



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ABAETETUBA
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM FÍSICA

RENATA CRISTINA FARIAS DA SIVA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS DE COBALTO UTILIZANDO
ÓLEO DE BACABA.**

ABAETETUBA-PA

2019

RENATA CRISTINA FARIAS DA SIVA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS DE COBALTO UTILIZANDO
ÓLEO DE BACABA.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Pará-Campus Abaetetuba, como requisito final para a obtenção do grau de Licenciada Plena em Física, sob orientação da Prof.^a Dra. Cleidilane Sena Costa.

ABAETETUBA-PA

2019

RENATA CRISTINA FARIAS DA SIVA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS DE COBALTO UTILIZANDO
ÓLEO DE BACABA.**

Este trabalho de Conclusão de Curso foi julgado e aprovado, para a obtenção do título de Licenciada Plena em Física pelo corpo docente da Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Pará-Campus Universitário de Abaetetuba.

Abaetetuba, 04 de julho de 2019.

Prof.^a Dra. Cleidilane Sena Costa

FACET – UFPA

Orientadora

Prof. Dr. Gabriel Adolfo Cabrera Pasca

FACET – UFPA

Examinador

Prof. Dr. Flávio Vargas Andrade

FACET – UFPA

Examinador

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por cada conquista e sempre me abençoar mais do que mereço.

À minha **família** pelo amor, compreensão e apoio imensuráveis. Certamente, vocês são a força motriz da minha vida.

À minha orientadora **Prof.^a Dra. Cleidilane Sena Costa**, pela orientação, receptividade, confiança e conselhos.

Ao meu noivo **Emerson Patrick dos Santos Vieira**, pelo incentivo, troca de conhecimentos, apoio e ser meu parceiro dentro e fora do laboratório.

À minha irmã/filha **Nathalia Farias da Silva** por todo amor e força que sempre me oferece.

Ao meu co-orientador **Prof. Dr. Gabriel Adolfo Cabrera Pasca** pelos seus valiosos ensinamentos.

Ao coordenador do curso de Física, **Prof. Dr. Messias de Souza Costa** por tornar este curso de excelência, priorizando a formação altamente qualificada dos discentes.

Ao diretor da Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias, **Prof. Dr. Flávio Vargas Andrade** pela participação na banca examinadora e por contribuir com seu imenso conhecimento técnico/científico.

Ao grupo Materiais Nano&Micro Estruturados da Amazônia (MNMA) pelas trocas de conhecimentos.

À **Prof. Ma. Alessandra Oliveira** pelo acolhimento e conselhos durante os estágios de Física.

À minha irmã de coração, **Viviane Sobrinha Marques** pelo companheirismo e apoio ilimitados.

Aos Laboratórios da UFPA por concederem os equipamentos e materiais utilizados na síntese e caracterização das amostras.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN – São Paulo) pela colaboração.

A todos que de sua maneira contribuíram para a realização desta pesquisa.

Muito obrigada!

“Somos um universo de átomos e ao mesmo tempo um átomo no Universo.”

(Richard Feynman)

RESUMO

A região Amazônica possui diversas matrizes oleaginosas. Entre essas espécies vegetais, a *Oenocarpus bacaba* Mart., mais conhecida como bacabeira, produz frutos (bacaba) com propriedades antioxidantes, farmacêuticas, cosméticas e um alto valor nutricional. Dessa forma, utilizar um óleo de origem natural para revestir nanopartículas de óxido de cobalto pode otimizar aspectos essenciais para aplicações tecnológicas e biomédicas, tais como tratamentos de doenças, diagnósticos e biosensores, porém ainda é pouco investigado seu uso em síntese de nanomateriais. Assim, neste trabalho utilizou-se o óleo de bacaba para revestir nanopartículas de óxido de cobalto sintetizadas através da técnica decomposição térmica. As amostras foram caracterizadas por difração de raios X (DRX) em duas medidas, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS). Os resultados obtidos por DRX apresentam, na primeira medida, a curva característica de material amorfo indicando um excedente deste nas amostras, por outro lado, a segunda medida, realizada pós- dispersão, mostra intensidades de raios X difratados em função 2θ nas posições próximas de 34° e 60° , que podem ser referentes à fase óxido de cobalto (CoO , Co_3O_4 , $\text{CoO}(\text{OH})$). As imagens de MEV com o EDS acoplado revelaram agregados de partículas, possivelmente nanométricas e esféricas, com grãos de tamanhos distintos; já a composição química das amostras destaca a boa concentração dos elementos cobalto, carbono e oxigênio. Conclui-se que o óleo de bacaba possui potencialidade para otimizar a síntese de nanopartículas de óxido de cobalto através da decomposição térmica.

PALAVRAS-CHAVE: Amazônia. óleo de bacaba. nanopartículas.

ABSTRACT

The Amazon region has several oleaginous matrices. Among these species of plants, *Oenocarpus bacaba* Mart., Better known as bacabeira, produces fruits (bacaba) with antioxidant, pharmaceutical, cosmetic and of high nutritional value. Thus, the use of a naturally occurring oil to coat cobalt oxide nanoparticles can optimize aspects essential for technological and biomedical applications such as disease treatments, diagnostics and biosensors, but its use in synthesis of nanomaterials is still little investigated. Thus, bacaba oil was used to coat synthesized cobalt oxide nanoparticles using the thermal decomposition technique. The samples were characterized by X-Ray Diffraction (XRD) in two measurements, scanning electron microscopy (SEM) and dispersive energy spectroscopy (EDS). The results obtained by XRD show, in the first measurement, the characteristic curve of amorphous material indicating a surplus of this in the samples, on the other hand, the second measurement, carried out post-dispersion, shows intensities diffracted X-ray intensities as a function 2θ at positions near 34° e 60° , that may be related to the phase of cobalt oxide (CoO, Co₃O₄, CoO (OH)). SEM images with coupled EDS revealed particle aggregates, possibly nanometric and spherical, with grains of different sizes; The chemical composition of the samples highlights the good concentration of elements of cobalt, carbon and oxygen. It was that bacaba oil has the potential to optimize the synthesis of cobalt oxide nanoparticles by thermal decomposition.

KEYWORDS: Amazon. bacaba oil. nanoparticles.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estruturas cristalinas do Cobalto. a) Co metálico na fase (fcc), b) na fase hexagonal compacta (hcp) e c) na fase épsilon (ϵ – Co).....	18
Figura 2 – Estruturas cristalinas do óxido de cobalto. a) Célula unitária do CoO na fase cúbica (fcc), b) na fase hexagonal compacta (hcp) e c) na fase espinélio (Co_3O_4).....	19
Figura 3 – Diagrama de fases de uma substância pura.....	21
Figura 4 – Aparato de extração por fluido supercrítico.....	22
Figura 5 – Fruto da bacaba.....	24
Figura 6 – Estrutura química da oleilamina.....	26
Figura 7 – Estrutura química do ácido oleico.....	26
Figura 8 – Diagrama ilustrativo da grade de difração de raios X.....	28
Figura 9 – O equipamento de MEV.....	30
Figura 10 – Detector de raios X utilizado para EDS.....	31
Figura 11 – Unidade de extração supercrítica (<i>Applied Separations</i>)	32
Figura 12 – Aparato experimental utilizado na síntese por Decomposição Térmica.....	33
Figura 13 – Gráficos da intensidade de raios X difratados em função do ângulo de espalhamento 2θ das amostras sintetizadas. (a) amostra A1 e (b) amostra A2.....	35
Figura 14 – Gráficos da segunda medida intensidade de raios X difratados em função do ângulo de espalhamento 2θ da amostra A1 e A2.....	36
Figura 15 – Imagens de MEV das amostras A1 (a), A2 (b).....	38
Figura 16 – Mapeamento dos elementos (a) e Espectro obtido por energia dispersiva (b) da amostra A1.....	39
Figura 17 – Mapeamento dos elementos (a) e Espectro obtido por energia dispersiva (b) da amostra A2.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros de rede (<i>a</i> , <i>b</i> e <i>c</i>) e grupos espaciais das fases do cobalto metálico (fcc, hcp e ϵ), e do óxido de cobalto - CoO (fcc e hcp) e Co ₃ O ₄	17
Tabela 2 – Propriedades críticas de algumas substâncias puras utilizadas como como solventes na extração supercrítica.....	20
Tabela 3 – Composição de ácidos graxos do óleo bacaba.....	24
Tabela 4 – Esquematização dos métodos de síntese de nanopartículas.....	25
Tabela 5 – Amostras sintetizadas.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

acac – acetilacetato

DRX – Difração de raios X

EDS/EDX – Espectroscopia de Energia Dispersiva

fcc – cúbico de faces centradas

g – Massa

hcp – Hexagonal compacta

IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

LABEX – Laboratório de Extração

LAMOSIC – Laboratório de Modelagem, Simulação e Controle de Sistemas

m – Metros

MET – Microscópio Eletrônico de Transmissão

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MRI – Imagens de ressonância magnética

MO – Microscópio Ótico

nm – nanômetros

Pc – Pressão Crítica

rpm – rotação por minuto

Tc – Temperatura Crítica

u.a – unidades arbitrárias

UFPA – Universidade Federal do Pará

1.	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	Objetivos.....	14
1.1.1	Objetivo Geral.....	14
1.1.2	Objetivos Específicos.....	14
2.	FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	15
2.1	O elemento químico cobalto.....	15
2.1.1	Fases do cobalto metálico e óxido de cobalto.....	16
2.2	Extração do óleo de bacaba.....	20
2.2.1	A extração via método de fluido supercrítico.....	20
2.2.2	A bacaba (<i>Oenocarpus bacaba</i>).....	22
2.3	Síntese das amostras via Decomposição Térmica.....	25
2.3.1	O método Decomposição Térmica.....	25
2.4	Técnicas experimentais de caracterização.....	27
2.4.1	Difração de raios X (DRX).....	27
2.4.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	29
2.4.2.1	Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).....	30
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
3.1	O processo de extração do óleo de bacaba.....	32
3.2	O processo de síntese via decomposição térmica.....	32
3.3	Caracterização.....	34
3.3.1	Medidas de Difração de raios X.....	34
3.3.2	Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva.....	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	35
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
	REFERÊNCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é comumente relacionada à medicina, eletrônica, ciência da computação, à física, química, biologia, engenharia de materiais, entre outros. O prefixo “nano” vem da etimologia grega que significa “anão”, representando uma parte em um bilhão, ou seja, um nanômetro (1 nm ou 10^{-9} m) equivale a um bilionésimo de metro. Como analogia, o diâmetro de um fio de cabelo é da ordem de 0,1 mm que é cerca de 100.000 nanômetros [1].

Os materiais nanoestruturados possuem dimensões na ordem de nanômetros e atraem a atenção de cientistas devido as suas diversas aplicabilidades quando em escala reduzida, sejam como filmes finos, nanofios ou nanopartículas [2]. Com relação as nanopartículas, estas vem adquirindo destaque devido a possibilidade de funcionalizá-las para diversos setores, tais como o biomédico em gravação magnética de alta densidade, catalisadores e sistemas de vetorização de fármacos “drug delivery” [2-4].

Entre as nanopartículas que podem ser funcionalizadas para a biomedicina, estão as de cobalto, pois dispõe de propriedades elétricas, ópticas e magnéticas que são a base de diagnósticos e tratamentos de doenças cancerígenas e cardiovasculares, aumento do contraste em imagens de ressonância magnética (MRI), hipertermia magnética e sensores [8]. Estas propriedades são similares às nanopartículas de óxido de ferro (Fe_3O_4), os quais são intensamente investigados para utilização na área biomédica [5]. Por outro lado, tanto as nanopartículas de cobalto quanto as de ferro apresentam um alto nível de toxicidade, que pode ser prejudicial para aplicações *in vivo* [3].

Diversos estudos relatam que, pode-se utilizar uma camada para preservar as características físico-química das nanopartículas e torná-las biocompatíveis [5, 6]. Isto é denominado de sistema caroço&casca (*core&shell*), sendo o “caroço” o núcleo metálico ou óxido de partículas, e a “casca” o revestimento que servirá como camada protetora [6]. Os revestimentos variam conforme as aplicações pretendidas para as nanopartículas, sendo os mais utilizados: o ácido oleico, dextran, aminoácidos, polímeros e alguns metais de transição [3, 13, 44 – 48]. Por sua vez, os óleos vegetais podem ser uma alternativa de revestimento, pois possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antifúngicas, entre outras, que poderiam otimizar as funcionalidades de materiais nanoparticulados e torná-los biocompatíveis [18]. Nesta perspectiva, a região amazônica possui inúmeras matrizes vegetais que possibilitam a extração de óleos com estas propriedades, porém ainda são pouco investigadas no ramo de nanomateriais, como por exemplo, a espécie *Oenocarpus bacaba*

Mart., popularmente conhecida como bacabeira, sendo os seus frutos dispostos em cachos de bacaba.

