')d^3r'}{|r - r'|} \quad (5)$$

O gradiente de campo elétrico (GCE) é obtido utilizando a distribuição de cargas nucleares $\rho(r)$ em um potencial externo $\phi(r)$. A equação para obtenção da energia de interação desta distribuição de cargas é:

$$E_{ele} = \int \rho\left(\vec{r}\right) \cdot \phi\left(\vec{r}\right) d^3r$$

(6)

com

$$\int \rho(\vec{r}) d^3r = Ze$$

(7)

a carga nuclear.

Expandindo o potencia elétrico em série de Taylor ao redor de $r = 0$, é obtido $E_{\text{ele}} = E^0 + E^{(1)} + E^{(2)} \dots (*)$ (Cavalcante, 2009).

A seguir são descritos os termos da equação anterior:

- O termo E^0 representa a energia de Coulomb do núcleo com uma carga pontual Ze , é igual para qualquer isótopo E^0 , e somente terá contribuição para a energia total da rede cristalina, não havendo assim contribuição para a interação hiperfina.

$$E^0 = \varphi_0 \int \rho(r) \cdot d^3r$$

(8)

- $E^{(1)}$ representa a interação dipolar elétrica entre um campo elétrico $E = -\nabla\varphi$ em $r = 0$ e o momento de dipolo elétrico da distribuição de cargas. O valor quadrático médio do momento de dipolo

elétrico nuclear é zero, uma vez que, os estados nucleares terem paridade definida.

$$E^{(1)} = \sum_{n=1}^3 \left(\frac{\partial \varphi}{\partial x_n} \right) \int \rho(r) \cdot d^3 r \quad (9)$$

- $E^{(2)}$ é dado em função da matriz simétrica 3 x 3

$$E^{(2)} = \frac{1}{2} \sum_{n=1}^3 \left(\frac{\partial^2 \varphi}{\partial x_n \partial x_m} \right) \int \rho(r) x_n x_m \cdot d^3 r \quad (10)$$

O primeiro termo da equação (*) é chamado de termo de monopolo, representando uma interação de monopolo elétrico o qual descreve a interação do núcleo, com a densidade eletrônica na posição $r = 0$. Esse termo dá origem a um deslocamento nos níveis de energia do núcleo, mas não causa um desdobramento dos níveis de energia.

O segundo termo da equação é chamado de interação quadrupolar elétrica e pode ser escrito como:

$$E_Q = \frac{e}{6} \sum_n \varphi_{nm} Q_{nm}^{(**)} \quad (11)$$

Com

$$Q_{nm} = \frac{1}{e} \int \rho(r) (3x_n^2 - r^2) d^3 r \quad (12)$$

É o momento de quadrupolo elétrico.

Caracterizando o termo φ_{nm} da equação (**) como:

$$\varphi_{nm} = V_{nm} + \frac{1}{3}(\Delta\varphi) \quad (13)$$

Onde “ V_{nm} ” é uma matriz de traço nulo, e substituindo na equação (**), o termo $1/3(\Delta\varphi)$ não contribui para E_Q , uma vez que, $\sum Q_{nm} = 0$.

Então, a equação (**) passa a ser:

$$E_Q = \frac{e}{6} \sum V_{nm} Q_{nm} \quad (14)$$

Onde V_{nm} é o gradiente de campo elétrico (GCE).

Somente as cargas fora do sítio nuclear contribuem para V_{nm} . Em se tratando de uma distribuição esférica e simetria de cargas há que: $V_{XX} = V_{YY} = V_{ZZ}$ e como temos que obedecer a condição $\sum V_{nm} = 0$, logo, $V_{nm} = 0$. Desta forma não haverá contribuição para a energia E_Q .

Se distribuição de correntes for $J(r')$, o potencial vetor em um ponto “ r ” do espaço é dado por:

$$A(r) = \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{J(r') d^3r'}{|r - r'|} \quad (15)$$

Onde o vetor A é definido pela equação:

$$A(r) = \frac{\mu_0 \mu x r}{4\pi r^3} \quad (16)$$

onde “ μ ” é o momento de dipolo magnético do núcleo, e é definido por:

$$\mu = \frac{1}{2} \int r' x J(r') d^3 r' \quad (17)$$

O momento magnético é diretamente proporcional ao spin do núcleo:

$$\mu = g_n \mu_n I \quad (18)$$

A razão giromagnética de um núcleo (γ_n) se relaciona com o fator “g” e o magnéton nuclear segundo a equação:

$$\gamma_n = \frac{g_n \mu_n}{\hbar} \quad (19)$$

o fator giromagnético (γ_n) é a “identidade” do isótopo.

Neste trabalho é apresentado o estudo de Interações Hiperfinas Elétricas, Gradiente de Campo Elétrico (GCE) para investigar a estrutura dos compostos de hidroxiapatita.

2.4 – Correlação Angular Gama-Gama Não Perturbada.

Para fótons oriundos de um mesmo núcleo radioativo, existe uma dependência do ângulo θ entre o eixo de *spin* nuclear e a direção de emissão da radiação, expressa através da função de probabilidade de emissão $W(\theta)$, para um conjunto de núcleos radioativos, dispostos aleatoriamente no espaço (Hamilton, D.R., 1940).

O padrão de radiação que surge é, nessa situação, isotrópico. No entanto, a observação de um padrão de radiação anisotrópico de tal conjunto só será possível se todos os núcleos tiverem seus eixos alinhados na mesma direção, como ocorre em uma situação de baixas temperaturas com a aplicação de campos magnéticos intensos, provocando o alinhamento dos núcleos (Rinnenberg, 1979).

Para a realização das medidas de CAP, no entanto, a observação deste padrão anisotrópico de radiação ocorrerá pela seleção de um conjunto de núcleos alinhados numa direção de observação escolhida. Efetivamente, isto pode ser feito em um decaimento em cascata γ_1 - γ_2 , no qual o primeiro fóton γ_1 registrado determina uma direção preferencial k_1 , selecionando assim um conjunto de núcleos de eixos alinhados naquela direção, de tal forma que a detecção do segundo fóton γ_2 (num ângulo θ em relação a direção do primeiro fóton) das cascatas apresentará um padrão de radiação anisotrópico (Rinnenberg, 1979).

O estado inicial $|I_i, M_i\rangle$ decai, por emissão de um fóton γ_1 , para um estado intermediário de vida curta $|I, M\rangle$ e em seguida para o estado final $|I_f, M_f\rangle$ por emissão de γ_2 .

O primeiro fóton é emitido em uma direção k_1 e o segundo na direção k_2 , como será demonstrado na figura abaixo:

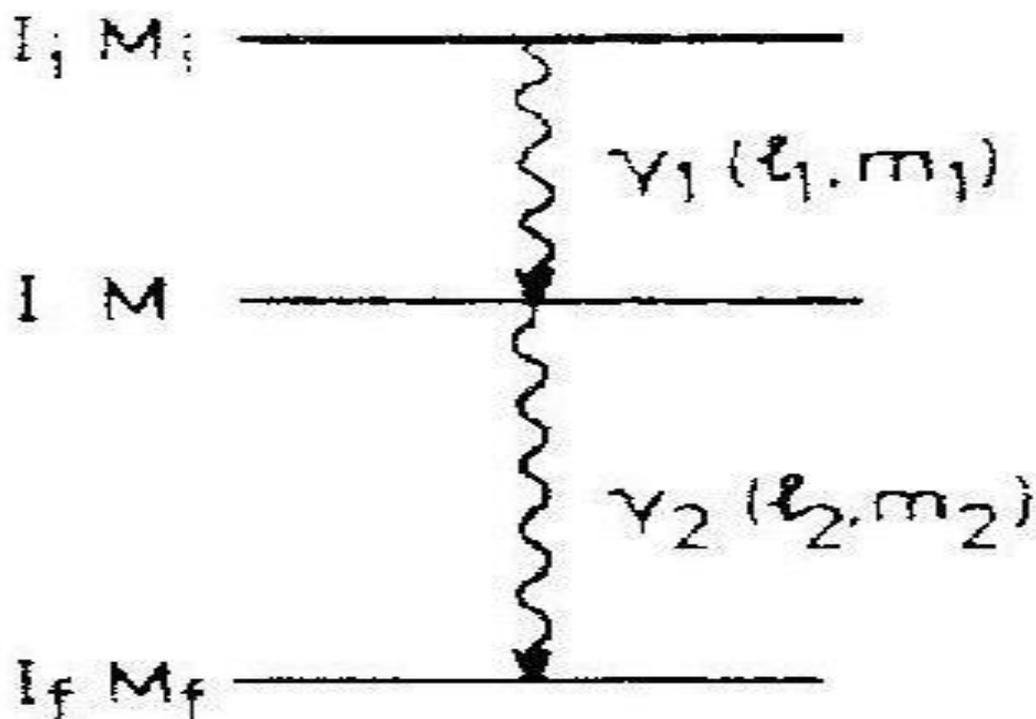
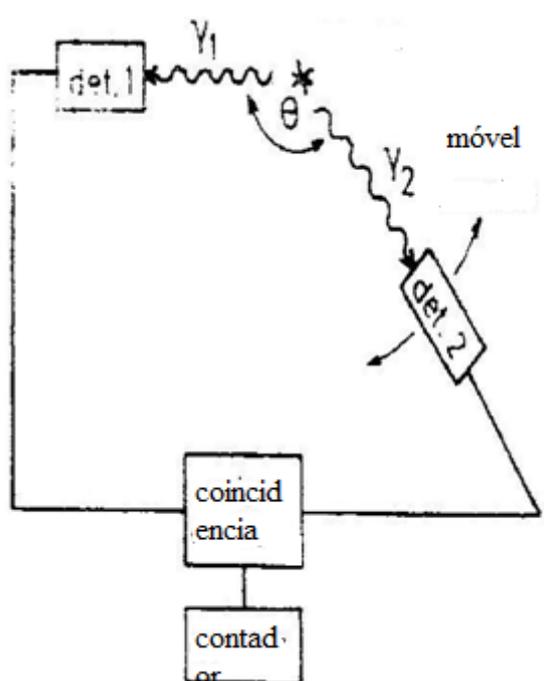
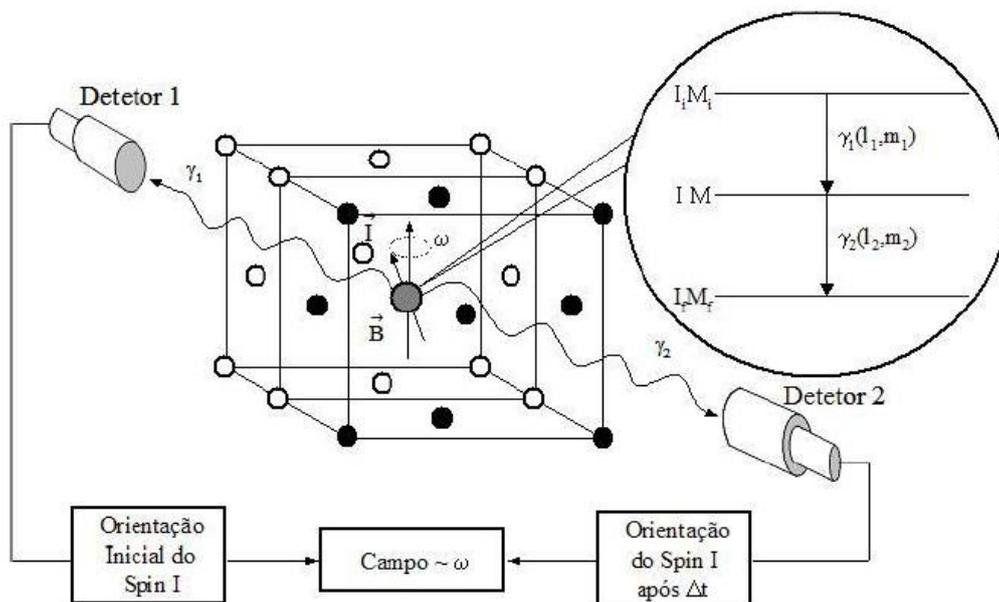


Figura 1 Esquema simplificado de decaimento em cascata γ - γ . l – momento angular; M – projeção do spin; l – multipolaridade; m – projeção.

