MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DOS MATERIAIS

ADRIANA HANNICKEL

ESTUDO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA OBTIDAS PELOS MÉTODOS DE COPRECIPITAÇÃO, BIOSSÍNTESE E MOAGEM

Rio de Janeiro
2011

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

ADRIANA HANNICKEL

ESTUDO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA OBTIDAS PELOS MÉTODOS DE COPRECIPITAÇÃO, BIOSSÍNTESE E MOAGEM

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Engenharia dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências dos Materiais.

Orientador: Prof. Marcelo Henrique Prado da Silva – D.Sc
Orientador: Prof. Henrique Lins de Barros – D.Sc

Rio de Janeiro

2011

C2011

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA
Praça General Tibúrcio, 80 – Praia Vermelha
Rio de Janeiro - RJ CEP: 22290-270

Este exemplar é de propriedade do Instituto Militar de Engenharia, que poderá incluí-lo em base de dados, armazenar em computador, microfilmar ou adotar qualquer forma de arquivamento.

É permitida a menção, reprodução parcial ou integral e a transmissão entre bibliotecas deste trabalho, sem modificação de seu texto, em qualquer meio que esteja ou venha a ser fixado, para pesquisa acadêmica, comentários e citações, desde que sem finalidade comercial e que seja feita a referência bibliográfica completa.

Os conceitos expressos neste trabalho são de responsabilidade da autora e dos orientadores.

549.526 Hannickel, Adriana.
H245 Estudo de nanopartículas de magnetita obtidas pelos métodos de coprecipitação, biossíntese e moagem/ Adriana Hannickel. - Rio de Janeiro: Instituto Militar de Engenharia, 2011.

117 p.: il.

Dissertação (mestrado) – Instituto Militar de Engenharia – Rio de Janeiro, 2010

1. Magnetita. 2. Nanopartículas. 3. Bactérias Magnetotácticas. I Título. II Instituto Militar de Engenharia.

CDD 549.526

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

ADRIANA HANNICKEL

ESTUDO DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA OBTIDAS PELOS MÉTODOS DE COPRECIPITAÇÃO, BIOSSÍNTESE E MOAGEM

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientadores: Marcelo Henrique Prado da Silva – D.Sc.
Henrique Lins de Barros – D.Sc.

Aprovada em 31 de Maio de 2011 pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Marcelo Henrique Prado da Silva – D.Sc. do IME

Prof. Henrique Lins de Barros – D.Sc. do CBPF

Prof. Ronaldo Sérgio de Biasi – Ph.D. do IME

Dr. Luciano Gobbo – D.Sc. da Panalytical

Rio de Janeiro

2011

Aos meus amados filhos Bettina e Martin e ao meu marido Edi, que são os pilares da minha vida. Sem vocês não teria conseguido...

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela força sem a qual teria sido impossível fazer este trabalho.

Aos meus filhos que compreenderam minha ausência e me ajudaram sempre. Ao meu marido, que me apoiou sempre.

Aos meus pais João e Iolanda que sempre acreditaram que eu seria capaz e me mostraram que eu devia fazer algo por mim.

Aos meus queridos orientadores Marcelo Prado e Henrique Lins de Barros, por terem me aceitado e me apoiado, além da paciência para me ensinar.

Aos professores de Ciências dos Materiais e em especial ao Professor Elias que me aceitou no programa.

Ao grupo da professora Alke Fink da EPFL na Suíça pela ajuda com SPION.

Agradeço ao Carlos Roberto que é tão importante para o laboratório de cerâmica e para o IME. Aos queridos amigos do laboratório de cerâmica: Cilene, Ana Paula, Tatiana Skaff, Rubens, Tatiana Fernandes, Felipe, Fernanda, Suzana, pelo apoio e força de sempre. Agradeço a Claudia Marques, pois sem ela eu não estaria no IME.

Agradeço muito aos professores Daniel, Darcy e Eliane, pelos ensinamentos e pelos cafés no CBPF. Ao professor Geraldo Gernicchiaro do CBPF que me ensinou tudo sobre SQUID. Ao Cambraia da UFF, que foi um super professor em todos os momentos. Ao William pela ajuda com Mössbauer no CBPF.

Ao Michel e Sinésio do CEPEL que foram maravilhosos.

À Karen da microbiologia da UFRJ, sem ela não teria conseguido minhas imagens e ao professor Ulysses Lins que me apresentou a Karen.

Ao querido amigo Marco Giusti pela força e os livros que tanto me ajudaram.

Ao meu cunhado Angelo Bender que sempre estava pronto para dar uma força em vários trabalhos, principalmente sobre Metrologia.

Ao Cláudio Debiasi por ter vindo assistir a defesa e pelas palavras maravilhosas.

Ao Luciano Gobbo por toda ajuda e por ser tão querido sempre.

Ao professor De Biasi por estar sempre presente e dando ótimas sugestões.

À CAPES pelo apoio financeiro e ao IME por proporcionar e apoiar a realização deste trabalho.

Não teria conseguido sem vocês...Obrigada!!!!!!!!

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES..... 9
LISTA DE TABELAS..... 14
LISTA DE ABREVIATURAS..... 15
LISTA DE SIGLAS..... 16

1 INTRODUÇÃO..... 19
1.1 Considerações Gerais..... 19
1.2 Objetivo do Trabalho..... 23

2 REVISÃO DE LITERATURA..... 24
2.1 Introdução ao Magnetismo..... 24
2.1.1 Um Pouco de História..... 24
2.1.2 A Atração Magnética..... 25
2.1.3 Campo Magnético..... 26
2.1.4 Dipolos Magnéticos..... 27
2.1.5 Indução Magnética ou Densidade de Fluxo Magnético..... 28
2.1.6 Susceptibilidade Magnética..... 28
2.1.7 Comportamento Magnético dos Materiais..... 29
2.1.8 Domínio Magnético..... 34
2.1.9 Curva de Magnetização e Desmagnetização (Histerese)..... 35
2.1.10 Superparamagnetismo..... 37
2.2 Óxido de Ferro (Magnetita / Maghemita)..... 37
2.2.1 Nanopartículas de Óxido de Ferro Superparamagnéticas..... 39
2.2.2 Propriedades Magnéticas das Nanopartículas..... 41
2.3 Organismos Magnetotácticos..... 42
2.3.1 Propriedades Estruturais das Bactérias Magnetotácticas..... 43
2.3.2 Propriedades Magnéticas das Bactérias Magnetotácticas..... 46

2.4 Partículas de Óxido de Ferro Obtidas por Moagem..... 48
2.5 Métodos de Caracterização……..... 49
2.5.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)..... 49
2.5.2 Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS)..... 52
2.5.3 Medida da Área das Partículas..... 53
2.5.3.1 *ImageJ*……..... 53
2.5.3.2 *Adobe Photoshop*……..... 57
2.5.4 Ressonância Magnética Eletrônica (RME)……..... 60
2.5.5 SQUID..... 63
2.5.6 Difração de raios X (DRX)..... 64
2.5.6.1 Método de *Rietveld*……..... 65
2.5.7 Espectroscopia *Mössbauer*……..... 66

3 MATERIAIS E MÉTODOS..... 69
3.1 Obtenção das Amostras……..... 69
3.1.1 Síntese de SPION (Magnetita/Maghemita)..... 69
3.1.2 Bactérias Magnetotácticas……..... 70
3.1.3 Tinta Comercial (Moagem)..... 72
3.2 Preparação das Amostras para as Análises..... 72
3.2.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)……..... 72
3.2.2 Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS)..... 74
3.2.3 Ressonância Magnética Eletrônica (RME)……..... 74
3.2.4 SQUID..... 76
3.2.5 Difração de raios X……..... 76
3.2.6 Espectroscopia *Mössbauer*……..... 76
3.3 Equipamentos e Condições de Análise..... 77
3.3.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)……..... 77
3.3.2 Ressonância Magnética Eletrônica (RME)……..... 77
3.3.3 SQUID..... 77
3.3.4 Difração de raios X……..... 78
3.3.5 Espectroscopia *Mössbauer*……..... 78

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 79
4.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)..... 79
4.1.1 Nanopartículas magnéticas (SPION)..... 79
4.1.1.1 Espectroscopia de raios X por Dispersão de Energia (EDS)..... 80
4.1.2 Tinta Comercial..... 82
4.1.2.1 Espectroscopia de raios X por Dispersão de Energia (EDS)..... 84
4.1.3 Bactérias Magnetotácticas..... 84
4.1.3.1 Espectroscopia de raios X por Dispersão de Energia (EDS)..... 86
4.2 Medida do Tamanho das Partículas..... 86
4.2.1 Desvio Padrão..... 90
4.3 Ressonância Magnética Eletrônica (RME)..... 91
4.4 SQUID..... 98
4.5 Difração de raios X..... 105
4.6 Espectroscopia *Mössbauer*..... 107

5 CONCLUSÃO..... 110

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS..... 112

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 113

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIG. 2.1 Esquema representativo de um material diamagnético quando submetido um campo magnético.....30

FIG. 2.2 Esquema representativo da resposta paramagnética de um material na presença de um campo aplicado.....32

FIG. 2.3 Esquema representativo da resposta ferromagnética de um material na presença de um campo aplicado e a relação do ferromagnetismo com a T_C 33

FIG. 2.4 Momentos dipolo magnéticos de um material antiferromagnético.....33

FIG. 2.5 Esquema representando a diferença entre ferro e ferrimagnetismo....34

FIG. 2.6 Curva de Histerese (NDT EDUCATION CENTER, 2010)……..35

FIG. 2.7 Morfologia do cristal do magnetossoma (BAZYLINSKI, 2004)……..45

FIG. 2.8 Orientação magnética das bactérias (MARGATO, 2007)……..47

FIG. 2.9 Esquema representativo do MET (JEOL). 52

FIG. 2.10 Recursos do *software* Image J 55

FIG. 2.11 Imagem original em 8-bit (a); imagem binária (b), desenho das partículas (c); sobreposição das imagens(e).....56

FIG. 2.12 Resultados em *pixels* (área das partículas) gerados pelo programa *ImageJ* com *Watershed*.....57

FIG. 2.13 Recursos do Adobe Photoshop CS5.....58

FIG. 2.14 Utilização de camadas para destacar as partículas: micrografia (a); seleção da partícula (b); partícula selecionada (c).....59

FIG. 2.15 Diagrama representativo do espectro RFM das amostras medidas. (WEISS, 2004)……...62

FIG. 3.1 Amostras de água + sedimento mantidas em aquários no CBPF.....70

FIG. 3.2 Aparato para concentração das bactérias.....71

FIG. 3.3 Imagem de bactérias concentradas na extremidade de uma gota observada em microscopia ótica.....71

FIG. 3.4 Grade para MET com concentração de bactérias sendo preparada...73

FIG. 3.5 Grades para MET sendo preparadas com material biológico.....74

FIG. 3.6 Preparação das amostras biológicas para RME; (a) ímã perpendicular a amostra e (b) ímã paralelo.....75

FIG. 3.7 Amostras para SQUID, DRX e Mössbauer.....76

FIG. 4.1 Micrografia de uma região de uma amostra de SPION.....79

FIG. 4.2 Micrografia de uma região de uma amostra de SPION.....80

FIG. 4.3 Micrografia de uma região de uma amostra de SPION.....80

FIG. 4.4 Micrografia da primeira amostra de SPION, muito aglomerada mostrando a região definida para o EDS (a); respectivo espectro de EDS (b).....81

FIG. 4.5 Micrografia da primeira amostra de SPION, muito aglomerada mostrando a região definida para o EDS (a); respectivo espectro de EDS (b).....81

FIG. 4.6 Micrografia de uma região de uma amostra de tinta comercial.....82

FIG. 4.7 Micrografia de uma região de uma amostra de tinta comercial..... 83

FIG. 4.8 Micrografia de uma região de uma amostra de tinta comercial..... 83

FIG. 4.9 Micrografia da primeira amostra de tinta comercial que foi utilizada somente para se obter o espectro de EDS (a); respectivo espectro de EDS (b).....84

FIG. 4.10 Micrografia de uma bactéria magnetotáctica.....85

FIG. 4.11 Micrografia de nanocristais espalhados na amostra.....85

FIG. 4.12 Micrografia de nanocristais espalhados na amostra.....86

FIG. 4.13 Distribuição do tamanho das partículas (S) por área em nm^2.....88

FIG. 4.14 Distribuição do tamanho das partículas (T) por área em μm^2.....89

FIG. 4.15 Distribuição do tamanho das partículas (B) por área em nm^2 90

FIG. 4.16 Comparação dos espectros de RME das amostras de SPION, tinta e bactéria magnetotáctica.....91

FIG. 4.17 Sobreposição dos espectros de RME das amostras B1 e B2per.....92

FIG. 4.18 Comparação entre os espectros das amostras contendo água do aquário (A) e bactérias (B2per).....92

FIG. 4.19 Síntese dos valores obtidos no espectro de RME das amostras de magnetita.....94

FIG. 4.20 Variação angular da membrana com concentração de bactérias - ímã paralelo à amostra.....95

FIG. 4.21 Variação angular da membrana com concentração de bactérias - ímã perpendicular à amostra.....95

FIG. 4.22 Variação angular da membrana com concentração de SPION - ímã paralelo à amostra.....96

FIG. 4.23 Variação angular da membrana com SPION - ímã perpendicular à amostra.....96

FIG. 4.24 Variação angular da membrana com concentração de tinta - ímã paralelo à amostra.....97

FIG. 4.25 Variação angular da membrana com concentração de tinta - ímã perpendicular à amostra.....97

FIG. 4.26 Curvas mostrando o campo de ressonância (máximo de absorção) das diferentes amostras de magnetita.....98

FIG. 4.27 Curva MxH da amostra B.....99

FIG. 4.28 Curva MxH no intervalo de campo entre -500 a 500 Oe.....99

FIG. 4.29 Parâmetros do ajuste linear para as medidas entre 500 e 2000 Oe..100

FIG. 4.30 Inclinação da componente diamagnética da curva anterior.....101

FIG. 4.31 Curva mostrando o ponto de saturação magnética (M_s).....101

FIG. 4.32 Curva mostrando *Fc* e *Mr* da amostra B……102

FIG. 4.33 Curva mostrando o ponto de saturação magnética (M_s) da amostra S.....103

FIG. 4.34 Curva mostrando *Fc* e *Mr* da amostra S.....103

FIG. 4.35 Curva mostrando o ponto de saturação magnética (M_s) da amostra T.....104

FIG. 4.36 Curva mostrando *Fc* e *Mr* da amostra T……104

FIG. 4.37 Difratograma e análise pelo método Rietveld da amostra SPION.....105

FIG. 4.38 Difratograma e análise pelo método Rietveld da amostra tinta.....106

FIG. 4.39 Difratograma e análise pelo método Rietveld da amostra bactéria....107

FIG. 4.40 Espectro Mössbauer à temperatura ambiente de uma amostra de tinta comercial.....108

FIG. 4.41 Espectro Mössbauer à temperatura ambiente de uma amostra de SPION.....109

LISTA DE TABELAS

TAB 2.1 Parâmetros Hiperfinos de Espectroscopia Mössbauer para alguns óxidos de ferro…….68

TAB 4.1 Distribuição da área em nm^2 de 230 partículas SPION.....87

TAB 4.2 Distribuição da área em μm^2 de 101 partículas de Tinta Comercial.....88

TAB 4.3 Distribuição da área em nm^2 de 170 partículas do magnetossoma.....89

TAB 4.4 Desvio Padrão da Média Aritmética (Área das Partículas).....90

TAB 4.5 Dados das medidas em RME…….....93

TAB 4.6 Parâmetros hiperfinos para as amostras de SPION e tinta a temperatura ambiente.....108

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Fe_3O_4	-	Magnetita
γ-Fe_2O_4	-	Maghemita
NH_4OH	-	hidróxido de amônia
HNO_3	-	ácido nítrico
$Fe(NO_3)_3.9H_2O$		nitrato férrico
nm	-	Nanômetros
µm	-	Micrômetros
Å	-	Ångström
a	-	parâmetro de rede
$\vec{\mu}$	-	momento magnético
K	-	constante de anisotropia
T_C	-	temperatura de Curie
T_N	-	temperatura de Néel
χ	-	susceptibilidade magnética
eV	-	eletron volt
B_{hf}	-	campo magnético hiperfino
δ	-	deslocamento isomérico
ΔE_Q	-	desdobramento quadrupolar
g_{eff}	-	fator-g
ΔB	-	largura de linha a meia altura
λ	-	comprimento de onda da radiação incidente
d	-	distância interplanar
θ	-	ângulo de incidência
K	-	Kelvin
M	-	Magnetização
emu/g	-	unidade eletromagnética/grama
T	-	Tesla
Oe	-	Oersted
G	-	Gauss

LISTA DE SIGLAS

CBPF	Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas
IME	Instituto Militar de Engenharia
CEPEL	Centro de Pesquisas de Energia Elétrica
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
EPFL	École Polytechnique Fédérale de Lausanne
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
DRX	Difração de raios X
SQUID	*Superconducting Quantum Interference Device*
RME	Ressonância Magnética Eletrônica
RFM	Ressonância Ferromagnética
RPE	Ressonância Paramagnética Eletrônica
EDS	Espectroscopia por Dispensão de Energia

RESUMO

A magnetita (Fe_3O_4) tem sido utilizada em diversos tamanhos para aplicações que vão das artes à medicina. Neste estudo, foram caracterizadas partículas de magnetita obtidas por três diferentes rotas de síntese: química, biológica e física. Estas rotas produziram partículas em três tamanhos distintos de uma escala nanométrica.

As nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas (SPION), obtidas por coprecipitação (rota química), apresentaram-se na escala de 10 nm. Por sua vez, os cristais de magnetita em cadeia presentes no citoplasma de bactérias magnetotácticas (rota biológica) foram representados na escala de 100 nm. Finalmente, partículas de magnetita encontradas no pigmento de tintas comerciais (rota física – moagem) foram evidenciadas na escala de 1000 nm.

As micrografias de MET permitiram a identificação da forma e tamanho destas partículas, enquanto o EDS serviu como uma análise qualitativa preliminar das amostras. Com a ajuda de *softwares* para processamento e análise de imagens digitais, foi possível obter uma distribuição de medidas da área das partículas.

As propriedades magnéticas puderam ser estudadas através de Ressonância Magnética Eletrônica, que apresentou um espectro peculiar para a magnetita em cadeia (bactéria). O SQUID também foi utilizado para estudar o comportamento magnético das amostras e a espectroscopia Mössbauer mostrou-se uma importante ferramenta na identificação de sítios e valências do Fe. A difração de raios X identificou os picos de magnetita e de outras substâncias presentes nas amostras e o refinamento pelo método de Rietveld foi a análise quantitativa de escolha.

ABSTRACT

Magnetite (Fe3O4) has been used in various sizes for applications ranging from arts to medicine. In this study, we characterized magnetite particles obtained by three different synthesis routes: chemical, biological and physical. These routes produced particles in three different sizes in a nanometer scale.

The superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION), obtained by coprecipitation (chemical route), were presented in a range of 10 nm. In its turn, the chain of magnetite crystals from magnetotactic bacteria (biological route) was represented in a 100 nm scale. Finally, magnetite particles found in the pigments of commercial inks (physical route – milling) were evidenced in a 100 nm scale.

The TEM micrographs allowed the identification of the shape and size of these particles, while the EDS was performed as a preliminary qualitative analysis of the samples. Digital images processing and analysis softwares were used to obtain the size distribution of the particles area.

The magnetic properties could be studied through Electron Paramagnetic Resonance and its spectrum was found peculiar due to the bacteria magnetite chain structure. The SQUID was also used to study the magnetic behavior of the samples and Mössbauer spectroscopy proved to be an important tool in identifying sites and valences of Fe. X-ray diffraction identified the magnetite's peaks and other substances in the samples, and refinement by the Rietveld method was chosen as the quantitative analysis.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os termos nanociência e nanotecnologia se referem, respectivamente, ao estudo e às aplicações tecnológicas de objetos e dispositivos que tenham pelo menos uma de suas dimensões físicas na ordem de algumas dezenas de nanômetros. Nano, do grego “anão”, é um prefixo usado nas ciências para designar uma parte em um bilhão. Assim, um nanômetro (1nm) corresponde a um bilionésimo de um metro ($1nm = 10^{-9}m$) (MELO, 2004).

Nos anos de 1960 supunha-se que o limite derradeiro da miniaturização situava-se na escala das macromoléculas do ser vivo, assim como as proteínas e o DNA, compostos de milhares de átomos. Era a fase de descoberta das proezas dessas macromoléculas, capazes de estocar informação, transportar outras moléculas, produzir energia e comunicar-se. Em seu famoso discurso em 1959, *There is Plenty of Room at the Bottom* (há muito espaço lá em baixo), no *California Institute of Technology*, Richard Feynman foi capaz de antever, desafiando a platéia, as novas e excitantes descobertas que poderiam ser feitas se materiais pudessem ser fabricados e manipulados na escala atômica / molecular. Feynman destacou que, para tal revolução ocorrer, seria necessário desenvolver uma nova classe de instrumentos para manipular e fazer medições na escala nanométrica (MELO, 2004).

Mas foi apenas na década de 80 que a visão de Feynman tornou-se uma realidade, quando instrumentos como microscópios de tunelamento, microscópios de força atômica e outros dispositivos que permitiam “visão” e “manipulação” de nanoestruturas, tornaram-se disponíveis. Graças ao microscópio de tunelamento, tornou-se possível não apenas formar a imagem de uma molécula na tela, mas também tocar esta molécula com a ponta de um microscópio. Assim que a molécula adquiriu o verdadeiro status de entidade material independente, a aventura da

nanotecnologia começou. Com ela, passaram a ser fabricados dispositivos com dimensões inferiores a tudo que se produzira até então (JOACHIM, 2009).

A nanotecnologia tornou-se um sonho para todos aqueles que se sentiam preocupados com o futuro do planeta. Tornava-se evidente, que um dia seria preciso reduzir a quantidade de matéria e energia consumidas, para fabricar todas as nossas máquinas, trazendo um impacto ambiental menor. A nanotecnologia, engatinhando nesta época, segundo se esperava iria libertar a indústria da utilização de matéria prima em massa, para fazê-la entrar numa era de desenvolvimento sustentável. Além disso, manteria o mesmo modelo econômico e a mesma política de aumento de consumo. Al Gore, que foi vice-presidente dos Estados Unidos de 1993 a 2001, mostrou-se um entusiasta destas "novas tecnologias para um desenvolvimento sustentável". Em 2006 lançou um documentário *An Incovenient Truth* (Uma verdade Inconveniente), abordando como assunto principal o "aquecimento global". O intuito deste documentário foi alertar a população de que o planeta deve ser estimado e que cabe somente a ela tomar conta daquilo que é seu e de suas futuras gerações (MELO, 2004; JOACHIM, 2009).

Embora o interesse do homem pelo estudo e aplicação tecnológica de objetos na escala nanométrica seja bastante recente, pode-se afirmar que a nanotecnologia está presente na natureza há bilhões de anos; desde quando os átomos e moléculas começaram a se organizar em estruturas mais complexas que terminaram por dar origem à vida (MELO, 2004). Várias moléculas essenciais a ela encontram-se na escala nanométrica ou possuem geometria com dimensões típicas desta escala, como por exemplo, a ferritina, a hemoglobina, ou o DNA.

A escala nanométrica, porém, constitui um desafio a se estudar. É suficientemente grande para conter várias moléculas, e excessivamente pequena para se tratar com um objeto macroscópico. Assim ela se encontra na interface entre a física atômica / molecular, na qual a mecânica quântica mostra ser capaz de descrever os fenômenos, e a física clássica de Newton, que descreve com precisão os fenômenos macroscópicos.

Para se obter objetos nanométricos de forma controlada é preciso recorrer a técnicas de alta precisão. Em geral, considera-se dois procedimentos gerais para se obter estes materiais. O primeiro, "de baixo para cima", consiste em tentar construir o material a partir de seus componentes básicos (átomos ou moléculas). No

segundo, fabrica-se um objeto nanométrico pela eliminação do excesso existente em uma amostra maior do material, isto é, desbastando o supérfluo ou excedente, “de cima para baixo”.

Em um esquema “de baixo para cima”, é possível construir um nano-objeto pela deposição lenta e controlada de átomos sobre uma superfície bastante polida e regular. Muitas vezes estes átomos se organizam espontaneamente, formando estruturas nanométricas bem definidas. Os métodos químicos de síntese de nanopartículas podem ser incluídos neste esquema.

O procedimento “de cima para baixo” normalmente se vale das chamadas técnicas de litografia, que correspondem a uma série de etapas de corrosão química seletiva extremamente precisa para a preparação final do objeto nanométrico a partir de um bloco macroscópico do material. A moagem e o desbaste de materiais também são exemplos do procedimento “de cima para baixo” (MELO, 2004). Um terceiro caminho para obtenção de estruturas nanométricos a ser citado é a produção sob controle genético.

A nanotecnologia é uma nova etapa na longa epopéia da ciência da matéria, não na da ciência dos materiais (JOACHIM, 2009). O campo de aplicação de dispositivos nanotecnológicos é muito amplo e virtualmente infinito. Esta nova fronteira do conhecimento pode ser aplicada desde a medicina até a construção civil, assim como da indústria aeronáutica à de embalagem de alimentos, passando ainda pela informática, pela estética e pela produção de explosivos. O campo médico é um dos que mais terá a ganhar. Objetos infinitamente pequenos serão aliados fundamentais para diagnósticos, tratamento de determinadas doenças e incremento nas pesquisas biomédica e biotecnológica, dentre outras.

Atualmente, alguns nanomateriais magnéticos vêm sendo amplamente aplicados em diversas áreas. O óxido de ferro, e em especial a magnetita (Fe_3O_4), são os mais empregados. Podem ser aplicados como carreadores de drogas, genes e radionuclídeos; como agentes de contraste em imagem por ressonância magnética (ferrofluidos) e em tecnologias baseadas na separação magnética de DNA/RNA, proteínas, bactérias, vírus e outras biomoléculas. Novas tecnologias de síntese e métodos de análise destas partículas, associadas a métodos otimizados de recobrimentos das mesmas têm tornado as nanopartículas de óxido de ferro

superparamagnéticas altamente atrativas para aplicações médicas em diagnóstico e terapia. Isto tem sido possível devido às suas propriedades magnéticas específicas.