Os métodos sintéticos via rota química mais usais para a produção de nanopartículas incluem a coprecipitação, a decomposição térmica, síntese em microemulsão e síntese solvotérmica [20]. Entre estes métodos, um dos mais eficientes é a decomposição térmica, o qual possibilita um maior controle da morfologia, tamanho e cristalinidade das partículas [28]. Assim, no presente estudo, sintetizou-se nanopartículas de óxido de cobalto por decomposição térmica utilizando o óleo de bacaba. Para caracterização das amostras, utilizou-se a técnica de Difração de raios X, que permite a investigação da fase cristalina obtida e a identificação dos planos atômicos; a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) para averiguarmos a morfologia e a composição elementar das amostras.

Esta monografia está organizada da seguinte maneira:

- O tópico 2 aborda os fundamentos teóricos necessários para efeito deste estudo, tais como o elemento químico cobalto e suas fases cristalográficas; o método de extração via fluido supercrítico, bem como a discussão de características e perfil lipídico do fruto da matriz vegetal *Oenocarpus bacaba* Mart; o processo de síntese de nanopartículas por decomposição térmica e um breve apanhado sobre as técnicas de caracterização como a difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura e a espectroscopia por energia dispersiva.

- O tópico 3 retrata os materiais e métodos utilizados.

- O tópico 4 apresenta os principais resultados e a discussão.

- O tópico 5 expressa as considerações finais e perspectivas deste estudo.

Finalmente, as referências.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral desta pesquisa consiste na síntese de nanopartículas de óxido de cobalto (CoO) utilizando óleo de bacaba com o propósito de fornecer nanopartículas de alta qualidade em termos de cristalinidade, morfologia e funcionalidades.

1.1.2 Objetivos específicos

- Extração do óleo de bacaba via método com fluido supercrítico
- Síntese de nanopartículas de óxido de cobalto (CoO) utilizando óleo de bacaba
- Caracterização através das técnicas de DRX, MEV e EDS
- Análise e discussão dos resultados

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 O elemento químico cobalto

O pesquisador sueco Georg Brandt, por volta de 1735 isolou sob forma impura o metal denominado de “cobalto”, do alemão *Kobalt*, que pode significar “espírito maligno”, “subterrâneo”, “secreto”, “do interior da terra”. O cobalto (Co) é um elemento atribuído ao grupo 8 da tabela periódica, sendo um metal de transição com características ferromagnéticas, ou seja, pode ser magnetizado e usado como imã [8].

A sua natureza físico-química inclui:

Número atômico: 27

Massa atômica: 58,93 u

Ponto de fusão: 1495° C

Ponto de ebulição: 3100° C

Densidade: 8,90 g/cm³

Estados de oxidação: Co⁺² e Co⁺³.

Configuração eletrônica: 1s², 2s², 2p⁶, 3s², 3p⁶, 4s², 3d⁷

Existem diversas aplicações do Co no cotidiano. Na indústria, o cobalto pode ser usado como agente secante de tintas a óleo e na confecção de pigmentos coloridos em tecidos. O elemento compõe a vitamina B₁₂, ocupando seu centro. Além disso, o isótopo artificial ⁶⁰Co é radioativo, cujo decaimento beta (β) possui meia vida de 5,2 anos e produz alta quantidade de energia em forma de raios gama (γ) em seu decaimento, por isto, o cobalto é utilizado em tratamentos de alguns tipos de tumores como na cobaltoterapia [8, 9].

Várias investigações são realizadas acerca de nanoestruturas constituídas por metais de transição, como o cobalto (Co), ferro (Fe), níquel (Ni), os quais ganham destaque devido as suas propriedades eletrônicas, ópticas e magnéticas adquiridas em nanoescala [3, 13, 56]. O cobalto, por sua vez, é interessante para efeito deste estudo, pois detém um comportamento magnético alto quando em escala nanométrica. Além disso, é dispensável o uso de muitos reagentes na síntese, como por exemplo o dibenziléter; octadeceno e 1,2 hexadecanediol, o que pode contribuir para uma produção em larga escala sem elevar muito as despesas [3, 10, 11]. Contudo, possui facilidade de oxidação em temperatura ambiente, o que dificultaria sua aplicação biomédica *in vivo* [8]. Uma solução para contornar isto, a qual foi citada acima, seria utilizar um revestimento que preserve suas características estruturais, estabilizando suas fases cristalinas e que o torne biocompatível.

2.1.1 Fases do cobalto metálico e óxido de cobalto

As nanopartículas de cobalto metálico dispõem de propriedades catalíticas, eletrônicas, estruturais e magnéticas que são correlacionadas as suas estruturas [3]. A estrutura metálica possui duas estruturas cristalinas distintas, sendo elas: a fase cúbica de faces centradas (fcc) e a fase hexagonal compacta (hcp), que são ilustradas na figura 1 a) e b). A estrutura hcp é termicamente favorável abaixo de 698 K, enquanto que acima desta temperatura, a estrutura fcc é identificada. Contudo, estas duas fases podem existir concomitantemente à temperatura ambiente [3, 50].

Alguns estudos reportam que o cobalto metálico pode possuir uma terceira forma cristalina denominada de épsilon (ϵ), relacionada a métodos sintéticos [12, 13]. Esta é uma fase metaestável de simetria cúbica, no qual forma facilmente as estruturas fcc-Co ou hcp-Co quando recozida [36]. Vale reiterar que o ϵ -Co é apontado como um nanomaterial magnético suave, assim como a fcc-Co, em que seu perfil magnético contribui para a produção de filmes ordenados aplicáveis em gravação magnética. A sua estrutura pode ser visualizada na figura 1 c), a qual contém 20 átomos de cobalto divididos em dois tipos: Tipo I e Tipo II, que diferem em sua coordenação local, sendo para o tipo I (cor amarela) há três átomos vizinhos mais próximos de um determinado átomo de cobalto, já para o tipo II (cor azul) há apenas dois vizinhos mais próximos [3].

Com relação as fases óxidos de cobalto, estes são versáteis em diversas áreas industriais e eletrônicas, como baterias recarregáveis, restrição sob a poluição atmosférica, sensores de gás, entre outros [31, 32]. Até o presente momento, cinco óxidos de cobalto foram reportados na literatura: o monóxido de cobalto (CoO), peróxido de cobalto II (CoO₂), óxido de cobalto III (Co₂O₃), heterogenite (CoO (OH)) e o tetraóxido de tricobalto ou cobalto espinélio (Co₃O₄) [26]. Entre estas fases, o CoO e Co₃O₄ estão entre os mais investigados [29, 30]. O CoO apresenta dois tipos de empilhamento atômico: o cúbico de faces centradas e o hexagonal compacta, como ilustrado na figura 2 a) e b). A estrutura cubica espinélio do óxido, Co₃O₄, pode ser visualizada na figura 2 c).

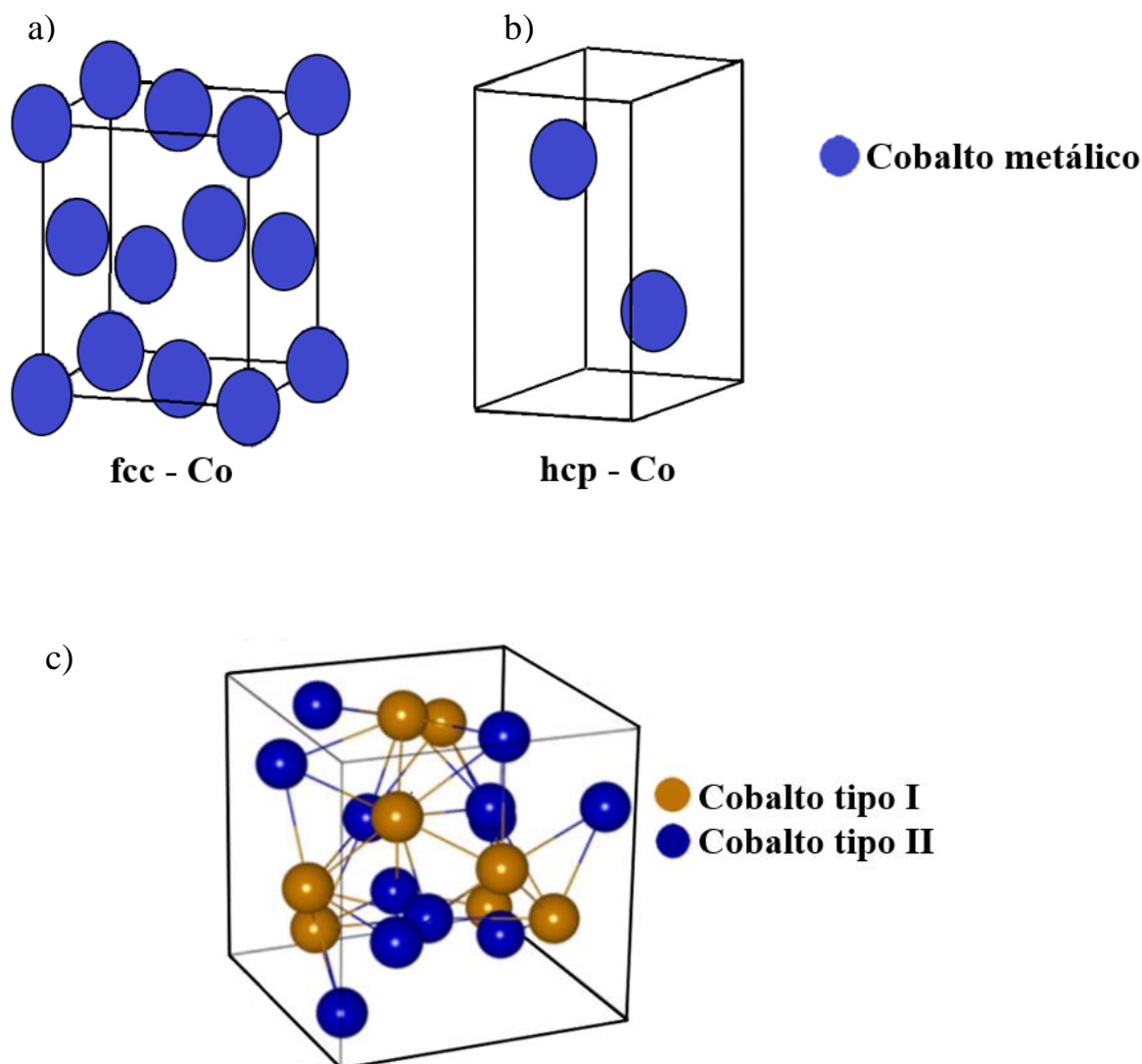
Dessa forma, a tabela 1 exemplifica os parâmetros de rede e grupos espaciais das fases do cobalto metálico (fcc, hcp e ϵ) e dos principais óxidos de cobalto (CoO e Co₃O₄). Estes arranjos cristalinos revelam propriedades físicas distintas que podem ser obtidas através do método de síntese utilizado e das alterações de fatores como a temperatura, taxa de aquecimento, solventes, surfactantes [14].

Tabela 1: Parâmetros de rede (a , b e c) e grupos espaciais das fases do cobalto metálico (fcc, hcp e ϵ) e do óxido de cobalto - CoO (fcc e hcp) e Co₃O₄.