A seguir será apresentado um esquema simplificado de um experimento de CAP para detecção dos fótons:





Figuras 2 e 3 Esquema simplificado de experimento CAP

O primeiro fóton é registrado pelo detector 1 e o segundo pelo detector 2 (que pode ser construído para mudar livremente de posição), separados pelo ângulo θ . Após a detecção, é feita uma contagem por coincidências através de eletrônica apropriada. Com a mudança de posição do detector 2 é possível fazer uma varredura das contagens em função de θ para se obter a função Correlação Angular (Saitovitch, 1973).

Para cada par de fótons de uma mesma cascata, a Correlação entre eles fornece uma probabilidade $W(k_1, k_2) = W(\theta)$ para o ângulo entre as direções k_1 e k_2 dos fótons emitidos, num dado elemento de ângulo sólido $d\Omega$, que será dada pela teoria de Correlação Angular como:

$$W(\theta) = \sum A_{KK} P_K(\cos \theta) \quad (20)$$

com $P_k(\cos\theta)$ o k -ésimo polinômio de Legendre; $0 < k < \min(2I, 2I_1, 2L_2)$ e A_{kk} os coeficientes de Correlação Angular γ - γ . Esses coeficientes são escritos da seguinte maneira:

$$A_{kk} = A_k(\gamma_1) \cdot A_k(\gamma_2) \quad (21)$$

Os termos $A_k(\gamma_1)$ e $A_k(\gamma_2)$ dependem somente dos momentos angulares envolvidos na primeira e segunda transições, respectivamente. Mas, em muitos casos, a expressão probabilística pode ser simplificada usando-se somente os primeiros parâmetros A_{22} e A_{44} (normalizados em relação a A_{00}), tal que:

$$W(\theta) = 1 + A_{22}P_2(\cos\theta) + A_{44}P_4(\cos\theta) \quad (22)$$

A figura abaixo mostra o esquema da medida e a forma de $W(\theta)$:

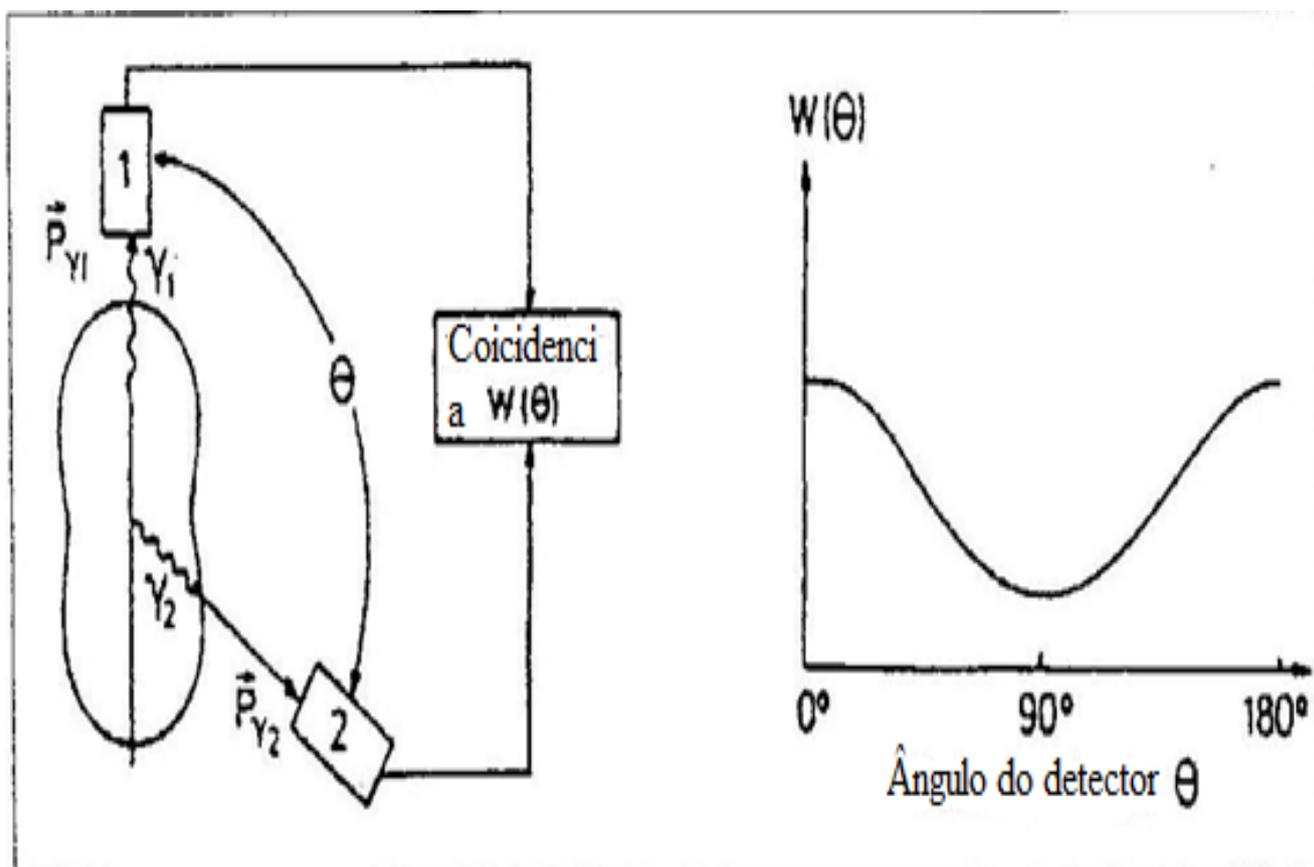


Figura 4 Esquema de medida da Correlação Angular e forma de $W(\theta)$.

2.5 - Correlação Angular Perturbada (CAP)

A correlação angular de uma cascata gama $I_i \rightarrow I \rightarrow I_f$ (fig.5) é, em geral, alterada quando o *spin* do núcleo no nível intermediário I é sujeito a torques, devido à interação do momento de dipolo magnético (μ) com um campo magnético extra nuclear (B), ou momento de quadrupolo elétrico (Q) com gradiente de campo elétrico d^2V/dz^2 . Estas interações produzem uma precessão do núcleo em torno do eixo de simetria. A mudança da orientação nuclear implica numa correlação angular alterada (Saitovitch, 1973).

Estas interações são estáticas, entretanto, existem também interações dependentes do tempo que ocasionam uma mudança na função correlação (Junqueira, 2004). Por sua vez a

rotação provoca uma precessão do padrão de radiação anisotrópica, como é demonstrado na figura abaixo:

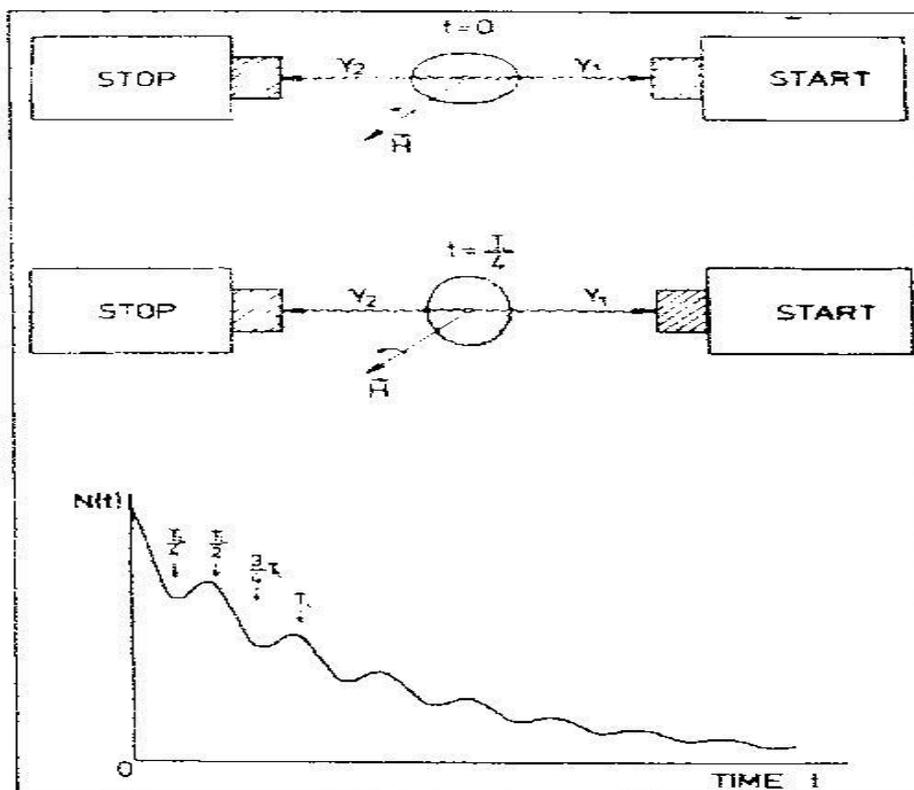


Figura 5 Precessão do padrão de radiação anisotrópica para um núcleo interagindo com campos externos eletromagnéticos.

Como resultado das interações, ocorre uma modificação na função correlação angular, que passa a ser perturbada, sendo dada pela expressão:

$$W(\theta, t) = \sum_k G_{kk}(t) A_{kk} P_k(\cos\theta) \quad (23)$$

na qual o termo $G_{kk}(t)$ é a função perturbação que depende da interação ser elétrica ou magnética.

2.7 - Interação de Quadrupolo Elétrico

Nesta interação a perturbação é diretamente influenciada pela forma da amostra (poli ou monocristalina), trazendo informações a respeito do sítio da ponta de prova. Elas podem ser do tipo dinâmica (dependente do tempo) ou estática (Cavalcante, 2009).

A interação entre o Gradiente de Campo Elétrico (GCE) e o Momento de Quadrupolo Elétrico Q , ambos de natureza tensorial, provoca uma precessão desse último, o que permite obter informações sobre a distribuição de cargas elétricas ao redor do sítio da ponta de prova. O tensor GCE é definido como a segunda derivada do potencial eletrostático, sendo descrito por um tensor com nove componentes que podem ser reduzidos aos três elementos da diagonal V_{xx} , V_{yy} e V_{zz} , com a convenção $|V_{xx}| \leq |V_{yy}| \leq |V_{zz}|$. O GCE pode ser descrito por dois parâmetros apenas, normalmente a maior componente V_{zz} e pelo parâmetro de assimetria η , definida pela equação:

$$\eta = \frac{V_{xx} - V_{yy}}{V_{zz}} \quad (24)$$

Com a desigualdade das componentes de V_{nn} , acima, mais a equação de Laplace $V_{xx} + V_{yy} + V_{zz} = 0$, os valores de η restringem-se ao intervalo $0 \leq \eta < 1$. Em amostras com simetrias axiais, a direção da componente principal V_{zz} coincide com o eixo de simetria, tornando o tensor GCE diagonal com $V_{xx} = V_{yy}$ e, portanto, $\eta = 0$ (Cavalcante, 2004).

A hamiltoniana da interação quadrupolar, dada pelo produto dos tensores GCE e momento de quadrupolo elétrico, é escrita como:

$$H = \frac{eQV_{zz}}{4I(2I-1)} [3I_z^2 - I(I+1) + \frac{\eta}{2}(I_+^2 + I_-^2)] \quad (25)$$

com “e” como a carga elementar e “ I_z , I_+ , I_- ” os operadores de momento angular

2.8 – Interação Dinâmica

As medidas de CAP com biomoléculas realizadas em solução sofrem o efeito da difusão rotacional que é representada pelo tempo de correlação rotacional ζ_C ¹. Este tempo depende da viscosidade ξ , da temperatura absoluta T e do volume da molécula V e é definido por: $\zeta_C = \frac{V \cdot \xi}{T k_B}$, onde k_B é a constante de Boltzmann (Silva, 20012).

A influencia da interação dinâmica é mais forte quando $\omega_0 \zeta_C \approx 1$. Neste caso o efeito sobre a correlação angular será um rápido amortecimento da anisotropia como função do tempo. Tal fenômeno aduz a outras duas situações possíveis:

- na primeira, a flutuação da interação quadrupolar é rápida, definida por $\omega_0 \zeta_C \ll 1$, ou seja, quando o tempo de flutuação é curto comparado com a escala de tempo estabelecida pela interação quadrupolar caracterizada por ω_0 . Neste caso, o núcleo perde a coerência de fase e a função de perturbação se torna um simples decaimento exponencial.

¹ N.A: ζ_C Descreve a mobilidade de uma molécula em uma solução

- na segunda a flutuação da interação quadrupolar é lenta, definida por $\omega_0\zeta_C \gg 1$, ou seja, quando o tempo de flutuação é longo comparado com a escala de tempo estabelecida pela interação quadrupolar, o efeito sobre a correlação angular será um lento amortecimento da anisotropia. No limite $\zeta_C \rightarrow \infty$, a interação será puramente estática. Somente neste caso é possível determinar simultaneamente tanto ω_0 (frequência angular) e η (assimetria) que são os parâmetros hiperfinos relacionados com a estrutura local do sítio do núcleo de prova na biomolécula (Silva, 2012).