A maior parte dos estudos tem sido focado em nanopartículas de óxido de ferro sintetizadas em laboratório (quimicamente sintetizadas). No entanto, recentemente, um nanomaterial biológico magnético encontrado em bactérias e conhecido como magnetossoma tem sido amplamente estudado. Os magnetossomas são organelas especializadas que surgem no citoplasma destas bactérias, contendo em seu interior os cristais de magnetita (Fe_3O_4), formando cadeias. O tipo de cristal produzido por estes organismos tem a vantagem de possuir uma distribuição estreita de tamanhos de partículas, resultando num total controle da produção das mesmas. Isto nem sempre é alcançado pelos métodos de síntese em laboratório. Estes microorganismos, conhecidos hoje como organismos magnetotácticos, têm sido estudados desde sua descoberta, com foco dado para a síntese dos cristais magnéticos. Estes cristais apresentam baixa citotoxicidade, fornecendo presumivelmente uma boa biocompatibilidade *in vivo* (XIANG et al., 2007)

Além de nanopartículas magnéticas de origem química e das produzidas biologicamente por bactérias, um outro tipo de partícula magnética que tem sido estudada é a presente nos pigmentos das tintas comerciais. As tintas a óleo ou acrílicas apresentam, em sua composição, partículas ferromagnéticas, advindas de uma série de pigmentos presentes em sua composição química (SCHOSSLER, 2001).

Pesquisadores brasileiros propuseram uma técnica para a identificação de sinais magnéticos dos pigmentos das tintas, auxiliando no reconhecimento da autenticidade de pinturas a óleo. A autenticação se baseia no fato de que as tintas a óleo ou acrílicas apresentam partículas ferromagnéticas, que produzem campos magnéticos que podem ser captados por um scanner especial, o SQUID (sigla em inglês para “dispositivo supercondutor de interferência quântica”). Através desta técnica, obtem-se um mapa magnético da obra (COSTA RIBEIRO, 2007).

Portanto, com estas últimas, são apresentados três tipos de partículas de óxido de ferro, em três diferentes escalas de tamanho, produzidas por três rotas diferentes. As nanopartículas sintetizadas quimicamente por coprecipitação, o magnetossoma das bactérias magnetotácticas produzidos biológicamente e as

partículas encontradas no pigmento das tintas, que são processadas por desbaste e moagem, isto é, “de cima para baixo”.

1.2 OBJETIVO DO TRABALHO

Este estudo tem por finalidade caracterizar as partículas magnéticas produzidas por três diferentes rotas:

Química – nanopartículas sintetizadas em laboratório por coprecipitação; nanopartículas de Óxido de Ferro Superparamagnéticas (SPION);

Física – síntese por desbaste e moagem; partículas encontradas no pigmento de tintas comerciais em escala micrométrica;

Biológica – biossíntese; nanopartículas de óxido de ferro em cadeias contidas no citoplasma de bactérias magnetotácticas (magnetossoma).

Estas partículas serão analisadas quanto à composição, morfologia, tamanho, distribuição e propriedades magnéticas. Este estudo vai permitir comparar as vantagens e desvantagens oferecidas por estas partículas em três diferentes escalas, produzidas por rotas diferentes para um futuro emprego dentro de suas melhores características.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INTRODUÇÃO AO MAGNETISMO

2.1.1 UM POUCO DA HISTÓRIA

A observação de ímãs (ou magnetos, como são chamados os materiais que apresentam propriedades magnéticas) acompanha a humanidade por mais de três mil anos, uma vez que estes objetos foram observados antes do primeiro milênio AC. Diferentes minérios de ferro, incluindo o mineral magnetita, eram usados na antiga Mesopotâmia para fazer selos (cilindros selos) a partir de 2000 AC.

A primeira indicação de que o fenômeno magnético era conhecido no mundo antigo é o fato de que o mineral magnético magnetita, a rocha magnética em seu estado natural, era referido na Mesopotâmia como “hematita que agarra”. Os primeiros registros conhecidos das propriedades do ímã foram feitos na Grécia. O filósofo grego Thales de Mileto, que viveu no século VI AC, considerava o ímã como possuidor de uma “alma” (GUIMARÃES, 2005).

O primeiro tratado sobre magnetismo “*De Magnete*” data de 1600 e foi publicado em Londres por William Gilbert (1544-1603), então médico da corte da Rainha Elisabeth I. “*De Magnete*” é um dos mais importantes trabalhos na história da ciência, pois representa um importante marco na revolução da atitude em relação à natureza e a ciência, que ocorreu nos séculos XVI e XVII (GUIMARÃES, 2005).

Gilbert foi o primeiro a comparar a Terra a um grande magneto. Comparou o alinhamento da bússola na direção Norte-Sul com o fato de que o eixo de rotação da Terra tinha uma direção constante no espaço. Para ele existia um “*link*” entre o magnetismo terrestre e o magnetismo da pedra-ímã extraída das minas.

Logo após esse trabalho de *Gilbert*, *Galileu Galilei* (1546-1642) estabelece a “Nova Ciência”, caracterizada por uma postura racional diante dos fenômenos da Natureza, que redefine o conceito do que é científico. Esta “Nova Ciência” atinge

seu ápice com o físico inglês *Isaac Newton* (1642-1727), que formula racionalmente toda a Mecânica. Porém, os estudos do magnetismo à luz dessa "Nova Ciência" só seriam realizados mais tarde, por *Gauss*, *Coulomb* e *Faraday*. Este último representou um campo magnético como "linhas de força" (FERNANDEZ, 2001).

Os fenômenos magnéticos ganhariam uma dimensão muito maior a partir do século XIX com a descoberta de sua correlação com a eletricidade. Em 1820, o físico e químico *Hans Christian Oersted* (1777-1851) descobriu durante uma aula, que uma corrente elétrica (Volta, 1800) produzia um campo magnético e alterava o comportamento de uma agulha magnética. Este conceito de campo magnético permitiu que *Carl Friedrich Gauss* (1777-1855) fizesse a primeira medida, em 1832, do campo magnético terrestre.

Partindo também das experiências de *Oersted*, o físico e matemático francês *André Ampère* (1775-1836) formulou a lei que relaciona o campo magnético com a intensidade da corrente. Em 1831 *Michael Faraday* na Inglaterra e *Joseph Henry* nos Estados Unidos descobriram que um campo variável poderia induzir uma corrente elétrica num circuito. Estes experimentos possibilitaram a *James Clerk Maxwell* (1831-1879) com suas equações, dar a forma final à teoria moderna do eletromagnetismo, que une a eletricidade, o magnetismo e a ótica. Tem-se, finalmente, uma descrição matemática e racional do campo magnético, transformando-o em um conceito abstrato, mas com inúmeras aplicações práticas (FERNANDEZ, 2001). No final do século XIX, Pierre Curie (1859-1906) mostrou que as propriedades magnéticas de uma dada substância sofrem transformações a certa temperatura, que ficou conhecida como ponto de *Curie*.

O século XX foi marcado pelo surgimento da mecânica quântica possibilitando assim o entendimento moderno do magnetismo. Este entendimento foi intimamente ligado ao desenvolvimento da mecânica estatística e termodinâmica quântica principalmente quanto aos fenômenos cooperativos. Portanto sabe-se hoje que o magnetismo não pode ser explicado pela física clássica, é um fenômeno intrinsecamente quântico (NOVAK, 1999).

2.1.2 A ATRAÇÃO MAGNÉTICA

O magnetismo é uma propriedade cuja natureza é de origem elétrica e está relacionada com uma carga em movimento. As propriedades magnéticas dos materiais têm sua origem no movimento de cargas elétricas ou em uma propriedade intrínseca de partículas elementares, como elétrons e prótons, denominada *spin* dos átomos (LINS DE BARROS, 2010).

2.1.3 CAMPO MAGNÉTICO

O campo magnético $\vec{B}$ é um campo vetorial definido a partir da força, $\vec{F}$, que sente uma partícula elétrica, q, quando esta se desloca com velocidade $\vec{v}$ em relação a um referencial inercial na presença do campo $\vec{B}$. A força $\vec{F}$ é dada pela equação:

$$\vec{F} = q\vec{v}x\vec{B} \qquad \text{(EQ. 2.1)}$$

onde x é o produto vetorial e θ é o ângulo entre o vetor velocidade $\vec{v}$ e o vetor campo magnético $\vec{B}$. A magnitude da força é dada por:

$$F = [q].v.B.sen\theta \qquad \text{(EQ. 2.2)}$$

onde $[q]$ é o módulo da carga q.

Nunca foi observado um monopolo magnético e este fato está expresso na equação de Maxwell $(divB = 0)$. O campo magnético é criado por uma variação do campo elétrico (movimento de cargas elétricas) ou por uma propriedade intrínseca de algumas partículas elementares como elétrons, prótons e nêutrons. (LINS DE BARROS, 2010)

2.1.4 DIPOLOS MAGNÉTICOS

As forças de atração e repulsão entre os ímãs aparecem devido ao gradiente de campo próximo a uma das extremidades de um ímã. Um conceito interessante é o de linha de campo. A linha de campo de um campo vetorial, como o campo magnético, é a curva que em qualquer um dos seus pontos é tangente a um vetor de campo magnético de uma determinada intensidade. Como não existe uma carga magnética (monopolo magnético) as linhas de campo magnético são curvas fechadas, saindo de uma das extremidades do material magnético e chegando à outra extremidade. Por convenção, designa-se uma extremidade como o pólo norte (quando as linhas de campo saem do ímã) e a outra de pólo sul magnético.

Dividindo-se um imã permanente ao meio, nenhuma das duas metades resultantes perde o magnetismo: cada uma delas se transforma em um novo imã permanente, apresentando os respectivos pólos norte e sul em suas extremidades. Dividindo em pedaços ainda menores, chegar-se-ia a ímãs minúsculos, mas ainda com as mesmas características do ímã original. Assim cada um desses ímãs, embora com dimensões e poder reduzidos, ainda seria um dipolo.

Cada átomo da natureza pode ser imaginado como um minúsculo imã denominado pela física de momento magnético ($\vec{\mu}$). Estes são considerados equivalentes magnéticos a dipolos elétricos, só que compostos por um pólo norte e um pólo sul em vez de uma carga elétrica positiva e de uma carga elétrica negativa (FARIA, 2005; CALLISTER, 2006).

A energia potencial, E, da interação de um momento magnético, $\vec{\mu}$, com um campo magnético externo, $\vec{H}$, é dada pelo produto escalar dos vetores momento de dipolo e campo magnético:

$$E = -\vec{\mu}\vec{H} \qquad \text{(EQ. 2.3)}$$

Um material magnético de volume V, composto de N átomos com momentos magnéticos terá um momento magnético total μ_i igual à soma de contribuições de todo μ_i desse volume (DUARTE, 2005):

$$\mu = \sum_{i}^{N} \mu_i \qquad \text{(EQ. 2.4)}$$

Outros conceitos são importantes para que se possa compreender as propriedades magnéticas dos materiais:

2.1.5 INDUÇÃO MAGNÉTICA OU DENSIDADE DE FLUXO MAGNÉTICO

Quando um campo magnético $\vec{H}$ é gerado em um meio através de uma corrente, em acordo com a lei de Ampère, a resposta do meio é indução magnética $\vec{B}$, também chamada densidade de fluxo magnético. A relação entre indução magnética e campo magnético é uma propriedade chamada permeabilidade do meio. Em uma equação, pode ser definida como:

$$\vec{B} = \mu\vec{H} \qquad \text{(EQ. 2.5)}$$

onde indução magnética ($\vec{B}$) em um ponto vai ser o produto da permeabilidade magnética (μ) do meio pelo campo magnético ($\vec{H}$) nesse ponto (JILES, 1998).

2.1.6 SUSCEPTIBILIDADE MAGNÉTICA (χ)

A susceptibilidade magnética é definida como uma grandeza que caracteriza um material de acordo com a resposta a um campo magnético aplicado. É uma característica intrínseca de cada material e sua identidade está relacionada com a estrutura atômica e molecular (RIBEIRO, 2000).

2.1.7 COMPORTAMENTO MAGNÉTICO DOS MATERIAIS

As propriedades magnéticas de um material são associadas aos elétrons dos átomos, que têm um momento magnético ($\vec{\mu}$). Numa visão clássica, este momento magnético tem origem nos movimentos em torno de seu próprio eixo e do núcleo do átomo. O momento magnético do elétron, *spin* é, porém, um fenômeno quântico. O valor deste momento é dado em função do magnéton de Bohr (μ_B) (DUARTE, 2005).

De uma forma mais geral, existem dois tipos de magnetismo nos materiais: o magnetismo induzido e o magnetismo espontâneo. O magnetismo induzido só existe na presença de um campo magnético aplicado. O magnetismo espontâneo, como indicado pelo próprio nome, não necessita da aplicação de um campo para existir.

De acordo com a facilidade com que são magnetizados e desmagnetizados, os materiais que apresentam magnetismo espontâneo podem ser divididos em macios (também conhecidos como moles ou doces) e duros. Os considerados macios são facilmente magnetizados e desmagnetizados. Como exemplo, podemos citar materiais como o ferro-silício e óxidos magnéticos macios (ferritas). Os considerados duros, por outro lado, só serão magnetizados quando submetidos a um campo magnético bastante elevado. Uma vez magnetizados, são de difícil desmagnetização. Como exemplo destes materiais tem-se o alnico (liga de alumínio, níquel e cobre) e a ferrita de bário que são utilizados como ímãs permanentes (CULLITY, 2009).

De uma maneira simplificada os principais tipos de comportamento magnéticos conhecidos são:

(A) Diamagnetismo – corresponde ao tipo mais fraco de resposta magnética de um sistema. Todos os materiais apresentam propriedades diamagnéticas.

Entretanto, quando outra forma de comportamento magnético (paramagnetismo ou ferromagnetismo) estiver presente este efeito diamagnético, por ser muito mais fraco, é mascarado. O diamagnetismo é caracterizado por susceptibilidade negativa ($-10^{-6} < \chi < 10^{-5}$). O fato de este valor ser negativo pode ser explicado pela *lei de Lenz* que postula que um circuito submetido a um campo magnético externo variável, cria um campo contrário que se opõe à variação deste campo externo. Nos materiais diamagnéticos o momento angular total dos átomos é nulo ($J = L + S = 0$) onde L é o momento angular orbital e S o momento de *spin*. Isto quer dizer que estes materiais não possuem momento de dipolo magnético intrínseco, sendo este induzido pelo campo magnético externo. A susceptibilidade diamagnética varia muito pouco com a temperatura (RIBEIRO, 2000; CULLITY, 2009).

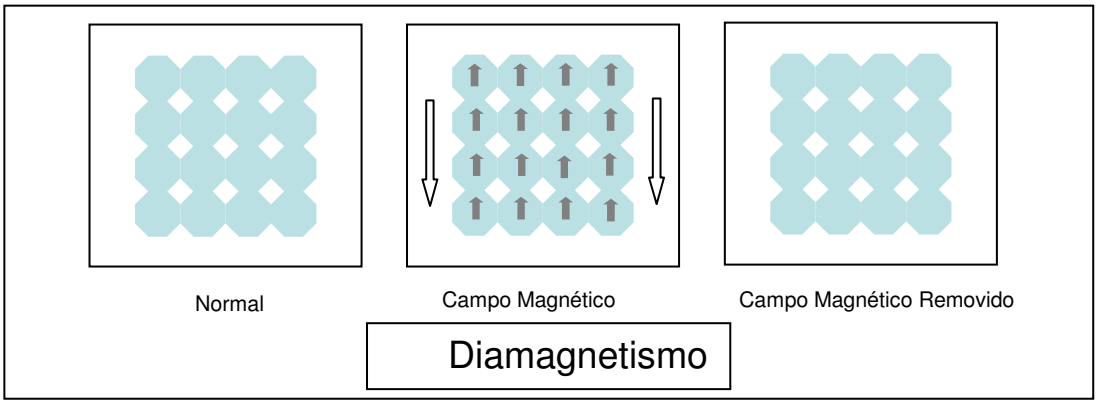


FIG. 2.1 Esquema representativo de um material diamagnético quando submetido a um campo magnético.

(B) Paramagnetismo – estes materiais se caracterizam por apresentar uma susceptibilidade magnética positiva, porém baixa (entre $10^{-5} < \chi < 10^{-3}$). Esta susceptibilidade varia pouco com o campo aplicado e varia inversamente com a temperatura. Na ausência de um campo magnético os dipolos estarão aleatoriamente orientados. A aplicação de um campo externo (B_{ext}) tenderá a alinhar os dipolos na direção do campo magnético. Esta tendência encontrará oposição na agitação térmica. Quanto maior a temperatura (T), menor a susceptibilidade paramagnética. Dois aspectos são importantes para determinação da origem do paramagnetismo: a magnitude de χ e a relação da susceptibilidade e temperatura (T). Em alguns materiais cada átomo se comporta como um pequeno ímã, isto é, cada átomo possui um momento magnético diferente de zero. A causa deste

momento magnético se deve a dois fatores: momento magnético orbital (movimento dos elétrons em suas órbitas) e o momento magnético de spin (campo associado aos spins dos elétrons). Estes mesmos momentos existem também em materiais diamagnéticos, mas os momentos se cancelam como já foi visto anteriormente. Isto nos deixa claro que um átomo contendo número ímpar de elétrons será paramagnético. Podemos expressar a medida em que uma amostra paramagnética é magnetizada pela razão de seu momento dipolo magnético pelo volume V . Então o vetor magnetização M será dado por (DUARTE, 2005):

$$M = \frac{\mu}{V} \qquad \text{(EQ. 2.6)}$$

onde μ é o momento magnético medido e V o volume. A unidade de M é ampere por metro (A/m).

Em 1895 Pierre Curie descobriu experimentalmente que a magnetização de um material paramagnético é diretamente proporcional ao campo magnético externo (B_{ext}) em tesla e inversamente proporcional à temperatura absoluta (T):

$$M = C\frac{B_{ext}}{T} \qquad \text{(EQ. 2.7)}$$

A equação 1.2 ficou conhecida como *Lei de Curie* e C como *constante de Curie*. De acordo com esta lei, aumentando (B_{ext}) há uma tendência de os momentos dipolos atômicos se alinharem em uma amostra e assim aumentar M , ao passo que aumentando T a tendência é perturbar o alinhamento via agitação termal e assim diminuir M . Entretanto, esta lei é uma aproximação, valida somente quando a razão B_{ext}/T não é muito grande (STOPA, 2007).

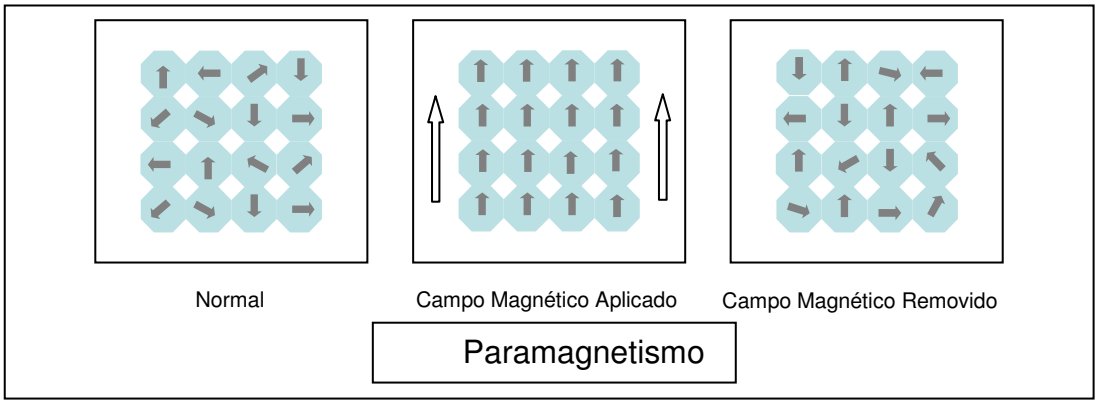


FIG. 2.2 Esquema representativo da resposta paramagnética de um material na presença de um campo aplicado.

Diamagnetismo e paramagnetismo são propriedades magnéticas em que a magnetização é induzida por um campo magnético externo e desaparece assim que o campo é retirado (RIBEIRO, 2000; FARIA, 2005).

(C) Ferromagnetismo – materiais considerados ferromagnéticos são aqueles que apresentam um magnetismo permanente abaixo de certa temperatura T_C. Isto só é possível se existe algum tipo de interação entre os momentos magnéticos atômicos que os ordena direcionalmente, resultando em um momento magnético total não nulo. Elementos como ferro, cobalto, níquel, gadolínio, disprósio e ligas contendo estes elementos exibem esta propriedade devido a um efeito quântico físico chamado acoplamento de troca (*exchange coupling*). Neste efeito, os *spins* de um átomo interagem com os do átomo vizinho resultando no alinhamento dos momentos dipolo magnético dos átomos. Este alinhamento persistente é o que confere aos materiais ferromagnéticos seu magnetismo permanente. Se a temperatura de um material ferromagnético é elevada acima de um valor crítico T_C, chamada de temperatura de Curie, o acoplamento de troca deixa de ser eficaz. Isto faz com que o material se torne paramagnético. Os dipolos mantêm a tendência de se alinhar com o campo externo, mas de uma maneira muito mais fraca e a agitação térmica pode agora muito mais facilmente romper o alinhamento. Para o ferro a *temperatura de Curie* é 1043 K (770°C). Os valores de susceptibilidade magnética estão entre $10^{-2} < \chi < 10^{+6}$ (CULLITY, 2009; RIBEIRO, 2000).

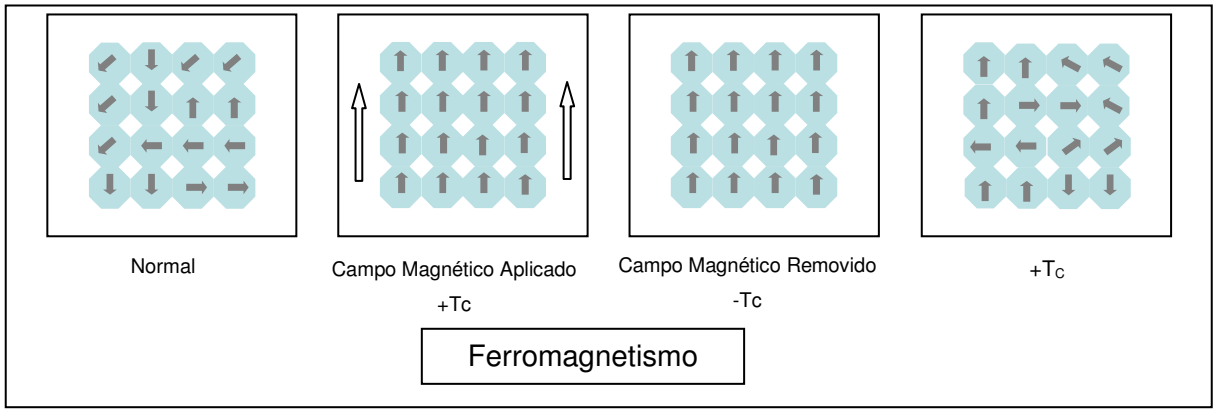


FIG. 2.3 Esquema representando a resposta ferromagnética de um material quando submetido a um campo magnético e a relação do ferromagnetismo com a T_C .

(D) Antiferromagnetismo - como o ferromagnetismo é originado pela interação entre os *spins*, mas esta tende a alinhá-los em direções opostas, assim os momentos vizinhos se cancelam mutuamente.

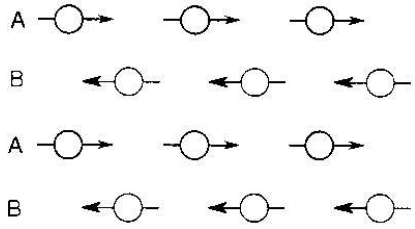


FIG. 2.4 Momentos dipolo magnéticos de um material antiferromagnético (RIBEIRO, 2000).

No antiferromagnetismo, a temperatura crítica é chamada temperatura de Néel T_N , acima da qual o alinhamento espontâneo desaparece e o material recupera o comportamento paramagnético. A susceptibilidade magnética nestes materiais possui valores baixos e positivos, entre $0 < \chi < 10^{-2}$ (CULLITY, 2009).

(E) Ferrimagnetismo – os átomos dos materiais que apresentam esta propriedade possuem um alinhamento paralelo e desigual, isto é, com momentos magnéticos diferentes. O momento magnético total é diferente de zero. A susceptibilidade magnética apresenta valores entre $10^{-2} < \chi < 10^{+6}$. O exemplo mais conhecido de material ferrimagnético é a magnetita (Fe_3O_4). Os íons Fe^{3+} estão distribuídos em dois sítios diferentes da rede, mas com spins magnéticos opostos. Os íons Fe^{2+} (com menor momento magnético) são responsáveis pelo *spin* não

pareado, o que resulta em domínios magnéticos permanentes na magnetita (STOPA, 2007).

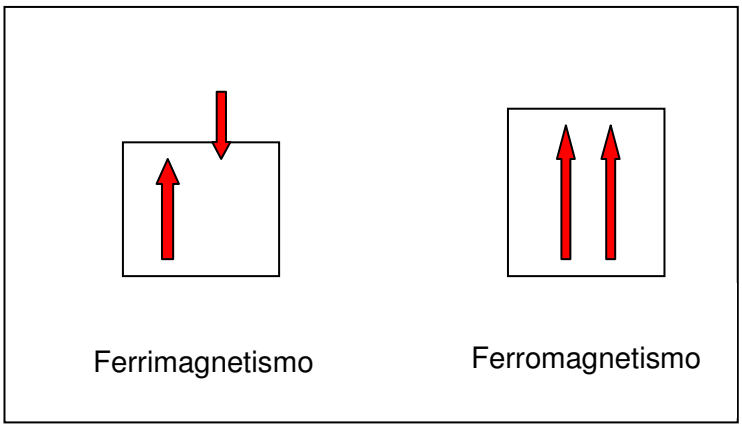


FIG. 2.5 Esquema representando a diferença entre ferro e ferrimagnetismo.