Estrutura cristalina	Parâmetro de rede (Å)	Grupo espacial
fcc-Co	$a = b = c = 3.544$	Fm-3m
hcp-Co	$a = b = 2.507$ $c = 4.061$	P63/mmc
ϵ -Co	$a = b = c = 6.097$	P4 ₁ 32
fcc-CoO	$a = b = c = 4.261$	Fm-3m
hcp-CoO	$a = b = 3.250$ $c = 5.207$	P63-mc
fcc-Co ₃ O ₄	$a = b = c = 8.154$	Fd-3m

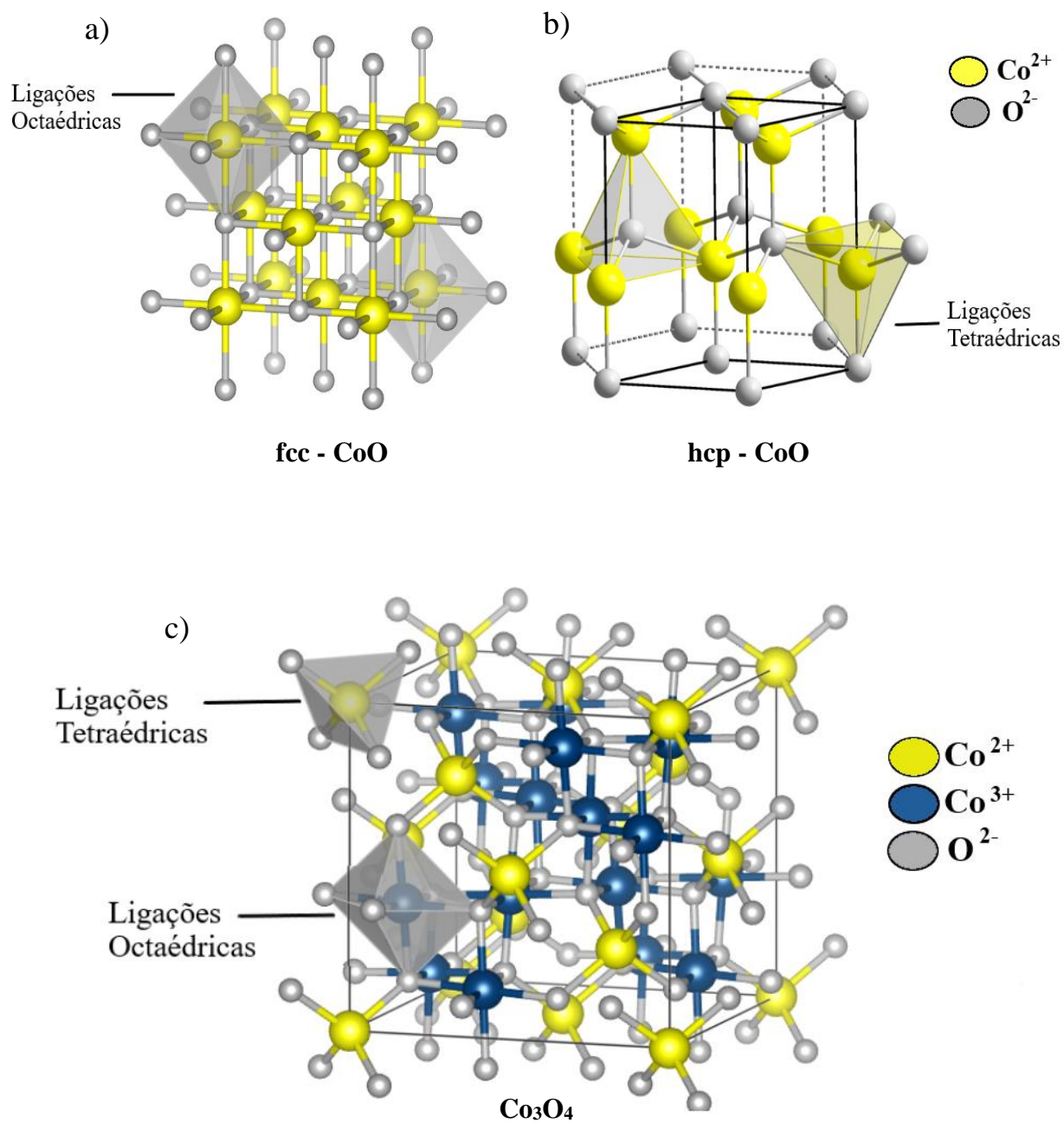
Fonte: Autoria própria.

Figura 1: Estruturas cristalinas do Cobalto. a) Co metálico na fase (fcc), b) na fase hexagonal compacta (hcp) e c) na fase épsilon (ϵ - Co).



Fonte: Autoria própria.

Figura 2: Estruturas cristalinas do óxido de cobalto. a) Célula unitária do CoO na fase cúbica (fcc), b) na fase hexagonal compacta (hcp) e c) na fase espinélio (Co_3O_4).



Fonte: Autoria própria.

2.2 Extração do óleo de bacaba

2.2.1 A extração via método de fluido supercrítico

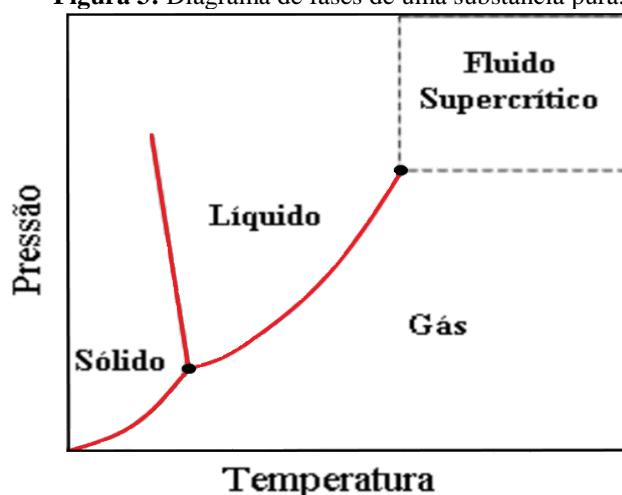
A técnica denominada de Extração por fluido supercrítico, do inglês *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) é um método de extração “verde”, isto é, não gera grandes impactos ambientais em contraste aos demais métodos que adicionam solventes orgânicos com alta toxicidade, que geram baixa qualidade de produto e resíduos ao meio [23], diferente do método SFE que preserva a composição da substância utilizada. Dessa forma, uma substância pura com valores acima de sua temperatura crítica (T_c) e pressão crítica (P_c), ilustrado no diagrama de fases na figura 2, pode ser classificado como estado supercrítico. O estado supercrítico está entre o líquido e gás. Logo, parâmetros como temperatura e pressão interferem em propriedades físico-químicas como densidade, viscosidade e difusividade [21, 22]. A tabela X apresenta algumas substâncias puras com suas respectivas temperatura e pressão críticas.

Tabela 2: Propriedades críticas de algumas substâncias puras utilizadas como solventes na extração supercrítica.

Substância	Temperatura crítica (°C)	Pressão crítica (bar)
Dióxido de carbono	31	72
Propano	96,7	42,4
Amônia	132,4	113,5
Tolueno	318	41

Fonte: Adaptado da referência [25].

Conforme observado na tabela 2, o dióxido de carbono (CO_2) acima da temperatura crítica (31 °C) e pressão crítica (74 bar) atinge seu estado supercrítico, elevando sua solubilidade, reduzindo sua viscosidade e tensão superficial [23]. O CO_2 supercrítico é muito utilizável como solvente na unidade de extração SFE devido sua T_c e P_c serem moderadas e apresentarem-se como uma substância inerte, não nociva e removida facilmente dos extratos. Nesta perspectiva, um fluido supercrítico pode ser adicionado em diversas matrizes vegetais, resultando em maior qualidade de extração ou seletividade de compostos bioativos desejados [24, 25].

Figura 3: Diagrama de fases de uma substância pura.

Fonte: Adaptado de <http://hdl.handle.net/10773/7650>

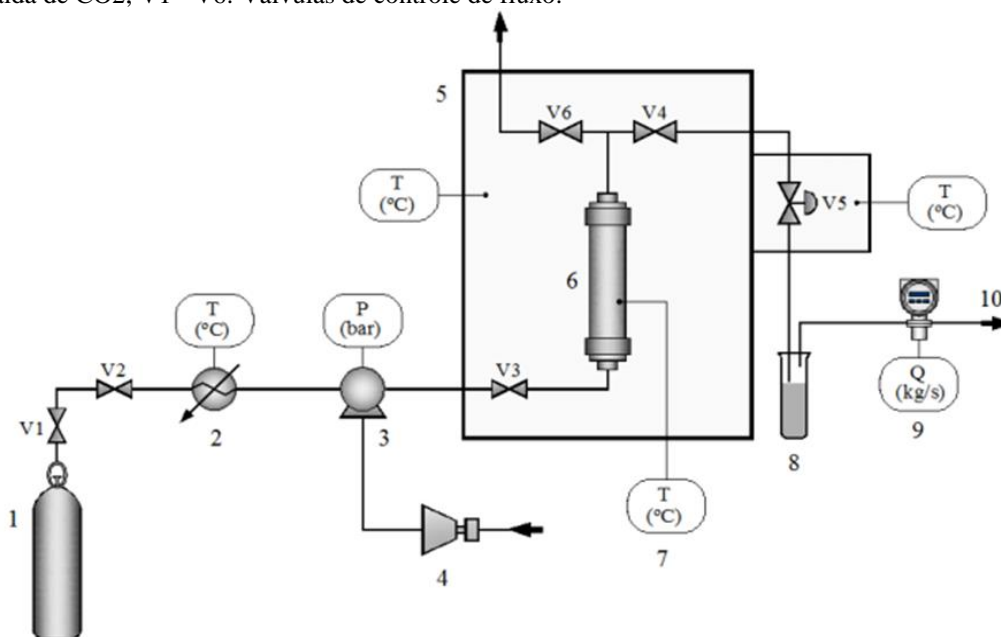
Logo, através deste método pode-se extrair óleos conservando suas propriedades, com um alto rendimento e nível de pureza, onde é possível utilizar os produtos obtidos em aromas e corantes de alimentos, fragrâncias de cosméticos e como fitofármacos [27]. Além disso, pode-se segregar ácidos graxos de maior concentração em óleos e utilizá-los nas sínteses de sistemas nanoparticulados, a saber, o ácido oleico, reportado na literatura para o revestimento de nanopartículas magnéticas visando aplicações em biomedicina, sensores e fármacos [4, 5, 44].

A figura 4 apresenta o aparato de extração por fluido supercrítico. O processo de extração inicia com a verificação se todas as válvulas estão fechadas. Após isso, o equipamento é ligado e a célula extratora contendo a amostra, que pode ser sementes, folhas, polpas, cascas, entre outros; é inserida cuidadosamente. O CO₂ é liberado com as válvulas V1, V2 e V3 abertas, enquanto V4 e V5 estão fechadas para o sistema se equilibrar com a pressão do reservatório cilíndrico (1) e se há vazamentos entre coluna e dutos do equipamento. Se vazamentos não forem detectados, realiza-se a programação das condições operacionais com o valor de temperatura e rotaciona-se manualmente a válvula V6 até a pressão desejada. Analisa-se no monitor (7) se estes valores foram alcançados. Assim, a extração inicia com um determinado tempo, o qual é dividido em dois momentos:

- 1) Estático, realizado por 30 minutos em que as válvulas V4 e V5 se encontram fechadas e as outras abertas. O intuito é a matriz sólida (extrato) interagir com o gás e se estabilizar;

2) Contínuo ou dinâmico, efetuado por 3 horas a partir do momento estático, sendo todas as válvulas abertas. Então, um frasco coletor (8) é adicionado à saída da válvula V5 para armazenamento do produto.

Figura 4: Aparato de extração por fluido supercrítico. 1: Cilindro de CO₂, 2: banho de resfriamento, 3: Bomba de CO₂, 4: Compressor, 5: Forno, 6: Célula extratora, 7: Monitor, 8: Frasco coletor; 9: Medidor de vazão, 10: Saída de CO₂, V1 - V6: Válvulas de controle de fluxo.



Fonte: Adaptado da referência [22].

Quando completado este tempo, executa-se a despressurização fechando as válvulas V1 e V2 para impedir a passagem de CO₂ e gira-se lentamente no sentido anti-horário o controlador de pressão até zerar no monitor, enquanto a válvula micrométrica (V5) é monitorada devido a vazão. Feito isto, o frasco coletor é removido e mantido sob refrigeração. Por fim, efetua-se a limpeza do aparelho de extração com utensílios apropriados, como por exemplo, álcool etílico, detergente neutro e escova para retirar impurezas na coluna de extração. O solvente pode ser reutilizado ou despejado ao meio. Para mais detalhes sobre o procedimento de extração, consultar a referência [27].

2.2.2 A bacaba (*Oenocarpus bacaba*)

A matriz vegetal *Oenocarpus bacaba* Mart., popularmente conhecida como bacabeira, é uma palmeira nativa do bioma amazônico encontrada em áreas de terra firme, ou seja, em solos não inundados, a qual possui frutos comestíveis dispostos em cachos, com mesocarpo

(polpa) altamente oleaginosa [7, 15]. O processamento de sua polpa origina um produto denominado de “vinho”, cujo consumo é abundante na região norte do país. Além do alto valor nutricional, a bacaba possui propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antifúngicas, farmacêuticas e cosméticas, que são benéficas para a saúde humana [16, 17]. A figura 5 mostra a bacabeira e o seu fruto, a bacaba.

Há diversos métodos para obter o óleo de bacaba com boa qualidade e pureza, como por exemplo, a extração artesanal, por prensagem a frio (*cold pressing*), prensagem mecânica, extração por Soxhlet e extração com fluido supercrítico [18, 27, 51], sendo este último um método excelente, pois como já mencionado, garante um alto grau de pureza e rendimento, além de preservar nutrientes devido não adicionar solventes orgânicos que poderiam adulterar a composição química do extrato.