2.9 – Núcleo Radioativo (Isótopo Sonda)

O material utilizado como isótopo sonda deve ter afinidade química com um dos elementos do composto, pois esta irá substituir o material localizado no sítio que se deseja medir (Forker, 2013). Esta substituição é da ordem de 0,1% dos átomos do composto. O núcleo de escolha para esse experimento foi $^{111}\text{In} \rightarrow ^{111}\text{Cd}$ por apresentar as características necessárias.

O ^{111}In , foi obtido através da irradiação da ^{109}Ag com dêuterons em ciclotron, em seguida foi feita a separação química dos átomos de In radiativos da matriz de Ag. O ^{111}In decai, por meio de captura eletrônica com meia vida de 2,83 dias, para o estado excitado $7/2^+$ do ^{111}Cd populando o nível de 416 keV. O estado intermediário $5/2^+$ da cascata gama tem meia vida de 85 ns e momento de quadrupolo elétrico $Q = 0,83$ (Cavalcante, 2004).

O esquema abaixo demonstra o decaimento radioativo de ^{111}In .

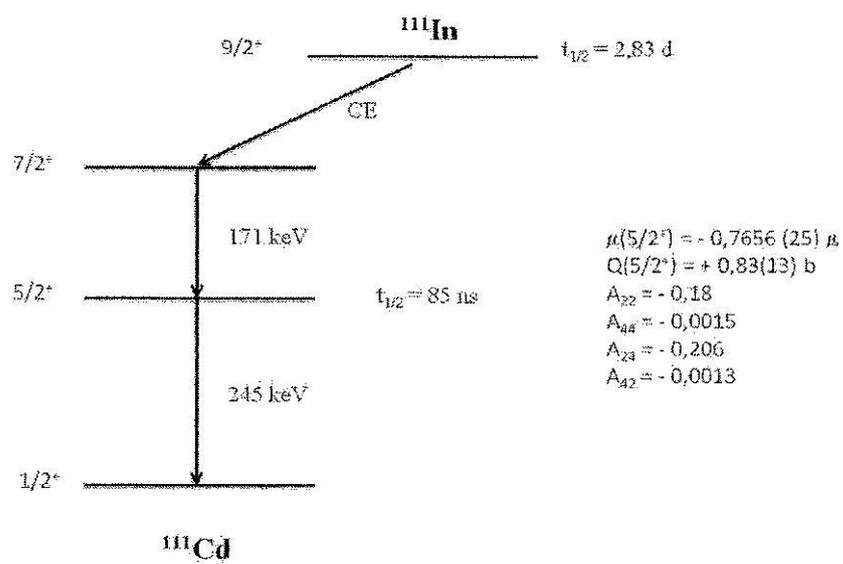


Figura 6 Esquema de níveis de energia do ^{111}Cd alimentados pelo decaimento do ^{111}In via captura eletrônica.

3 – MATERIAIS E METODOS

Neste Capítulo serão descritos os equipamentos, os materiais utilizados e métodos de preparação da amostra na parte experimental.

3.1 – Fotomultiplicadora

Uma fotomultiplicadora é, basicamente, um tubo de vidro com vácuo e com uma das extremidades plana.

Para que a perda de fótons seja minimizada, o cristal cintilador deve ser acoplado à superfície da fotomultiplicadora. A transformação do fóton de cintilação em pulso elétrico é feita no fotocatodo que é, basicamente, uma célula fotoelétrica (Knoll 2010).

A característica principal do material usado no fotocatodo é que sua função trabalho é muito baixa, isto é, a energia requerida para liberar um elétron é muito baixa. Os elétrons são assim liberados por efeito fotoelétrico, quando fótons de luz visível ou ultravioleta atingem o fotocatodo. Contudo, apresenta eficiência baixa, com somente um elétron emitido para cada 10 fótons incidentes (Knoll 2010).

O número de elétrons produzidos originalmente pelos fótons no fotocatodo é, então, multiplicado por um sistema de eletrodos constituídos por uma série de placas intermediárias que recebem o nome de dinodos, mantidas a uma diferença de potencial de cerca de 100 V em relação às placas vizinhas. O número de dinodos não é necessariamente o mesmo para as diversas válvulas fabricadas comercialmente. Esses dinodos são revestidos por uma liga metálica (Ag-Mg, por exemplo) que tem a capacidade de liberar vários elétrons para cada elétron incidente.

Se cada dinodo libera 4 elétrons por elétron incidente, uma fotomultiplicadora com 12 dinodos é sujeita a uma diferença de potencial total de 1200 V (100 V por cada dinodo) e irá amplificar o sinal do fotocatodo em 107 e até 412 vezes. Assim, com uma pequena cintilação inicial no fotocatodo, a fotomultiplicadora da origem a centenas de elétrons que irão produzir um pulso de corrente a ser contabilizado pelo sistema de contagem (Ahmed 2007).

Os cintiladores apresentam-se sob a forma sólida (cristalina ou plástica), líquida e, raramente, gasosa. São os detectores de radiação gama e raios X os de maior eficiência (Tait 1980).

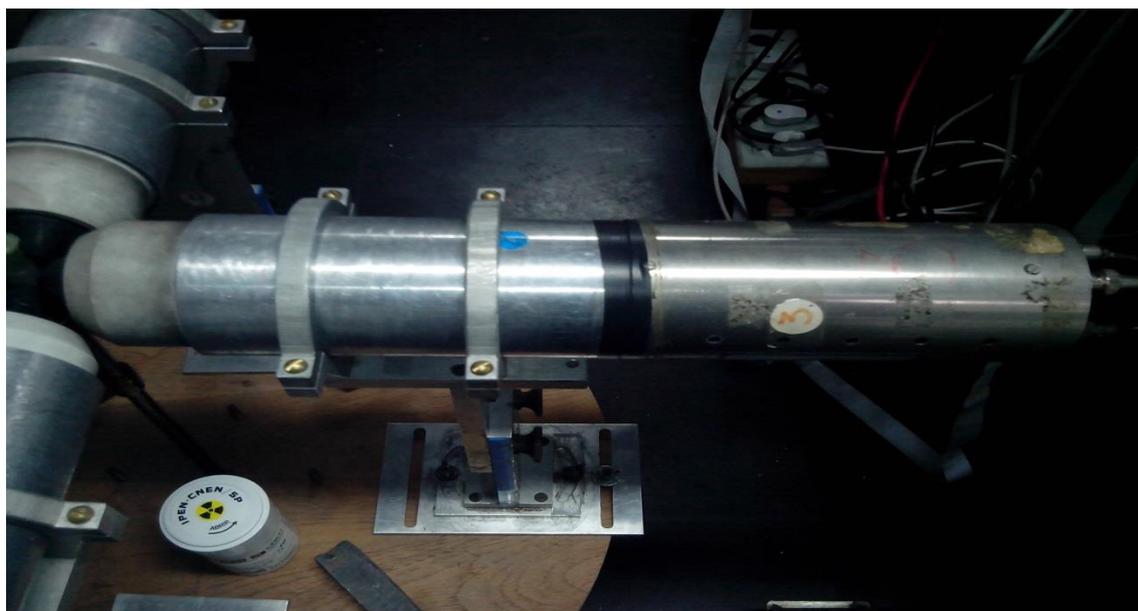


Figura 7 - Fotomultiplicadora XP2020Q

3.2 - Pré-amplificador

Na maioria dos detectores de partículas o pulso de carga Q , gerado devido à incidência da radiação, é difícil de tratar porque esta carga é muito pequena. É necessária então a utilização de um pré-amplificador, para preparar o sinal eletrônico

para uma posterior amplificação ou processamento (Tsoulfanidis 1995).

Comumente os pré-amplificadores são empregados para amplificar os sinais de um detector e promover o casamento de impedâncias. Neste experimento o pré-amplificador apenas melhora o pulso. Quando os sinais de entrada são muito fracos é conveniente montar o pré-amplificador o mais próximo possível do detector para minimizar perdas (Gilmore 2008).

O pré-amplificador sensível à voltagem é o mais usual, uma vez que, amplifica qualquer voltagem que aparece na sua entrada. Como os detectores de radiação são essencialmente produtores de carga, esta voltagem aparece através de uma capacitância intrínseca do detector (Cd) somada com outras capacitâncias do circuito (Stabin 2007).



Figura 8 - Pré-amplificador

3.3 - Amplificador

As funções do amplificador são: amplificar o sinal do pré-amplificador e formatá-lo de maneira conveniente preservando a informação de interesse. Se uma informação de tempo é

necessária, ele deve fornecer uma resposta rápida. Se a informação está na altura do pulso, uma proporcionalidade entre o sinal de entrada e o de saída deve ser preservada (amplificador linear) (Knoll 2010).

No caso de amplificadores utilizados em espectroscopia, a forma do pulso é um dos parâmetros mais importantes. Geralmente, o pulso proveniente do pré-amplificador pode ser caracterizado como uma exponencial com uma longa cauda desde alguns microssegundos até 100 microssegundos. A amplitude gerada é proporcional à energia (Knoll 2001).

Quando um segundo sinal chega durante a duração do primeiro, se localizará na cauda do primeiro, aumentando sua amplitude e alterando a informação sobre a energia. Este fenômeno é conhecido como empilhamento (Bolozdynya 2010).

Uma segunda razão para formatação de sinal é a otimização da razão sinal/ruído. Para um dado espectro de ruído, geralmente há uma forma de pulso que minimiza o ruído. Isto pode ser melhor compreendido olhando as componentes de Fourier do sinal e do ruído. Ao aperfeiçoar a razão sinal/ruído ocorre uma filtragem de frequências onde o ruído é maior, ou seja, estreitando a largura de banda. (Tait 1980)



Figura 9 - Amplificador

3.4 - Osciloscópio

O osciloscópio é um instrumento que capta sinais elétricos, ou seja, tensão e corrente, potência, período e frequência, entre outros, e mostra em sua tela milimetrada a amplitude destes sinais (Knoll 2010).

Na maioria das aplicações, o osciloscópio mostra como é que um sinal elétrico varia no tempo. O osciloscópio é bastante versátil, pois se utilizando um transdutor² apropriado, pode ser usado para visualizar e medir qualquer grandeza física (Singer 2014).

O osciloscópio é principalmente um instrumento adequado para medir sinais periódicos, ou seja, a variação de grandezas que se repetem periodicamente. O funcionamento basicamente se dá por um feixe de elétrons que é defletido e atinge uma tela fluorescente que forma uma figura (Knoll 2001).

É possível construir gráficos bidimensionais onde o eixo x corresponde a velocidade do feixe constante em relação ao tempo e o eixo y corresponde a uma resposta ao sinal de entrada. Assim, obtêm-se a variação da tensão de entrada em relação ao tempo. Dependendo de como se ajusta a escala vertical, um atenuador reduz a amplitude do sinal ou um amplificador aumenta essa amplitude (Ahmed 2007).

² N.A: Um transdutor é um dispositivo que cria um sinal elétrico partindo de um estímulo de outro tipo de grandeza, como a luz, por exemplo.



Figura 10 - Osciloscópio

3.5 - Analisador monocanal (analisador de canal simples)

O analisador monocanal (*Single-Channel Analyser* - SCA) é muito útil para aplicação em contagens (de partículas) rotineiras e na determinação do espectro de energia de fontes radioativas. Na determinação do espectro de energia de fontes radioativas, torna-se necessário executar uma espécie de varredura do espectro da fonte radioativa, variando-se a posição do canal ou janela do analisador de altura de pulso monocanal (Knoll 2010).

O SCA geralmente possui três modos de trabalho, dependendo do modelo:

- Modo integral: neste modo, o nível inferior (*LOWER LEVEL* - LL) pode ser ajustado e o nível superior (*UPPER LEVEL* - UL) é o limite do SCA (tipicamente 10V);

- Modo janela: Neste modo seleciona-se o LL e a largura da janela (distância do LL até o UL);
- Modo normal ou diferencial: neste modo os níveis UL e LL podem ser ajustados independentemente um do outro.

O analisador monocanal pode ser utilizado para obter espectros de altura de pulsos para uma fonte estacionária analisando quantas contagens entram no SCA variando o seu nível inferior e mantendo a janela fixa. Dividindo o número de contagens ΔN , pela janela ΔH , temos a média da distribuição continua neste intervalo de altura de pulsos (Gilmore 2011).