2.1.8 DOMÍNIO MAGNÉTICO

Como visto anteriormente, materiais ferromagnéticos podem existir tanto no estado magnetizado como desmagnetizado. Isto se deve ao alinhamento dos momentos magnéticos atômicos no material. Podemos dizer que cada átomo se comporta como um minúsculo ímã permanente que se alinha paralelamente e de maneira espontânea aos átomos vizinhos em regiões dentro do material. Estas regiões em que predomina um só alinhamento magnético são chamadas domínios magnéticos. Neste aspecto, o ímã microscópico se comporta de maneira análoga à do ímã permanente macroscópico que tende a se alinhar de maneira antiparalela (configuração de menor energia para cada sistema). Os momentos magnéticos alinhados resultam em um momento magnético total grande, porém como a direção é diferente para vários domínios a soma sobre todos os domínios fica próxima de zero. Diz-se que a amostra se encontra desmagnetizada. Quando esta amostra inicialmente desmagnetizada é submetida a um campo magnético ($\vec{H}$), ocorre um rearranjo na distribuição dos momentos magnéticos. O processo de magnetização envolve mudanças na estrutura de domínios (movimento das paredes que separam os domínios) e na direção da magnetização de cada domínio (rotação de domínios).

Isto assegurará a baixa energia do sistema. Diz-se que este material está magnetizado.

Em um material com dimensões extremamente reduzidas, por exemplo, as nanopartículas magnéticas, o volume total da partícula corresponde a um único domínio magnético sendo por isso denominado monodomínio magnético. Assim, cada átomo de uma partícula faz parte de um arranjo magneticamente ordenado como os momentos magnéticos alinhados em uma única direção espacial. O momento magnético total é a soma de todos os momentos atômicos da partícula (RIBEIRO, 2000).

2.1.9 CURVA DE MAGNETIZAÇÃO E DESMAGNETIZAÇÃO (HISTERESE)

Um material ferromagnético é facilmente magnetizado. Quando submetido a um forte campo magnético ($\vec{H}$), a magnetização aproxima-se de um limite chamado saturação. O ponto de saturação é o ponto onde um aumento da força de magnetização não exerce mais nenhuma influência sobre o material. Quando um campo magnético é aplicado e então removido, a magnetização não retorna ao valor original. A este fenômeno dá-se o nome de histerese (RIBEIRO, 2000; CULLITY, 2009).

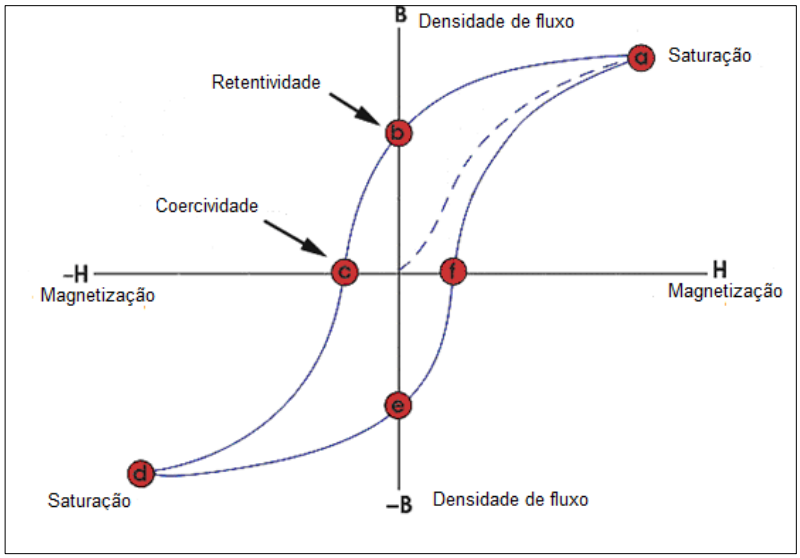


FIG. 2.6 Curva de Histerese (NDT EDUCATION CENTER, 2010).

Como mostra a FIG.2.6, uma grande quantidade de informações sobre o comportamento magnético do material pode ser obtida através da curva de histerese. Esta curva mostra a relação entre a densidade de fluxo magnético induzido (B) com a força de magnetização (H). Por isso é também conhecida como curva ($B \times H$). A curva é gerada medindo-se o fluxo magnético de um material ferromagnético, enquanto a força de magnetização é alterada (RIBEIRO, 2000).

Um material ferromagnético que não foi magnetizado previamente ou que tenha sido completamente desmagnetizado vai seguir a linha pontilhada quando H aumenta. Como mostra a linha, quanto maior a corrente aplicada ($H+$) , mais forte o campo magnético no componente ($B+$) . No ponto “a” quase todos os domínios magnéticos estão alinhados e um aumento na força de magnetização vai influenciar muito pouco no fluxo magnético. O material alcança o ponto de saturação magnética. Quando H é reduzido a zero, a curva vai mover do ponto “a” para o “b”. Neste ponto pode-se notar algum fluxo magnético remanescente no material, mesmo com a força de magnetização reduzida a zero. No gráfico este ponto aparece como retentividade e indica a remanência ou nível residual de magnetismo no material (alguns domínios magnéticos permanecem alinhados, mas outros perdem o alinhamento). Quando a força de magnetização é revertida, a curva se move para o ponto “c”, onde o fluxo foi reduzido a zero. Este é chamado ponto de coercividade da curva. A força necessária para remover o magnetismo residual do material é chamada força coerciva ou coercividade do material (CULLITY, 2009).

Como a força de magnetização aumenta na direção contrária (negativa), o material volta a se tornar saturado magneticamente, mas na direção oposta, isto é, no ponto “d”. Reduzindo-se H a zero leva a curva ao ponto “e”. O nível de magnetismo residual será igual ao alcançado na outra direção. Aumentar H novamente na direção positiva faz com que B retorne a zero. Pode-se notar que a curva não retorna à origem do gráfico, pois uma força maior é necessária para remover o magnetismo residual. A curva vai fazer um caminho diferente do ponto “f” de volta ao ponto de saturação, onde vai completar a curva (ciclo de histerese do material) (RIBEIRO, 2000; CULLITY, 2009).

2.1.10 SUPERPARAMAGNETISMO

Como dito anteriormente, partículas com volume reduzido (com um único domínio) estão magnetizadas uniformemente com todos os *spins* alinhados na mesma direção. Nesse caso a magnetização só pode ser modificada pela rotação simultânea de todos os *spins* da partícula. No caso em que as partículas são tão pequenas que a energia térmica é comparável à energia necessária para mudar a orientação dos *spins*, o momento magnético da partícula como um todo passa a sofrer os efeitos da agitação térmica. Este fenômeno é conhecido como superparamagnetismo (CARDOSO, 2008).

Partículas monodomínio apresentam contribuições anisotrópicas à sua energia total, associadas com a forma, o sujeitamento a tensões ou a própria estrutura cristalina. A energia responsável por manter o momento magnético de uma partícula monodomínio alinhada em uma certa direção pode ser escrita como:

$$E(\theta) = KVsen^2\theta \qquad \text{(EQ. 2.8)}$$

onde K é a constante de anisotropia, V o volume do cristalito e θ o ângulo entre o vetor momento magnético e o eixo de fácil magnetização (CULLITY, 2009).

O volume crítico para o superparamagnetismo é diretamente proporcional a sua temperatura, o que implica que, se houver uma distribuição de partículas com diferentes tamanhos, ao elevar-se a temperatura, estas se tornarão cada vez mais superparamagnéticas (CARDOSO, 2008).

2.2 ÓXIDO DE FERRO (MAGNETITA / MAGHEMITA)

Magnetita (Fe_3O_4) / Maghemita (γ-Fe_2O_3): estes materiais apresentam uma estrutura conhecida como espinélio invertido, caracterizada pelo empacotamento de íons de oxigênio (com raios de ~1,3 Å) em um arranjo cúbico de face centrada e os

íons metálicos (com raios de 0,7 a 0,8 Å) ocupando os sítios entre os íons de oxigênio. Estes sítios são de dois tipos: tetraédrico (íon metálico localizado no centro de um tetraedro, cujos vértices são preenchidos por íons de oxigênio – sítio A); octaédrico (íon metálico no centro de um octaedro cujos vértices são preenchidos por átomos de oxigênio – sítio B). A cela unitária contém 8 íons metálicos de sítios A, 16 de sítios B e 32 oxigênios. Esta estrutura também é encontrada na família das Ferritas com fórmula geral $M^{2+}\ Fe_2^{3+}\ O_4$, onde M^{2+} pode ser um dos seguintes metais divalentes (M^{2+}: Mn, Zn, Cu, Co, Ni e Fe).

Nem todos os sítios são preenchidos pelos íons metálicos. Somente 1/8 dos sítios A e 1/2 dos sítios B estão ocupados. De acordo com a ordem de preenchimento destes sítios podemos classificar os espinélios como normais, inversos ou mistos. Na estrutura normal, os íons metálicos divalentes M^{2+} ocupam os sítios tetraédricos e os íons de ferro trivalentes Fe^{3+} ocupam os sítios octaédricos. Em um espinélio inverso os íons M^{2+} ocupam uma parte dos sítios octaédricos e os íons Fe^{3+} a outra parte dos sítios octaédricos e também os sítios tetraédricos, como no caso da magnetita. No caso de um espinélio misto, temos uma ocupação de sítios intermediária entre a estrutura normal e a inversa (DUARTE, 2005).

A magnetita e a maghemita apresentam estruturas semelhantes com parâmetro de rede a = 0.839 nm e a = 0.834 nm, sendo muito difícil diferenciar estas duas fases. O que as diferencia é o fato de que na maghemita, todos ou quase todos os íons Fe se apresentam em estado trivalente. Isto quer dizer que na maghemita, ambos os sítios A e B são ocupados por átomos trivalentes Fe^{3+}. A maghemita apresenta cela unitária cúbica com a (0,834 nm) determinado por *Hägg* (1935). Cada cela de maghemita contém 32 íons O^{2-}, $21^1/_3$ íons Fe^{3+} e 2 $^1/_2$ de vacâncias. Oito cátions ocupam o sítio tetraédrico e os restantes estão aleatoriamente nos sítios octaédricos. As vacâncias são limitadas aos sítios octaédricos. Existem vários trabalhos publicados sobre a dificuldade em se determinar as fases magnetita e maghemita (CORNELL, 2003). O Espectro *Mössbauer* é uma ferramenta importante na determinação destas duas fases, visto que os espectros obtidos são diferentes.

2.2.1 NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO SUPERPARAMAGNÉTICAS

Os materiais magnéticos desempenham papel extremamente importante nas aplicações tecnológicas do magnetismo. Nos últimos anos, a pesquisa em materiais magnéticos ganhou impulso por conta de descobertas feitas com estruturas artificiais de filmes finos e nanopatículas magnéticas. Estas partículas mostrando comportamento superparamagnético têm sido amplamente estudadas para várias aplicações. Todo este interesse se dá porque primeiro, elas podem apresentar tamanhos que as colocam em dimensões comparáveis às dos vírus (20-50 nm), proteínas (5-50 nm) ou genes (2 nm de espessura e 10-100 nm de comprimento). Segundo, por serem magnéticas, as nanopartículas podem ser facilmente magnetizadas e concentradas em um local específico quando aplicado um campo magnético externo. Quando este campo é removido elas são redispersas. Terceiro, as nanopartículas apresentam uma grande superfície que pode ser modificada para serem anexadas a agentes biológicos (TARTAJ, 2005).

Outras características importantes das partículas de óxido de ferro magnéticas são as baixas toxicidades para os seres humanos, biocompatibilidade, injetabilidade e o alto nível de acumulação no tecido ou órgão alvo (ITO, 2005). Os seguintes parâmetros são críticos para as nanopartículas magnéticas:

- Tamanho das partículas – o menor possível, o que produz uma boa difusão tissular, períodos longos de sedimentação e alta área de superfície ativa;

- Característica da superfície – fácil encapsulamento das nanopartículas magnéticas, o que as protege de degradação e as dota de biocompatibilidade;

- Boa resposta magnética – possibilidade de baixa concentração destas partículas no sangue o que diminui os efeitos colaterais.

Recentemente as atenções têm sido voltadas para métodos simples e reprodutíveis de síntese de nanopartículas magnéticas com tamanho e forma desejáveis sem aglomeração de partículas. A maior dificuldade em sintetizar partículas ultrafinas é o controle do tamanho da partícula em escala nanométrica. Essa dificuldade se dá por causa da alta energia de superfície deste sistema (TARTAJ, 2005).

Como mecanismo de atuação das nanopartículas está ligado diretamente à grande área superficial, uma aglomeração das mesmas inibe este mecanismo. As aglomerações acontecem devido à presença das forças de Van der Waals e da energia de superfície. Estas forças existentes no aglomerado podem ser rompidas através de processos físicos como o cisalhamento, que possibilita o rompimento desses, ou químicos, que envolvem adição de surfactantes ou funcionalização da superfície. A tensão interfacial age como força motriz reduzindo espontaneamente a área de superfície, crescendo durante os passos iniciais de precipitação (nucleação e crescimento) e durante o envelhecimento (amadurecimento de Ostwald) (TARTAJ, 2005; MAITY, 2007).

Além da tendência a aglomerar, outro problema comum às nanopartículas magnéticas, é sua instabilidade com respeito à oxidação quando exposta ao ar. Para superar estes problemas, muitos autores estão fazendo a síntese em condições inertes, como por exemplo, em atmosfera de argônio e nitrogênio e as revestindo com surfactantes e polímeros (CHASTELLAIN, 2004).

Devido à oxidação durante a síntese, a composição final das nanopartículas magnéticas pode ficar entre magnetita (Fe_3O_4) e maghemita (γ-Fe_2O_3). A alta reatividade se dá obviamente devido a alta razão volume/superfície, mas a oxidação aérea não é o único caminho para a maghemita. Devido à elevada mobilidade dos elétrons no "*bulk*", as nanopartículas de magnetita apresentam uma química de superfície interessante. Diferentes trocas interfacias iônicas e/ou eletrônicas podem estar envolvidas na transformação dependendo do pH da suspensão. Em meio básico, a oxidação da magnetita se dá através de uma redução do oxigênio na superfície da partícula (somente transferência eletrônica) e coordenação dos íons óxidos, enquanto em meio ácido e condições anaeróbias, íons Fe^{2+} da superfície são dessorvidos como complexos hexaaquo em solução (transferência iônica e eletrônica):

$$[Fe^{3+}]_{Td}[Fe^{2.5+}{}_2]_{Ok}O_4 + 2H^+ \rightarrow 0.75[Fe^{3+}{}_{\frac{5}{3}}V_{\frac{1}{3}}]_{Oh}O_4 + Fe^{2+} + H_2O \qquad \text{(EQ. 2.9)}$$

Em ambos os casos, a oxidação do íon Fe^{2+} está correlacionada com a migração de cátions através da estrutura criando lacunas a fim de manter o equilíbrio de cargas (JOLIVET, 2006).

2.2.2 PROPRIEDADES MAGNÉTICAS DAS NANOPARTÍCULAS

As nanopartículas magnéticas são ditas superparamagnéticas significando que são atraídas por um campo magnético, mas não retêm nenhum magnetismo após a remoção do campo. Esta propriedade já foi discutida no item 2.1.6.

As propriedades físicas e químicas dessas nanopartículas dependem fortemente do método de síntese e da estrutura química. Os tamanhos geralmente estão entre 1 e 100 nm, e podem apresentar superparamagnetismo quando o diâmetro estiver nessa faixa (AN-HUI-LU, 2007). Existem na literatura várias rotas de produção de nanopartículas magnéticas. A rota escolhida neste trabalho foi a coprecipitação de Fe^{+2} e Fe^{+3} em solução de NH_4OH, que será discutida detalhadamente mais adiante.

Como exemplo de outros métodos de produção de nanopartículas magnéticas, podemos citar o método sonoquímico, onde ultra-som é utilizado para irradiar precursores organometálicos ou em solução. Os métodos eletroquímicos e de eletrodeposição são rotas geralmente usadas para preparação de nanocristais cobertos por óxidos. No método hidrotérmico as reações são aquosas e conduzidas em autoclaves ou reatores. Nessa condição supercrítica a água atua como um agente da reação, acelerando o processo cinético das reações de hidrólise. Outro método que se mostra bastante eficiente é o que envolve a decomposição térmica de líquidos. Nanopartículas de magnetita esféricas podem ser obtidas pela reação de sais de Fe^{3+}, uma base e um oxidante moderado (íons de nitrato) em soluções aquosas. Cardoso (2008) em sua tese de mestrado produziu nanopartículas de magnesioferrita pelo método sol-gel/combustão. Pode-se citar ainda métodos que envolvem reações de estado sólido, induzidas por plasmas, mecanossíntese, arcos elétricos, temperaturas elevadas, entre outros (SCHETTINO, 2009).

2.3 ORGANISMOS MAGNETOTÁCTICOS

As primeiras observações feitas destes organismos que se orientam e migram paralelamente ao campo geomagnético foram feitas por acaso pelo microbiologista italiano *Salvatore Bellini* em 1958. Examinando sobre uma lâmina, uma gota de água residual coletada de um buraco cavado na terra, percebeu que alguns microorganismos migravam em uma única direção, mesmo quando se girava a placa do microscópio. O experimento foi repetido coletando-se material de outros ambientes com diferentes tipos de sedimentos (poças, lagoas, pântanos, lagos fechados e águas rasas), mas o resultado foi o mesmo e os microorganismos envolvidos migravam sempre na mesma direção, sempre de forma idêntica. Depois de vários outros experimentos em outras horas de dia, em outros equipamentos, chegou à conclusão que o microorganismo migrava na direção correspondente ao norte magnético. Os trabalhos foram publicados em 1963, mas somente em italiano pelo Instituto de Microbiologia de Pavia, Itália (BELLINI, 1963). Com seus experimentos, *Bellini* levantou algumas hipóteses que foram posteriormente confirmadas:

- Estes microorganismos contêm material magnético biomineralizado;
- A interação entre o dipolo celular e o campo aplicado é o que causa a orientação;
- Microorganismos coletados no Hemisfério Sul Magnético devem migrar no sentido do Pólo Sul Magnético e vice-versa (células coletadas no Hemisfério Norte Magnético devem migrar no sentido do Pólo Norte Magnético). Estes organismos foram chamados por *Bellini* de bactérias magnetosensíveis. Porém seus trabalhos pouco repercutiram no meio acadêmico (BELLINI, 1963).

No início dos anos 70, como estudante no laboratório de *E. Canale - Parola* (departamento de microbiologia da Universidade de *Massachusetts*), o microbiologista americano *Richard Blakemore* notou em suas amostras, coletadas de uma área pantanosa em torno do *Lago Eel* em *Woods Hole*, Massachusetts, que além da população microbiana normal, havia microorganismos com um comportamento particular. Estes organismos migravam praticamente em uma única direção geográfica, mesmo quando o microscópio tinha a posição invertida, removia-

se a luz ou quando o microscópio era movido para outro local. A sensibilidade das células ao campo magnético, ficou evidente quando um imã foi trazido para perto do microscópio. Elas eram orientadas para o mesmo lado (o Norte da bússola) e migravam em sentido oposto quando o ímã era invertido. Observou-se que a velocidade com que os organismos nadavam era muito alta, 100 µm/s. *Blakemore* chamou o achado de "completamente inesperado" e assim, a partir de seu trabalho, iniciou-se uma série de estudos sobre estas bactérias sensíveis ao campo geomagnético, a qual denominou organismos magnetotácticos (BLAKEMORE, 1982).

O termo "bactéria magnetotáctica" não tem significância taxonômica e representa um grupo heterogêneo de organismos procariontes (organismos unicelulares que não apresentam material genético delimitado por uma membrana), que exibem diferentes morfologias celulares, incluindo cocóides, bastonetes, vibrióides, espirilos e até mesmo multicelulares. Estes microorganismos se alinham e nadam paralelamente às linhas do campo geomagnético, fenômeno conhecido como magnetotaxia (BLAKEMORE, 1982). A magnetotaxia é um mecanismo de orientação com resposta passiva ao campo magnético, orientando-se ao longo das linhas de força deste campo. Este fenômeno será novamente mencionado na sessão sobre as propriedades magnéticas destes organismos.

O comportamento magnetotáctico das bactérias magnéticas deve-se ao fato de que elas são capazes de biomineralizar pequenos cristais de óxido de ferro magnético (magnetita, Fe_3O_4) ou sulfeto de ferro magnético (greigita, Fe_3S_4) (FRANKEL, 2006). Estes cristais encontram-se no interior de organelas especializadas, os magnetossomas, que surgem no citoplasma antes da biomineralização.

2.3.1 PROPRIEDADES ESTRUTURAIS DAS BACTÉRIAS MAGNETOTÁCTICAS

Todas as bactérias magnetotácticas contêm magnetossomas, que são os cristais de ferro magnético dentro de vesículas membranosas em seu citoplasma. Os magnetossomas consistem em uma dupla camada de lipídios que representam o

terceiro compartimento membranoso em adição à membrana externa e a citoplasmática (BAZYLINSKI, 2004).

Uma pergunta frequente no que diz respeito ao estudo das bactérias magnetotácticas desde sua descoberta é como elas formam e organizam seu magnetossoma. A construção do magnetossoma bacteriano parece ser um processo complexo, que envolve uma série de passos incluindo:

(i) formação da vesícula (magnetossoma);

(ii) arranjo das vesículas em cadeias;

(iii) captação de ferro pela célula;

(iv) transporte do ferro para dentro do magnetossoma;

(v) biomineralização controlada de Fe_3O_4 (ou Fe_3S_4) (BAZYLINSKI, 2004).

Já que o processo de cristalização apresenta características consistentes com um processo de mineralização biologicamente controlado, imagiou-se que a síntese do magnetossoma estava sob controle genético (BLAKEMORE, 1982). Quando descobriu-se que estas bactérias produzem ambos os cristais Fe_3O_4 e Fe_3S_4, cada um com uma morfologia diferente dentro de uma mesma cadeia, foi sugerido que a formação da cadeia de magnetossoma também está sob controle genético e envolve genes diferentes dos da síntese do magnetossoma (FRANKEL, 2006). A membrana do magnetossoma, que se origina da membrana citoplasmática por invaginação, representa um compartimento subcelular distinto e tem uma composição bioquímica especial. Acredita-se que existam 20 proteínas específicas do magnetossoma que tem função na formação deste, no transporte de ferro para dentro do mesmo, controle da cristalização e arranjo intracelular das partículas de magnetita. A montagem da cadeia envolve a ação de uma proteína ácida que liga o magnetossoma à nova estrutura do citoesqueleto. Um total de 28 genes presentes em diversas bactérias magnéticas foi identificado como sendo especificamente associados com o fenótipo magnetotáctico (SCHÜLER, 2008).

O tamanho, composição e forma cristalinas (FIG. 2.7) são consistentes dentro de cada espécie bacteriana. O magnetossoma limita o tamanho máximo do cristal, de 35-120 nm de diâmetro. Estes cristais biomineralizados se encontram nas dimensões de monodomínios magnéticos e apresentam alta pureza química. Os magnetossomas podem estar organizados em cadeias lineares ou em complexas distribuições planares gerando um momento magnético permanente na célula. Por

causa da posição fixa da cadeia dentro da célula, esta é orientada passivamente pelo campo magnético enquanto a bactéria nada, o que faz com que a mesma se comporte como uma bússola magnética que migra ao longo das linhas do campo geomagnético (BAZYLINSKI, 2004).

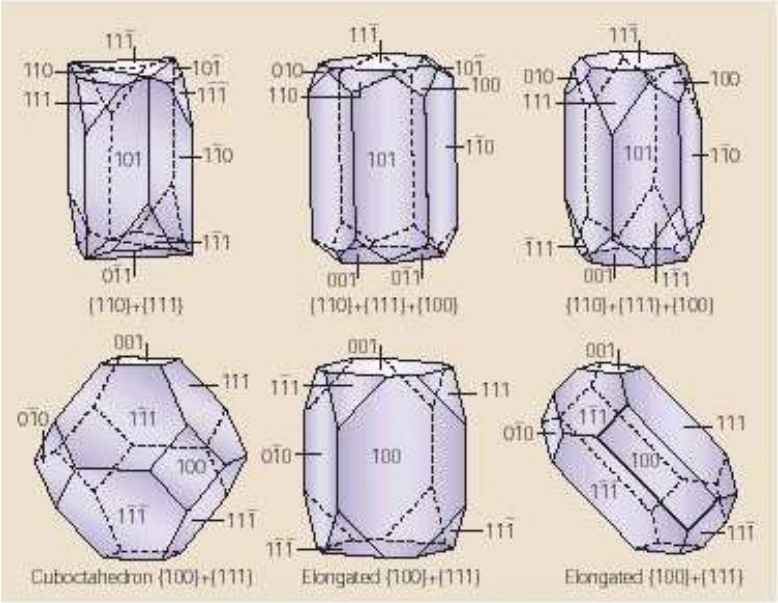


FIG. 2.7 Morfologia do cristal do magnetossoma (BAZYLINSKI, 2004).

O avanço nas pesquisas genéticas envolvendo bactérias magnetotácticas levou à identificação de uma grande ilha genômica que contém muitos genes suspeitos do envolvimento na formação do magnetossoma e do seu posicionamento na célula. Estes genes são conhecidos como genes mam (GRÜNBERG, 2001).

Scheffel et al., propuseram um modelo para a montagem da cadeia magnetossômica em que a proteína MamJ conecta inicialmente vesículas vazias aos filamentos do citoesqueleto. O crescimento dos cristais de magnetita tem início dentro das vesículas e o magnetossoma se move para o meio da célula onde as cadeias são formadas (SCHEFFEL 2005, apud FRANKEL, 2006).

Komeili et al., publicaram seu trabalho com o gene MamK quase que simultaneamente com Scheffel. Os trabalhos se mostraram complementares: ambos MamJ e MamK são responsáveis pela formação da cadeia magnetossômica. Supressão de mamJ ou de mamK leva a uma interrupção na formação do magnetossoma. Ambos os trabalhos, juntamente com outros anteriores, mostram

que as vesículas magnetossômicas se formam primeiro, seguidas de nucleação e crescimento de cristais magnéticos (FRANKEL, 2006).