O óleo pode ser extraído da polpa da bacaba, o qual contém ácidos graxos em diferentes proporções que dispõe características físico-química intrínsecas. É relatado que os ácidos graxos insaturados estão em maior concentração no óleo de bacaba, independentemente do método de extração [19]. De tal forma, a referência [27] analisa o perfil lipídico deste óleo variando os parâmetros de extração (temperatura, pressão e densidade) pelo método com fluido supercrítico. Assim, quantificou os ácidos graxos sob diversas condições operacionais, sendo a condição com a temperatura de 40 °C, pressão de 290 bar e densidade de 900 kg/m³ apresentou maior concentração de ácido oleico (61,16 %), seguido por ácido palmítico (22,12 %), como disposto na tabela 2 contendo as maiores concentrações de ácidos graxos.

Enfatiza-se que o ácido oleico é um ácido graxo monoinsaturado (ligações simples e uma dupla) e o ácido palmítico é saturado (apenas ligações simples), o que em temperatura e pressão ambiente, os ácidos graxos insaturados geralmente se encontram no estado líquido como óleos; e os saturados em forma de gordura sólida [25].

A proporção de ácidos saturados, insaturados ou poli-insaturados define o perfil dos óleos vegetais, bem como sua potencialidade e funcionalização, pois os ácidos graxos são uma das principais fontes de energia; e tem participação direta na formação celular de neurônios, produção de hormônios, moléculas e membranas lipídicas. Além disso, os tipos de cadeia e o número de ligações (simples ou duplas) constituem as características dos ácidos graxos como, por exemplo, o seu ponto de fusão [7].

Figura 5: A bacabeira (à esquerda) e a bacaba (à direita).



Fonte: Retirado da referência [42].

Tabela 3: Composição de ácidos graxos do óleo de bacaba.

Ácidos graxos	Concentração de ácidos graxos (g ácido graxo/100g óleo ou %)		
	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Densidade (kg/m ³)
	40	290	900
C12=0 (Ácido Láurico)		0,15	
C14=0 (Ácido Mirístico)		0,40	
C16=0 (Ácido Palmítico)		22,12	
C18=0 (Ácido Estearico)		3,9	
C18=1 (Ácido Oleico)		61,16	
C18=2 (Ácido Linoleico)		11,48	
Σ AGS (Ácidos Graxos Saturados)		26,82	
Σ AGI (Ácidos Graxos Insaturados)		73,18	
Σ AGMI (Ácidos Graxos Monoinsaturados)		61,59	
Σ AGPI (Ácidos Graxos Poli-insaturados)		11,58	

Fonte: Adaptado da referência [27].

2.3 Síntese das amostras via decomposição Térmica

2.3.1 O método Decomposição Térmica

Os métodos de síntese mais utilizados para a obtenção de nanopartículas via processo químico geralmente é a coprecipitação, a decomposição térmica, síntese em microemulsão e síntese solvotérmica. As vantagens e desvantagens destes métodos sintéticos estão esquematizadas na tabela 4.

Tabela 4: Esquematização dos métodos de síntese de nanopartículas.

Métodos de síntese	Síntese	Temperatura de reação(°C)	Tempo de reação	Solvente	Distribuição de tamanho	Controle de forma
Coprecipitação	Muito simples, condições ambientes	20-90	Minutos	Água	Relativamente Estreita	Baixo
Decomposição Térmica	Complicado, Atmosfera Inerte	100-320	Horas, dias	Compostos Orgânicos	Muito estreita	Excelente
Microemulsão	Complicado, condições ambientes	20-50	Horas	Compostos Orgânicos	Relativamente Estreita	Baixo
Síntese Solvotérmica	Simples, altas pressões	100-220	Horas, dias	Água ou compostos orgânicos	Muito estreita	Muito Boa

Fonte: Adaptada da referência [20].

Entre estes, destaca-se a decomposição térmica que proporciona um excelente controle do tamanho das partículas, da distribuição de tamanho e dos defeitos cristalinos, bem como a propensão de formar nanopartículas magnéticas metálicas, cuja magnetização pode ser superior comparada a de óxidos [12]. A técnica foi baseada na síntese de nanocristais de semicondutores com ótima qualidade [28].

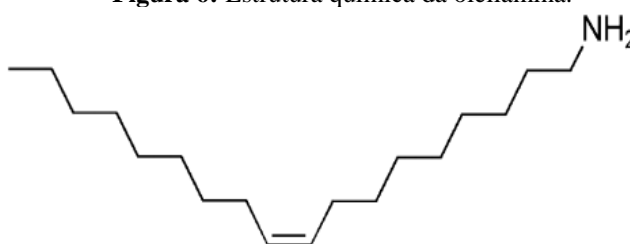
Os meios reacionais deste método geralmente incluem um precursor, podendo ser sais (acetato, nitrato, acetilacetato), adicionado à solventes orgânicos de alto ponto de ebulição e surfactantes. Os solventes e surfactantes mais usais são a oleilamina ($C_{18}H_{35}NH_2$) e o ácido oleico ($C_{18}H_{34}O_2$), sendo que ambos possuem um elevado ponto de ebulição ($> 300\text{ }^\circ\text{C}$), propriedades redutoras e são bons estabilizantes. A literatura relata que a junção de ácido

oleico e oleilamina otimiza a produção de partículas com tamanhos e morfologia pretendidas [52].

A oleilamina é uma alquilamina primária como visualizada na figura 6. Encontra-se no estado líquido à temperatura ambiente, o que pode ser vantajoso para procedimentos de lavagem pós-síntese [53]. Contudo, deve-se estar atento ao seu manuseio, pois há risco de corrosão a pele, segundo informa os seus dados de segurança. Acima da temperatura de 200 °C, exerce o papel de agente redutor, onde seu grupo amina (NH^{\cdot}) interage com os átomos de sais (precursor), doando elétrons. Além disso, pode atuar tanto como solvente quanto surfactante. Economicamente, a oleilamina comercial é mais acessível que as alquilaminas puras, embora sua pureza ainda seja menor ou igual a 70% [52].

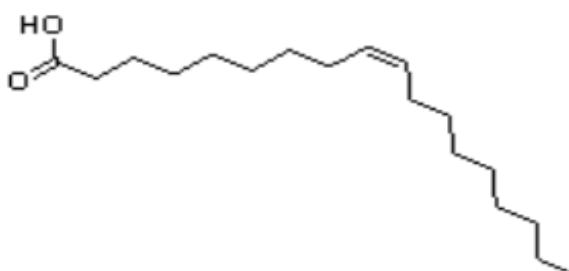
O ácido oleico, trata-se de um ácido graxo carboxílico, como exemplificado na figura 7. É conhecido como um surfactante que interage fortemente com nanopartículas metálicas devido ao seu grupo carboxílico ($-\text{COOH}$) ligar-se à superfície destas, criando uma camada orgânica que estabiliza nanocristais, provendo a conservação e dispersão no solvente [43]. Assim, neste estudo substituiu-se o ácido oleico pelo óleo de bacaba, pois este possui ácidos graxos que também podem tornar as nanopartículas de cobalto menos tóxicas e conservar suas propriedades físico-químicas, semelhantemente ao revestimento com carbono [49]. Além disso, conforme a tabela 3, o óleo de bacaba contém mais ácido oleico em sua composição (62%), o qual pode coordenar os átomos de cobalto através de seu grupo carboxílico, tornando-o estável quimicamente [43, 45].

Figura 6: Estrutura química da oleilamina.



Fonte: Retirado da referência [60].

Figura 7: Estrutura química do ácido oleico.



Fonte: Retirado da referência [61].

2.4 Técnicas experimentais de caracterização

2.4.1 Difração de raios X (DRX)

O físico alemão Max Von Laue (1879-1960) propôs em 1912 que, se os raios X fossem ondas eletromagnéticas e os átomos atuassem como centro espalhadores separados pela distância interatômica, então o fenômeno da difração em cristais poderia ser verificável. Assim, preparou um experimento para comprovar sua hipótese. Os resultados atraíram a atenção de dois físicos ingleses, William Henry Bragg (1862-1942) e seu filho William Lawrence Bragg (1890-1971), no qual postularam as condições necessárias para a ocorrência da difração de forma mais simplificada que Von Laue.

Sabendo que os cristais se comportam como uma rede de difração, os dois planos atômicos paralelos são separados por uma distância d , onde a diferença de caminho deve ser igual a um múltiplo inteiro (n) do comprimento de onda (λ) para uma interferência construtiva. Considerando a geometria, os raios refletidos seguem o caminho $2dsen\theta$, onde θ é medido a partir do plano [33], de modo que,

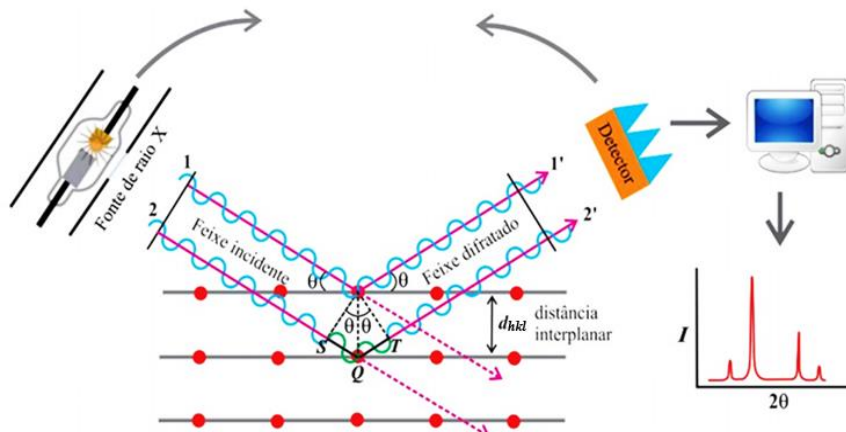
$$n\lambda = 2d_{hkl}\sin\theta, \quad (1)$$

Onde λ é o comprimento de onda da radiação incidente (nm), n é um número inteiro (1, 2, 3, ...), θ é o ângulo entre o feixe incidente e o plano espalhador e d_{hkl} é a distância interplanar da rede cristalina, sendo hkl o índice de Müller.

Na medida por DRX, o detector é orientado de maneira que o ângulo de incidência seja igual ao ângulo de detecção, no qual monitora-se a intensidade (I) do feixe de raios X difratados conforme a sua varredura em diferentes ângulos, como ilustrada na figura 8. Quando a equação (1) é satisfeita, adquire-se picos de interferência construtiva e conseqüentemente, o gráfico de raios X [34].

Normalmente, cada pico de difração fornece informações da intensidade, posição angular (2θ) ou distância interplanar (d) e suas características. Cada material cristalino apresenta seu próprio padrão de difração, o que possibilita sua identificação e informações estruturais como a fase cristalográfica na rede de Bravais, faces do cristal, índice de Müller e determinação de dimensão dos grãos [33, 37].

Figura 8: Diagrama ilustrativo da grade de difração de raios X.



Fonte: Adaptado da referência [34].

Os picos de difração apresentam alargamentos proporcionais ao diâmetro médio do domínio cristalino, verificável a partir da largura a meia altura (do inglês, *Full-Width at Half Maximum* - *FWHM*) do pico de reflexão mais intenso. Se os cristais analisados forem menores que cerca de $0,1\mu\text{m}$, denomina-se cristalitos [35, 37].

Assim, para determinar o diâmetro médio dos cristalitos, utiliza-se a Relação de Scherer,

$$D = \frac{K\lambda}{\beta_D \cos \theta}, \quad (2)$$

onde D corresponde ao diâmetro médio das nanopartícula dado em nm; β_D é a largura à meia altura da intensidade máxima (FWHM) dada em radianos (rad); θ o ângulo do pico mais intenso dado em rad também, e K a constante de proporcionalidade. Esta constante de proporcionalidade K está relacionada a geometria do material analisado [37]. Nas situações que se desconhece a geometria dos cristalitos, considera-se uma geometria esférica com $K=0,94$. Então, a equação (2) torna-se,

$$D = \frac{0,94\lambda}{\beta_D \cos \theta} \quad (3)$$

Reitera-se que, para partículas nanoscópicas, os picos de difração são distintos dos padrões encontrados para cristais macroscópicos, pois o número reduzido de planos refletoras em cada partícula pode acarretar um alargamento nos picos característicos, bem como, falhas no empilhamento, tamanhos heterogêneos e imperfeições na rede também podem influenciar a sobreposição de picos [37]. Portanto, a equação (3) fornece um diâmetro aproximado das partículas.

Uma das vantagens desta técnica de caracterização está na capacidade de determinar as fases e/ou faces cristalográficas com alta precisão e confiabilidade. Além disso, é viável para analisar materiais tanto monocristalinos quanto policristalinos em forma de filme e pó. Todavia, como mencionado, pode haver sobreposição de picos nos difratogramas, o que dificulta a análise de fases cristalinas, parâmetros de rede, entre outros. Logo, para definir com mais exatidão a estrutura cristalina de nanopartículas, pode-se comparar o seu difratograma com os dados referentes aos materiais já padronizados na literatura e manusear *softwares* para análise de difratogramas [34].