Figura 11 - Analisador Monocanal

3.6 – Conversor analógico digital e multicanal

Um conversor analógico-digital é um dispositivo capaz de transformar um valor de tensão, num padrão de sinais lógicos representados em números binários. Em geral a faixa de tensão utilizada é de 0 a 10 V, podendo ser convertida em um número de

10 a 14 bits (1024 a 16384 posições). Cada uma dessas posições é chamada canal, daí o nome do instrumento (Knoll 2010).

Na grande maioria das vezes, o conversor analógico-digital empregado em física nuclear é um analisador de altura de pulso, isto é, a grandeza medida é o valor máximo da tensão de um pulso, que contém a informação sobre a energia ou tempo (TAC) de ocorrência do evento. Num ADC ideal, a relação entre o número binário e o valor da tensão de pico analisada é perfeitamente linear: $n = Ve$, com n variando de 0 a $N-1$, $N=\{1024, 2048, 4096, \text{etc.}\}$. A função básica do analisador multicanal é construir um histograma do número de eventos que ocorrem para cada valor de n , correspondendo portanto ao espectro de energias ou tempo (Knoll 2001) .

Três tipos de distorções desta relação normalmente ocorrem em ADCs reais. O deslocamento de zero não é propriamente uma distorção e em geral pode ser corrigida ou variada. Pequenas distorções que ocorrem na linearidade integral fazem com que um polinômio de grau mais alto deva ser usado para obter a relação canal-energia ou canal-tempo. A linearidade diferencial é talvez o problema mais crítico (Stabin 2007).

Esse tipo de distorção corresponde às variações da largura de cada canal, ou seja, o intervalo de tensão correspondente ao canal n é diferente daquele para o canal m . Com isso, uma distribuição de pulsos com probabilidade uniforme de ocorrência de qualquer valor de amplitude, que deveria produzir uma distribuição horizontal no espectro do multicanal, terá mais eventos no canal ao qual corresponde um intervalo maior de tensão e vice-versa.

3.7 – Sistema de alto vácuo

O sistema é constituído de duas bombas, uma rotativa e outra difusora, e permite a evacuação³ dos tubos de quartzo, utilizados na difusão do núcleo de prova (¹¹¹In).

3,8 – Forno de resistência

O forno utilizado para o tratamento térmico das amostras pode chegar a uma temperatura de 1.573K, possuindo controlador automático de temperatura.

3.9 – Hidroxiapatita

A estrutura da hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ por ser aberta e hospedeira permite a substituição de todos os seus íons, Ca^{2+} , PO_4^{3-} e OH^- , mantendo a eletroneutralidade. Segundo Fumiaki, Yoshitem e Yoko (2004) a substituição desses íons causa alterações notáveis em sua estrutura. A substituição dos íons PO_4^{3-} e OH^- pelo íon CO_3^{2-} provoca a contração dos eixos “a” e “b” e expansão do eixo “c”; diminuição da cristalinidade; aumento da solubilidade; variação nas posições atômicas e mudança na morfologia dos cristalitos. Alguns estudos têm evidenciado que as condições de síntese influenciam o conteúdo de carbonato estrutural e a cristalinidade das HA (Baig et al., 1998). Featherstone *et al.* (1983) demonstraram que as HA precipitadas em baixa temperatura possuem elevados teores de carbonato e baixa cristalinidade. A difração de raios-X é uma técnica importante na caracterização de materiais cristalinos. O emprego do método de Rietveld (1967) em conjunto com um modelo funcional apropriado para descrever os alargamentos das linhas de difração, que

³ N.A: É o processo de retirada do ar.

permitem obter informações estruturais e micro estruturais, como parâmetros de rede, coordenadas atômicas, densidade ocupacional, (Young, 1993) é muito utilizada nos estudos da HA.

3.10 – Métodos

Os compostos de hidroxiapatita (HA) estudados neste trabalho foram três amostras de HA, uma sintetizada a temperatura de 310K, outra em 370K e a terceira dopada com Hólmio (Ho), todas em forma de pó, com massa não superior 0,05g para serem medidas, doadas pelo Dr. Alexandre Malta Rossi. Estas amostras foram estudadas em suas formas termalizadas e não termalizadas. Foram comparados os seus resultados e foi medida uma amostra de Beta – Tricálciofosfato (TCP) para melhor comparar as análises dos resultados. Todas as amostras foram elaboradas e cedidas em parceria com o Laboratório de Nanorradiofármacos da Associação Brasileira de Radiofarmácia.

3.10.1 – Tratamento térmico

As amostras de hidróxiapatitas foram termalizadas em forno de resistência, descrito anteriormente, em uma temperatura de 1237K durante aproximadamente seis horas. Este tratamento visa secar completamente as amostras.

3.10.2 – Difusão do Núcleo Radioativo (Isótopo Sonda)

Das amostras em forma de pó foram feitas pastilhas, e para difundir o ^{111}In este foi gotejado sobre as mesmas. Em seguida, foram dispersos, em tubos de quartzo, onde foi feito vácuo, selados e colocados no forno de resistência em uma temperatura de 1.073K por aproximadamente oito horas.

3.10.3 – Arranjo experimental

As medidas de correlação angular perturbada foram feitas em espectrômetro (automático) de correlação angular gama-gama perturbada do Laboratório de Correlação Angular/EXP do CBPF, em temperatura ambiente (295K). O espectrômetro utilizado tem o seu princípio de funcionamento baseado no sistema *slow-fast*.

O espectrômetro (CAP) é composto de quatro detectores cônicos de BaF₂ acoplados ópticamente a fotomultiplicadoras PHILIPS XP2020Q e colocados fixos sobre uma mesa circular formando ângulos de 90° entre si e uma eletrônica modular associada. Os detectores estão dispostos simetricamente em relação a amostra e todos possuem um mecanismo de ajuste fino da distancia e altura da fonte.

Existem duas saídas nas fotomultiplicadoras: o anodo, que fornece um sinal relativo ao tempo de chegada do fóton no detector (*fast*), e o dinodo que fornece um sinal relativo à energia do fóton (*slow*).

Os detectores estão ligados a uma eletrônica onde é realizada a contagem das coincidências entre os raios gama da cascata. Os pulsos eletrônicos gerados por cada detector na detecção das radiações gama emitidas pela amostra são tratados pela eletrônica de tal modo que para cada detector seleciona-se tanto a radiação proveniente da primeira transição da cascata (γ_1), chamada gama de *start* quanto a radiação proveniente da segunda transição da cascata (γ_2), chama de gama de “stop”. Foi realizada uma coincidência *slow-fast* entre o ramo rápido e o lento de cada *start stop*.

O sinal de cada detector foi dividido em dois ramos, um para análise de tempo de chegada (*fast*) e outro para análise da energia do fóton (*slow*). O sinal *slow* entrava no amplificador, em

que era dividido em dois, e enviados para dois monocanais, nos quais eram feitas as discriminações dos pulsos dos fótons de *start* e *stop*. O sinal relativo ao tempo era enviado ao discriminador chamado *Constant Fraction* (CFD).

Os pulsos de saída do CFD eram independentes das amplitudes dos pulsos de entrada no mesmo, sendo assim sofriam um atraso da ordem de $1\mu\text{s}$, correspondente ao tempo necessário dos monocanais analisarem o sinal relativo à energia do fóton. Em seguida, os sinais dos monocanais e dos CFDs eram enviados à unidade de coincidências.

A combinação de cada par *start-stop* deu origem a um espectro de coincidências em tempo e, num total possível de doze combinações, sendo oito correspondentes a um ângulo de 90° e quatro a um ângulo de 180° . As combinações “start-stop” foram feitas em uma unidade de *routing* que as verificava e ao mesmo tempo a um *mixer*, que enviava ao *Time to Pulse Height Converter* (TPHC) os sinais relativos aos pulsos de *start* e *stop*.

O TPHC gerava um pulso relativo à diferença em tempo das emissões dos fótons γ_1 e γ_2 , que era enviado a um módulo conversor de sinal analógico em digital (ADC). O *routing* e o ADC enviavam cada espectro para serem armazenados, numa determinada memória do multicanal, instalado num determinado microcomputador. O multicanal permitia acumular simultaneamente doze espectros de coincidências. O tempo de resolução do sistema foi menor que 1 ns.



Figura 12 - Sistema de 4 detectores de BaF2 do LCA - CBPF

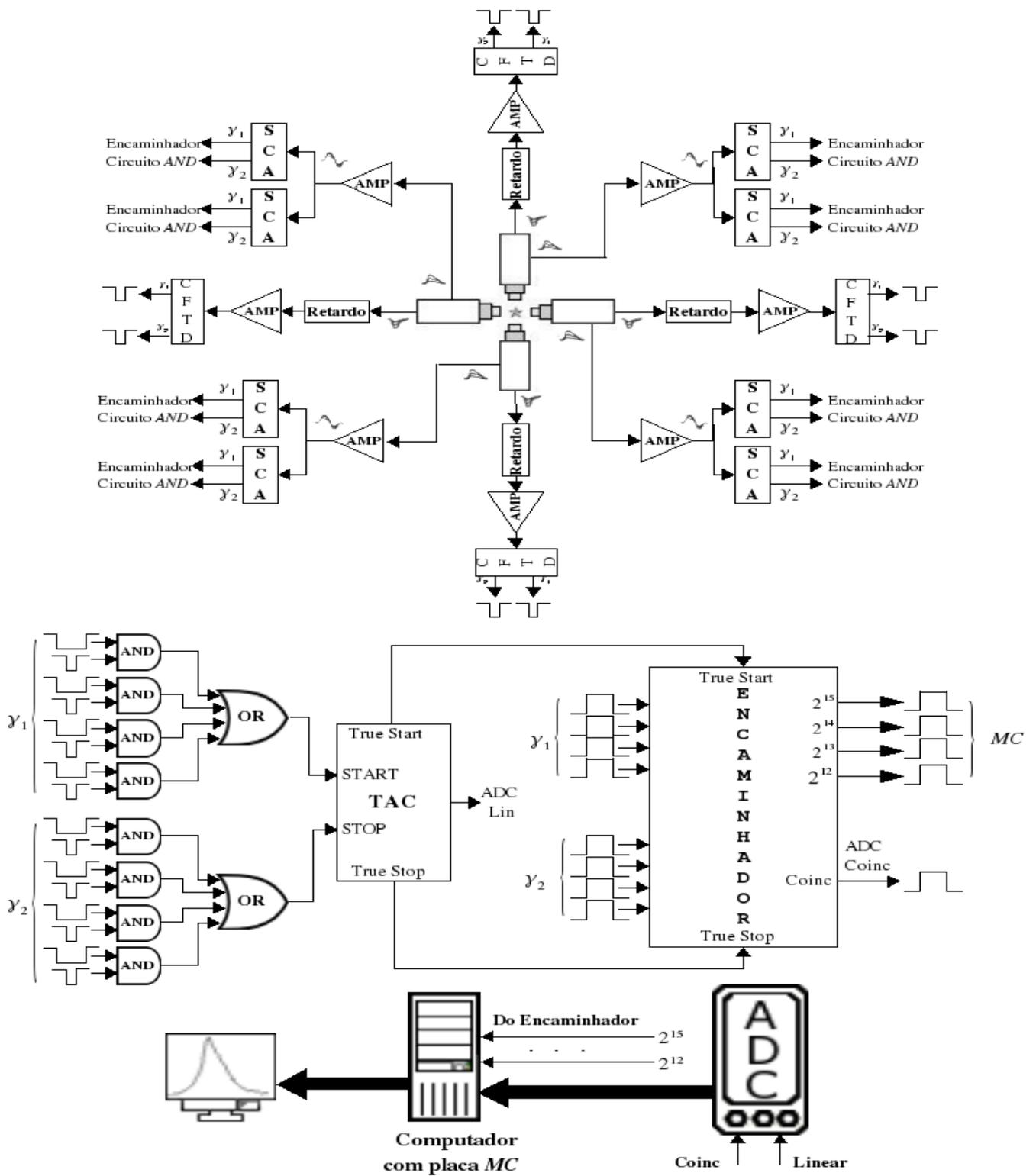


Figura 13 - Diagrama da eletrônica nuclear.