A síntese de cristais de magnetita em cepas de *Magnetospirillum* depende de condições de pouco oxigênio ou anaeróbias, ao passo que concentrações altas de oxigênio suprimem integralmente a biomineralização de magnetita ou resulta na formação de cristais pequenos ou deformados (SCHÜLER, 2008).

2.3.2 PROPRIEDADES MAGNÉTICAS DAS BACTÉRIAS MAGNETOTÁCTICAS

A orientação das bactérias magnetotácticas é causada pela interação do momento magnético do organismo com um campo magnético e é efetiva mesmo em campos da mesma ordem do campo geomagnético. Determinar as propriedades magnéticas das bactérias magnetotácticas é um ponto importante para seu completo entendimento (WAJNBERG, 1986).

A magnetotaxia é um tipo de taxia eficiente que permite a orientação de vários microorganismos (bactérias, multicelulares procariontes, algas, etc.) e uma velocidade de migração muito elevada. Em alguns casos esta velocidade pode atingir valores maiores que 200 µm/s, ou seja, mais de 100 vezes o diâmetro do organismo. A migração rápida é um fator importante na escala microscópica (MARGATO, 2007).

Diferentemente de outras formas de taxia (fototaxia, quimiotaxia, etc.), em que o organismo tem que comparar características do meio em pontos diferentes e, por tentativa, atingir locais mais ricos em nutrientes (ou mais pobres em substâncias tóxicas), a magnetotaxia é útil à bactéria. Com isto, parece aumentar a eficiência em achar e manter a posição em uma preferida concentração de oxigênio em um gradiente concentração vertical em ambiente aquático (FRANKEL, 2006).

O campo geomagnético possui uma inclinação com relação ao plano tangente à superfície terrestre: aponta para cima no hemisfério sul magnético (HSM) e para baixo no hemisfério norte magnético (HNM). Desta forma organismos que se encontram adaptados no HSM, e nadam para regiões mais profundas, não sobrevivem no HNM e vice-versa (FIG. 2.8).

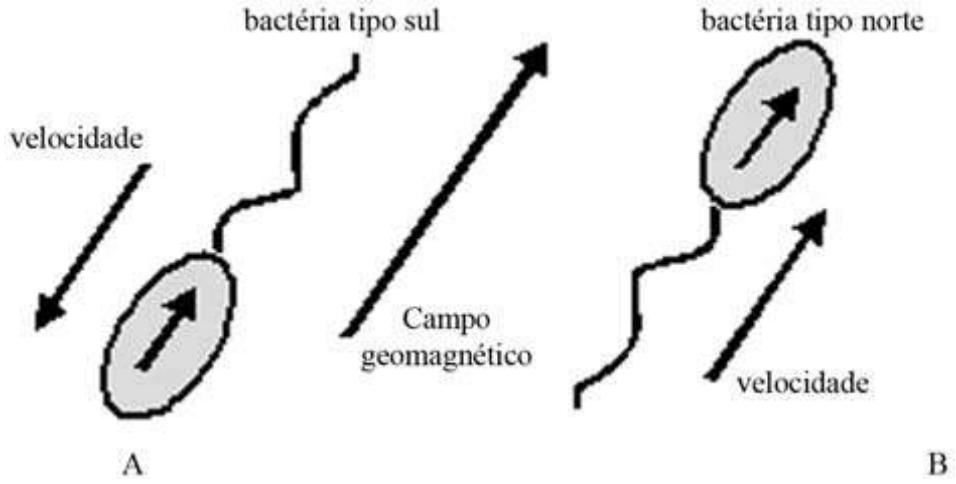


FIG. 2.8 Orientação magnética das bactérias (MARGATO, 2007).

Esta interpretação, porém, não é satisfatória em algumas situações observadas. No Equador Magnético, onde o campo geomagnético apresenta inclinação nula, encontram-se os dois tipos de organismos. Neste caso, a orientação magnética não terá como resultado a migração para regiões mais fundas com menor concentração de oxigênio (LINS DE BARROS, 1990). Foram encontrados também organismos com dependência sazonal e bactérias bipolares que podem se deslocar nos dois sentidos.

Um aspecto importante dos microorganismos magnetotácticos é o fato de que é possível, aplicando-se um pulso magnético intenso (acima de ~500 Gauss) inverter a polaridade do organismo e transformá-lo em um organismo de outro tipo mantendo-se a viabilidade (por exemplo, um organismo tipo sul transforma-se em tipo norte) (MARGATO, 2007).

Para se ter uma medida direta do momento magnético e anisotropia de organismos magnetotácticos, estimativas indiretas do momento são feitas com análise U-turn (análise do movimento quando o campo aplicado é subitamente invertido) e por medidas em microscopia eletrônica. Wajnberg et al. fizeram medidas com SQUID (Superconducting Quantum Interfering Device) a 4.2 K. Os resultados se mostraram compatíveis com as medidas em microscopia eletrônica (WAJNBERG, 1986).

2.4 PARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO OBTIDAS POR MOAGEM

Recentemente foi proposto que pinturas a óleo podem ser autenticadas através da impressão digital magnética obtida através da medida da magnetização da pintura na tela, usando a técnica de *Scanning SQUID*. Isto só é possível devido às propriedades ferromagnéticas de algumas tintas (COSTA RIBEIRO, 2007).

Todas as tintas têm na sua origem os pigmentos, que são uma suspensão de partículas opacas sólidas (que lhe dão a cor) e um veículo fluído, no qual a cor está contida. As partículas têm a função de cobrir e colorir; o veículo tem a função de aglutinar as partículas para formar uma película de proteção. Os pigmentos são também responsáveis pela opacidade das tintas e possuem partículas com tamanho aproximado de 0.2 a 20 µm de diâmetro. Estes podem ser orgânicos ou inorgânicos. Os pigmentos inorgânicos como óxido de ferro, ocorrem em uma variedade de cores e vem sendo usados desde a pré-história. Na França e no Norte da Espanha, pinturas rupestres usando pigmentos de óxido de ferro datam de aproximadamente 30.000 anos. Os principais pigmentos minerais são (PIGMENTS THROUGH THE AGES, 2011):

- hematita, Fe_2O_3 (vermelho)
- magnetita, Fe_3O_4 (marrom ao preto)
- goethita, $\alpha FeOOH.xH_2O$ (amarelo)
- lepidocrocita, $\gamma FeOOH.xH_2O$ (amarelo).

Os primeiros pigmentos de óxido de ferro sintéticos começaram a ser produzidos em laboratório no século XVIII. Ao primeiro deles foi dado o nome de Vermelho de Marte (Fe_2O_3). Estes pigmentos continham as mesmas propriedades dos seus homólogos da natureza, isto é, os pigmentos de óxido de ferro naturais. A partir do século XIX, a produção passou a ser regular. Gradualmente o processo de fabricação foi sendo aperfeiçoado e foram criados o Amarelo de Marte (FeO(OH)) e o Negro de Marte (Fe_3O_4), também conhecido como óxido de ferro negro, óxido magnético e pigmento preto 11. Estes pigmentos não fornecem riscos conhecidos para a saúde e são considerados não-tóxicos (SCHOSSLER, 2001).

Pigmentos sintéticos à base de óxido de ferro podem ser produzidos de várias maneiras, incluindo decomposição térmica dos sais de ferro, tais como sulfato ferroso para produzir os vermelhos; precipitação para produzir amarelos, vermelhos, marrons e pretos. Como exemplo podemos citar o processo *Penniman-Zoph* que consiste basicamente em um reator, uma fonte de ferro, como sucata, que é atacada quimicamente por ácidos e álcalis, e submetida a calor úmido (vapor), com o objetivo de provocar a oxidação do metal na forma hidratada, dando origem ao pigmento amarelo e ao preto. Parte do material amarelo é calcinada, para retirar a água retida, gerando o óxido de ferro vermelho. Os tons intermediários, como os marrons, são obtidos por meio de misturas. Outro método é o de redução dos compostos orgânicos pelo ferro, por exemplo, o nitrobenzeno reduzido à anilina na presença de certas substâncias químicas. Este método é utilizado para produzir amarelos e pretos. Com a calcinação destes produz-se vermelho (VIRT, 2010; POTTER, 2007; FAIRBANKS, 2010).

Após este processo, o óxido de ferro passa por moagem. Esta moagem pode ser convencional para a obtenção de granulometria de aprox. 20 μm, suficiente para tintas em geral, ou moagem superfina em moinho agitador que pode reduzir a faixa de granulometria média para 40 a 100 nm. Algumas tintas aplicadas em recobrimentos e gráficas exigem moagem da ordem de 1 μm ou menor. O processo de moagem do pigmento é um exemplo de um processo físico de obtenção de partículas de óxido de ferro (HARBS, 2011).

2.5 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

2.5.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)

Em 1925, Louis de Broglie teorizou que o elétron tinha características de uma onda, com comprimento substancialmente menor que a luz visível. Não demorou muito para que a idéia de um microscópio eletrônico fosse proposta por Knoll e Ruska em 1932. Hoje, a microscopia eletrônica de transmissão constitui

indiscutivelmente uma das mais eficientes e versáteis ferramentas para caracterização de materiais. Obtida uma amostra fina e representativa o MET permite a obtenção de imagens em campo claro e escuro referente à microestrutura e morfologia; figura de difração, referente à cristalografia, estrutura e composição; análise de raios X, composição elementar (MANNHEIMER, 2002).

As imagens são produzidas pela detecção de elétrons transmitidos através de amostras muito finas, fornecendo informações detalhadas da estrutura interna (WILLIAMS, 1996). De um modo geral, uma excitação incidente desencadeará na matéria uma resposta, um sinal, que podemos adquirir com um sensor adequado. Um número considerável de tais efeitos ocorre quando um feixe de elétrons, acelerado por um campo de alta tensão, incide sobre uma amostra. Os sinais, elétrons ou radiação, são utilizados pelas diversas técnicas de microscopia eletrônica para obtenção de imagens e caracterização de materiais. Os efeitos primários são: espalhamento elástico (mudança de direção sem perda apreciável de energia) e espalhamento inelástico (perda de energia com pequena mudança de direção) (MANNHEIMER, 2002).

Espalhamento elástico é causado principalmente pela interação com núcleos atômicos e resulta em consideráveis desvios angulares na direção da incidência. À medida que os elétrons penetram na matéria, deixam de seguir a direção original do feixe e passam a se difundir aleatoriamente. Sua penetração vai depender basicamente de sua energia (tensão de aceleração) e do número atômico do material. Para amostras de baixo número atômico, a probabilidade de espalhamento é pequena, pois os elétrons incidentes penetram profundamente e são absorvidos pelo material, resultando em poucos elétrons retroespalhados (de acordo com o ângulo de espalhamento). Já em amostras de alto número atômico, é considerável o espalhamento próximo à superfície e uma grande parcela de elétrons escapa como retroespalhados. Caso os átomos do material estejam dispostos de uma maneira periódica, na forma de um sólido cristalino, o espalhamento ocorre de modo regular e repetitivo emergindo em ângulos definidos em relação ao feixe incidente. Devido à natureza ondulatória dos elétrons, este tipo de espalhamento vai ser responsável pelos padrões de difração da microscopia eletrônica de transmissão.

Espalhamento inelástico ocorre principalmente por interação com os elétrons orbitais da amostra. Estes processos são responsáveis pela absorção dos elétrons

incidentes e a transformação de quase toda a energia cinética em calor. Uma parte pequena, porém importante da energia, escapa sobre a forma de raios X e elétrons emitidos (secundários e Auger), que são de grande importância na microscopia (MANNHEIMER, 2002; WILLIAMS, 1996).

Um microscópio eletrônico de transmissão consiste basicamente em uma fonte emissora de elétrons e um conjunto de lentes eletromagnéticas que controlam o feixe emitido, encerrados em uma coluna evacuada com uma pressão cerca de 10^{-4} Pa. Os METs utilizados neste trabalho operam na faixa de tensão convencional, de 80 a 200 kV, mas existem os microscópios de alta resolução, que operam na faixa de 300 a 400 kV (GOODHEW, 2001).

A fonte emissora de elétrons ou canhão de elétrons é o iluminador do microscópio. Duas fontes são utilizadas: termoiônicas - filamento de tungstênio (mais tradicional) e um cristal afilado de LaB_6 (hexaboreto de lantânio); emissão de campo - FEG (*field emission gun*), que utiliza monocristais de tungstênio, afilados a um raio de < 100 nm (MANNHEIMER, 2002; WILLIAMS, 1996; GOODHEW, 2001).

O sistema de lentes no MET conduz à convergência do feixe. Abaixo do canhão de elétrons estão duas ou mais lentes condensadoras, responsáveis por convergir o feixe e controlar o diâmetro e a convergência deste sobre a amostra. A função da lente objetiva é formar a primeira imagem ou figura de difração. As lentes intermediárias e projetoras adquirem a imagem ou figura de difração e por meio de aumentos sucessivos, formam a imagem final projetada em uma tela fluorescente. O MET dispõe ainda de um conjunto de aberturas: abertura da condensadora, abertura da objetiva e diafragma de campo. As aberturas limitam o ângulo de coleta das lentes, deixando passar certos elétrons e excluindo outros. A abertura da lente objetiva permite o controle da resolução da imagem formada pelas lentes, profundidade de campo e de foco, contraste de imagem e etc. O diafragma de campo limita a região da amostra a ser observada (MANNHEIMER, 2002; GOODHEW, 2001).

A FIG. 2.9 mostra o esquema do MET com suas lentes e aberturas no modo imagem e no modo difração. Nota-se que para passar do modo imagem para o modo difração, retira-se a abertura da objetiva e insere-se o diafragma de campo.

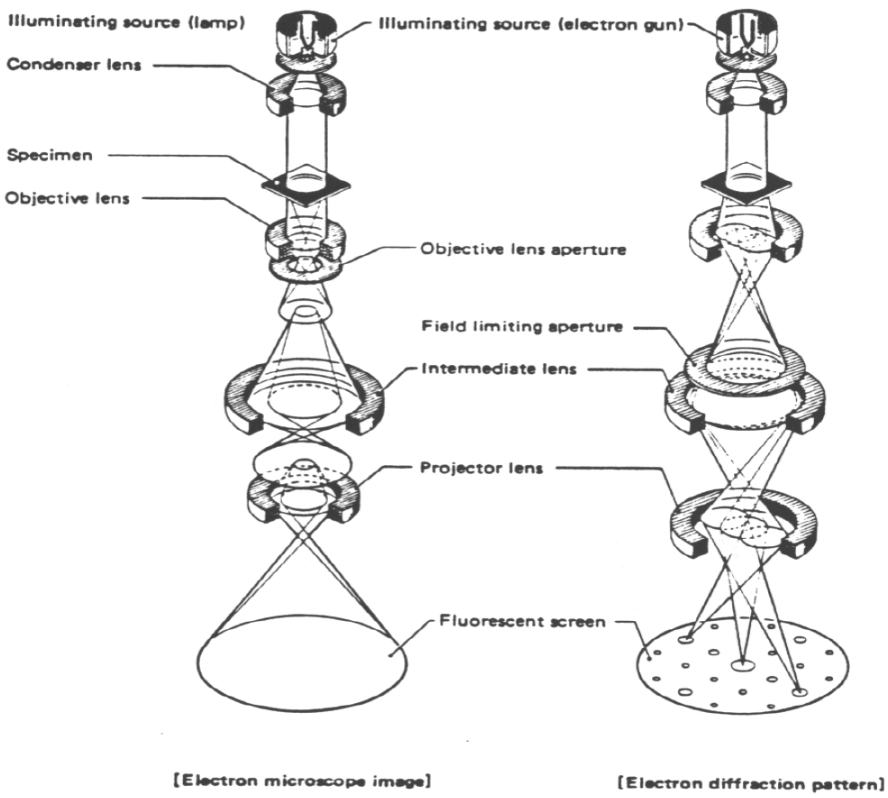


FIG. 2.9 Esquema representativo do MET (JEOL). (a) modo imagem; (b) modo difração.

2.5.2 ESPECTROSCOPIA POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDS)

A técnica de EDS é uma importante ferramenta de microanálise que fornece composição química qualitativa ou semi quantitativa de regiões ou fases da amostra observada. Nessa técnica, um detector semicondutor é posicionado de tal forma que a maior quantidade de raios X emitidos pela amostra sejam coletados por ele (GOODHEW, 2001). O sinal emitido pelo semicondutor é proporcional à energia do fóton de raios X incidente. O esquema de detecção consiste basicamente em raios X que atravessam uma janela de berílio e produzem um par elétron-buraco em um cristal de silício dopado com lítio. Cada par requer, para sua formação, uma energia

de 3.8 eV e o número de pares produzidos por um fóton de energia E será E/3.8. A corrente gerada (de intensidade proporcional à energia do fóton incidente) é pré-amplificada e processada em um sistema eletrônico. Depois de amplificado, o sinal é encaminhado para um analisador multicanal, onde são acumuladas as contagens correspondentes à energia de cada fóton processado. Esta contagem é representativa da proporção de cada elemento presente e dá origem a um espectro. Desta forma, esta técnica permite a identificação dos elementos químicos constituintes da região analisada (MANNHEIMER, 2002).

2.5.3 MEDIDA DA ÁREA DAS PARTÍCULAS

Para medida da área das partículas, utilizou-se a técnica de processamento de imagens digitais. Um dos objetivos do processamento de imagens é a extração de informações fornecidas por parâmetros que possibilitarão a descrição, interpretação ou entendimento da cena pelo computador. Assim sendo, a análise difere de outras técnicas de processamento, tal como restauração e realce, onde a imagem de entrada é uma e a de saída é outra. Os *softwares* escolhidos para o processamento das imagens deste estudo foram o *Image J* e o *Adobe Photoshop CS5*.

2.5.3.1 *IMAGEJ*

O *ImageJ* é um *software* para processamento e análise de imagens, desenvolvido por Wayne Rasband no *National Institute of Mental Health*, USA, em linguagem *Java*. Com ele é possível realizar várias tarefas de processamento e análise de imagens. Há ferramentas de ajuste de brilho e contraste, ferramentas de segmentação e análise, medição de distâncias e ângulos, entre outras.

Com este *software* é possível exibir, editar, analisar, processar, salvar e imprimir imagens de 8 *bit*, 16 *bit* e de 32 *bit*. Permite o processamento de diversos formatos de imagem como TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS. Suporta “pilhas”, isto é,

uma série de imagens que compartilham uma única janela. Além disso, a leitura de um arquivo de imagem pode ser feita paralelamente a outras operações. A janela contendo os resultados (área, perímetro, etc) permite que estes sejam exportados para um arquivo com formato XLS (Microsoft Excel). No *ImageJ*, o cálculo das áreas é feito pela contagem de *pixels* das seleções definidas pelo usuário (RASBAND, 2011).

Como o *ImageJ* reconhece os objetos pela cor dos *pixels*, é necessário usar um *plugin* instalado junto com o *software* para fazer a inversão de cores. *Plugin* é um programa de computador usado para adicionar funções a outros programas maiores, provendo alguma funcionalidade especial ou muito específica. Para a medição das partículas deste trabalho o *plugin* de escolha foi o *Watershed*.

A transformação *watershed* é baseada na simulação de inundação: considerando a imagem de entrada em níveis de cinza como uma superfície topográfica, o objetivo é produzir linhas de divisão de águas nesta superfície. Para tal, um furo é feito em cada mínimo regional da superfície. Mínimo regional é uma zona plana não adjacente a nenhuma outra zona plana com menor altitude (nível de cinza). Uma zona plana é uma área onde todos os *pixels* têm o mesmo nível de cinza. A superfície é então, submersa a uma taxa constante, de modo que a água entre pelos mínimos regionais. Quando frentes de água, vindas de diferentes mínimos regionais, estão prestes a se encontrar, uma barreira é construída para evitar tal encontro. Em algum momento, o processo chega a um estado tal que somente os topos das barreiras estão visíveis acima do nível da água, correspondendo às linhas de *watershed*. Dessa forma, quando a transformação *watershed* é aplicada, induzimos o aparecimento de linhas de divisão de águas sobre as bordas dos objetos, separando-os (KLAVA, 2009).

Para entender o papel desempenhado pelo *watershed*, é necessário entender de segmentação de imagens. De modo simplificado, segmentar uma imagem significa separá-la em suas partes constituintes, diferenciando-as. A segmentação é considerada, dentre todas as etapas do processamento de imagens, a mais crítica do tratamento da informação. É na etapa de segmentação que são definidas as regiões de interesse para processamento e análise posteriores. Como consequência deste fato, quaisquer erros ou distorções aqui presentes refletem nas demais

etapas. Isto acarreta resultados não desejados ao final do processo que podem contribuir de forma negativa para a eficiência de todo o processamento.

Deve ser ressaltado que não existe um modelo formal para a segmentação de imagens. Este é um processo empírico e adaptativo, procurando sempre se adequar às características particulares de cada tipo de imagem e ao objetivo que se pretende alcançar. Existe uma grande diversidade de técnicas de segmentação de imagens e uma delas é o *watershed* apresentado anteriormente (ALBUQUERQUE, 2004).

A FIG. 2.10 mostra os recursos do *software ImageJ* e a FIG. 2.11 apresenta os passos para medida da área das partículas estudadas como explicado a seguir: se a imagem original for de 16 ou 32 *bit*, vai precisar ser transformada em 8 *bit* (a), para então se obter a binarização da imagem (b). Como o *ImageJ* reconhece os objetos pela cor de seus *pixels*, nem sempre os contornos ficam bem delineados e às vezes torna-se necessário, a partir da imagem original, por comparação, apagar ou redesenhar manualmente alguns contornos ou preenchimentos. Tal alternativa pode ser realizada sem comprometimento da qualidade da análise, desde que os contornos originais sejam realçados, conforme descrito nas normas técnicas (DIAS, 2008).

Com a imagem binária obtida, o próximo passo é selecionar a função *Analyse Particles*. O resultado será um desenho onde cada partícula está identificada com um número. Aquelas que não estiverem correspondendo à imagem original podem ser descartadas do resultado final.

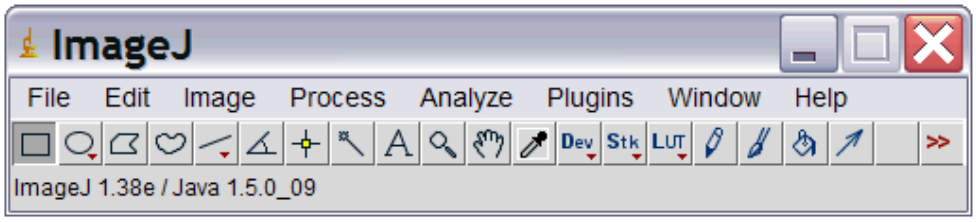
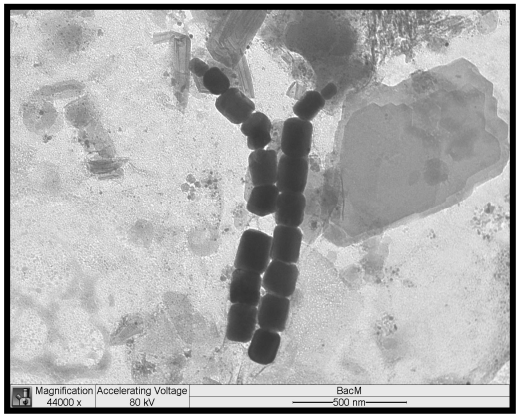
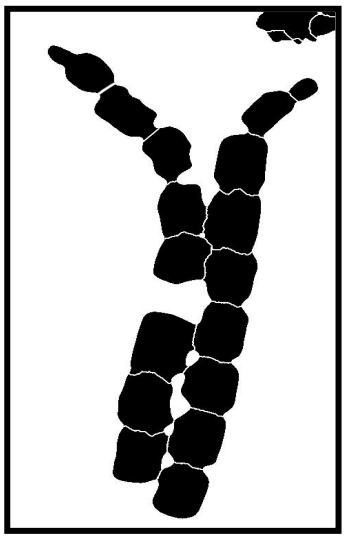


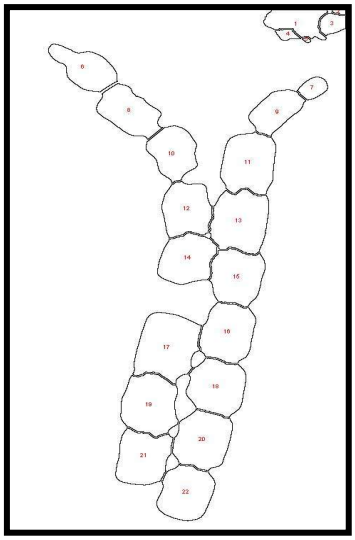
FIG. 2.10 Recursos do *software* Image J (http://imagej.nih.gov/ij/).



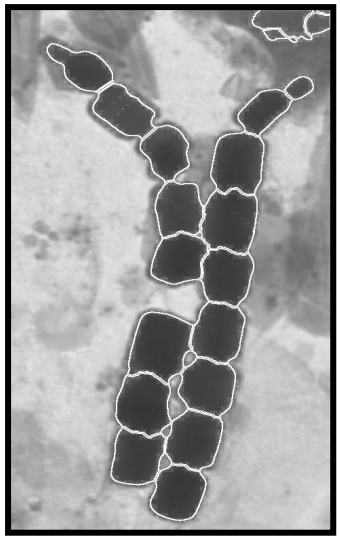
(a)



(b)



(c)



(d)

FIG. 2.11 Imagem original em 8-bit (a); imagem binária obtida através do *watershed* (b), desenho das partículas (c); sobreposição da imagem binária e do desenho das partículas (e).

A FIG. 2.12 apresenta os resultados da medida da área das partículas, em *pixels*, gerados pelo *software* após os passos apresentados anteriormente.