2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os princípios da microscopia eletrônica de varredura (MEV do inglês, *Scanning Electron Microscope*, SEM) foram empregados inicialmente nos trabalhos de Max Knoll, em 1935. Porém, foi apenas em 1942 que Zworykin e seus colaboradores observaram amostras espessas em imagens [40]. O Microscópio Eletrônico de Varredura é bastante aplicado em setores eletrônicos, científicos e industriais, ao passo que, os avanços tecnológicos possibilitaram o surgimento de novos materiais que demandam buscas por informações específicas acerca de seus aspectos morfológicos tridimensionais que podem ser verificáveis através do MEV.

Na microscopia eletrônica de varredura, conforme o canhão de elétrons produz um feixe eletrônico (elétrons primários) com energia necessária para ser coletado por detectores, surgem sinais provenientes das interações entre os elétrons e a superfície da amostra. Estes sinais captados podem ser de elétrons secundários, elétrons retroespalhados, catodoluminescência, fótons de raios X, entre outros. Os elétrons secundários (ES) são originados da interação inelástica dos elétrons primários com a superfície da amostra, onde elétrons da banda de condução são arrancados devido à fraca ligação [40], os quais fornecem imagens tridimensionais com alta resolução, sendo os mais usais em medidas.

Os elétrons retroespalhados (ERE) são de natureza elástica, onde a porção de elétrons retroespalhados de alta energia emerge da superfície da amostra e é capturado por um detector que também produzirá imagens, semelhante aos elétrons secundários, porém esta será conforme a composição elementar dependente do material da amostra, pois quanto maior o número atômico (Z) menor o volume de interação, resultando em melhor resolução nas imagens [38].

Um equipamento de microscópio eletrônico de varredura é observado na figura 9.

Figura 9: O equipamento de MEV.



Fonte: <http://www.labnano-amazon.ufpa.br/index.php/equipamentos/8-microscopia-eletronica>

O alcance máximo do MEV está entre o Microscópio Óptico (MO) e o Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET). Entre as vantagens do MEV no que diz respeito ao Microscópio Óptico, possui resolução de até 3,5 nm, em contrapartida, o MO possui 0,2 μm [38]. Com relação ao MET, o MEV se destaca na simplicidade de manipulação das amostras. Desta forma, a maioria dos equipamentos MEV dispõem de detectores de raios X e de detector de Energia Dispersiva (EDX ou EDS) [39], os quais conferem mais precisão em dados e praticidade nas medidas.

A técnica é versátil e simples, porém apresenta um cunho experimental sofisticado para análise micro estrutural de diversos materiais, disponibilizando imagens com alta qualidade e compreensão. O MEV pode ser aprimorado a partir de ajustes na câmara da amostra de detectores de raios X, a qual possibilita também a análise química na amostra estudada através da detecção de raios X específicos emitidos pela amostra, onde adquire-se dados qualitativos e quantitativos da estrutura composicional da amostra na superfície micrométrica do feixe de elétrons incidente. Este método caracteriza precipitados e alterações no arranjo químico de um sólido [38].

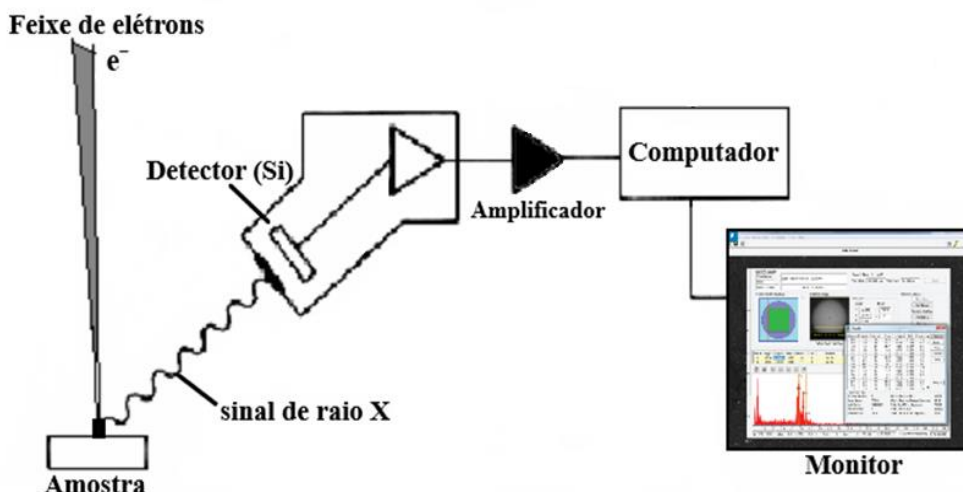
2.4.2.1 Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

A técnica de espectroscopia de energia dispersiva (do inglês, Energy Dispersive Spectroscopy - EDS), se trata de um equipamento acoplado ao MEV, que possibilita análises qualitativas e semi-quantitativas da composição elementar de um material através da emissão de raios X da região microscópica correlacionada à morfologia apresentada no MEV. Esta região se trata daquela que for percorrida pelo feixe de elétrons em que se utilizar o modo

de varredura (formação de uma imagem), a verificação será estendida em toda a superfície da imagem. Similarmente, pode-se interromper a varredura e observar um ponto (*spot*), área ou linha desejada na imagem [41].

A energia cedida ao material pelo feixe de elétrons pode ser emitida na forma luminosa (fótons de raios X), seja devido as transferências entre a banda de condução para a banda de valência ou pela desexcitação de átomos ou moléculas; que indicará espectros de raios X característicos do elemento presente na amostra, podendo ainda determinar vários elementos simultaneamente, desde que haja mais de 0, 2% de concentração em massa [38]. Assim, o EDS mapeia a estrutura química detalhadamente com rapidez e sem danificar a amostra [39]. A figura 10 exibe um equipamento EDS.

Figura 10: Detector de raios X utilizado para EDS.



Fonte: Adaptado da referência [39].

O detector deste equipamento, que usualmente é de silício (Si), verifica a energia dos fótons recebida, o qual produz um histograma onde no eixo da abcissa é a energia dos fótons, dada em keV; e o eixo da ordenada é o número de fótons recebidos (contagem ou intensidade), de unidades arbitrárias (u.a). A interpretação dos espectros é simplificada por meio de informações acerca da intensidade e energia de cada elemento da tabela periódica [39, 41]. Logo, com o espectro obtido, é possível detectar os elementos que dispõem daquele perfil energético e quantificar as fases.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 O processo de extração do óleo de bacaba

Os frutos da bacaba foram coletados no campus da UFPA de Abaetetuba e encaminhados para o Laboratório de Extração (LABEX/UFPA) no campus de Belém, onde ocorreu a extração do óleo pelo método fluido supercrítico (SFE). Utilizou-se a unidade de extração exibida na figura 11 com dióxido de carbono (CO_2) em condições supercríticas, com estado operacional de $40\text{ }^\circ\text{C}$ de temperatura e pressão de 290 bar. A unidade *Spe-ed*TM SFE (Allentown, PA, EUA modelo 7071 da *Applied Separations*), com compressor (Schulz modelo CSA 7,8) acoplado, possui um volume interno de 19,7 L da (Schulz S/A, Joinville, SC, Brasil), cilindro envolvendo o CO_2 com 99.9% de pureza da (White Martins), recirculador (Polyscience F08400796 Nilles, Illinois, EUA) e medidor de vazão na saída do sistema (Alicat Scientific M 5SLPM Tucson, AZ, EUA).

Figura 11: Unidade de extração supercrítica (*Applied Separations*).



Fonte: Retirada da referência [27].

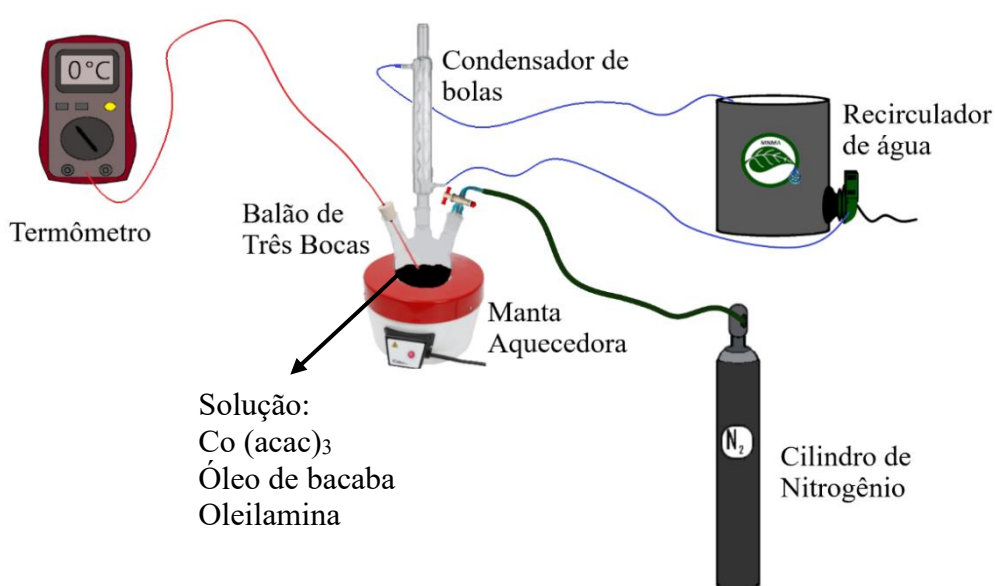
3.2 O processo de síntese via decomposição térmica

As amostras foram sintetizadas no laboratório LAMOSIC, localizado no Campus de Abaetetuba. O aparato utilizado nas sínteses está esquematizado na figura 12, nos quais consistiram em variações do método de decomposição térmica, integrando a dissolução do precursor metálico $\text{Co}(\text{acac})_3$, oleilamina e o óleo vegetal (bacaba) em um balão de três bocas de 100 mL. As soluções permaneceram em aquecimento a $210\text{ }^\circ\text{C}$ utilizando uma manta aquecedora e um condensador de bolas, onde o sistema permaneceu em refluxo sob atmosfera de Nitrogênio (N_2) durante 5 horas para maturação das partículas, isto é, para o

crescimento das partículas. A quantidade percentual de óleo nas amostras foi variável, conforme exemplificado na tabela 4.

Em seguida, após o arrefecimento à temperatura ambiente, as amostras foram dispersadas em solução com Metil Etil Cetona (C_4H_8O) e centrifugadas a 10 mil rotações por minuto (rpm) por um tempo de 10 minutos para sedimentar as partículas. Este procedimento foi realizado 5 vezes. Enfim, obteve-se partículas em pó após secagem à vácuo por 30 minutos e reservadas no dissecador.

Figura 12: Aparato experimental utilizado na síntese por Decomposição Térmica.



Fonte: Retirado da referência [59].

Tabela 5: Amostras sintetizadas.

Amostra	Tempo de síntese (h)	Quantidade de óleo (%)
A1	5	5
A2	5	10

Fonte: Autoria própria.

3.3 Caracterização

As caracterizações para as amostras A1 e A2 pelas técnicas DRX, MEV e EDS foram realizadas no Laboratório multiusuário de Nanomanipulação, LABNANO – Amazon, do programa de Pós-Graduação de Física (PPGF) da Universidade Federal do Pará (UFPA), campus de Belém.

3.3.1 Medidas de Difração de raios X

As medidas de DRX foram realizadas em um difratômetro, modelo D8 Advanced da marca Bruker Phillips, com geometria Bragg-Brentano e detector LynxEye de tubo de cobre com comprimento de onda de 1,5418 Å. O equipamento utilizou voltagem no gerador do tubo de raios X de 40 kV e a corrente elétrica de 40 mA. Todas as medidas foram com as amostras em forma de pó. Realizou-se duas caracterizações: na primeira adotou-se o intervalo angular de varredura 2θ de 10° a 100° , com um passo angular de $0,02^\circ$. Para a segunda caracterização, as amostras foram previamente moídas e dispersadas em álcool isopropílico. Em seguida, o gráfico da amostra A1 foi adquirido utilizando-se o intervalo angular de varredura 2θ de 20° a 90° com $0,02^\circ$ de passo angular, realizada no laboratório LABNANO Amazon da PPGF/UFPA. Para a amostra A2, o intervalo 2θ foi de 20° a 70° com o passo de $0,05^\circ$; sendo esta realizada em colaboração com o Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN – SP).