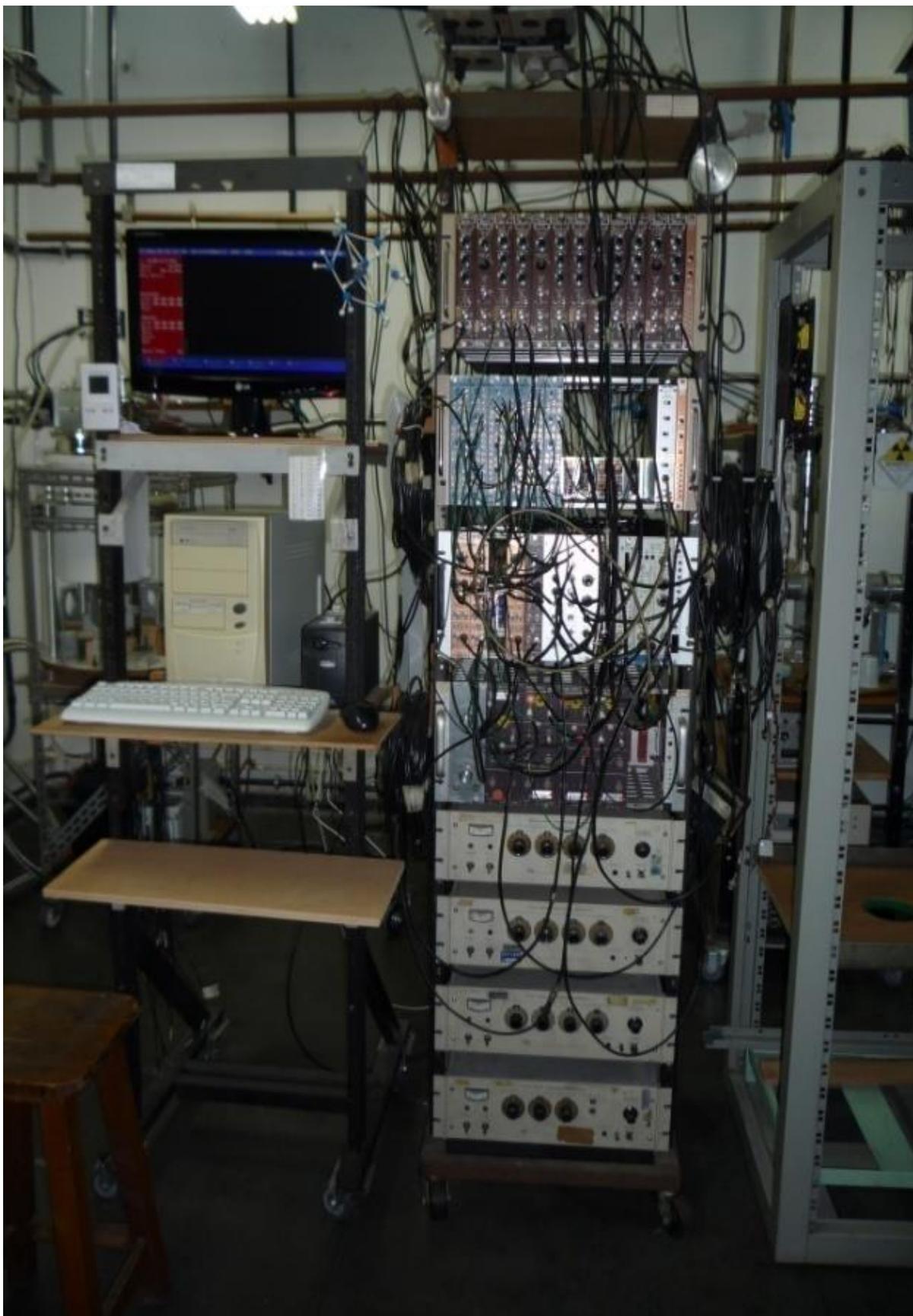


Figura 14 - Sistema eletrônico do LCA – CBPF

3.9.4 – Difração de raios-x

Os compostos de hidroxiapatita foram submetidos a difração de raios-x. As medidas foram realizadas no Laboratório de Cristalografia e Difração de Raios-x do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas.

Os gráficos que se seguem são os resultados da espectrometria de difração de raios-x realizados nas amostras de hidroxiapatita sintetizada a 310K, 370K e dopada com Ho, todas termalizadas e não termalizadas (eixo “y” corresponde a intensidade e o “x” ao ângulo).

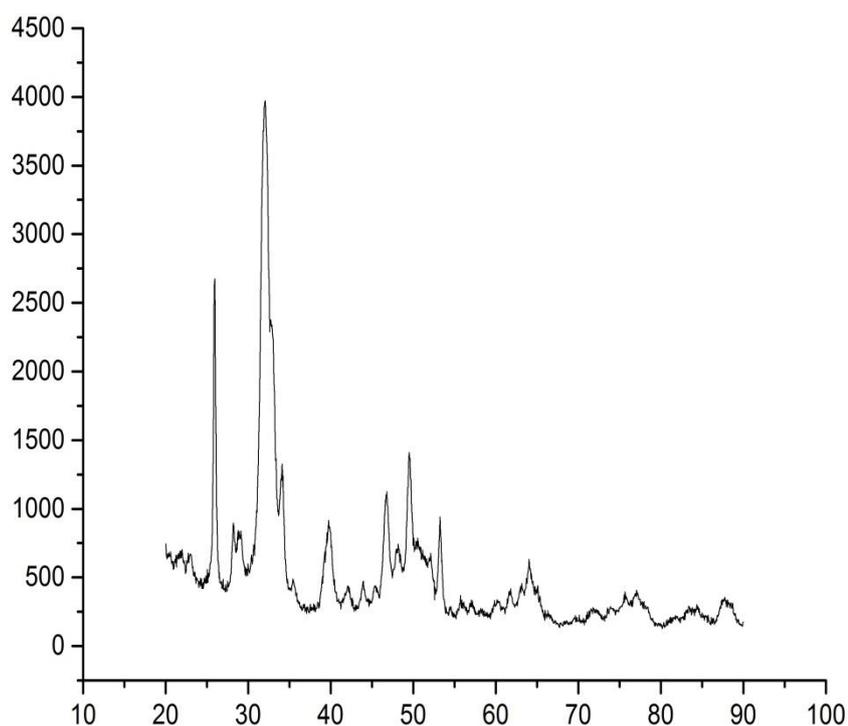


Figura 15 - Espectro de difração da HA 310K não termalizada.

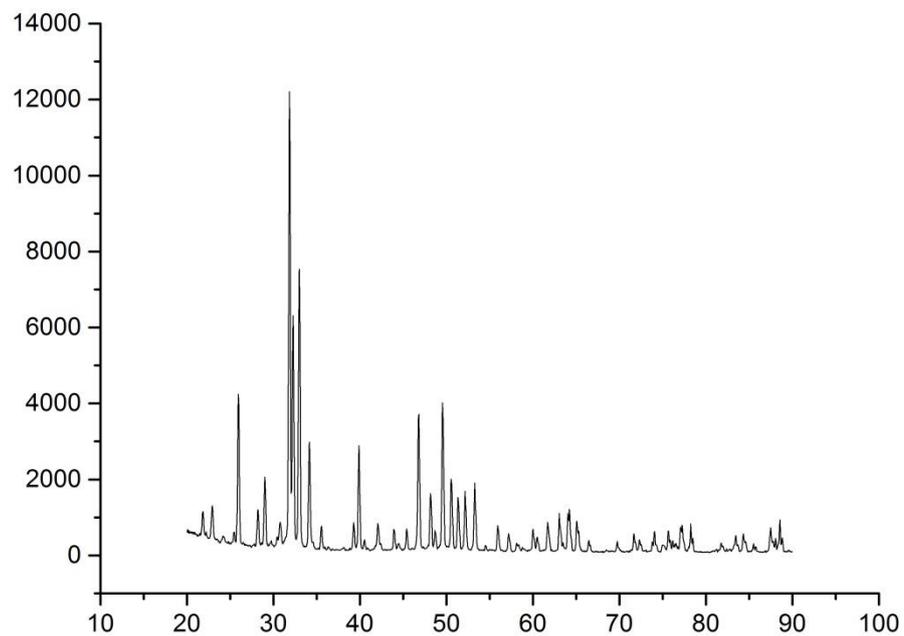


Figura 16 - Espectro de difração da HA 310K termalizada.

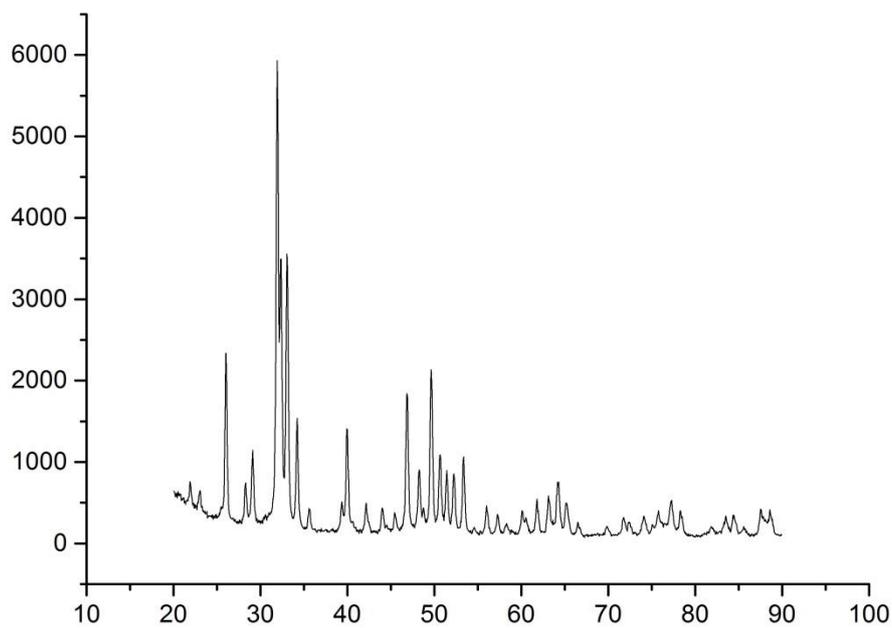


Figura 17 - Espectro de difração da HA 370K não termalizada.

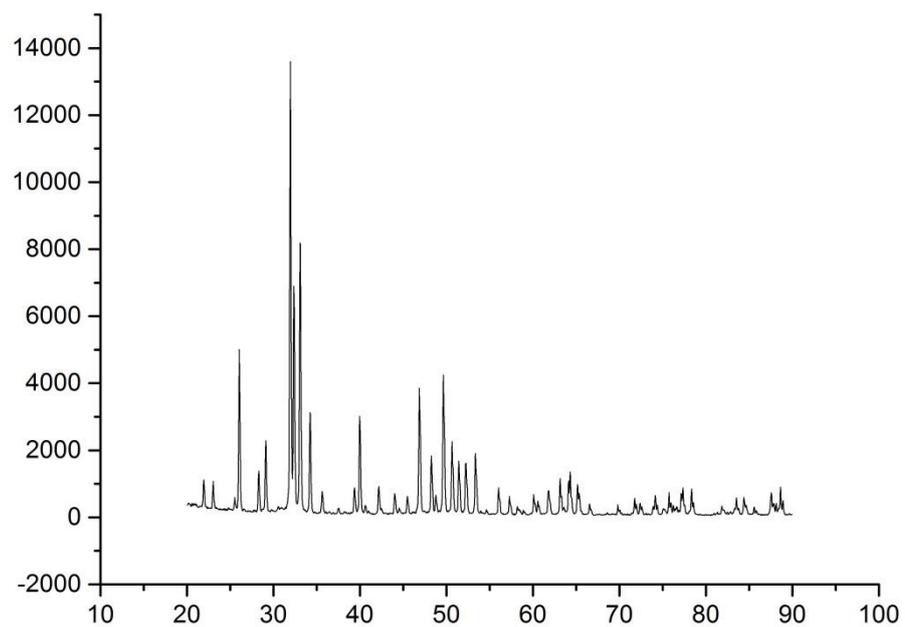


Figura 18 - Espectro de difração da HA 370K termalizada.