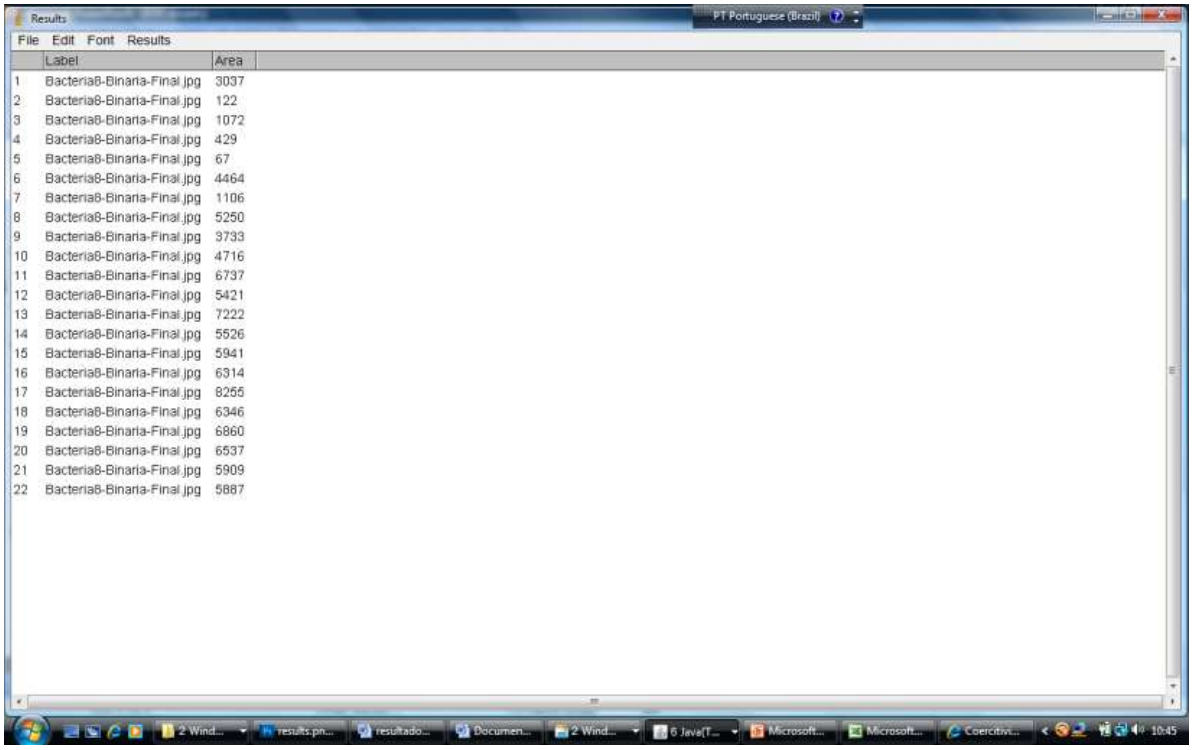


FIG. 2.12 Resultados em *pixels* (área das partículas) gerados pelo programa *ImageJ* com *Watershed*.

Como pode ser notado, cada resultado é correspondente a uma partícula do desenho originado. O próximo passo é a conversão dos resultados em *pixels,* para unidade de medida que deverá ser utilizada. Como a imagem original possui uma barra de escala, através de uma ferramenta do próprio *software*, pode-se ter a medida desta em *pixels*. Assim torna-se bastante simples a conversão, que neste caso foi para nm^2 e μm^2.

Como as nanopartículas SPION apresentavam-se bastante aglomeradas, a utilização do *Image J* com *watershed segmentation* como única ferramenta para processamento da imagem, mostrou-se incompleta. Para que a medição das partículas fosse mais precisa, lançou-se mão de outro software de processamento de imagens digitais, o *Adobe Photoshop CS5* (FIG. 2.13).

2.5.3.2 *ADOBE PHOTOSHOP*

Photoshop é um programa da *Adobe Systems Incorporated*, considerado líder

no mercado como ferramenta para manipulação digital de imagens. Foi concebido em 1987, por Thomas Knoll, na Califórnia, Estados Unidos. É um *software* caracterizado como editor de imagens bidimensionais do tipo *raster* ou *bitmap* (que contém a descrição de cada *pixel*).

O *photoshop* trabalha com o conceito de camadas (*layers)*. Onde cada imagem ou texto é uma camada. Estas possuem uma janela de controle, onde são dispostas todas as camadas, bem como os efeitos aplicados a elas. Ao trabalhar com camadas pode-se operar sobre uma parte da imagem, sem que se alterem outras partes da mesma. Isto é muito útil, já que nos permite realizar mudanças em elementos sem nos preocuparmos com o restante do desenho (ADOBE PHOTOSHOP, 2010).

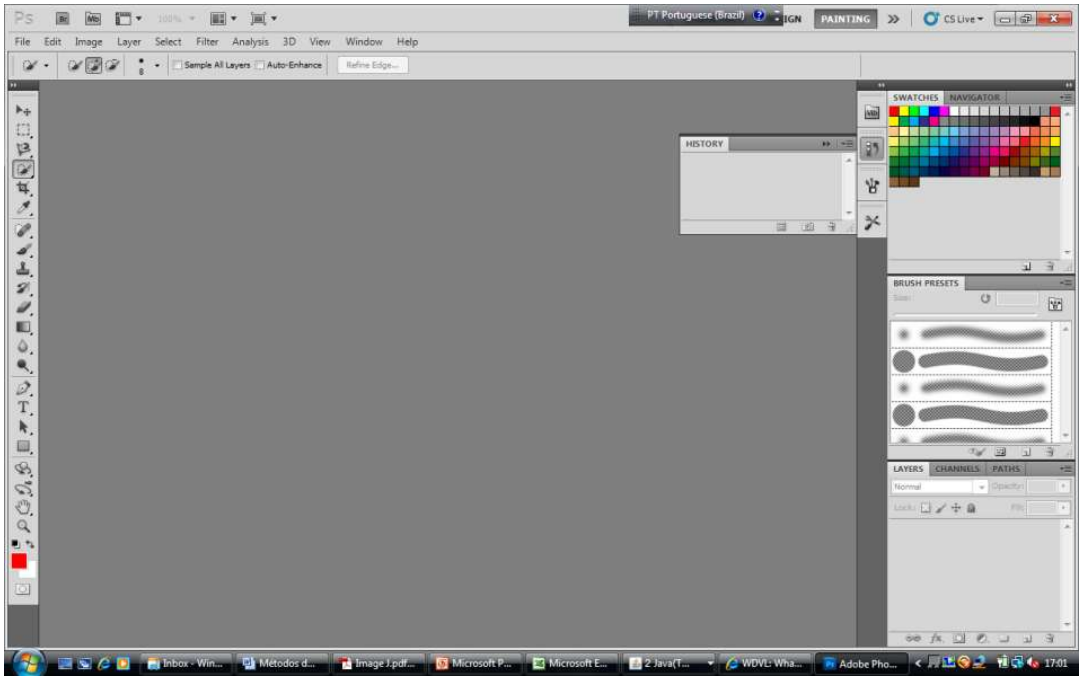
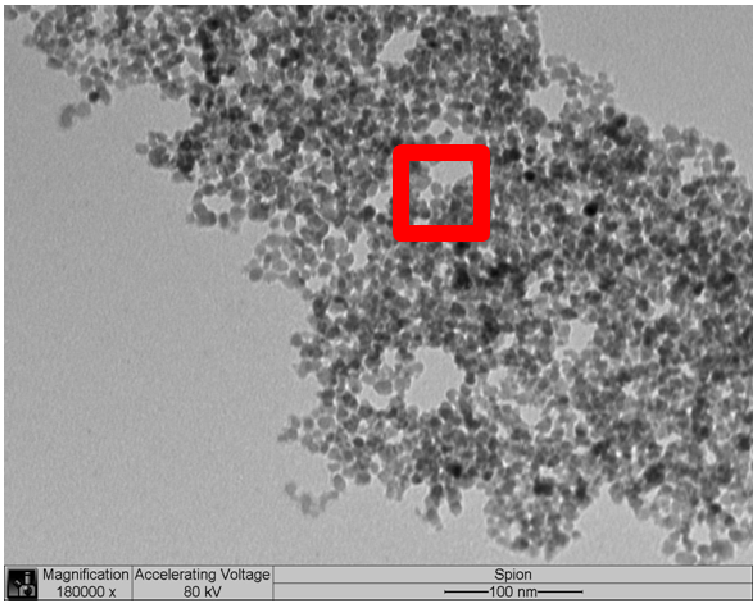


FIG. 2.13 Recursos do Adobe Photoshop CS5.

A FIG. 2.14 abaixo mostra como o photoshop foi utilizado para separar as partículas, para então serem medidas pelo *ImageJ*.



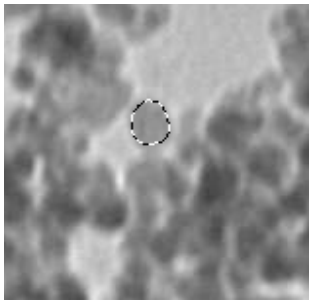


FIG. 2.14 Utilização de camadas para destacar as partículas: micrografia (a); seleção da partícula (b); nova camada com a partícula selecionada (c).

A separação das partículas é feita seguindo os seguintes passos:

1. Abre-se a micrografia através do *photoshop*;
2. Aumenta-se a região contendo a partícula de escolha através da ferramenta *Zoom Tool (Z)*;
3. Seleciona-se a partícula ou as partículas desejadas com a ferramenta *Quick Selection Tool (W)*. O programa utiliza diferença de cores (*pixels*), do fundo (branca) e da partícula (cinza), para destacar a o objeto, neste caso a partícula;
4. As seleções são copiadas para uma nova camada.

Após estes passos, basta salvar esta nova camada que estará pronta para ser analisada com o *ImageJ* e seu *plugin*.

2.5.4 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA ELETRÔNICA – RME

O fenômeno de ressonância magnética eletrônica ou RME baseia-se no fato de que elétrons têm carga, massa, *spins* e, portanto, interagem com seu entorno (SANDS, 1959). A idéia básica de um experimento de RME consiste em aplicar um campo de microondas em uma amostra situada em um campo magnético estático e uniforme $\vec{H}_0$ e observar as linhas de absorção ressonante (IKEYA, 1993). O campo magnético da radiação de microondas é aplicado perpendicularmente ao campo estático, o que resulta na interação dos elétrons não pareados da amostra com o campo magnético aplicado (efeito Zeeman) (OLIVEIRA, 2010). A abordagem da RME depende do tipo de material analisado. Se o material for paramagnético, o fenômeno observado é denominado Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE). No caso de amostras ferromagnéticas, leva-se em conta o movimento de magnetização da amostra e o fenômeno é denominado Ressonância Ferromagnética (RFM) (LANDI, 2009). Uma vez que os materiais estudados são ferromagnéticos, a continuação desta descrição aborda a RFM.

Para entender a RFM é preciso lembrar que o momento magnético de *spin* $\vec{\mu}$ está relacionado com o momento angular de *spin* $\vec{S}$:

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{S} \qquad \text{(EQ. 2.10)}$$

onde γ é a razão giromagnética ($\gamma = -ge/2m$) da amostra, relacionada com o fator g da mesma, a carga e e a massa m do elétron. Um campo magnético aplicado sobre o elétron fará com que ele sofra um torque:

$$\vec{T} = \vec{\mu} \times \vec{H} \qquad \text{(EQ. 2.11)}$$

A energia potencial do dipolo magnético na presença de um campo magnético externo $\vec{H}$ pode ser expressa por:

$$E = \vec{\mu}.\vec{H} \qquad \text{(EQ. 2.12)}$$

As equações mostram que quando os vetores $\vec{\mu}$ e $\vec{H}$ estão alinhados, o torque $\vec{T}$ é nulo e o valor assumido para E é mínimo, de modo que o fenômeno RFM não é observado. Entretanto, quando um campo magnético oscilante (microondas) é aplicado sobre o elétron, ocorrem pequenas mudanças periódicas na direção $\vec{\mu}$ (LANDI, 2009; GONDIN, 2004).

Na presença de um campo magnético, os momentos magnéticos precessam em torno da direção do campo com uma freqüência ω. A frequência aumenta com o campo, de acordo com a lei de Larmor (OLIVEIRA, 2010):

$$\omega = \gamma H \qquad \text{(EQ. 2.13)}$$

onde γ é a razão giromagnética e H o campo aplicado.

A ressonância é obtida quando a frequência de oscilação do campo eletromagnético (microondas) é igual è frequência de precessão da magnetização da amostra diante do campo aplicado. Sendo assim, o sistema de *spins* absorve a radiação (LANDI, 2009).

O espectrômetro de RME é composto de quatro partes principais: a fonte de radiação microondas (válvula *klystron*), o eletromagneto (ou eletroímã), a cavidade ressonante (onde está a amostra) e o sistema de detecção. No equipamento, as microondas geradas são distribuídas igualmente entre dois guias de onda. No primeiro, a onda eletromagnética é ajustada em fase e polarizada, seguindo para o diodo detector. No segundo guia de onda, ela passa por um atenuador e um circulador e segue para a cavidade ressonante, onde está a amostra, sendo refletida de volta e passando novamente pelo circulador antes de seguir para o detector. O circulador tem a função de direcionar as microondas até a cavidade e da cavidade até o detector, unicamente nesta sequência. A cavidade ressonante é uma estrutura geométrica de dimensões apropriadas para que a radiação forme um padrão de ondas estacionárias, chamado modo (LANDI, 2009; GONDIN, 2004; SANDS, 1959).

Os espectros de RME de partículas nanométricas de materiais magnéticos são influenciados por uma grande variedade de fatores, incluindo tamanho dos cristais

ferromagnéticos, distância entre os cristais na amostra, mineralogia e composição, morfologia cristalina e anisotropia magnética.

Weiss et al. (2004), utilizaram ressonância ferromagnética como foco central de um estudo para medir a assimetria de várias amostras de óxido de ferro: biologicamente controlado, biologicamente induzido, sintético e natural inorgânico. O objetivo deste foi determinar se as nanopartículas magnéticas das bactérias possuem qualquer caráter distintivo que possa ser facilmente identificado por RFM. Para cada espectro foi representado, o fator-g efetivo (g_{eff}), a largura de linha a meia altura (ΔB) e razão de assimetria ($A = \Delta B_{high} / \Delta B_{low}$). Foi proposto um diagrama (FIG. 2.15) no qual se plota A (razão de assimetria) em relação à g_{eff} (fator-g efetivo) (WEISS, 2004).

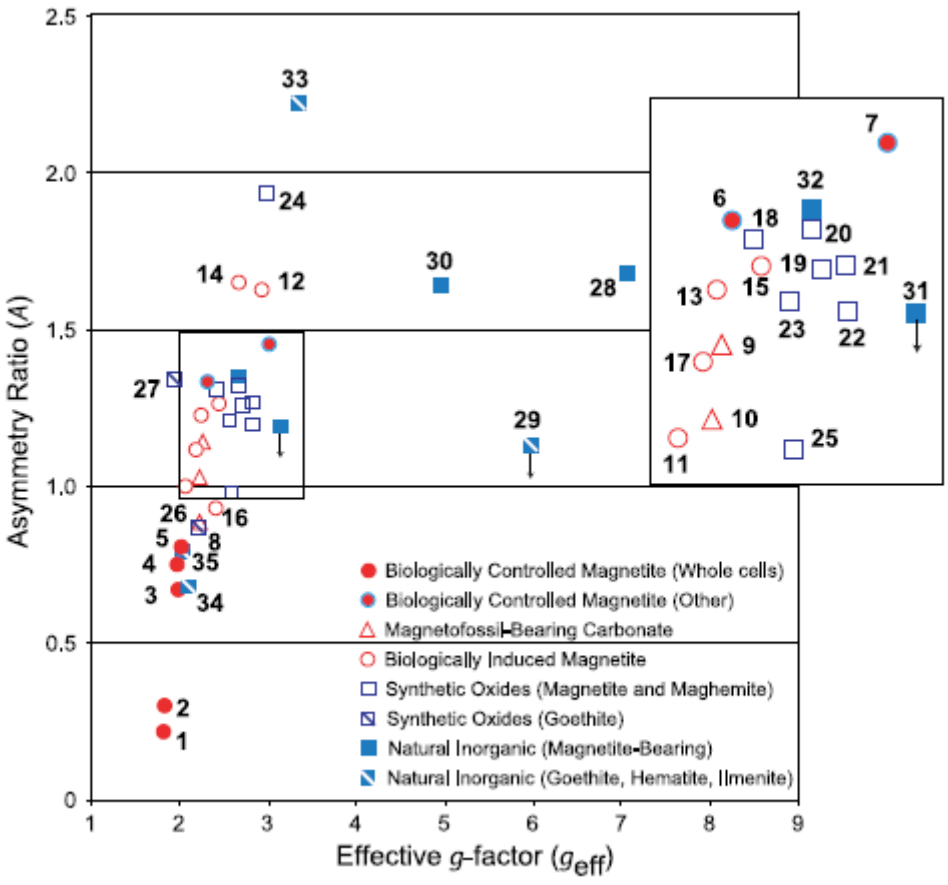


FIG. 2.15 Diagrama representativo do espectro RME das amostras medidas (WEISS, 2004).

2.5.5 SQUID

Magnetômetros utilizando o SQUID (*Superconducting Quantum Interference Device* ou Dispositivo Supercondutor de Interferência Quântica) como elemento detector, são atualmente os sistemas mais sensíveis para medidas de pequenas variações de fluxo magnético (10^{-9} emu). O princípio de operação do SQUID baseia-se no efeito *Josephson* e na quantização do fluxo magnético em um circuito supercondutor fechado. O efeito Josephson é um efeito físico que se manifesta pela aparição de uma corrente elétrica que flui através de dois supercondutores fracamente interligados, separados apenas por uma barreira isolante muito fina. Esta disposição é conhecida como uma Junção *Josephson*. Verifica-se que quando um campo magnético constante é aplicado perpendicularmente a um anel supercondutor que contém duas junções *Josephson*, efeitos de interferência fazem com que a supercorrente total dependa da intensidade do campo magnético (COSTA, 2004; SAMPAIO, 2000).

Experimentalmente o efeito *Josephson* se caracteriza por uma corrente crítica, abaixo da qual uma barreira de potencial, ou junção, é supercondutora. No estado supercondutor o circuito apresenta resistência nula. Isto quer dizer que mesmo quando polarizado por uma corrente elétrica a tensão verificada nos terminais é nula. Para um valor de corrente superior a corrente crítica, a junção transita para o estado normal e passa-se a detectar um nível de tensão não nulo. A medida da variação da corrente crítica permite determinar a variação do fluxo que atravessa o dispositivo com alta resolução (COSTA, 2004).

O SQUID consiste basicamente em um anel supercondutor interrompido por uma (SQUID RF) ou duas (SQUID DC) junções *Josephson*. A diferença está no modo de detecção. O RF exige eletrônica de radiofreqüência para detecção, o que pode gerar interferências nas amostras a serem medidas, além de serem de operação mais complicada. Já os SQUID DC apresentam a configuração de um interferômetro a duas junções e podem ser medidos aplicando uma corrente contínua (DC) de polarização e verificando-se a variação de tensão nos seus terminais (SAMPAIO, 2000).

2.5.6 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

Aproximadamente 95% de todos os materiais sólidos podem ser descritos como cristalinos. A estrutura cristalina é uma distribuição regular tridimensional de átomos no espaço. Estes estão organizados de modo a formar uma série de planos paralelos separados entre si por uma distância d, que varia conforme a natureza do material. Para qualquer cristal, os planos existem em uma série de orientações diferentes – cada uma com seus próprios espaçamentos d específicos (SCINTAG, 1999).

Quando raios X interagem com uma substância cristalina, forma-se um padrão de difração. Em 1919, *A.W.Hull* publicou um trabalho intitulado "Um Novo Método de Análise Química". Neste trabalho destacou que "toda substância cristalina apresenta um padrão de difração; a mesma substância sempre apresenta um mesmo padrão; e em uma mistura de substâncias, cada uma produz um padrão independente das outras". O padrão de difração de uma substância pura é, portanto, uma impressão digital da mesma (SCINTAG, 1999).

A difração, nas redes cristalinas, é regida segundo a Lei de Bragg. Esta lei diz que, para haver a formação de um padrão de difração, é necessário que a diferença de caminho óptico seja proporcional ao comprimento de onda incidente, ou seja:

$$n\lambda = 2dsen\theta \qquad \text{(EQ. 2.14)}$$

onde:

n é a ordem da difração;

d é a distância interplanar;

$2dsen\theta$ é a diferença de caminho ótico;

θ é o ângulo de incidência;

λ é o comprimento de onda da radiação incidente.

Variando o ângulo θ, as condições da Lei de Bragg são satisfeitas pelos diferentes espaçamentos d em materiais policristalinos. A relação das posições

angulares e intensidades dos picos difratados resultantes da radiação produzem um padrão, que é característico da amostra (CULLITY, 2001).

2.5.6.1 MÉTODO DE *RIETVELD*

Em 1969, Hugo Rietveld desenvolveu um método que tem por base a simulação do perfil difratométrico a partir das estruturas das fases componentes de uma amostra. Analisando todo o padrão difratométrico e utilizando as intensidades individuais de cada passo angular, o método permitiu o refinamento de estruturas cristalinas complexas, e vem sendo aplicado para determinação da proporção de fases a partir do difratograma com precisão reconhecida. O procedimento permite refinar não só os parâmetros geométricos das fases presentes, mas também considera as características cristalográficas, dando ao método do pó aplicação semelhante à difração de monocristal.

A maneira encontrada por Rietveld para quantificações foi por comparação do espectro real de uma amostra com espectros teóricos simulados a partir de misturas hipotéticas das fases. A comparação é feita ponto a ponto e as diferenças encontradas em cada ponto são ajustadas pelo método dos mínimos quadrados (YOUNG, 1995).

O método de mínimos quadrados é utilizado para o refinamento de parâmetros de cela unitária e vários outros processos que envolvem muitas variáveis. Uma vez obtido o difratograma, procede-se com o ajuste pelo método de Rietveld, visando minimizar as diferenças entre os difratogramas calculado e observado. A quantidade minimizada no refinamento é a função residual S_y dada por (YOUNG, 1995):

$$S_y = \sum_{i-1}^{n} w_i (y_i - y_{ci})^2 \qquad \text{(EQ. 2.15)}$$

onde:

w_i é o peso de cada intensidade dado por $w_i = 1/y_i$;

y_i é a intensidade observada na i-ésima iteração;

y_{ci} é a intensidade calculada na i-ésima iteração.

Pode-se observar que os pesos w_i refletem somente o erro de contagem aleatória na intensidade observada e não consideram o erro nas intensidades calculadas. Se o modelo estrutural não for adequado ou se a forma do pico não estiver bem definida, a intensidade calculada estará errada (OLIVEIRA, 2005).

O difratograma é tratado em forma digital, representado por uma coleção de milhares de pontos (em uma faixa limitada), sendo que cada ponto tem sua intensidade y_i (medida diretamente do detector) e uma posição angular $2\theta_i$. A variação de um ponto para outro é feita em passos "i", determinados pelo operador (OLIVEIRA, 2005).

2.5.7 ESPECTROSCOPIA *MÖSSBAUER*

Ambas as espectrometria *Mössbauer* e magnetometria (ex. SQUID), são baseadas no comportamento magnético do ferro em uma estrutura cristalina, mas operam em diferentes escalas dimensionais. Enquanto a primeira produz informação sobre carga e coordenação, a segunda é mais sensível ao tipo de acoplamento magnético e ao estado do domínio magnético (CORNELL, 2003). Espectroscopia *Mössbauer* é o nome dado à técnica que estuda a absorção ressonante de raios γ pelo núcleo dos átomos. O processo nuclear que produz este efeito foi identificado e explicado por *Rudolf L. Mössbauer* em 1958 (DUARTE, 2005). Para entender esta técnica, faz-se necessário uma rápida explicação do efeito *Mössbauer*. Este efeito envolve a transição de um núcleo atômico em estado excitado para o estado fundamental, emitindo um raio γ que é absorvido por um outro núcleo de mesmo número atômico (Z) e mesma massa atômica (A). O núcleo receptor que está no estado fundamental, sofrerá uma transição para um estado excitado igual ao estado inicial do núcleo emissor (CARDOSO, 2009).

A energia do raio γ emitido depende de fatores como o estado de ligação do átomo que contém o núcleo emissor e a forma como responde ao decaimento. A absorção do raio γ por sua vez, vai depender de fatores como o movimento relativo dos núcleos absorvedor e emissor, a direção de propagação do raio γ e a seção de choque da interação. Dada a natureza quântica dos fenômenos envolvidos, a ressonância entre emissão e absorção ocorre apenas em condições muito particulares (CARDOSO, 2009).

Um arranjo experimental típico para espectroscopia *Mössbauer*, envolve uma fonte radioativa contendo o isótopo *Mössbauer* no estado excitado e um absorvedor, o material a ser investigado, que contém o mesmo isótopo no estado fundamental. Apesar de existirem outros, o 57Fe é um dos isótopos mais utilizados em experimentos *Mössbauer*. Neste caso a fonte emissora de radiação γ utilizada é o 57Co radioativo, que ao capturar um elétron transita para o estado excitado do 57Fe. O decaimento do 57Fe (I=5/2) para o estado fundamental (I=1/2) permite uma cascata de radiação, incluindo aquela com energia de 14,4 keV (raios γ de interesse na espectroscopia *Mössbauer* devido à baixa energia) (SCHETTINO, 2009).

O espectro *Mössbauer* resultante consiste em um gráfico de contagem de raios γ versus a velocidade da fonte; o movimento da fonte (57Co) garante que o ambiente nuclear do absorvedor e da fonte irão corresponder a certa velocidade e consequentemente a absorção ocorrerá. Na ausência de um campo magnético o espectro *Mössbauer* consiste em um (se os átomos absorvedores estiverem em um sítio de simetria cúbica) ou dois (simetria diferente de cúbica) máximos de absorção. Quando um campo magnético estático age no núcleo ressonante, divide os spins nucleares em estado fundamental em dois e os em estado excitado em quatro. As seis transições permitidas produzem um espectro com seis linhas denominado sexteto (CORNELL, 2003). A posição e o número de máximos de absorção são determinados pelas interações hiperfinas entre os núcleos ressonantes e os elétrons que os circundam. São três as principais interações hiperfinas:

- Deslocamento Isomérico – é um deslocamento do valor da energia para a qual ocorre a absorção ressonante. Este deslocamento é provocado por pequenas diferenças entre as energias de cada estado nuclear quando os núcleos emissores e absorvedores são ligeiramente diferentes. O deslocamento isomérico (δ) fornece informação sobre o número de coordenação, a valência e estado de spin do ferro no

composto. A consequência do deslocamento isomérico em um espectro *Mössbauer* é o afastamento do ponto mínimo do centróide espectral (CORNELL, 2003).