3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva

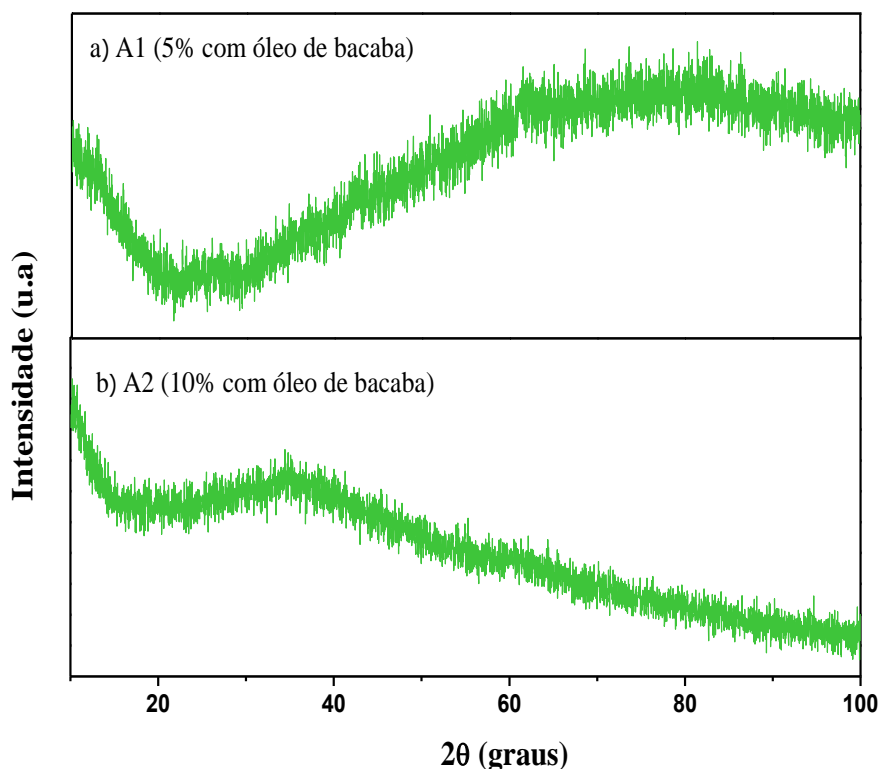
Os resultados por MEV e EDS foram obtidos através de um microscópio eletrônico de varredura modelo VEGA 3, marca TESCAN com sistema de microanálise química por EDS acoplado ao mesmo. A corrente do feixe de elétrons é de 85-90 μA , com voltagem de aceleração de 20 kV e distância de trabalho de aproximadamente 6~7 mm. Uma quantidade adequada de pó foi depositada sobre uma porta amostra com auxílio de fita adesiva de carbono, em seguida, realizou-se o processo de formação das imagens. Através da espectroscopia de energia dispersiva (EDS), de marca OXFORD INSTRUMENTS, modelo X-MAX-80, com área ativa de detecção de 80 mm^2 , identificou-se o mapa composicional/químico das amostras A1 e A2.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A figura 13 apresenta os gráficos da intensidade de raios X difratadas em função de 2θ das amostras A1 e A2 com 5 e 10% de óleo de bacaba, respectivamente. Os espectros observados são relacionados à fase amorfa, indicando um excedente de camada orgânica nas amostras. Sabe-se que o óleo de bacaba é composto de ácidos graxos em diferentes proporções, os quais são de natureza orgânica e conferem diversas propriedades, entre elas, a viscosidade [7]. Conseqüentemente, o processo de dispersão se torna uma tarefa mais árdua, sendo necessário muitas lavagens com uso de reagentes apropriados para esse procedimento que, em muitos casos, são altamente tóxicos, e ocorre a perda gradativa de quantidade de massa (g) em cada lavagem.

O reagente utilizado para dispersar e remover a quantidade excessiva de óleo das amostras foi o Metil Etil Cetona, que segundo seu *datasheet*¹, trata-se de um solvente ativo de alta evaporação, com pouca densidade e alta solvência. É considerado um bom agente dispersante. Contudo, mostrou-se ineficiente para desagregar o excesso de material amorfo proveniente do óleo.

Figura 13: Gráficos da intensidade de raios X difratados em função do ângulo de espalhamento 2θ das amostras sintetizadas. (a) amostra A1 e (b) amostra A2.

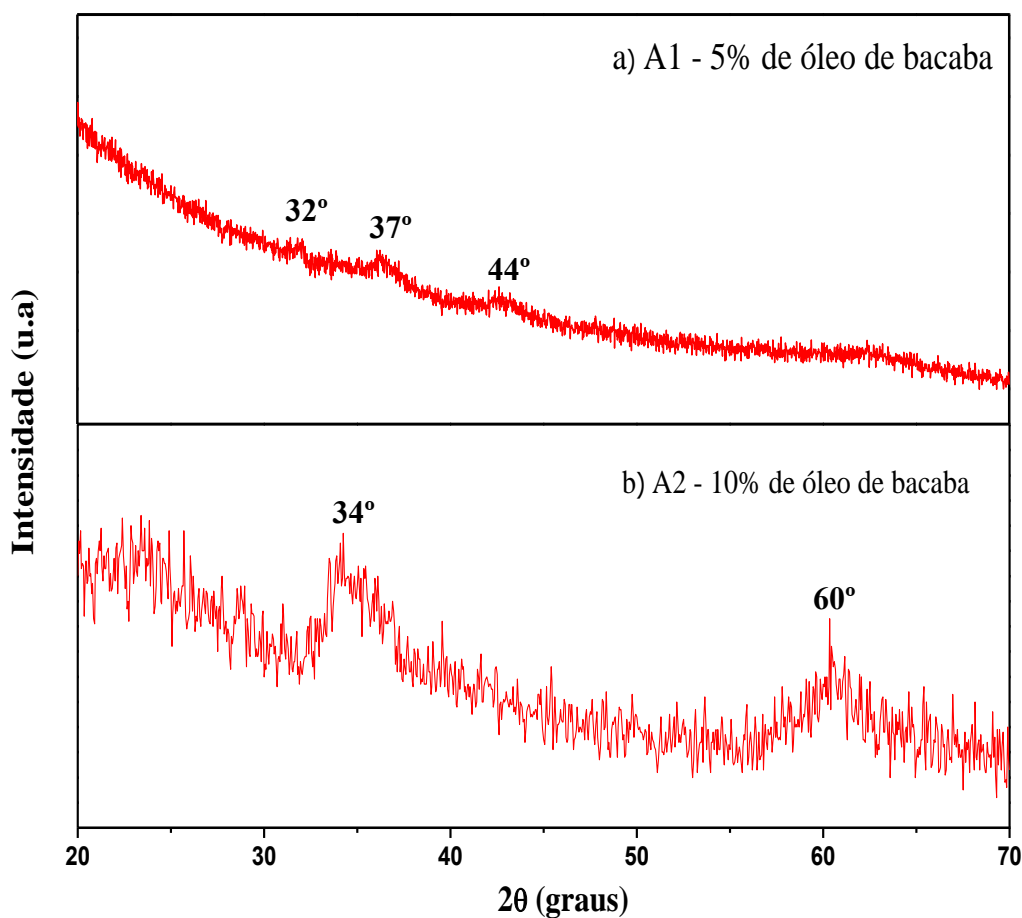


Fonte: Autoria própria.

¹ Disponível em: http://www.quimidrol.com.br/media/blfa_files/Metil_Etil_Cetona_3.pdf

Com base no resultado obtido da figura 13, as amostras A1 e A2 novamente foram caracterizadas pela técnica DRX. Os gráficos adquiridos podem ser visualizados na figura 14. Cabe reiterar que, em ambas as medidas, as amostras foram previamente moídas e diluídas em álcool isopropílico (C_3H_8O) para otimizar a dispersão. Após, depositadas no porta amostra do aparelho de difração.

Figura 14: Gráficos da segunda medida intensidade de raios X difratados em função do ângulo de espalhamento 2θ da amostra A1 e A2.



Fonte: Autoria própria.

A figura 14 a) apresenta o gráfico obtido da amostra com 5% de óleo de bacaba. A contribuição do material amorfo ainda é demasiada, mesmo após a dispersão. Porém, apesar da baixa estatística, observa-se picos nas posições 2θ de 32°, 37° e 60°, que podem estar relacionados à fase óxido espinelio (Co_3O_4).

A figura 14 b) expõe o gráfico da amostra com 10% de óleo de bacaba. Observa-se que mesmo com baixa estatística de pontos, é notável picos mais intensos nas posições $2\theta \approx 34^\circ$ e 60° . Logo, a amostra A2 também pode ser referente à fase cristalográfica do óxido de cobalto, semelhantemente a amostra A1.

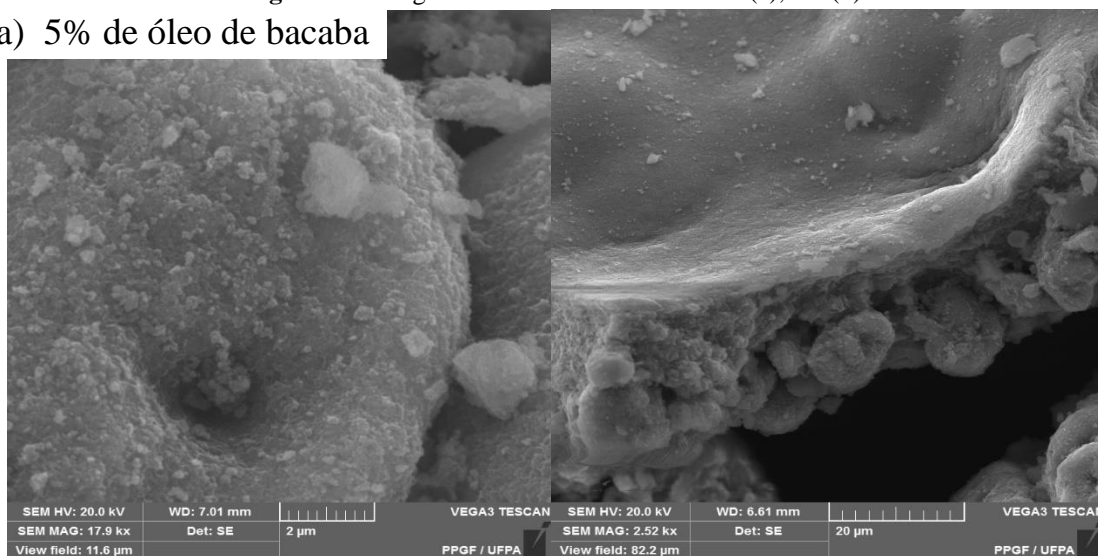
Salienta-se que os picos da amostra A2 (figura 14 b)) apresentam um alargamento significativo no intervalo entre 32° a 37° , e entre 57° a 64° . Isto sugere a existência de sobreposição de picos de uma ou mais fases do óxido de cobalto nesta amostra. Nesta perspectiva, vários autores relatam a fase fcc-CoO com picos $2\theta = 33^\circ$ e 60° ; a fase hcp-CoO picos em $2\theta = 34^\circ$, 36° e 37° ; e a fase hcp - (CoO (OH)) com picos $2\theta = 32^\circ$, 35° e 38° [3, 54 – 56].

É provável que estas amostras se tratem da estrutura óxido, pois a literatura descreve que nanopartículas de cobalto iniciam sua oxidação acerca de 150°C [55, 57, 58] e a temperatura de maturação adotada foi de 210°C , ou seja, a oxidação pode estar ocorrendo durante a síntese; bem como, as hidroxilas das cadeias carbônicas dos ácidos graxos contidos no óleo de bacaba possuem oxigênio que também podem contribuir na formação de óxido de cobalto. Além disso, sabe-se que o controle de temperatura deve ser rigoroso na síntese por decomposição térmica, visto que este é um dos parâmetros importantes para obter o tamanho e cristalinidade desejadas, e utilizar 5 horas como tempo de maturação das partículas pode representar maior dificuldade no controle de temperatura.