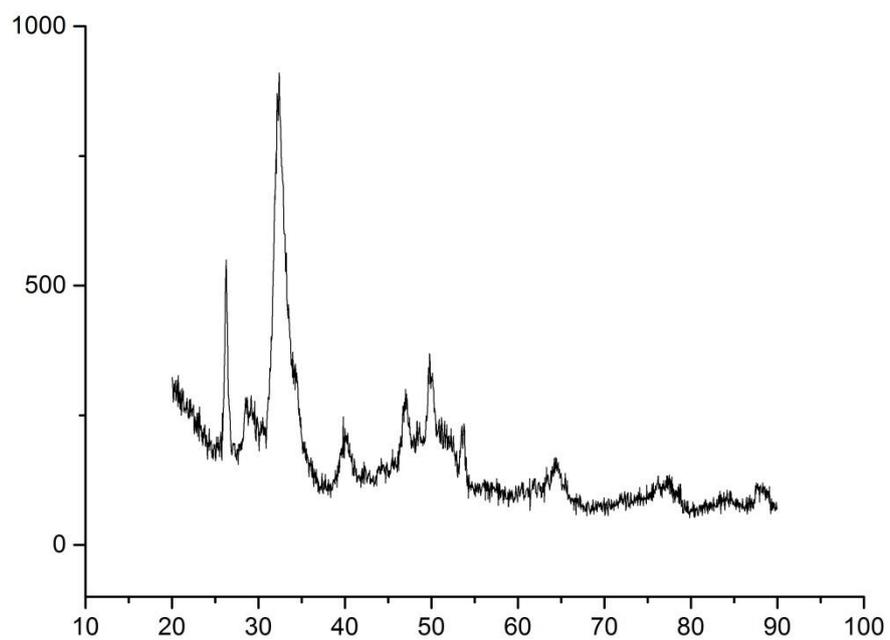


Figura 19 - Espectro de difração da HA não termalizada.

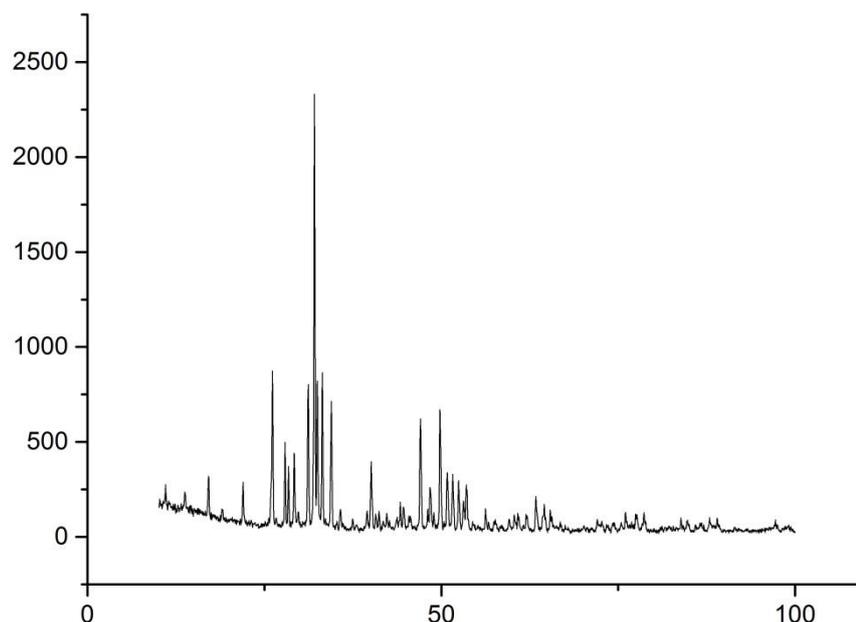


Figura 20 - Espectro de difração da HAHO termalizada.

3.9.5 – Tratamento dos Dados CAP

O tratamento de dados dos 12 espectros de coincidência, acumulados no multicanal, foram realizados pelo programa PACFIT desenvolvido no Laboratório de Correlação Angular/EXP do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas. Este programa gera uma curva de $A_{22}G_{22}(t)$ dada por uma combinação matemática dos espectros, a qual obedece a equação:

$$A_{22}G_{22}(t) = 2 \frac{C(180^\circ, t) - C(90^\circ, t)}{C(180^\circ, t) + 2C(90^\circ, t)}$$

(26)

onde:

$$C(180^\circ, t) = \sqrt[8]{\prod_{I=1}^4 W_I(180^\circ, t)}$$

(27)

e

$$C(90^\circ, t) = \sqrt[4]{\prod_{I=1}^8 W_I(90^\circ, t)}$$

(28)

Uma vez concluído o procedimento experimental, foi realizado a análise dos resultados que será tratada no próximo capítulo.

4- ANÁLISE DOS RESULTADOS

A quantidade de átomos do núcleo de prova ^{111}In difundida nas amostras é muito pequena, cerca de 10^{-4} at%. Com o intuito de comparar os resultados das amostras de hidroxiapatitas, estes sistemas foram extensamente medidos.

Abaixo estão os resultados para cada amostra medida, agrupado pelo tipo de sintetização e com as tabelas dos parâmetros das medidas de interação hiperfina (eixo “y” corresponde ao “ $-A_{22}G_{22}$ ” e o “x” ao tempo em ns):

a) HA 310K

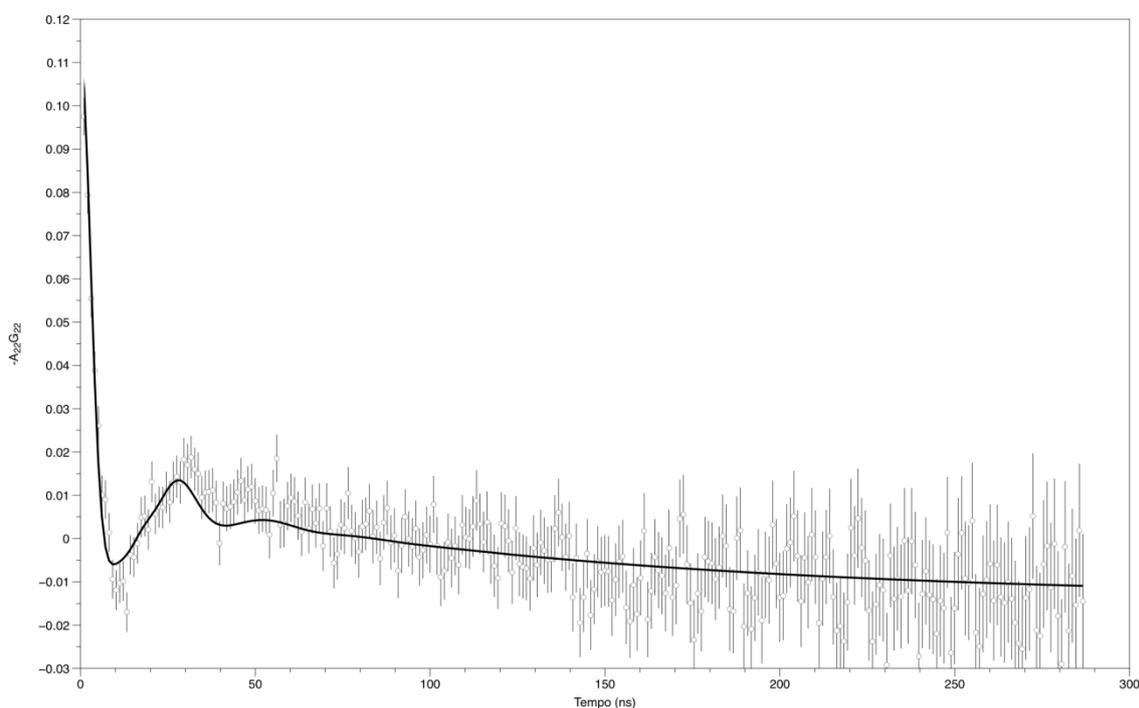


Figura 21 - Espectro de medida PAC da hidroxiapatita 310K não termalizada

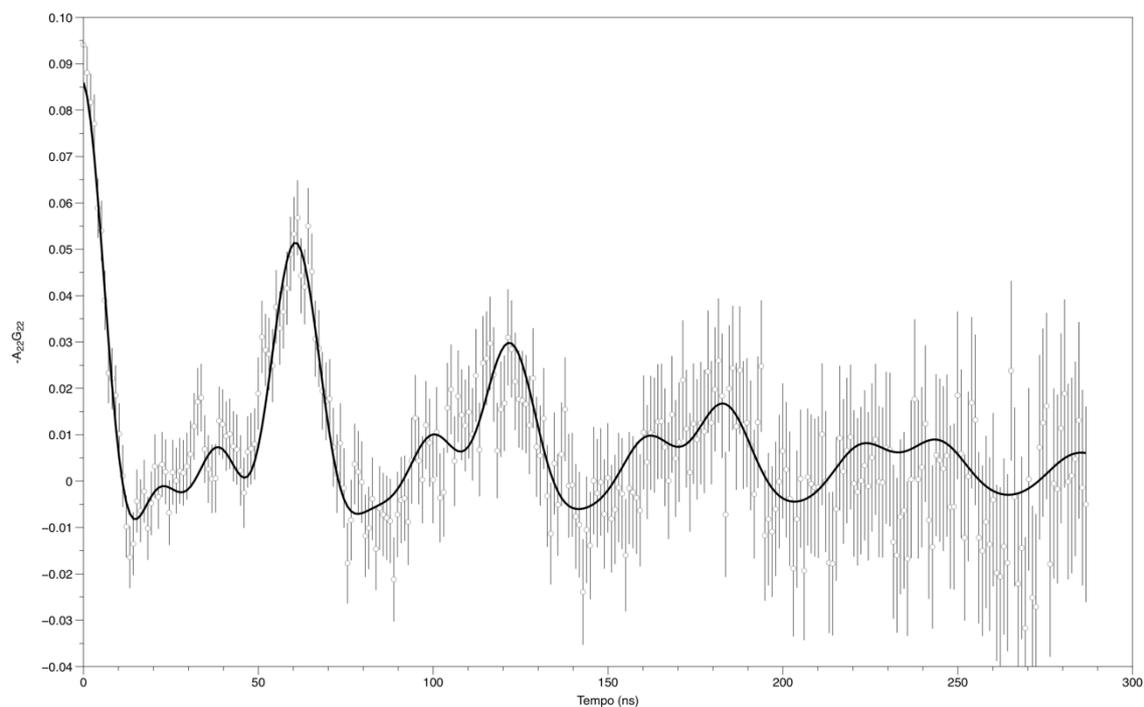


Figura 22 - Espectro de medida PAC da hiroxiapatita 310K termalizada.

Tabela 1 – Parâmetros de interação hiperfina da HA 310

Amostra	Δ	$\Delta\delta$	η	$\Delta\eta$	λ	$\Delta\lambda$	ω_Q (NQI) (MHz)	$\Delta\omega_Q$
HA 310K	0.69683	0.0064	0.3659	0.0218	6.2375	0.0008	226.552 MHz	0.383
HA 310K term.	0.0450	0.0013	0.2049	0.0013	3.7951	0.0013	108.311 MHz	0.055