- Desdobramento Quadrupolar - provoca um desdobramento do espectro em duas linhas espectrais. É gerado quando um gradiente de campo elétrico age nos núcleos. O desdobramento quadrupolar (ΔE_Q) mede o desvio da simetria cúbica ou esférica, das cargas externas ao núcleo. Resulta da interação do momento quadrupolar nuclear com o gradiente de campo elétrico na região do núcleo (MURUOKA, 2004).

- Desdobramento Magnético (Campo Magnético Hiperfino) – provoca um desdobramento hiperfino do espectro em certo número de linhas que depende do spin nuclear. Fornece informações sobre valência e propriedades magnéticas do composto. O campo magnético sentido pelo núcleo é conhecido como campo magnético hiperfino (B_{hf}). Este é uma soma de campos magnéticos hiperfinos gerados por diversas fontes, tais como: campo magnético externo aplicado, campo dipolar devido a partículas vizinhas e campo magnético de troca. O B_{hf} também pode ter sua origem em elétrons desemparelhados do próprio átomo dependendo, portanto, do estado de oxidação do átomo (DUARTE, 2005).

A TAB. 2.1 apresenta algumas referências de parâmetros *Mössbauer* (B_{hf}, δ e ΔE_Q) dos óxidos de ferro, hematita, magnetita e maghemita (CORNELL, 2003).

TABELA 2.1

Parâmetros Hiperfinos de Espectroscopia Mössbauer para alguns óxidos de ferro:

Óxidos	Temperatura	Deslocamento Isomérico	Desdobramento Quadrupolar	Campo Hiperfino
		Δ	ΔE_Q	B_{hf}
	K	mm s^{-1}	mm s^{-1}	T
Hematita	29.5	0.37	-0.197	51.75
	4.2	0.49	0.41	54.17
Magnetita	29.5	0.26	≤ I0.02I	49
		0.67	0.00	46
Maghemita	29.5	0.23	≤ I0.02I	50.0
		0.35		50.0
	4.2	0.40	≤ I0.02I	52.0
		0.48	≤ I0.02I	53.0

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

3.1.1 SÍNTESE DE SPION (MAGNETITA/MAGHEMITA)

A síntese das nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas (SPION) foi feita em colaboração com o grupo de pesquisas do Laboratório de Tecnologia de pós (*Laboratoire de Technologie des Poudres*) do departamento de Ciência dos Materiais da École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL).

As SPIONs foram obtidas através de coprecipitação alcalina de cloreto de ferro II ($FeCl_2$) e cloreto de ferro III ($FeCl_3$) em solução aquosa de acordo com a seguinte reação:

$$2\ FeCl_3 + FeCl_2 + 8NH_4OH \rightarrow Fe_3O_4 + 8\ NH_4Cl + 4H_2O \qquad \text{(EQ. 2.16)}$$

Primeiramente, soluções de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (0.086 M) e $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ (0.043 M) foram misturadas em temperatura constante de 60^oC por 15 minutos, sob agitação vigorosa. Uma solução de hidróxido de amônia concentrada (NH_4OH 25%) foi adicionada para que ocorresse precipitação, ainda sob agitação. Os precipitados foram imediatamente lavados várias vezes com água ultrapura deionizada até que o pH decrescesse de 10 para 7, atingindo a neutralidade. A amostra foi então centrifugada a 5000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e a parte sólida coletada e aquecida a refluxo (60^oC) em uma mistura de (ácido nítrico) HNO_3 (0,8 M) e (nitrato férrico) $Fe(NO_3)_3.9H_2O$ (0,21 M) por 1 hora. Durante este passo, a lama negra formada inicialmente torna-se marrom e a formação de óxido nítrico pode ser observada. O sistema foi então resfriado em temperatura ambiente e o líquido restante, descartado. Adicionou-se 100 ml de água ultrapura à lama, produzindo uma suspensão estável. A suspensão marrom obtida foi estocada a 4^oC.

As amostras foram trazidas para o Brasil em microtubos tipo Eppendorf em uma caixa de isopor contendo uma almofada térmica de gelo.

3.1.2 BACTÉRIAS MAGNETOTÁCTICAS

A Lagoa Rodrigo de Freitas, localizada na Zona Sul do Rio de Janeiro, foi o local escolhido para a coleta das amostras de bactérias magnetotácticas. As primeiras amostras foram coletadas com a colaboração da equipe do INEA (Instituto Estadual do Ambiente), responsável pela medição semanal dos níveis de oxigênio da água em vários pontos mapeados da Lagoa.

Em cada ponto de parada do barco para medição, foram coletados sedimentos do fundo e água da lagoa, que foram armazenados em galões. O sedimento apresentava-se com muito lodo e com tonalidade escura, quase preta. Todo este material foi então transferido para aquários no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF). A razão de água e sedimento mantida nos aquários foi de 2:1.

FIG. 3.1 Amostras de água + sedimento mantidas em aquários no CBPF.

As amostras foram concentradas e analisadas em microscopia ótica. A concentração foi feita de acordo com os seguintes passos: uma pequena parte de sedimento + água foi transferida para um aparato de vidro que termina em um

capilar, onde se coloca um imã permanente (FIG. 3.2). Passados cerca de 30 minutos, as bactérias migram e se concentram na ponta do capilar. Goteja-se diretamente do aparato em uma lâmina de vidro. Em um microscópio ótico, podem-se observar os organismos magnetotácticos migrando para a extremidade da gota (FIG. 3.3).

FIG. 3.2 Aparato para concentração das bactérias.

As primeiras amostras coletadas nos pontos mapeados pelo INEA, mostraram-se pobres em organismos magnetotácticos e foram desprezadas após um mês de observação. Concluiu-se então, que o fundo da lagoa não se mostrou um local propício à proliferação das bactérias em estudo.

Novas coletas foram feitas em locais com pouca variação do nível de água e com mais areia do que lodo no sedimento. Após uma semana de concentração e observação das amostras, pôde-se notar amostras ricas em bactérias magnetotácticas (FIG. 3.3).

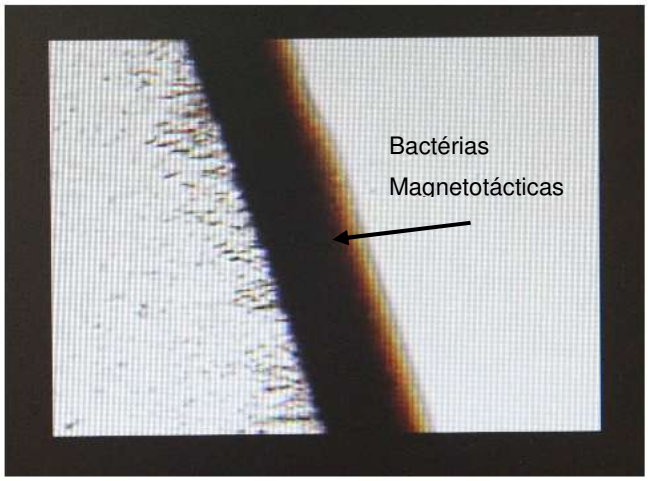


FIG. 3.3 Imagem de bactérias concentradas na extremidade de uma gota observada em microscopia ótica.

3.1.3 TINTA COMERCIAL (MOAGEM)

A tinta utilizada foi a Grumbacher Pre-Tested® P-134, Mars Black (negro-de-marte) com o pigemento contendo partículas de magnetita obtidas por moagem. A a tinta negro-de-marte foi utilizada diluída em água, em duas concentrações diferentes.

3.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA AS ANÁLISES

3.2.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

Inicialmente, foram utilizadas grades de cobre com cobertura de Formvar com espessura na faixa de 30 a 75 nm (Formvar Film 200 Mesh, Cu). Porém, estas grades se mostraram inadequadas. As partículas magnéticas reagiram com o feixe do MET que operava a 200 kV, aqueceram e danificaram o filme por completo, impedindo a caracterização. Optou-se então pelas grades de cobre recobertas com um filme de carbono de espessura de 20 a 30 nm (Carbon Film 200 Mesh, Cu), que apresentou uma maior resistência.

As nanopartículas magnéticas (SPION), por estarem muito aglomeradas, foram diluídas em uma solução de HNO_3 (0.01M) na razão de 1:1000. E deixadas em banho ultrassônico (Quimis modelo Q3350) por 5 minutos.

Após a retirada do banho ultrassônico, gotejou-se a amostra sobre as grades com uma micropipeta de alta precisão (Digipet, 0.5-10 µl) e deixou-se secar lentamente a temperatura ambiente Depois de secas, foram armazenadas em dessecador a vácuo.

As amostras biológicas foram preparadas de duas formas:

- Na primeira, fez-se a concentração de bactérias como mostrado anteriormente. Para que a amostra ficasse mais limpa, injetou-se água destilada na

ponta do capilar para lavar a área e remover parte das impurezas localizadas. Só então se posicionou um ímã na ponta do aparato. Após trinta minutos, com o auxílio de uma micropipeta de alta precisão, retirou-se líquido da ponta do capilar para gotejar sobre a grade de MET previamente posicionada sobre um ímã (FIG. 3.4). A secagem das grades foi feita à temperatura ambiente, para então serem armazenadas em dessecador a vácuo.

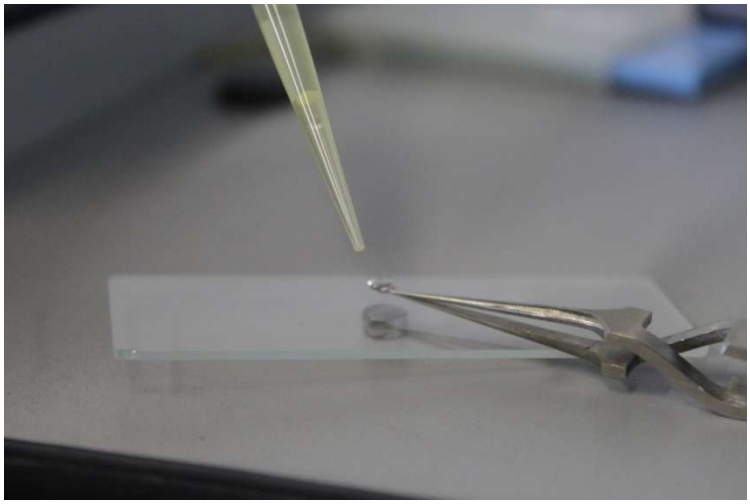


FIG. 3.4 Grade para MET com concentração de bactérias sendo preparada.

- Na segunda, duas grades para MET foram colocadas na extremidade de uma lâmina de vidro com um ímã posicionado em frente a elas. Uma pequena quantidade de água + sedimento foi depositada sobre a lâmina e uma gota de água limpa foi utilizada como união do sedimento com as grades. Esta “gota guia” permitiu que as bactérias orientadas pelo ímã, chegassem até as grades e lá ficassem retidas. Ao mesmo tempo, mais água limpa foi sendo gotejada com uma micropipeta, lavando o caminho das bactérias (FIG. 3.5). A água utilizada foi a do próprio aquário, filtrada (suporte para filtração Swinnex em polipropileno, 13 mm de diâmetro da Millipore). O procedimento de lavagem foi feito repetidas vezes. Ao final, com um papel filtro, secou-se o excesso de água, deixando, no entanto, que a grade secasse livremente. Quando secas, as amostras foram mantidas em dessecador a vácuo.

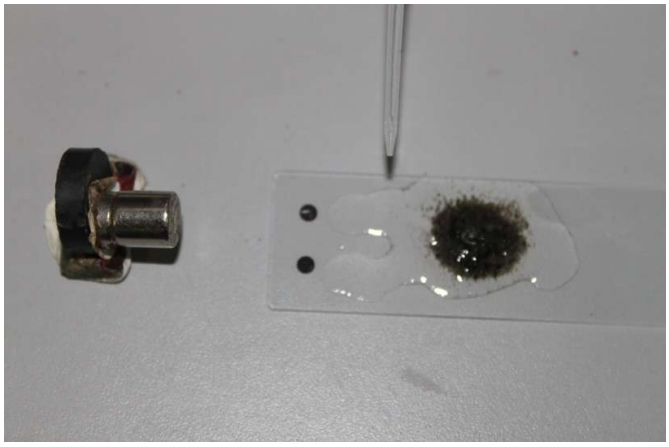


FIG. 3.5 Grades para MET sendo preparadas com material biológico.

As amostras de tinta foram preparadas seguindo-se o mesmo procedimento das nanopartículas. Um pouco da tinta foi diluída em água na proporção de 1:1000 e deixada em banho ultrassônico (Quimis modelo Q3350) por 5 minutos. Com uma micropipeta, uma gota foi dispensada em uma grade com filme de carbono e deixada secar livremente. Após a secagem, as amostras foram armazenadas em dessecador a vácuo.

3.2.2 ESPECTROSCOPIA POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDS)

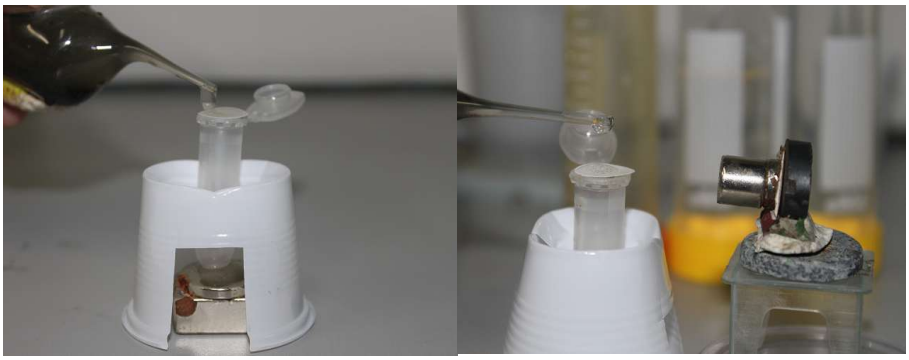
As amostras utilizadas para análise em EDS foram as mesmas preparadas para MET.

3.2.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA ELETRÔNICA (RME)

Para RME as amostras foram preparadas em Membrana GV (Durapore) em PVDF, 0,22 µm de poro, 47 mm de diâmetro, prod: GVWP04700 da Millipore. Esta membrana não apresentou sinal quando submetida à RME.

Foram preparadas três amostras biológicas: **B1** com concentração de três vezes ao dia por cinco dias com um ímã posicionado perpendicularmente à amostra;

B2per com três concentrações por dia durante quinze dias e com o ímã posicionado perpendicularmente à amostra; **B2par**, três concentrações ao dia por quinze dias e ímã posicionado paralelamente à amostra. Em cada concentração, a água da ponta do capilar contendo as bactérias era filtrada na membrana acima mencionada. A FIG. 3.6 ilustra a preparação destas: (a) ímã posicionado sob a amostra (B2per) e (b) com o ímã posicionado à frente da amostra (B2par). Observou-se que, devido ao diminuto diâmetro dos poros da membrana, as bactérias ficam retidas na mesma após a secagem. A mesma membrana foi utilizada para todas as filtragens, aumentando assim o número de cristais retidos (FIG. 3.6).



(a) (b)

FIG. 3.6 Preparação das amostras biológicas para RME; (a) ímã perpendicular a amostra e (b) ímã paralelo.

Para RME, foi preparada uma amostra contendo água do aquário (A) sem a presença de bactérias magnetotácticas. Para isso, o mesmo procedimento para obtenção das amostras biológicas foi utilizado (três concentrações por dia/15 dias), só que com a concentração feita ao contrário. O ímã com a polaridade invertida fez com que as bactérias migrassem e se afastassem da ponta do concentrador, garantindo uma amostra contendo apenas impurezas encontradas na água do aquário.

As amostras SPION foram obtidas com uma pequena gota do material sem diluição, na mesma membrana mencionada acima. Para medida da variação angular, também foram feitas amostras com ímã perpendicular e paralelo (Sper e Spar).

A amostra de tinta foi bastante diluída em água para evitar saturação e gotejada em cima da membrana. Para variação angular as amostras feitas foram Tper e Tpar.

3.2.4 SQUID

As amostras para o SQUID foram obtidas utilizando-se o mesmo procedimento que para as amostras para RME, sendo que a membrana utilizada foi a HA em Ester de Celulose, 0,45 µm de poro, 13 mm de diâmetro, prod: HAWP01300 da Millipore (FIG. 3.7). A amostra **B** é de bactérias, **T** de tinta e **S** SPION. Somente para as amostras biológicas, o ímã perpendicular foi utilizado, para garantir que as bactérias ficassem retidas na membrana.

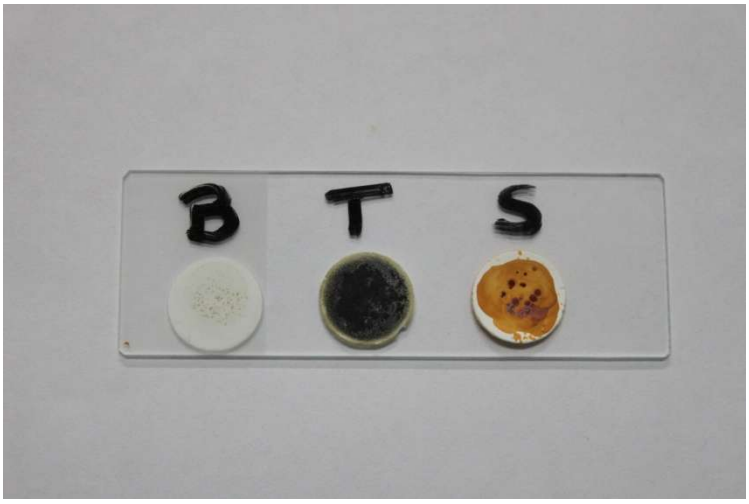


FIG. 3.7 Amostras para SQUID, DRX e Mössbauer. B (bactéria), T (tinta) e S (SPION).

3.2.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

As amostras para DRX foram obtidas com o mesmo processo que as anteriores. Somente para a amostra B, o ímã foi utilizado e a membrana HA em Ester de Celulose, 0,45 µm de poro, 13 mm de diâmetro, prod: HAWP01300 da Millipore foi escolhida (FIG. 3.7).

3.2.6 ESPECTROSCOPIA *MÖSSBAUER*

As amostras para esta técnica de caracterização foram preparadas seguindo-se exatamente os mesmos procedimentos que para as amostras de DRX. A membrana utilizada também foi a mesma (HA em Ester de Celulose, 0,45 µm de poro, 13 mm de diâmetro, prod: HAWP01300 da Millipore).

3.3 EQUIPAMENTOS E CONDIÇÕES DE ANÁLISE

3.3.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)

Para as análises em microscopia eletrônica de transmissão foram utilizados dois equipamentos: Tecnai^{TM} G^2- Spirit TEM, FEI^{TM}, que opera a 200 kV, propriedade do Centro de Pesquisa de Energia Elétrica (Cepel); Morgagni^{TM} TEM, FEI^{TM}, que opera a 80 kV, propriedade do Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). A análise em EDS foi feita no mesmo equipamento.

3.3.2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA ELETRÔNICA (RME)

A RME foi conduzida em banda X (9.3 GHz) no espectrômetro Bruker ESP 300E, no CBPF. Todas as medidas foram feitas à temperatura ambiente, em torno de 300 K, com potência de microondas de 4 mW para amostras de tinta e SPION e 50 mW para bactérias. Os espectros foram obtidos como derivada da absorção em função do campo aplicado.

3.3.3 SQUID

A magnetometria SQUID foi feita no CBPF, com *Quantum Design Magnetic Property Measurement System - MPMS-5,-5S,XL5, Standard Resolution, 1.0 Gauss in ± 5.5, ± 5.0 Tesla Field, da Quantum Design*.

3.3.4 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

O difratograma da amostra SPION foi coletado em difratômetro da marca Panalytical, modelo X'Pert Pro, com detetor pontual, no CBPF. A aquisição foi feita entre 10 e 70° 2θ, em passo angular de 0.05 ° 2θ e 3 s/passo. Foi utilizado tubo com anôdo de cobre, com voltagem de 40 kV e amperagem 40 mA.

As outras duas amostras, tinta e bactéria, foram analisadas em difratômetro da marca Panalytical, modelo Cubix^3, com detetor de área no laboratório da Usiminas e no LCT-POLI-USP. A aquisição foi feita entre 10 80° 2θ em passo angular de 0,0100° 2θ e 20 s/passo. O tubo utilizado foi de cobalto com voltagem de 45 kV e amperagem 40 mA.

Para o refinamento da cela unitária da magnetita pelo método de Rietveld foi utilizado o High Score Plus, da Panalytical.

3.3.5 ESPECTROSCOPIA MÖSSBAUER

O espectrômetro utilizado foi Halder MCA 3/1, de propriedade do CBPF. A análise foi feita a 300 K, com contagens de 24 hs.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)

4.1.1 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS (SPION)

As FIG. 4.1 a 4.3 são referentes às nanopartículas magnéticas SPION. Observou-se que estas partículas apresentam forte tendência a se aglomerarem.

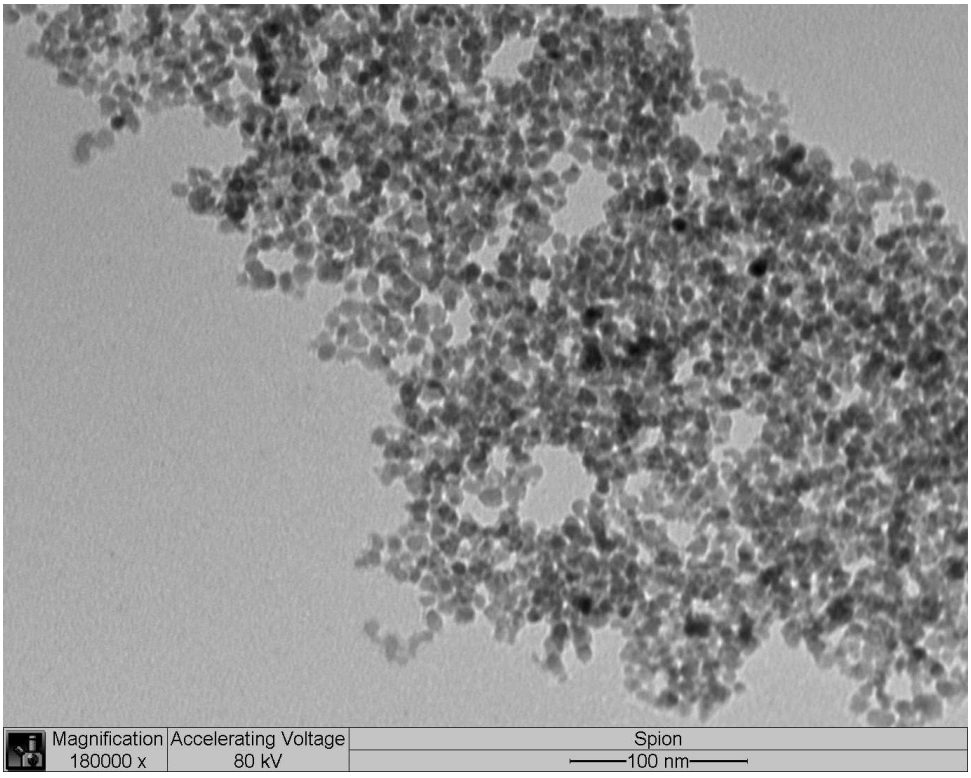


FIG. 4.1 Micrografia de uma região de uma amostra de SPION.

As FIG. 4.1 a 4.3 evidenciam a morfologia esférica e tamanhos de partícula de aproximadamente 10 nm.

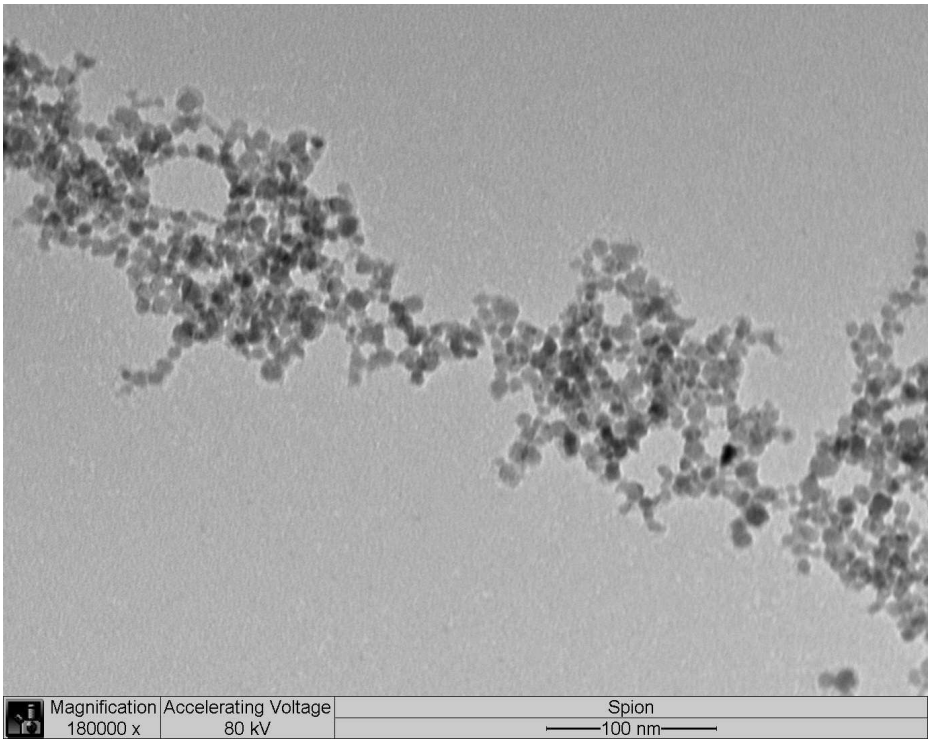


FIG. 4.2 Micrografia de uma região de uma amostra de SPION.