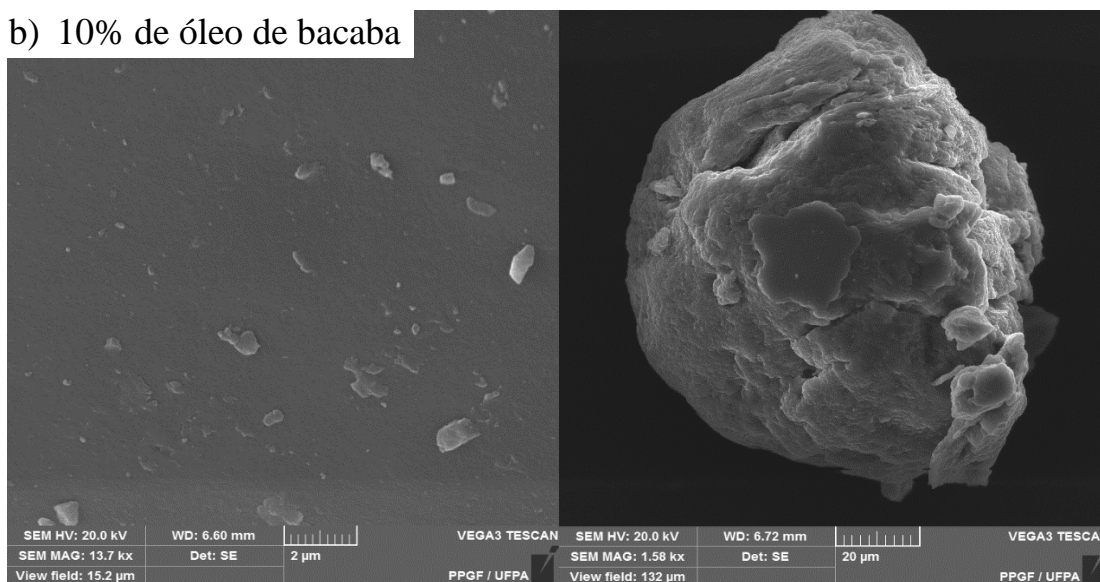
As características morfológicas foram obtidas por MEV com ampliações nas imagens de 13.7 até 17.9 k vezes para as amostras sintetizadas, A1 e A2, respectivamente. As imagens são exibidas na figura 15. Estes resultados corroboram com o DRX, pois observa-se excesso de camadas referentes ao material orgânico devido o procedimento de lavagens ter sido insuficiente para removê-lo. É verificado ainda agregados de partículas de pequenos diâmetros nas imagens figura 15 (a) e (b), inferindo que podem estar na faixa de nanômetros. Evidentemente, para uma análise com maior precisão do diâmetro e distribuição das partículas, deve-se realizar análises por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Portanto, tanto a amostra A1 quanto A2 revelam pequenas partículas de simetrias irregulares, com grãos de tamanhos distintos e distribuídas na matriz amorfa.

Figura 15: Imagens de MEV das amostras A1 (a), A2 (b).

a) 5% de óleo de bacaba



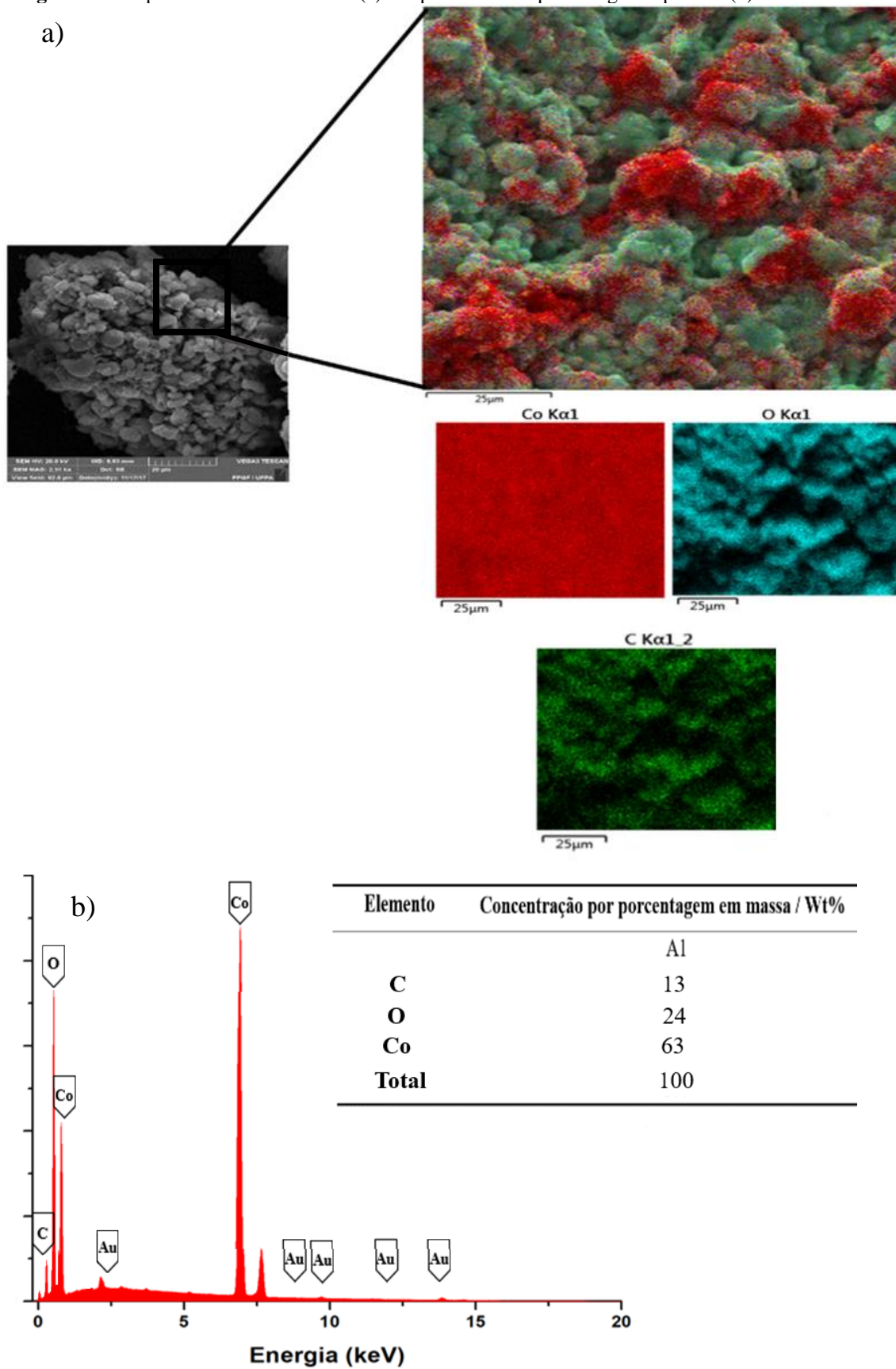
b) 10% de óleo de bacaba



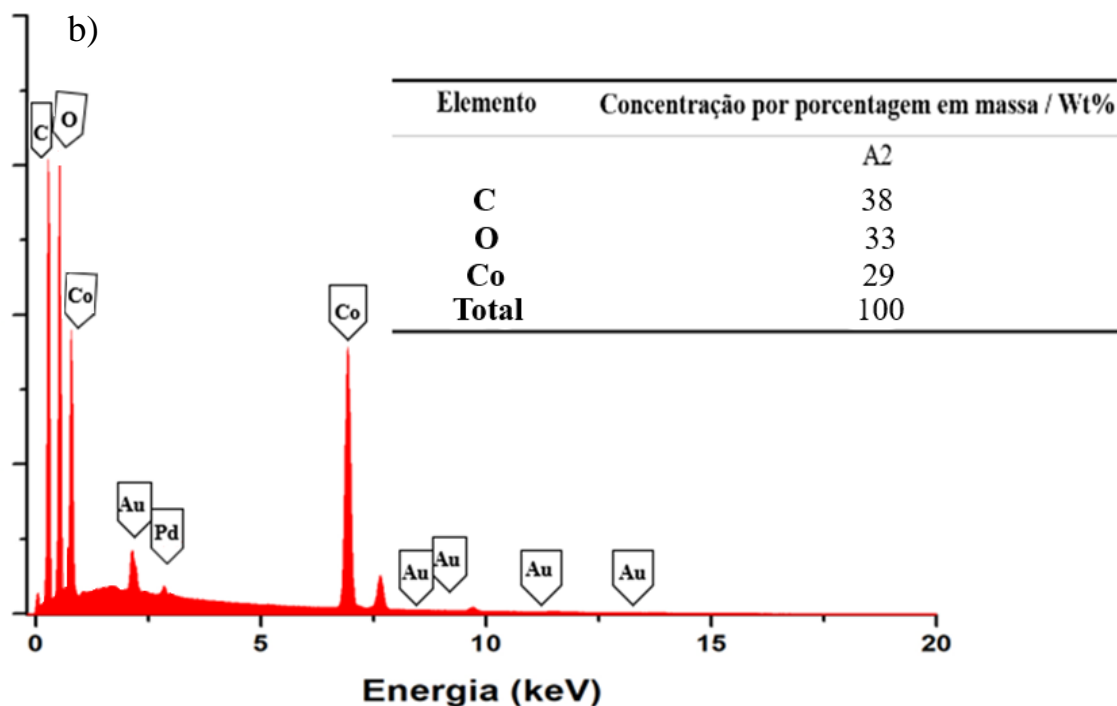
Fonte: Autoria própria.

O acoplamento do aparelho de EDS ao MEV possibilitou a identificação sobre a composição elementar das amostras A1 e A2, onde as microanálises obtidas são mostradas na figura 16 e 17. Para a amostra A1, figura 16, corrobora-se a existência do elemento carbono em 13% e de cobalto em 62% de concentração por quantidade em massa, sugerindo uma boa distribuição química nesta amostra.

Figura 16: Mapeamento dos elementos (a) e espectro obtido por energia dispersiva (b) da amostra A1.



Fonte: Autoria própria.



Fonte: Autoria própria.

Observa-se que no mapeamento químico em ambas figuras (16 e 17 (a)) ocorre a presença de oxigênio. Isto é um indicativo da oxidação das nanopartículas de cobalto, reforçando a existência de fases do óxido de cobalto (CoO , Co_3O_4 , $\text{CoO}(\text{OH})$, ou mistura destas fases) no DRX. A presença dos elementos ouro (Au) e prata (Ag) é devido as amostras conterem material orgânico que poderiam provocar o fenômeno de carregamento, acúmulo gradual de cargas negativas na superfície gerando distorção e instabilidade nas imagens. Para evitar isto, a solução é recobrir a amostra com uma fina camada de material condutor, como o elemento ouro, e otimizar as imagens apoiando-as em um suporte de metal (Ag) [41]. Ressalta-se que ao longo da caracterização por EDS, o feixe de elétrons foi direcionado em várias posições da superfície de ambas amostras, sem apresentar, portanto, diferenças significativas em relação à altura e posição dos picos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, é possível acentuar que o DRX apresenta a curva característica de material amorfo, evidenciando que o processo de lavagens para remover o excesso de camada orgânica proveniente do óleo foi insuficiente. Por outro lado, na segunda medida, após as amostras serem moídas e dispersadas, verificou-se picos de intensidade de raios X difratadas em função de 2θ que podem ser correspondentes às fases de óxido de cobalto CoO , Co_3O_4 e $\text{CoO}(\text{OH})$. As imagens de MEV apresenta agregados de partículas, possivelmente nanométricas e esféricas, com grãos de tamanhos distintos contendo a matriz amorfa. Já a distribuição elementar exibida pelo EDS é considerável satisfatória para a concentração dos elementos cobalto, carbono e oxigênio, expressando maiores cuidados na manipulação de amostras.

Nesta perspectiva, sugere-se para estudos posteriores pequenas modificações em parâmetros de síntese como a redução no tempo de maturação das partículas e uso de outros agentes dispersantes para remover o excesso de camada orgânica. Conclui-se que a utilização de óleos vegetais oriundos da região Amazônica, como o óleo de bacaba, na síntese de nanopartículas representa uma alternativa promissora para tornar estes nanomateriais biocompatíveis e aplicáveis em diversos setores industriais, tecnológicos e científicos. Além disso, pode otimizar métodos sintéticos de nanopartículas de óxido de cobalto através da técnica decomposição térmica, pois, os resultados obtidos corroboram que mais investigações sobre os efeitos do óleo de bacaba e suas possíveis funcionalidades devem ser realizadas.

REFERÊNCIAS

- [1] DA SILVA, M. B. Nanotecnologia e a condição humana: a radicalidade técnica contemporânea, os questionamentos éticos do *homo viator* e a visão de natureza. Tese (Doutorado em Ciências Humanas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 282 p., 2008.
- [2] FALLEIROS, J. P. B.; BRANDI, A.L.; DA FONSECA, A. R. A. Aplicações da nanotecnologia no diagnóstico e tratamento do câncer. **Revista Nucleus**, v. 8, n.1, 161-169 p., 2011.
- [3] SOUZA JÚNIOR, J. B. **Nanopartículas magnéticas de cobalto metálico e ferrita de cobalto recobertas com ouro como materiais biocompatíveis visando aplicações em biomedicina**. Dissertação (Mestrado em físico-química), Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Carlos. São Carlos. p., 104, 2012.
- [4] FREIRE, R. M. **Obtenção de nanocarregadores magnéticos para hipertermia e liberação controlada de fármacos**. Dissertação (Dissertação em Química) – Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 114 p., 2012.
- [5] ALCÂNTARA, G. B. **Nanopartículas de maguemita complexadas com ácido oleico**. Dissertação (Dissertação em Física) – Universidade de Brasília, 140 p., 2007.
- [6] ANDRADE, P.; SILVA, V.; MACIEL, J.; SANTILLAN, M.; MORENO, N.; VALLADARES, L.D.L.S.; BUSTAMANTE, A.; PEREIRA, S.; SILVA, M.; AGUIAR, J.A. **Preparation and characterization of cobalt ferrite nanoparticles coated with fucan and oleic acid**. *Hyperfine Interact*, 224, 217–225, 2014.
- [7] Zongo, A.S., Vaïtilingom, G., Daho, T., Caillol, C., Hoffmann, J.-F., Piriou, B., Valette, J., Segda, B.G. and Higelin, P. (2019) Temperature Dependence of Density, Viscosity, Thermal Conductivity and Heat Capacity of Vegetable Oils for Their Use as Biofuel in Internal Combustion Engines. *Advances in Chemical Engineering and Science*, **9**, 44-64. <https://doi.org/10.4236/aces.2019.91004>.
- [8] SARGENTELLI, V.; FERREIRA, A. P. **Magnetic nanoparticles: The cobalt**. *Ecletica Química*. 35(4):153-63, 2010.
- [9] KHAN, F. **The physics of radiation therapy**. 4 thed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 2010.
- [10] GUBIN, S. P.; KOKSHAROV, Y. A. Preparation, structure, and properties of magnetic materials based on Co-containing nanoparticles. *Inorganic Materials*, v. 38, n. 11, 1085-1099, 2002, DOI: 10.1070/RC2005v074n06ABEH000897.
- [11] JOSE, G.T.; ELISA, V.; ELVIRA, G. Measurement of the giant magnetoresistance effect in cobalt–silver magnetic nanostructures: nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 23, n. 40, 405-701, 2012.