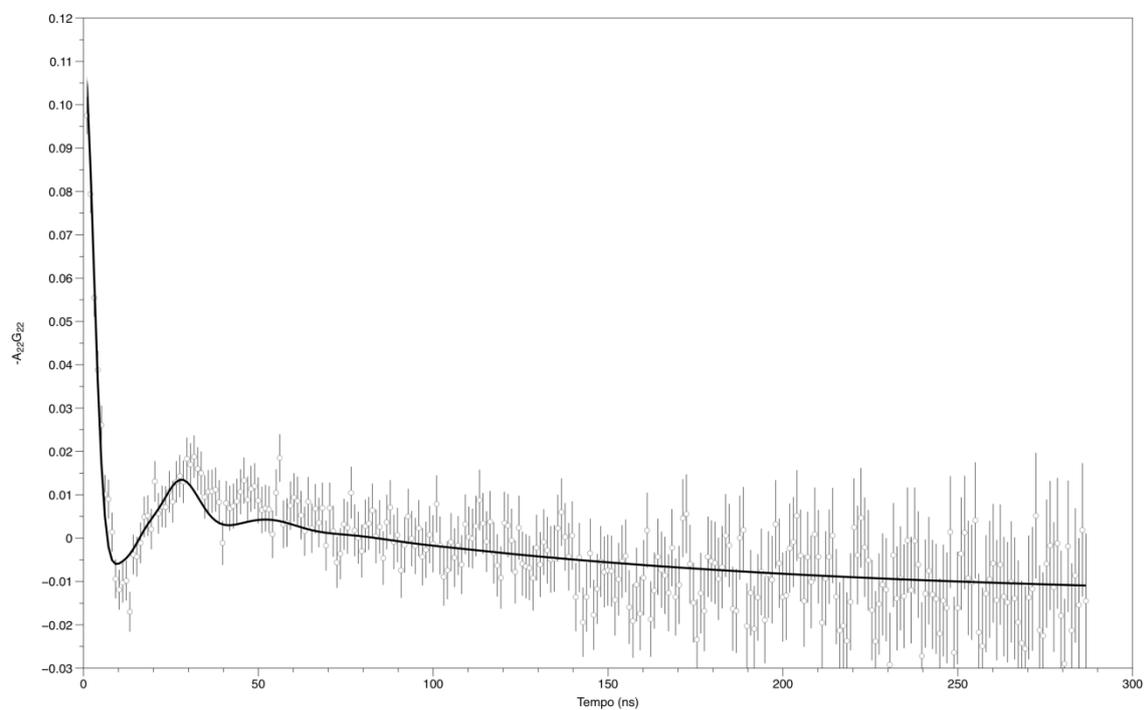
b) HA 370K

Figura 23 - Espectro de medida PAC da hiroxiapatita 370K não termalizada

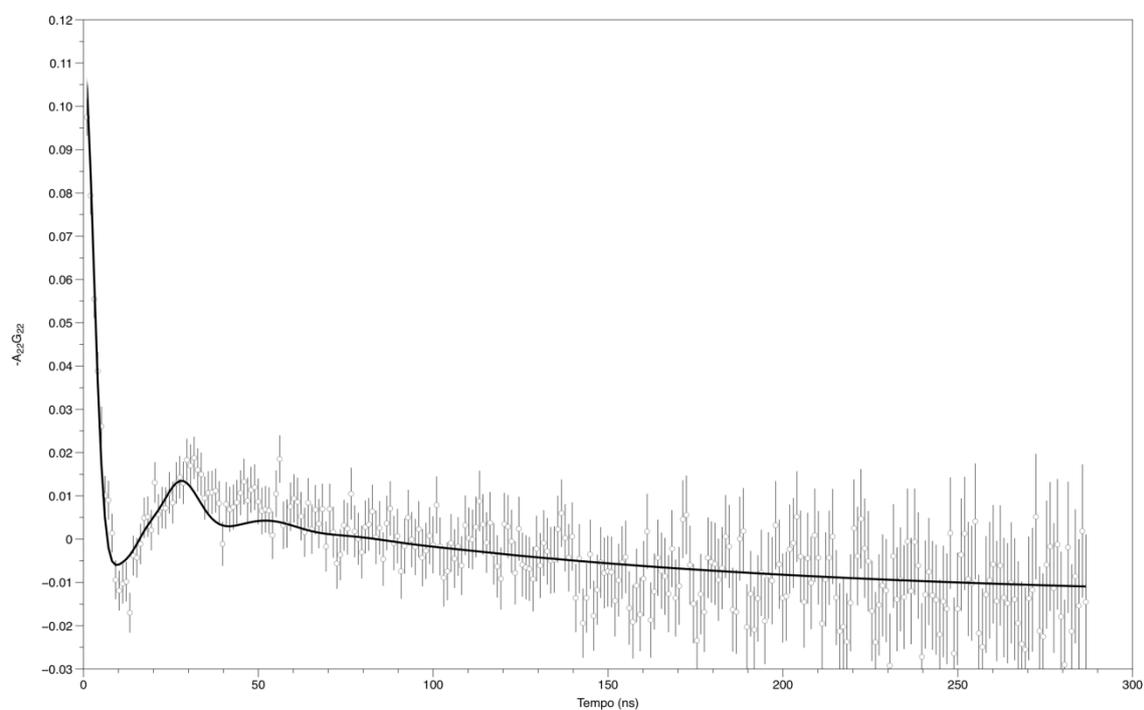


Figura 24 - Espectro de medida PAC da hiroxiapatita 370K termalizada

Tabela 2 – Parâmetros de interação hiperfina da HA 370

Amostra	Δ	$\Delta\delta$	η	$\Delta\eta$	λ	$\Delta\lambda$	ω_Q (NQI) (MHz)	$\Delta\omega_Q$
HA 370K	0.6745	0.0061	0.3789	0.0368	6.0375	0.0008	225.60 MHz	0.264
HA 370K term.	0.7042	0.0059	0.3659	0.0218	5.9455	0.0008	224.80 MHz	0.456

c) HA dopada com Ho

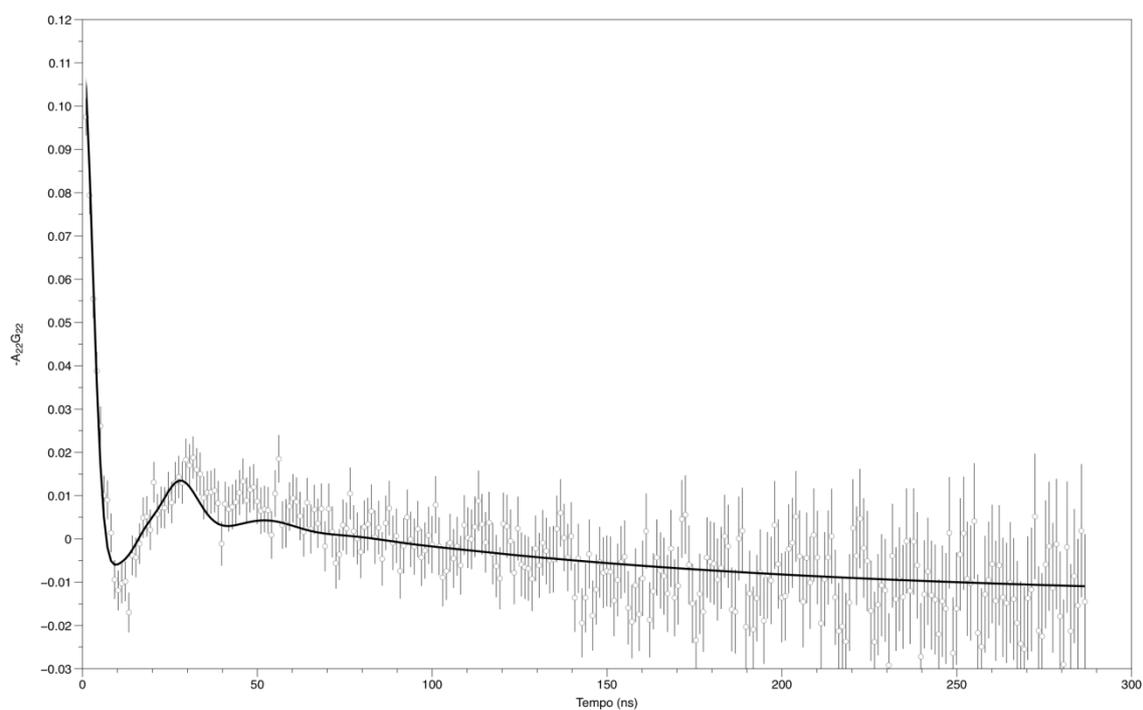


Figura 25 - Espectro de interação hiperfina da HA dopada com Ho não termalizada.

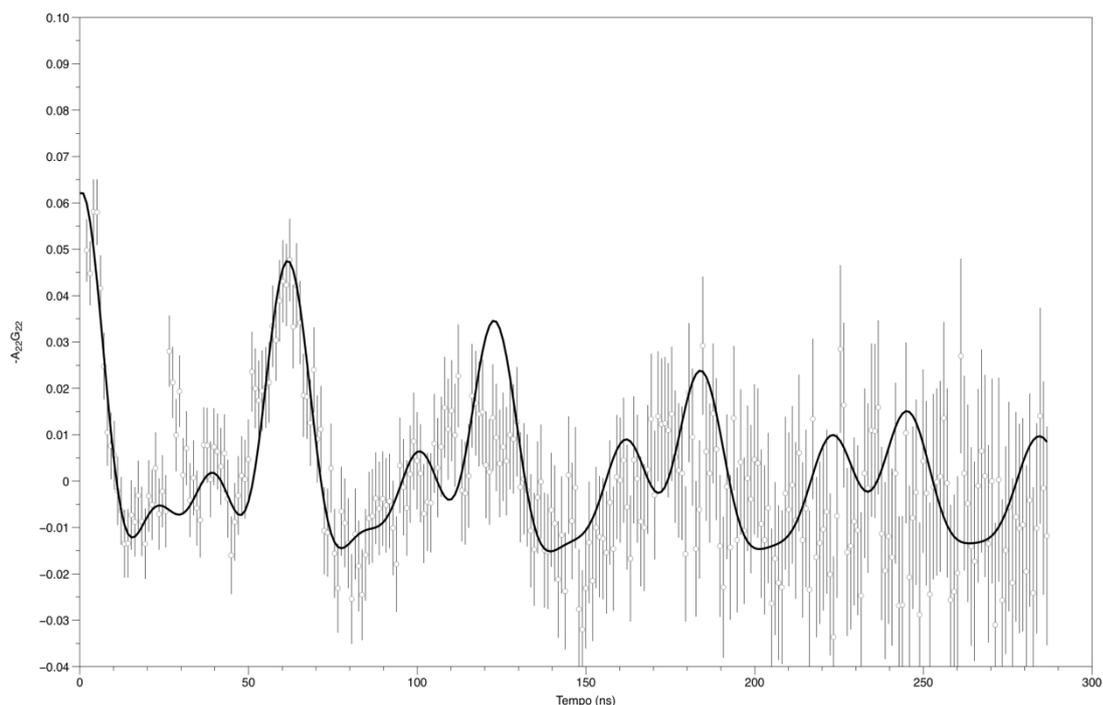


Figura 26 - Espectro da HA dopada com Ho termalizada

Tabela 3 – Parâmetros de interação hiperfina da HA dopada com Ho

Amostra	δ	$\Delta\delta$	η	$\Delta\eta$	λ	$\Delta\lambda$	ω_Q (NQI) (MHz)	$\Delta\omega_Q$
HAHo	0.7028	0.0050	0.3873	0.0192	5.975	0.0008	226.305 MHz	0.297
HAHo term.	0.0450	0.0015	0.2049	0.0022	3.7614	0.0013	108.311 MHz	0.055

Os resultados dos espectros PAC expostos acima referentes às amostras de HA não termalizadas (310K, 370K e HAHo) e da HA 370K termalizada são bem conhecidos e relatados

como uma distribuição de interação de frequências, o que pode indicar uma intensa atividade dinâmica ao redor do isótopo sonda.

Por outro lado os espectros de PAC das amostras termalizadas (HA 310K e HAHo) mostram uma bem definida estrutura cristalina ao redor do núcleo de prova.

Como é sabido, o beta tricálciofosfato (TCP) é obtido através do aquecimento da hidroxiapatita a temperaturas superiores a 1423K, por esta razão foi difundido no TCP a isótopo sonda ^{111}In , sob a mesma condição das amostras anteriores, ou seja, 1073K durante aproximadamente oito horas.

Os espectros de PAC para o TCP apresentaram a mesma forma daqueles que tiveram uma estrutura cristalina bem definida, indicando que nestes compostos, por menor que seja a fração e mesmo esta não seja mostrada nos espectros de difração de raios-x, há a presença do TCP.

Abaixo são apresentados os espectros de difração de raios-x, o espectro PAC e a tabela de parâmetros hiperfinos da amostra de TCP:

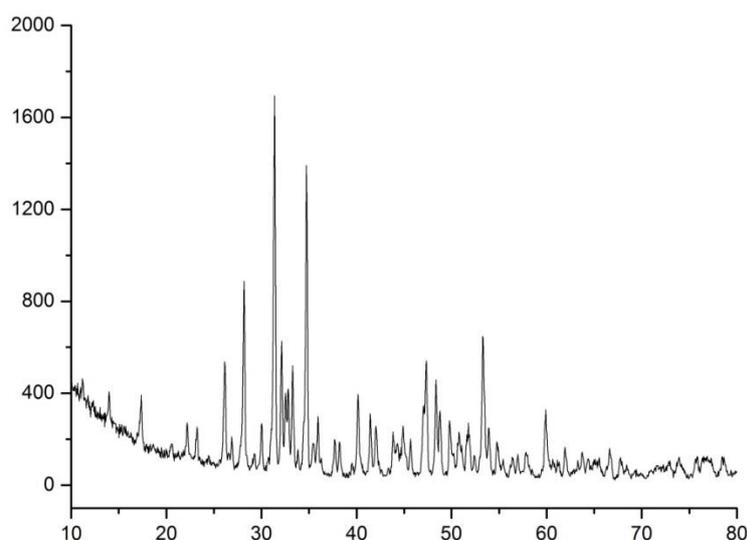


Figura 27 - Espectro de difração de raios-x da amostra de TCP.