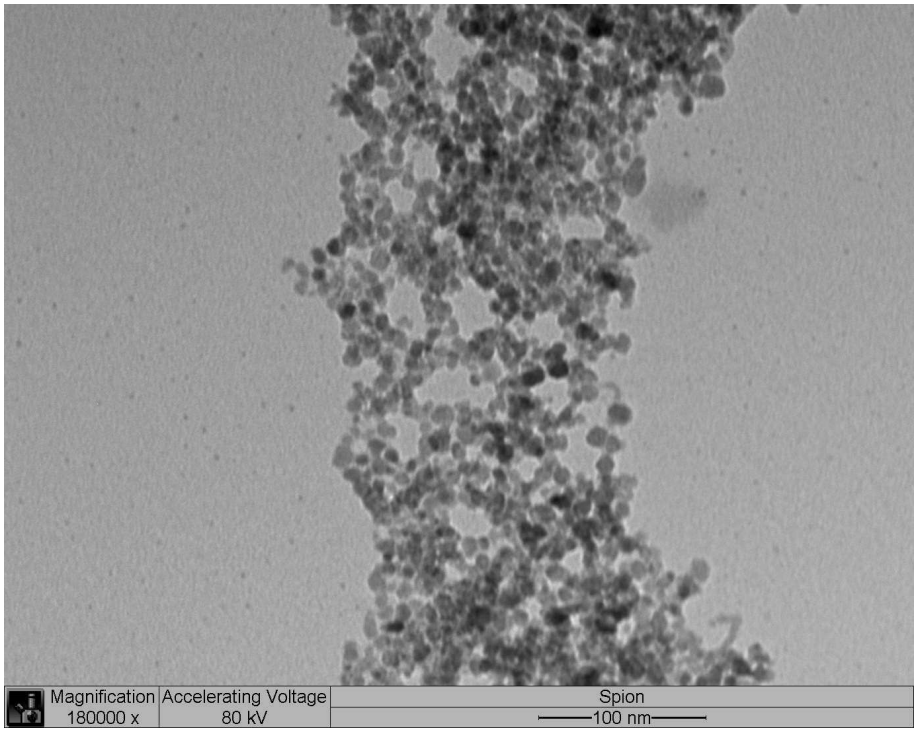


FIG. 4.3 Micrografia de uma região de uma amostra de SPION.

4.1.1.1 ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDS)

As análises em EDS foram realizadas em duas regiões das amostras de SPION, como mostram as FIGS. 4.4 (a) e 4.5 (a). No espectro das duas regiões, FIGS. 4.4 (b) e 4.5 (b) aparecem os picos do ferro bem definidos. O objetivo da análise em EDS foi apenas analisar qualitativamente os elementos químicos presentes nas partículas, uma vez que para uma análise quantitativa, o EDS não é a ferramenta adequada.

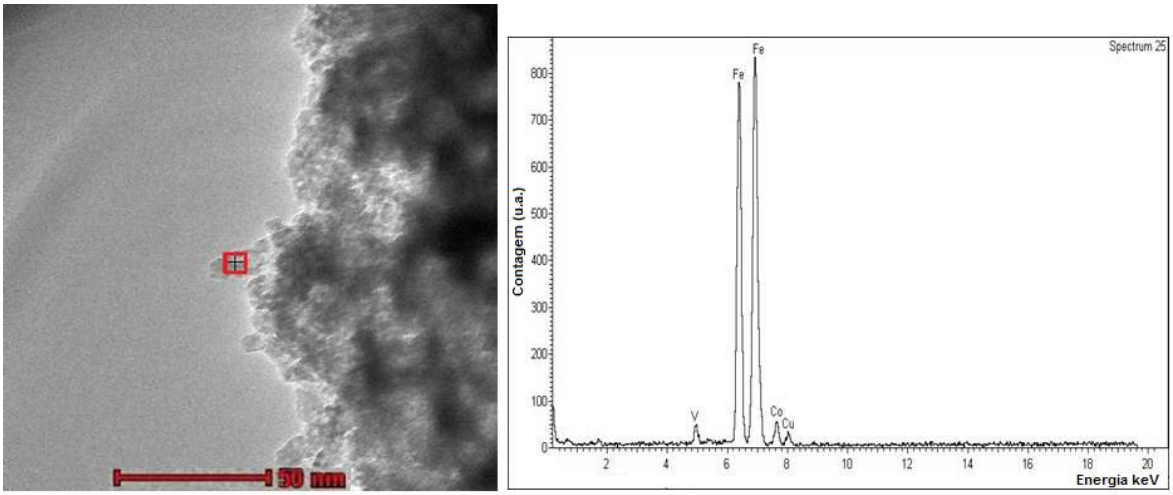


FIG. 4.4 Micrografia da primeira amostra de SPION, muito aglomerada mostrando a região definida para o EDS (a); respectivo espectro de EDS (b).

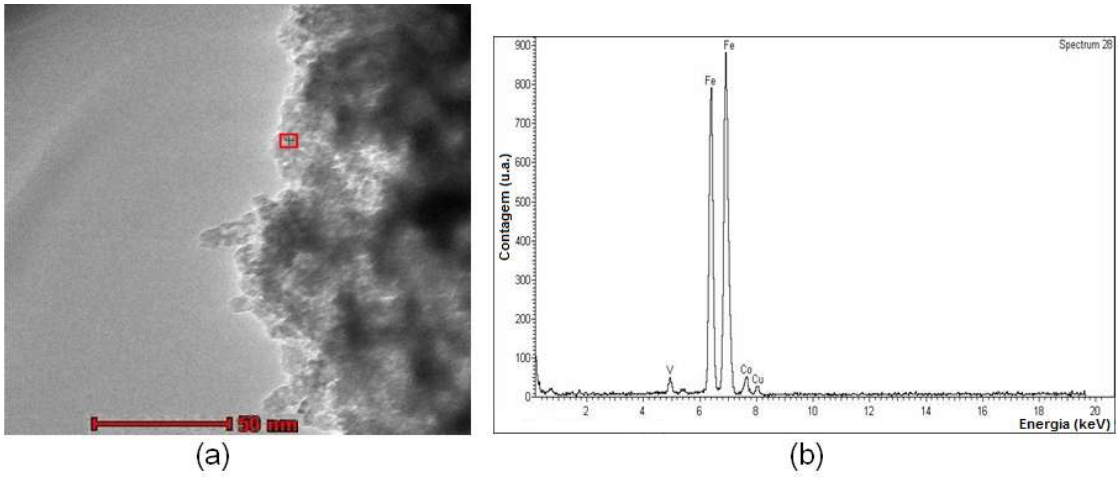


FIG. 4.5 Micrografia da primeira amostra de SPION, muito aglomerada mostrando a região definida para o EDS (a); respectivo espectro de EDS (b).

4.1.2 TINTA COMERCIAL (MOAGEM)

As FIGS. 4.6 a 4.8 mostram partículas micrométricas e sub-micrométricas encontradas no pigmento de tintas comercias (negro-de-marte, da marca Grumbacher Pre-Tested® P-134). Observa-se uma grande variedade de formas e tamanhos devido à moagem grosseira do pigmento durante o processo de fabricação da tinta.

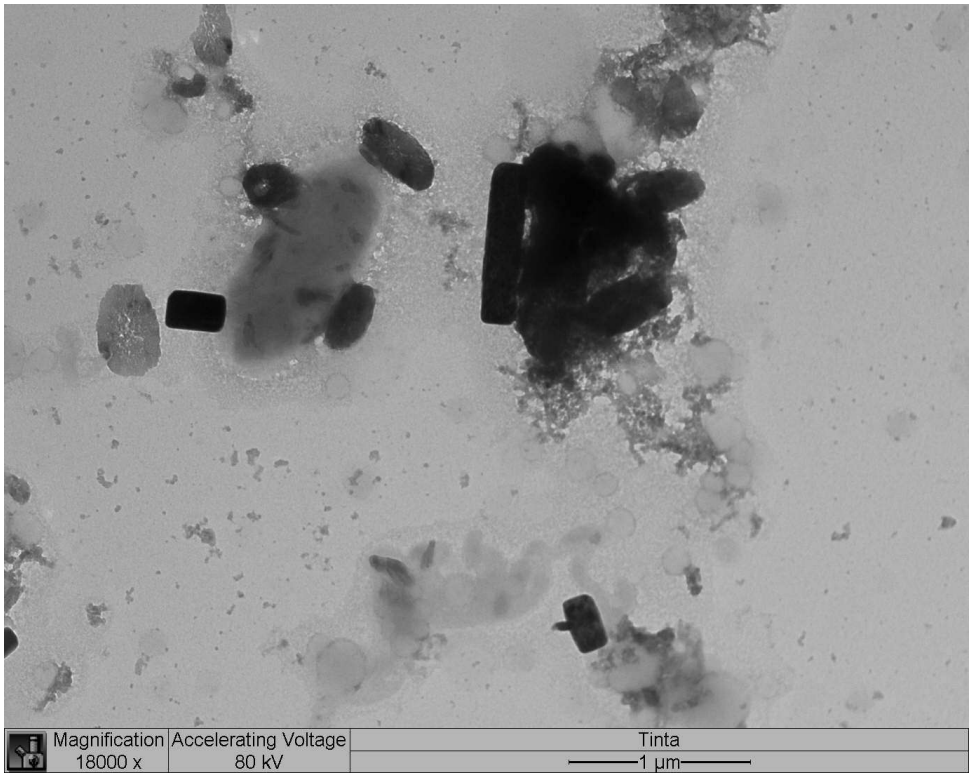


FIG. 4.6 Micrografia de uma região de uma amostra de tinta comercial.

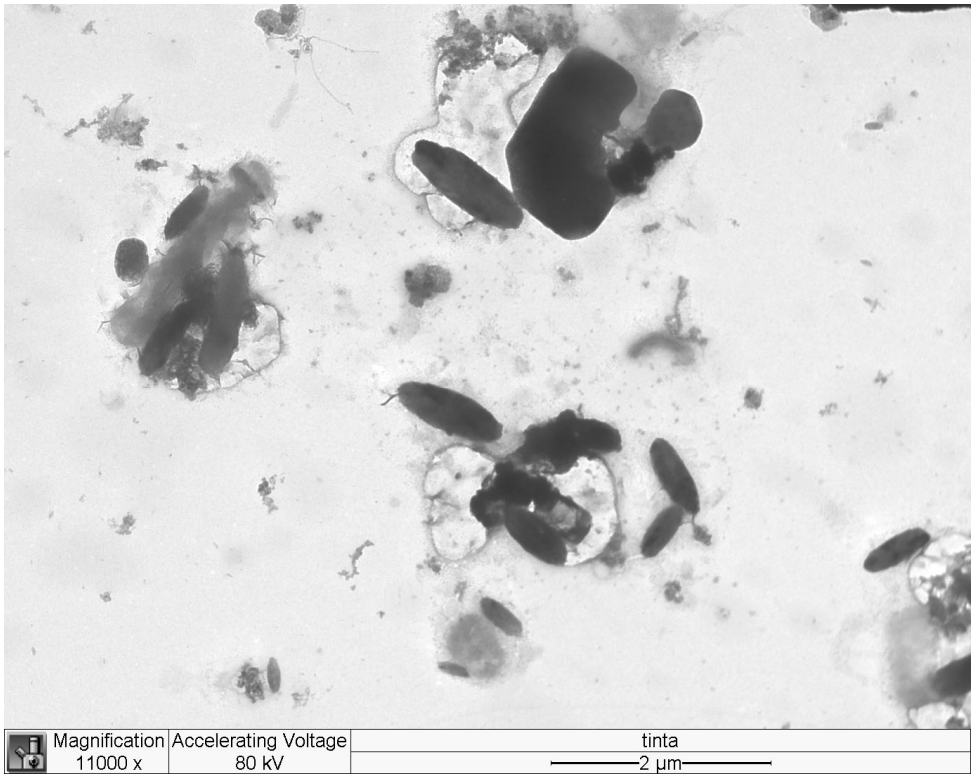


FIG. 4.7 Micrografia de uma região de uma amostra de tinta comercial.

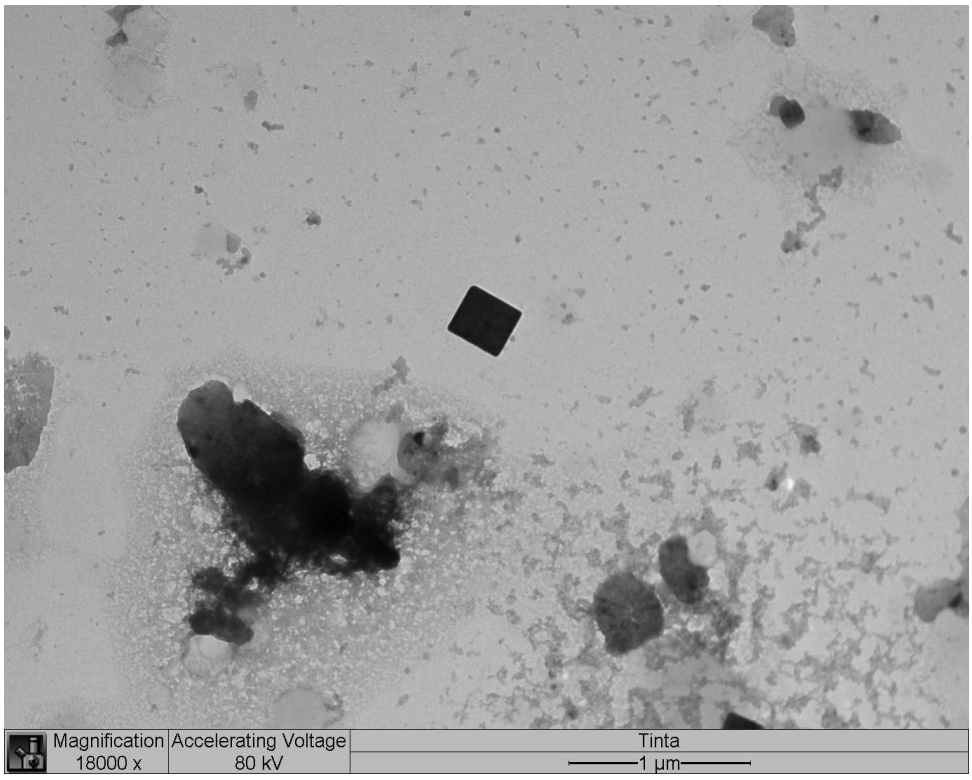


FIG. 4.8 Micrografia de uma região de uma amostra de tinta comercial.

4.1.2.1 ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDS)

Na análise por EDS realizada em uma região da amostra de tinta, o ferro aparece como pico principal e os outros elementos visíveis nos outros picos são compatíveis com a composição das tintas comerciais, FIG. 4.9:

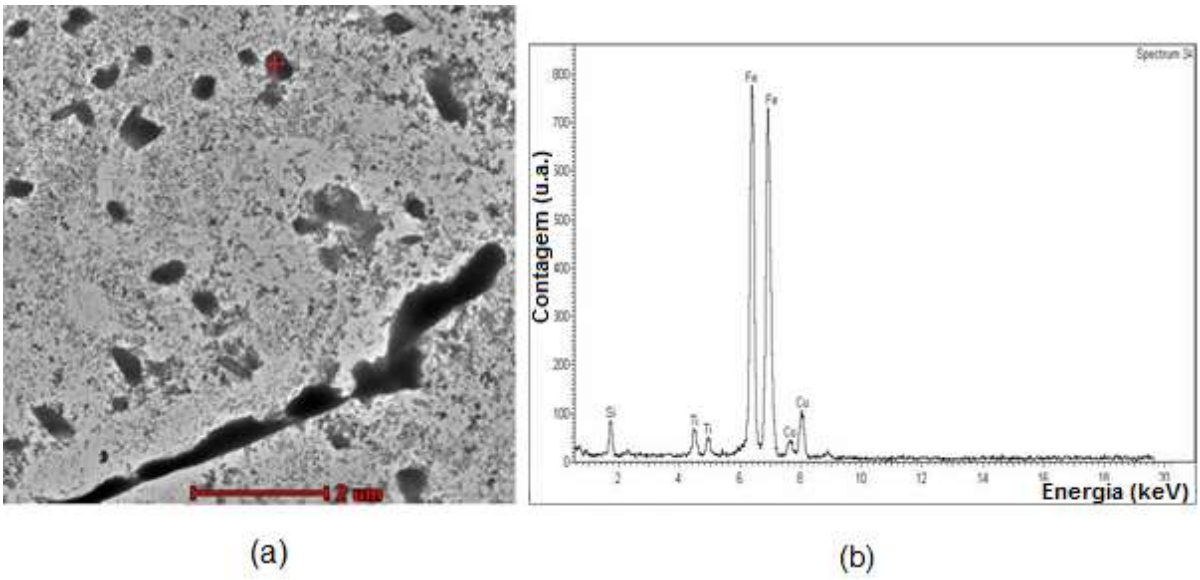


FIG. 4.9 Micrografia da primeira amostra de tinta comercial que foi utilizada somente para se obter o espectro de EDS (a); respectivo espectro de EDS (b).

4.1.3 BACTÉRIAS MAGNETOTÁCTICAS

A FIG. 4.10 ilustra uma bactéria inteira com seu magnetossoma bem delimitado. Nas extremidades da cadeia de cristais, notam-se os de menor tamanho que sugerem uma constante síntese dos mesmos.

As FIGS. 4.11 e 4.12 mostram nanocristais de bactérias que sofreram lise celular. Estes cristais se encontravam espalhados por toda a amostra. Pode-se notar que os cristais, mesmo após a lise bacteriana, são mantidos em cadeia. Observou-se uma homogeneidade da forma destes.

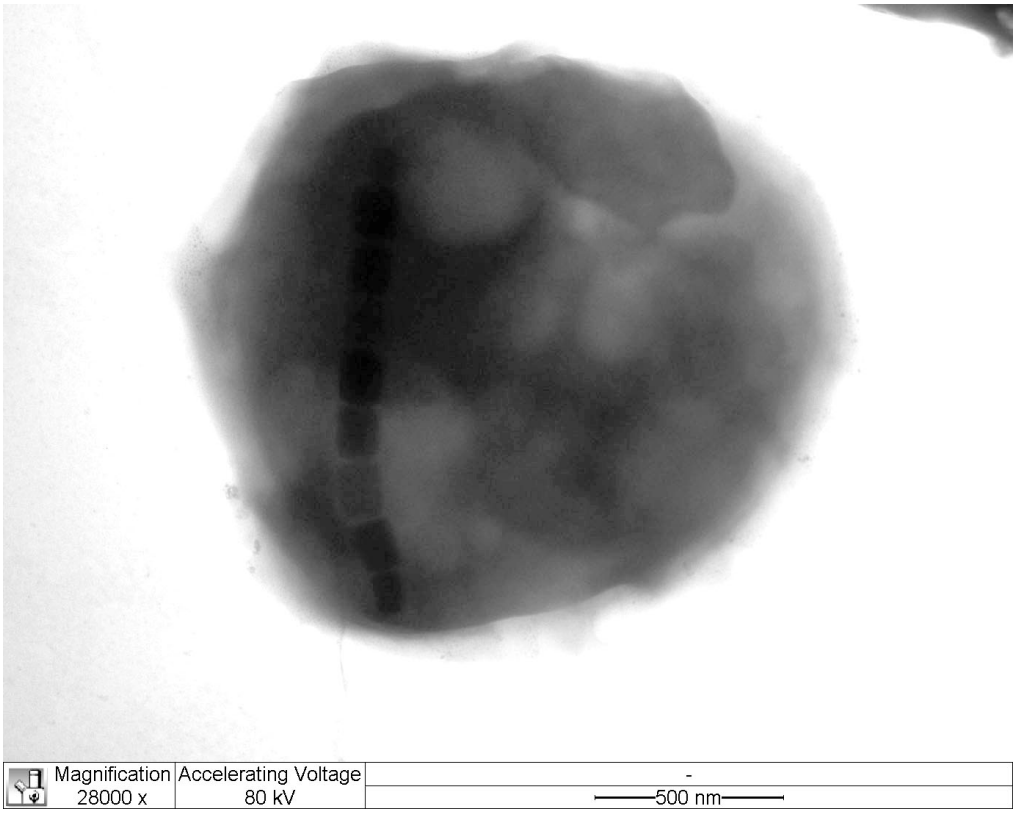


FIG. 4.10 Micrografia de uma bactéria magnetotáctica.

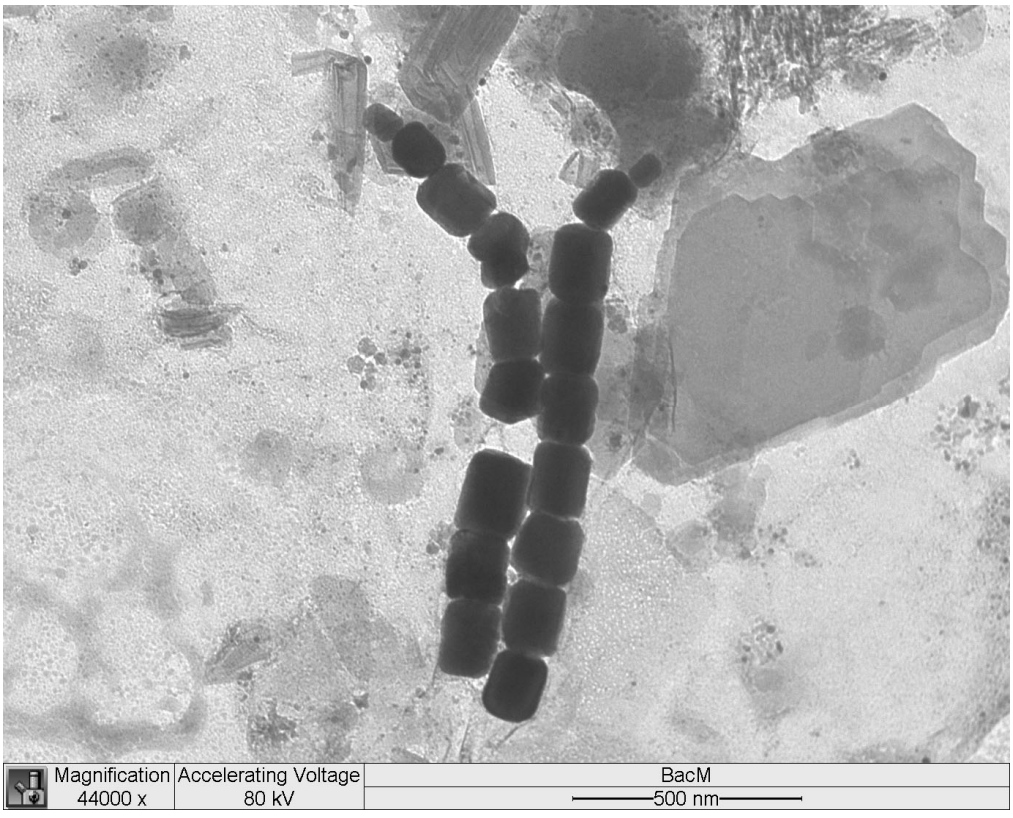


FIG. 4.11 Micrografia de nanocristais espalhados na amostra.

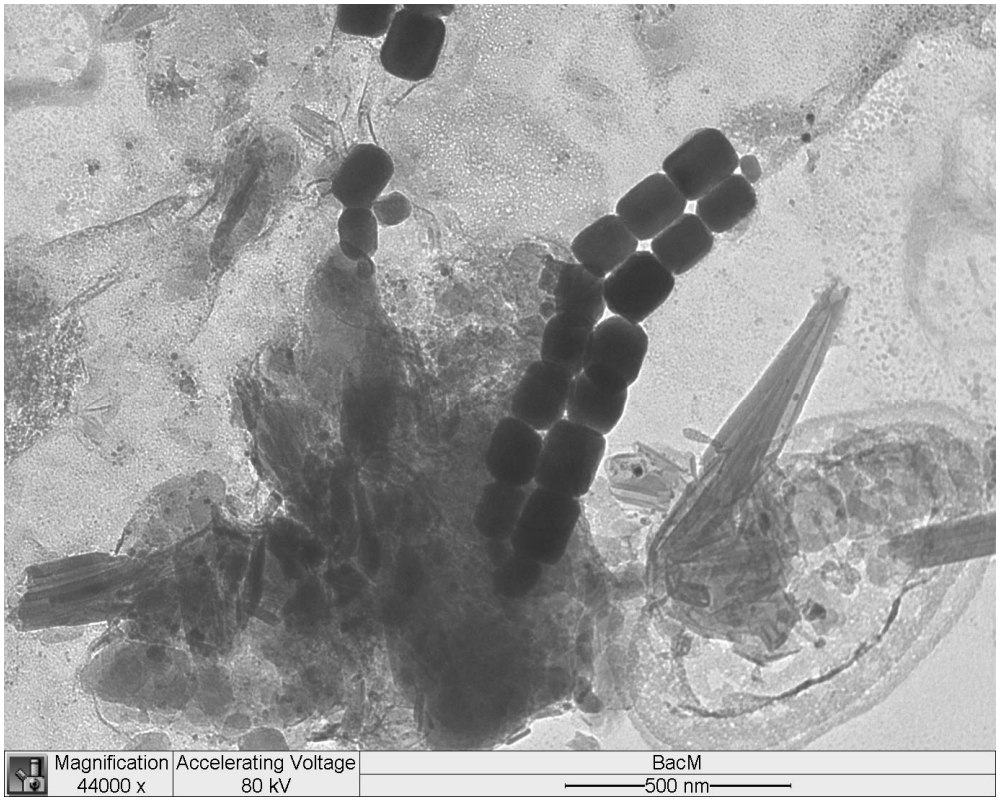


FIG. 4.12 Micrografia de nanocristais espalhados na amostra.

4.1.3.1 ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDS)

Todas as tentativas para se obter o espectro de EDS das partículas das bactérias foram frustradas. O MET operando a 200 kV danificou os filmes e consequentemente as amostras biológicas. Nas análises a 80 kV, o equipamento não possui esta ferramenta de análise (EDS).