- [12] MURRAY, C. B. *et al.* Monodisperse 3d transition-metal (Co, Ni, Fe) nanoparticles and their assembly into nanoparticle superlattices. **MRS Bulletin**, v. 26, n. 12, 985-991, 2001, DOI: <https://doi.org/10.1557/mrs2001.254>.
- [13] VIALI, W. R.; **Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas do tipo caroço@casca de Co@Pd com propriedades para aplicações tecnológicas**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara: [s.n], 137 p., 2013.
- [14] PARK, J. *et al.* Synthesis of monodisperse spherical nanocrystals. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 46, n. 25, 4630-4660, 2007, DOI: 10.1002/anie.200603148.
- [15] GUIMARÃES, A.C.G. **Potencial funcional e nutricional de farinha de jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) e bacaba (*Oenocarpus bacaba*)**. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 115 p., 2013.
- [16] FINCO, F. D. B. A.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R.; TSENG, W. H. Antioxidant Activity and Characterization of Phenolic Compounds from Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) Fruit by HPLC- DAD-MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v.60, 7665–7673, 2010.
- [17] MEYER, J. M. **Teor e composição de ácido graxos de óleos de frutos de palmeiras nativas**. Dissertação de Mestrado, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 48 p., 2012
- [18] CYMERYYS, M. **Bacaba *Oenocarpus bacaba* Mart.** In: SHANLEY, P; MEDINA, G. *Frutíferas e Plantas úteis na vida Amazônica*. Belém: CIFOR, Imazon, 2005.
- [19] SANTOS, O.V.; CORRÊA, N.C.F.; CARVALHO JÚNIOR, R.N.; COSTA, C.E.F.; FRANÇA, L.F.F.; LANNES, S.C.S. Comparative parameters of the nutritional contribution and functional claims of Brazil nut kernal, oil and defatted cake. *Food Research International*, v.51, n.2, 841-847, 2013, DOI: 10.1016/j.foodres.2013.01.054.
- [20] LU, A. H.; SALABAS, E. L.; SCHUTH, O. F. Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 46, n. 8, 1222-1244, 2007, <https://doi.org/10.1002/anie.200602866>.
- [21] M. M. R. de MELO, A. N .D. SYLVESTRE, C. M. SYLVIA, Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: applications, trends and future perspectives of a convincing green technology, *The Journal of Supercritical Fluids* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2014.04.007>.
- [22] PINTO, R. H. H.; SENA, C.; SANTOS, O. V.; DA COSTA, W. A.; RODRIGUES, A. M. C.; CARVALHO JUNIOR, R. N. Extraction of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) oil with supercritical CO₂: Global isotherms, fatty acid composition, functional quality, oxidative stability, spectroscopic profile and antioxidant activity. *Grasas Aceites* **69** (2), e246. <http://doi.org/10.3989/gya.0883171>.

- [23] TEMELLI, F. Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils. *The Journal of Supercritical Fluids*, 47(3) (2009), 583-590, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2008.10.014>.
- [24] DE MELO, M.M.R.; SILVESTRE, A. J. D.; SILVA, C. M. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. *The journal of Supercritical Fluids*, v. 92, 115 – 176, 2014, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.04.007>.
- [25] SAHENA, F.; ZAIDUL, I. S. M.; JINAP, S.; KARIM, A. A.; ABBAS, K. A.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction—A review. *Journal of Food Engineering*, 95(2) (2009), 240-253, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026>.
- [26] P. HU, M. LONG, *Appl. Catal. B: Environ.* 181 (2016) 103-117.
- [27] PINTO, R. H. H. **Extração do óleo de bacaba (*Oenocarpus bacaba*) com CO₂ supercrítico: parâmetros de processo, perfil de ácidos graxos e aplicação na síntese de nanopartículas de F₃O₄**. Dissertação (Dissertação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Pará, Belém, p. 65, 2016.
- [28] ALIVISATOS, A. P. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. *Science*, v. 271, n. 5251, 933-937, 1996.
- [29] C.-B. WANG, H.-K. LIN, C.-W. TANG, *Catal. Lett.* 94 (2004) 69–74.
- [30] C. W. Tang, C. B. Wang and S. H. Chien, “Characterization of Cobalt Oxides Studied by FT-IR, Raman, TPR and TG-MS,” *Thermochimica Acta*, Vol. 473, No. 1-2, 2008, pp. 68-73. DOI: 10.1016/j.tca.2008.04.015.
- [31] W. SONG, A. S. POYRAZ, Y. MENG, Z. REN, S.-Y. Chen, S.L. Suib, *Chem. Mater.* 26(2014) 4629–4639.
- [32] J. WÖLLENSTEIN, M. BURGMAIR, G. PLESCHER, T. SULIMA, J. HILDENBRAND, H. BÖTTNER, I. EISELE, *SENS. Actuators B: Chem.* 93 (2003) 442–448.
- [33]
- [34] DA SILVA, R. T. **Caracterização estrutural e magnética de semicondutores magnético diluídos nanoestruturados a base de ZnO dopado com Co**. Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 89 p., 2015.
- [35] SCHERRER, P., *Göttinger Nachrichten Gesell.*, Vol. 2, 98 p., 1918.
- [36] D. P. DINEGA and M. G. BAWENDI, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 38, 1788, (1999).
- [37] RIBEIRO, T. da COSTA. **Introdução ao GSAS: Refinamento de Estruturas Cristalinas**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Física) – Universidade Federal do Pará, Abaetetuba, 83 p., 2018.

- [38] MALISKA, A. M. **Apostila Microscopia Eletrônica de Varredura** – Universidade Federal de Santa Catarina – Departamento de Engenharia Mecânica – LABMAT. Disponível em: http://www.usp.br/nanobiodev/wpcontent/uploads/MEV_Apostila.pdf. Acessado em 15 de janeiro de 2019.
- [39] DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. EdiPUCRS, 2007.
- [40] KNOLL, M. **Aufladepotential und Sekundäremission elektronenstrahlter Körper**. Z Tech. Phys. v.16, 467-475, 1935.
- [41] COSTI, H. T. **Análises químicas semi quantitativa por espectroscopia de Raio X por dispersão de energia (EDS)**. In: POTIGUARA, R. C. V.; SILVA, R. J. F.; KIKUCHI, T. Y. P. S.; LUCAS, F. C. A.; MACEDO, E. G. (Org.). Estruturas vegetais em microscopia eletrônica de varredura. Belém, PA: Museu Paraense Emilio Goeldi: Universidade do Estado do Pará, 2013.
- [42] RONEY, M. Conheça o poder nutricional da Bacaba, a prima pobre do açaí. **Bacaba News, da floresta para o mundo**, Amapá, 2015.
- [43] N.Q. Wu, L. Fu, M. Su, M. Aslam, K.C. Wong, V.P. Dravid, Nano Lett. 4 (2004) 383.
- [44] Zhang, L.; He, R.; Gu, H.C. Oleic acid coating on the monodisperse magnetite nanoparticles. *Appl. Surf. Sci.* **2006**, 253, 2611–2617.
- [45] N. Matoussevitch, A. Gorschinski, W. Habicht, J. Bolle, E. Dinjus, H. Boennemann, S. Behrens, Surface modification of metallic Co nanoparticles, J. Magn. Magn.vMater. 311 (2007) 92–96.
- [46] Q. Mu, L. Yang, J.C. Davis, R. Vankayala, K.C. Hwang, J. Zhao, B. Yan, **Biocompatibility of polymer grafted core/shell iron/carbon nanoparticles**, Biomaterials 31 (2010) 5083–5090.
- [47] J. Zhai, M. Huang, S. Dong, Electrochemical designing of Au/Pt core shell nanoparticles as nanostructured catalyst with tunable activity for oxygen reduction, Electroanalysis 19 (2007), 506–509.
- [48] J. Hormes, H. Modrow, H. Bonnemann, C.S.S.R. Kumar, **The influence of various coatings on the electronic, magnetic, and geometric properties of cobalt nanoparticles**, J. Appl. Phys. Lett. 97 (2005) pp. 10R102-10R106.
- [49] ZHANG, Y. D.; BUDNICK, J. I.; HINES, W. A.; MAJETICH, S. A.; AND KIRKPATRICK, E. M. **Appl. Phys. Lett.** 76,94~2000.
- [50] H. SATO, O. KITAKAMI, T. SAKURAI, Y. SHIMADA, Y. OTANI, AND K. FUKAMICHI, J. Appl. Phys. **81**, 1858 (1997)
- [51] ALVARES, V. de S.; SOUZA, J. M. L. de; PEREIRA, G. S.; MACIEL, V. T.; SOUSA, S. B. de; PEREIRA, J. D. da SILVA. Recomendações técnicas para extração de óleo do mesocarpo de bacaba. **Embrapa Acre, 2018**.

- [52] MOURDIKOU DIS, S.; LIZ-MARZÁN, L. Chem. Mater. **2013**, DOI: 10.1021/cm4000476.
- [53] BORGES, J.; RIBEIRO, J. A.; PEREIRA, E. M.; CARREIRA, C. A.; PEREIRA, C. M.; SILVA, F.J. Colloid Interface Sci. **2011**, 358, 626, DOI: 10.1016/j.jcis.2011.03.039.
- [54] KOMOGORTSEVA, S. V., ISKHAKOVA, R. S., BARNAKOV Ch., N., MOMOTA, N. A., MALTSEVA, V. K., KOZLOV, A. P. Phys. Metals Metallography, 2010, **109**, 130.
- [55] ROBERT, N. GRASS AND WENDELIN J. STARK, J. MATER. Chem. 16, 1825 (2006). <http://dx.doi.org/10.1039/b601013j>
- [56] Luo, Y.; Kong, D.; Luo, J.; Wang, Y.; Zhang, D.; Qiu, K.; Cheng, C.; Lid, C. M.; Yu, T. Seed-Assisted Synthesis of Co₃O₄@ α -Fe₂O₃ Core–Shell Nanoneedle Arrays for Lithium-Ion Battery Anode with High Capacity. RSC Adv. **2014**, 4, 13241–13249.
- [57] MONTIEL, M. G., P SANTIAGO-JACINTO, P., GÓNGORA, J., REGUERA, E., GATTORNO, G. R., Synthesis and thermal behavior of metallic cobalt micro and nanostructures. **Nano-Micro Letters**, v. 3, p.12-19, **2011**.
- [58] HARI B., WUYOU Fu, YANHUI Yu, HAIBIN Y. and YISHUN ZHANG, Appl. Surf.Sci.255,4050(2009). <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2008.10.119>.
- [59] VIEIRA, Dos S. P. E. **Estudo sistemático de nanopartículas de óxido de cobalto através da Espectroscopia Raman**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Física) – Universidade Federal do Pará, Abaetetuba, p. 64, 2019.
- [60] Kumar, D. R.; Manoj, D.; Santhanalakshmi, J. Electrostatic Fabrication of Oleylamine Capped Nickel Oxide Nanoparticles Anchored Multiwall Carbon Nanotube Nanocomposite: A Robust Electrochemical Determination of Riboflavin At Nanomolar Levels. Anal. Methods **2014**, 6, 1011–1020. DOI: 10.1039/c3ay41810c.
- [61] R. Zamiri, A. Zakaria, H.A. Ahangar, A.R. Sadrolhosseini, M.A. Mahdi, Int. J. Mol. Sci. 11 (2010) 4764–4770. DOI:10.3390/ijms11114.