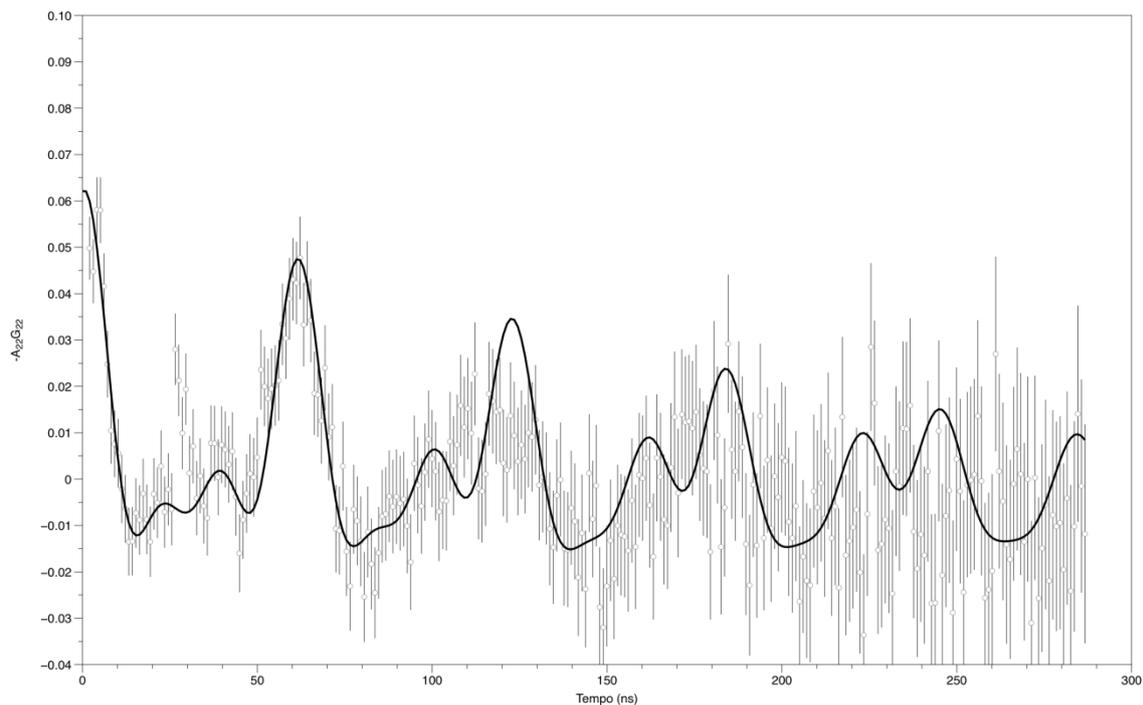


Figura 23 - Espectro PAC do TCP.

Tabela 4 – Parâmetros de interação hiperfina do TCP:

Amostra	δ	$\Delta\delta$	η	$\Delta\eta$	λ	$\Delta\lambda$	ω_Q (NQI) (MHz)	$\Delta\omega_Q$
TCP	0.0349	0.0013	0.2134	0.0013	3.5421	0.0027	107.508 MHz	0.064

5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo a Sociedade Brasileira de Cancerologia – SBC, anualmente surgem 2.700 novos casos de câncer ósseo no Brasil. O estudo da hidroxiapatita como sistema de *drug delivery* se mostra de suma importância, uma vez que, essa cerâmica serve como carregador de radio isótopos que ajudam no tratamento desta doença.

O uso de materiais biológicos em medidas de Correlação Angular é de extrema dificuldade, uma vez que, a introdução do isótopo sonda é muito complicada. A maioria das técnicas de preparação e de difusão são metalúrgicas, fazendo com que o material medido tenha suas características alteradas ou até mesmo destruída. A hidroxiapatita por ter elevado ponto de fusão se mostrou um bom material para a introdução do isótopo sonda com vistas as medidas de PAC.

Através da técnica de CAP foi observada a presença do TCP em amostras de hidroxiapatitas termalizadas e pode-se constatar que a amostra sintetizada a temperatura de 370K fica inalterada mesmo ao ser aquecida a temperatura de 1.273K. Assim a Correlação Angular demonstrou ser bastante versátil no estudo das interações entre o núcleo de prova e a hidroxiapatita.

É pretendida a elaboração de novos meios de introdução do isótopo sonda, tal como introduzir um núcleo de prova durante a síntese da hidroxiapatita, usando um radioisótopo com meia vida mais longa, como o caso do ^{181}Hf . Também a realização de cálculos com a presença do núcleo de prova para obtenção de valores mais realistas dos parâmetros hiperfinos e o sitio de localização da sonda.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAGAM, A. and POUND, R. V.. **Influence of Electric and Magnetic Fields On Angular Correlations.** Phy Rev 92, 1953;

AHMED S. N., **Physics and Engineering of Radiation Detection**, ed. Elsevier, 2007

CARLISLE EM; **Silicon: a Possible Factor in Bone Calcification.** Science 167, 279, 1970

CAVALCANTE, Fábio H. de Moraes. **Estudo de interações hiperfinas em óxidos $RCoO_3$ e Filmes finos de HfO_2 Por Meio da Técnica de Espectroscopia de Correlação Angular Gama-Gama Perturbada**, IPEM São Paulo: 2009;

FAROKHZAD OC, LANGER R. **Impact of nanotechnology on drug delivery.** ACS Nano, 2009, 27(3):16-20;

FEATHERSTONE J.D.B., SHIELDS CP, KHADERAZAD B. OLDERSHAW M.D.,; **Acid Reactivity of Carbonated Apatites With Strontium and Fluoride Substitutions.** J Dent Res,62, p.1049-063,1983;

FERBEL T., DAS A., **Introduction to Nuclear and Particle Physics**, ed. Wspc, 2003;

FORKER, M., **Hyperfine Interactions.**v. 24-26, p.907-940, 1985;

FORKER M., P. R. J. SILVA, J. T. P. D. CAVALCANTE, F. H. M. CAVALCANTE, S. M. RAMOS, H. SAITOVITCH, E. BAGGIO-SAITOVITCH, R. ALONSO, M. TAYLOR, AND L. A. ERRICO; **Electric field gradients of $CeMIn_5$ ($M = Co, Rh, Ir$) heavy-fermion systems studied by perturbed angular correlations and ab initio electronic structure calculations.** Physical Review B 87, 155132, 2013;

GILMORE G., **Practical Gamma-ray Spectrometry**, ed. Wiley, 2008;

GOERTZEL, G. **Angular correlation of gamma-rays.** Phys. Ver., v. 70, p. 897-909, 1946;

JUNQUEIRA A.C., **Estudo de Interações Hiperfinas em Óxidos Perovskitas do Tipo $La(MT)O_3$** , IPEM São Paulo: 2004;

HAMILTO D.R., **On Directional correlations of successive quanta**, Phys. Rev., v. 58, p.122-131 (1940);

HEMMINGSSEN, Larse; SAS, K. N.; DANIELSEN, E. **Biological of Perturbed Angular Correlations of γ – Ray Spectroscopy**, Chem.Rev, 104, 2004;
HEMMINGSSEN L., STACHURA M., THULSTRUP P. W., NCHRISTENSEN N. J., JOHNSTON K., **Selected Applications of Perturbed Angular Correlation of γ -Rays (PAC) Spectroscopy in Biochemistry**, Hyperfine Interactions, April 2010, Volume 197, Issue 1-3, pp 255-267;

IBRAHIM D.M. MOSTAFA, A.A. KOROWASH. **Chemical characterization of some substituted Hydroxyapatite**, Chem. Cent. J, 28/5(1), 2011;

JAIN KK. **Nanotechnology-based drug delivery for cancer**. Technol Cancer Res Treat 2005, 4(4):407-16;

JAIN KK. **Use of nanoparticles for drug delivery in glioblastoma multiforme**. Expert Rev Neurother, 2007, 7(4):363-72;

KARLNSON, E.; MATTHIAS, E.; SIEGBAHN, **Perturbed Angular Correlations**. North-Holland, Amsterdam, 1965;

KNOLL W., **Solutions Manual to Accompany Radiation Detection and measurement**, ed. Wiley, 2001.

LAPOLLI, A. L.; **Estudo de Interações Hiperfinas em Compostos Intermetálicos Gd(Ni,Pd) Dy(Ni, Pd)In e Ho(Ni ,Pd)In** , IPEM São Paulo, 2006;

LEIPERT, T.K.; BALDESCHWIELER, J.D. and SHIRLEY, D. A., **Aplicatons of Gamma Ray Angular Correlations To the Study of Biological Macromolecules in Solutions**: Nature, 200, 1968;

LEO W.R., **Technics for Nuclear and Particle Physics Experiments**, ed. Springer, 1994

LIMA, INGRID RUSSONI ; ALVES, GUTEMBERG GOMES ; SORIANO, CARLOS ALBERTO ; CAMPANELI, ANA PAULA ; GASPAROTO, THAIS HELENA ; SCHNAIDER RAMOS, ERIVAN ; DE SENA, LÍDIA ÁGATA ; ROSSI, A. M. ; GRANJEIRO, J. M. ; GRANJEIRO, JOSÉ MAURO . **Understanding the impact of divalent cation substitution on hydroxyapatite: An in vitro multiparametric study on biocompatibility**. Journal of Biomedical Materials Research. Part A, v. online, p. 1-8, 2011.

MORELLI, C et al. **PEG-templated mesoporous silica nanoparticles exclusively target cancer cells**. Nanoescale, jul 4, 2011;

OLIVEIRA, I.S.;GUIMARÃES, A.P. **Interações Hiperfinas**. Revista Brasileira de Ensino de Física, v.22, n.3, 2000;

PANDIT-TASKAR, N., BATRAKI, M.,DIVGI, C. R. **Radiopharmaceutical Therapy for Pilliation of Bone from Osseous Metastases**. Journal of

Medicine: Official publication, Society of Nuclear Medicine, v.45, n. 8, p. 1358-1365, 2004;

PATRICIO B.F.C., ALBERNAZ M.de S., LEITE O.F.S., SANTOS-OLIVEIRA R.; **Behavior of EDTMP (Ethylene-diaminetetramethylene-phosphonate)- Nanoparticles in Blood: Considerations on the Site of Injection.** Current Nanoscience, v.10,n.3,2014;

PIETAK A. M., JOEL W. REID, MALCOM J. STOTT, MICHAEL SAYER: **Silicon substitution in the Calcium Phosphate Bioceramics.** Biomaterials 28: 4023; 2007.

REUVENIE T, MOTIE M, ROMMAN Z et al. **Targeted gold nanoparticles enable molecular CT imaging of cancer: an in vivo study.** Int J Nanomed, 2011, 6:2859-64;

RINNEBERG H.H.; **Application of Perturbed Angular Correlations To Chemistry and Related Areas of Solid State Physics.** Atomic Energy Review. 172 ,1979;

SCHATZ, G.; WEDINGER, A.; GARDNER, J. A. **Nuclear Condensed Matter Physics – Nuclear Methods and Applications.** John Wiley e Sons, 1995;

SHPINKOVA, L. G, CARBONARI, A. W, NIKITIN, S. M. and MESTNIK FILHO, J. **Influence of Electron Capture After-Effects on the Stability of $^{111}\text{In}(\text{111}\text{Cd})$ -Complexes with Organic Ligands.** Chemical Physics 279 255-267, 2002.

STABIN M. G., **Radiation Protection and Dosimetry**, ed. Springer, 2007.

TAIT W.H., **Radiation Detection**, ed. Butterworths, 1980.

Tsoufanidis N., **Measurement and Detection of Radiation**, ed. Taylor & Francis, 1995.

YOUNG R. A. **Introduction to the Rietveld method.** eds, The Rietveld Method. Oxford, University Press, London, 1993;

XU J. L., K. A. Khor. **Chemical analysis of silica doped hydroxyapatite biomaterials consolidated by a spark plasma sintering method.** Journal of Inorganic Biochemistry 101: 187, 2007.

ZAPATA M. J. M. **Estudo Estrutural e Avaliação da Citotoxicidade de uma Hidroxiapatita dopada com Silício**

preparados por Reação Mecano-Química, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Alagoas, 2012.

ZHUN, J. et al. **Small mesoporous silica nanoparticles as carriers for enhanced photodynamic therapy**. Chem Asian J., jul 8, 2011