4.2 MEDIDA DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS

Como detalhado anteriormente, a medida do tamanho de partículas foi feita com a associação dos programas de tratamento de imagem *Adobe Photoshop CS5*

e *ImageJ* (com *Watershed Segmentation*). Juntos, estes programas geraram os dados necessários para a construção das tabelas e gráficos a seguir.

As TABS.4.1 a 4.3 indicam as classes da medida das áreas das partículas, a freqüência simples absoluta (*fj*), frequência simples relativa (*frj*), a freqüência absoluta acumulada (*Fj*) e a frequência relativa acumulada (*Frj*) das partículas medidas (S, T e B). Com estes dados foi possível a obtenção dos gráficos ilustrados nas FIGS. 4.13 a 4.15.

A TAB. 4.1 e a FIG. 4.13 referem-se às nanopartículas SPION. Através da análise do gráfico, é possível notar que a maior parte das nanopartículas medidas nesta amostragem possui uma área da mancha na faixa entre 51 e 85 nm^2. Nota-se também uma larga distribuição de tamanho. Este resultado concorda com as análises em MET, que revelou partículas com poucos nanômetros de diâmetro.

TABELA 4.1

Distribuição da área em nm^2 de 230 partículas SPION

Área	fj	Fjr (%)	Fj	Frj (%)
0 ⊣ 17	1	0,4	1	0,4
17⊣ 34	14	5,9	15	6,3
34 ⊣ 51	42	17,6	57	23,8
51 ⊣ 68	49	20,5	106	44,4
68 ⊣ 85	50	20,9	156	65,3
85 ⊣ 102	34	14,2	190	79,5
102 ⊣ 119	26	10,9	216	90,4
119 ⊣ 135	9	3,8	225	94,1
135 ⊣ 152	9	3,8	234	97,9
152 ⊣ 169	2	0,8	236	98,7
169 ⊣ 186	2	0,8	238	99,6
186 ⊣ 203	1	0,4	239	100,0
	239	100		

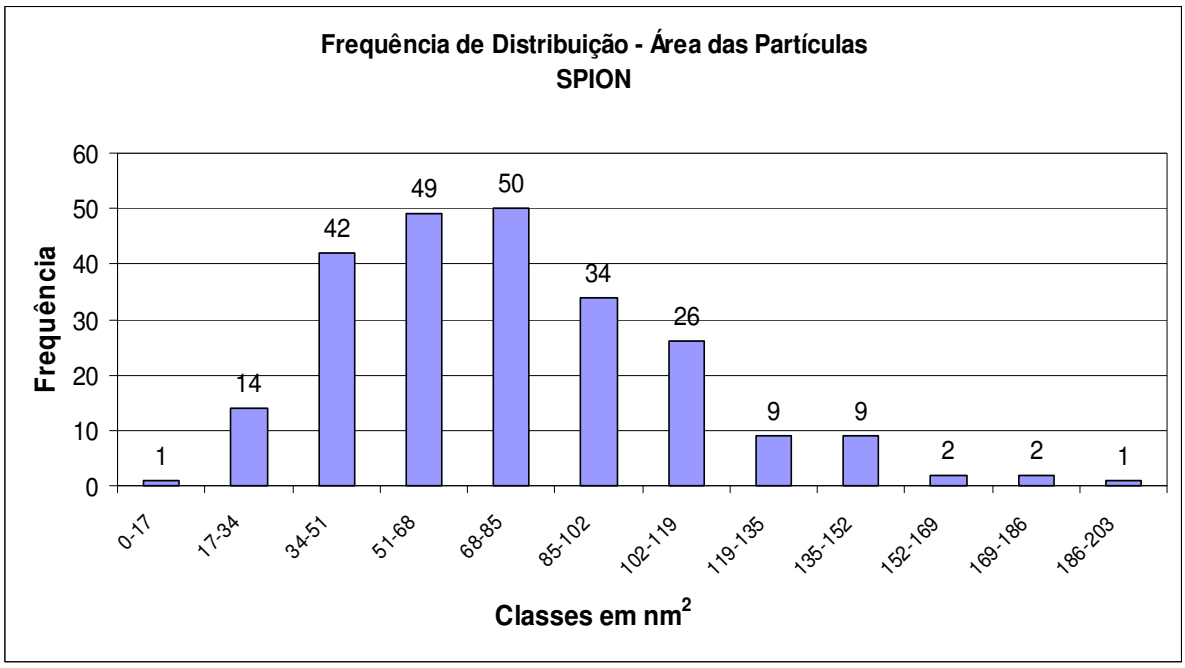


FIG. 4.13 Distribuição do tamanho das partículas por área em nm^2

A TAB. 4.2 indica as classes de medidas da área de 101 partículas de óxido de ferro encontradas no pigmento de tinta comercial. Através da análise da FIG. 4.14 percebe-se que a maior parte das partículas medidas possui uma área da mancha entre 0,07 e 0,15 μm^2.

TABELA 4.2

Distribuição da área em μm^2 de 101 partículas de Tinta Comercial

Área	fj	fjr (%)	Fj	Frj (%)
0 ⊣ 0,071	42	41,6	42	41,6
0,071 ⊣ 0,142	39	38,6	81	80,2
0,142 ⊣ 0,213	9	8,9	90	89,1
0,213 ⊣ 0,284	4	4,0	94	93,1
0,284 ⊣ 0,355	3	3,0	97	96,0
0,355 ⊣ 0,426	0	0,0	97	96,0
0,426 ⊣ 0,497	1	1,0	98	97,0
0,497 ⊣ 0,568	0	0,0	98	97,0
0,568 ⊣ 0,640	0	0,0	98	97,0
0,640 ⊣ 0,711	1	1,0	99	98,0
0,711 ⊣ 0,82	2	2,0	101	100,0
	101	100,0		

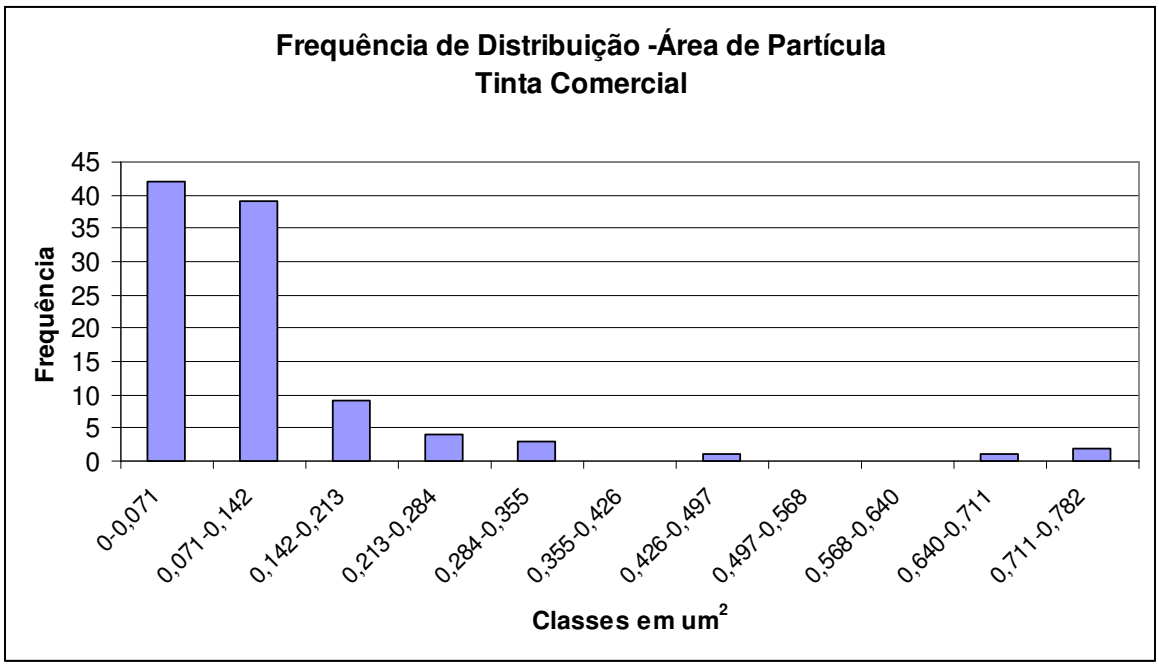


FIG. 4.14 Distribuição do tamanho das partículas por área em μm^2.

A TAB.4.3 mostra as classes de medidas da área de 170 partículas de óxido de ferro de bactérias magnetotácticas observadas. Com a FIG. 4.15, observa-se que as partículas possuem uma área da mancha, em sua maioria, com tamanhos que variam entre 9600 e 16800 nm^2.

TABELA 4.3

Distribuição da área em nm^2 de 170 partículas do magnetossoma

Área	fj	fjr (%)	Fj	Frj (%)
0 ⊣ 2400	12	7,1	12	7,1
2400 ⊣ 4800	10	5,9	22	12,9
4800 ⊣ 7200	13	7,6	35	20,6
7200 ⊣ 9600	12	7,1	47	27,6
9600 ⊣ 12000	30	17,6	77	45,3
12000 ⊣ 14400	24	14,1	101	59,4
14400 ⊣ 16800	35	20,6	136	80,0
16800 ⊣ 19200	16	9,4	152	89,4
19200 ⊣ 21600	11	6,5	163	95,9
21600 ⊣ 24000	5	2,9	168	98,8
24000 ⊣ 26400	2	1,2	170	100,0
	170	100,0		

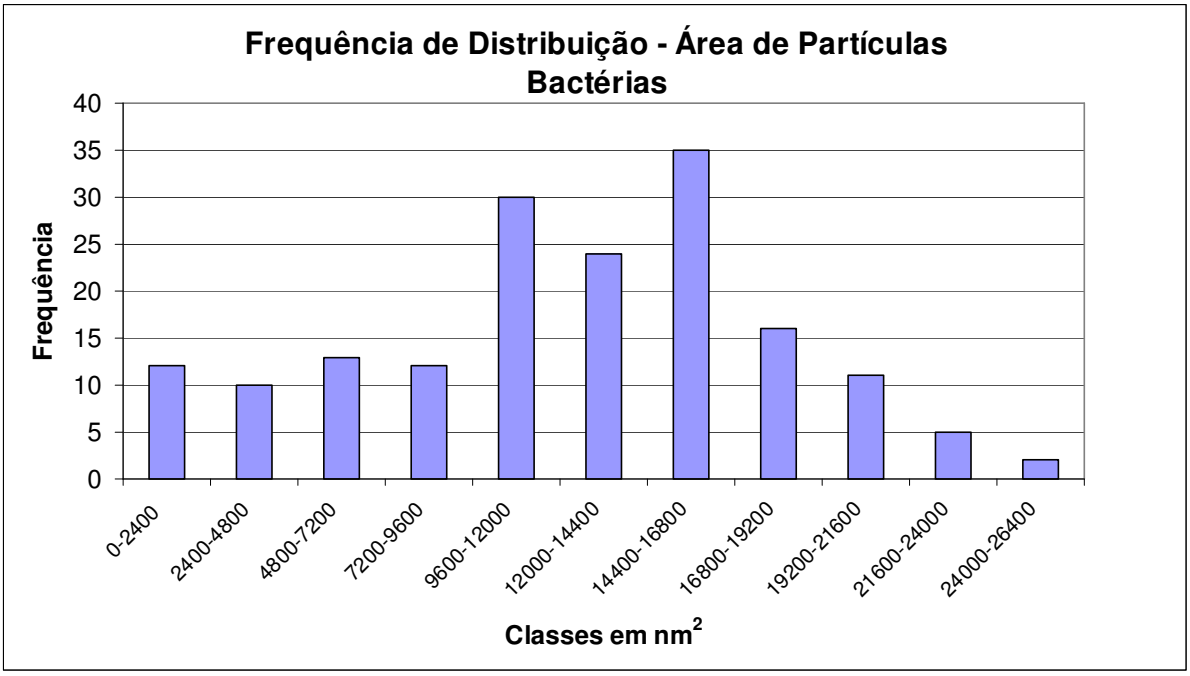


FIG. 4.15 Distribuição do tamanho das partículas por área em nm^2.

4.2.1 DESVIO PADRÃO

O desvio padrão das medidas tomadas foi calculado adotando-se o mesmo procedimento de medição utilizado para todas as partículas. Escolheu-se uma partícula de cada tipo (SPION, tinta e bactéria) e mediu-se trinta vezes cada uma. Os resultados estão indicados na TAB. 4.4.

TABELA 4.4
Desvio Padrão da Média Aritmética (Área das Partículas)

Partículas	Observações	Média Aritmética das Medidas	Desvio Padrão
SPION	30	$(5,37 \pm 0,02)x10\ nm^2$	1,35
BACTÉRIA	30	$(1,75 \pm 0,05)x10^4\ \mu m^2$	21,82
TINTA	30	$(3,8 \pm 0,1)x10^5\ nm^2$	$3,8x10^{-3}$

Com os resultados acima, conclui-se que o método adotado para medição das partículas mostrou-se confiável.

4.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA ELETRÔNICA (RME)

A FIG. 4.16 mostra as curvas das amostras de tinta, SPION e bactérias (B1). As curvas foram classificadas utilizando-se os seguintes parâmetros espectrais: fator-g efetivo, g_{efe}; lagura de linha a meia altura (ΔB); razão de assimetria ($A = \Delta B_{alto} / \Delta B_{baixo}$) e a posição do pico da curva de absorção, B_{efe}. A FIG. 4.16 apresenta a comparação dos espectros das três amostras.

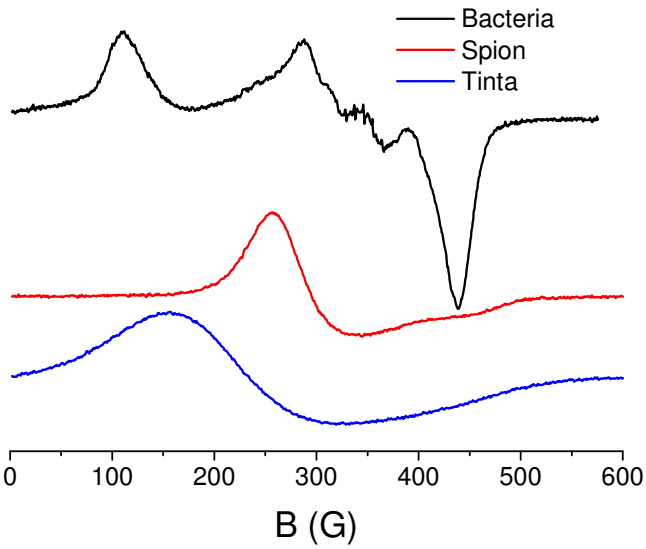


FIG. 4.16 Comparação dos espectros de RME das amostras de SPION, tinta e bactéria magnetotáctica.

A FIG. 4.17 ilustra a sobreposição dos espectros de B1 e B2per. Como explicado anteriormente, a amostra B1 teve uma menor concentração de bactérias (5 dias) e B2per uma concentração mais longa (15 dias). Nota-se a grande diferença nos espectros.

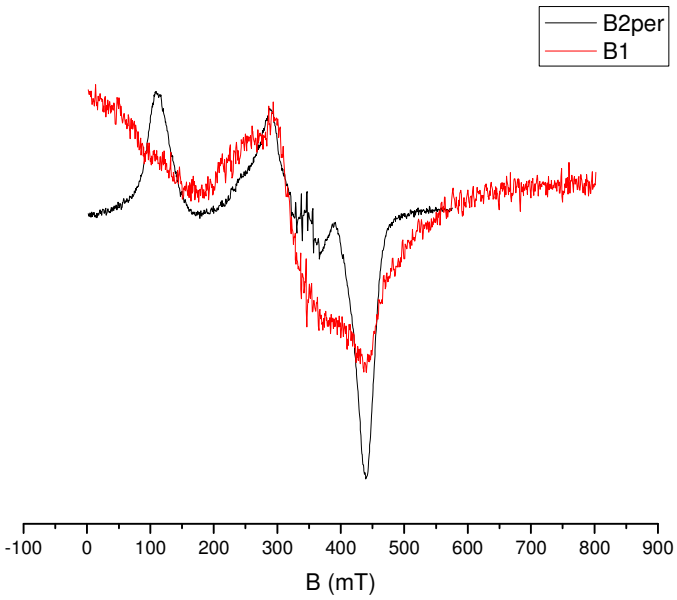


FIG. 4.17 Sobreposição dos espectros de RME das amostras B1 e B2per.

A FIG. 4.18 mostra a comparação dos espectros de RME das bactérias e da água do aquário sem bactérias. Esta comparação mostra que a membrana contendo amostra de bactérias apresenta um sinal bem mais forte que a membrana que possui concentração de água do aquário. Isto nos leva a concluir que a água do aquário está livre de qualquer outro material magnético.

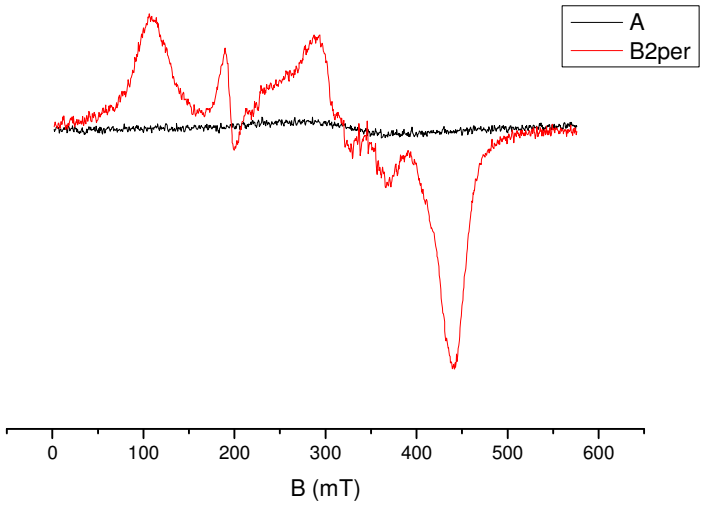


FIG. 4.18 Comparação entre os espectros das amostras contendo água do aquário (A) e bactérias (B2per).

A TAB.4.5 apresenta uma síntese dos dados obtidos com a RME. Nota-se que as amostras contendo bactérias apresentam uma maior largura de linha e B2per apresentou g_{efe} mais próximo ao fator-g da magnetita natural (2.12). Por outro lado a amostra SPION apresentou o menor valor da largura de linha a meia altura e de *A*, porém com g_{efe} próximo ao da magnetita. A tinta mostra um g_{efe} baixo e $A>1$.

Observa-se que em nenhuma das amostras utilizadas as partículas estavam isoladas. Isto quer dizer que na concentração das mesmas, impurezas e contaminantes estavam presentes, seja da água ou dos métodos de síntese e/ou fabricação.

TABELA 4.5

Dados das medidas da RME

Amostra	B_{eff} (mT)	g_{eff}	ΔB (mT)	*A*
SPION (S)	328.00	2.09	131.38	1.50
Tinta (T)	435.92	1.58	240.86	0.78
Bactéria (B2per)	289.68	2.36	317.50	0.57
Bactéria (B1)	319.40	2.15	303.42	0.41

Weiss et al.(2004), propuseram um diagrama no qual se plota *A* em relação *a* g_{efe} para óxidos de ferro de diferente origens e características a temperatura ambiente. A FIG. 4.19 apresenta este diagrama para os dados deste trabalho. O desvio nos valores de g_{efe} e variações em ΔB podem estar relacionadas à dispersão dos cristais de magnetita das amostras, e a uma matriz rica em outros minerais, impurezas e contaminantes.

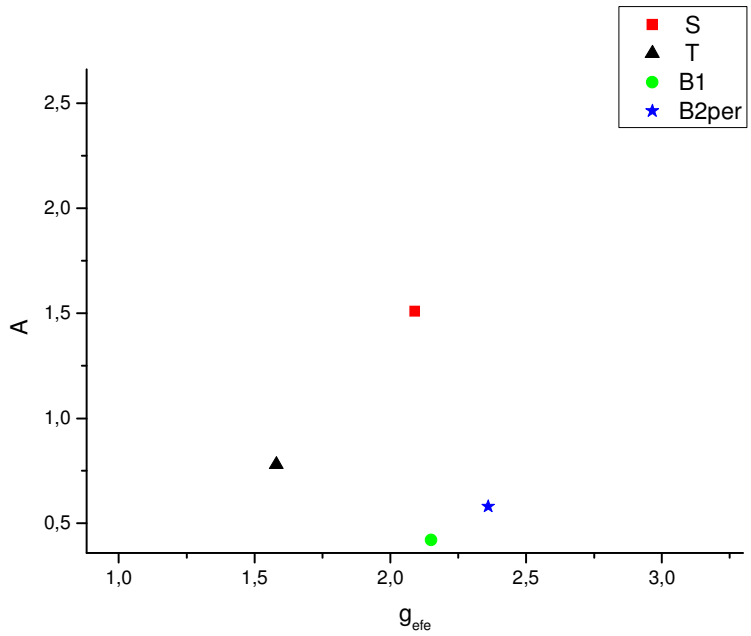


FIG .4.19 Síntese dos valores obtidos no espectro de RME das amostras de magnetita.

Na análise das amostras com maior concentração de bactérias B2per e B2par, notou-se uma grande diferença nos espectros, como mostra a FIG. 4.16, e anteriormente associadas à organização em cadeia linear dos cristais de magnetita, então decidiu-se analisar a dependência angular dos espectros dos três tipos de partículas diferentes. Neste tipo de análise, a amostra gira até 180° em relação à direção do campo fixo do espectrômetro de RME. Como dito anteriormente, para este tipo de análise, as amostras foram preparadas com o ímã posicionado paralela e perpendicularmente à membrana na qual foram depositadas.

Pode-se observar na FIG. 4.20 e FIG. 4.21 que as mudanças espectrais apresentam uma aparente periodicidade em relação ao ângulo. A amostra B2per apresentou um sinal extra na região próximo de 200 mT, que pode ser um artefato ou impureza presente na amostra.

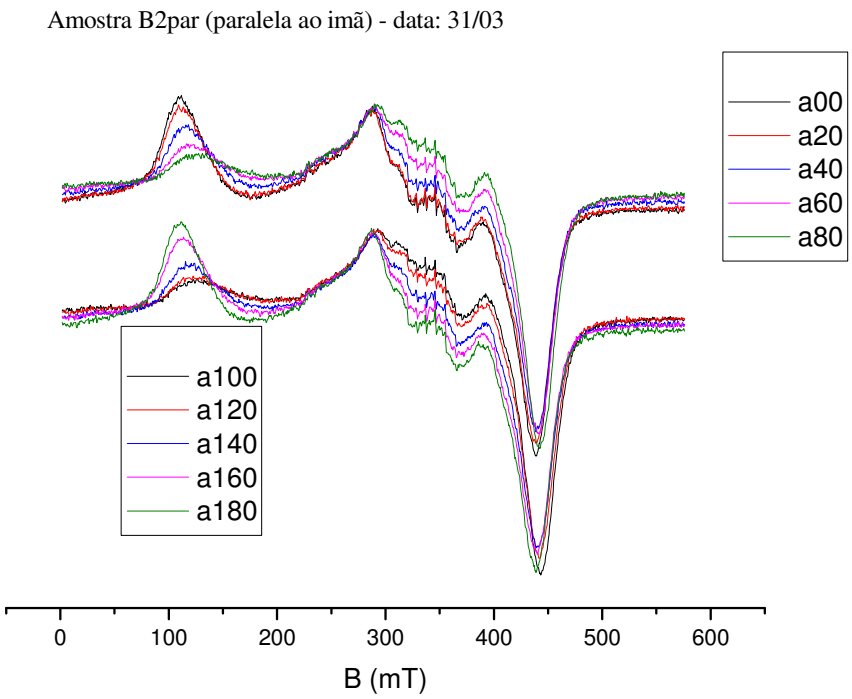


FIG. 4.20 Variação angular da membrana com concentração de bactérias - ímã paralelo à amostra.

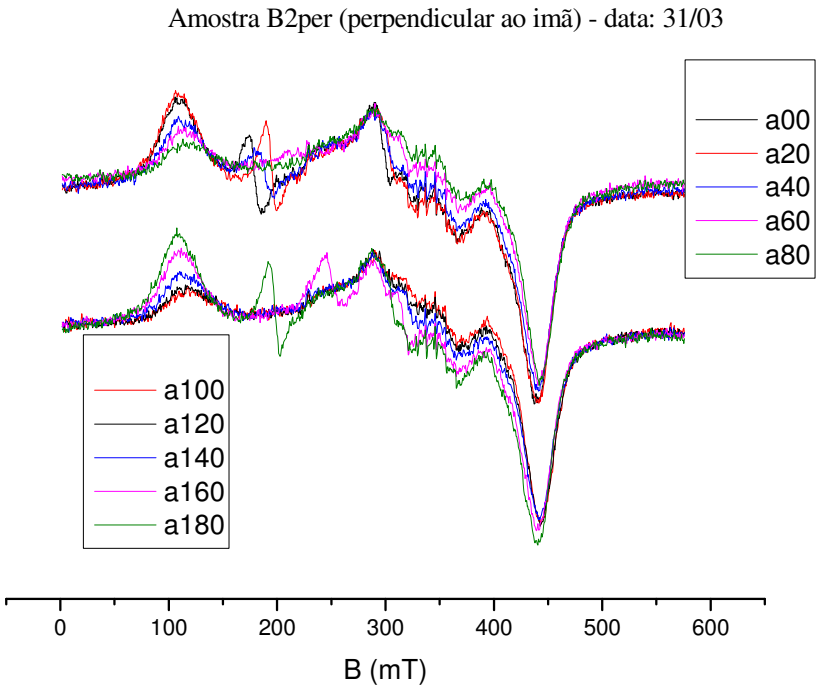


FIG. 4.21 Variação angular da membrana com concentração de bactérias - ímã perpendicular à amostra.

As amostras SPION e tinta, obtidas com o ímã paralelo e com o ímã perpendicular à amostra, apresentaram comportamento semelhante em relação à variação angular, como pode ser observado nas FIG. 4.22 a 4.25.

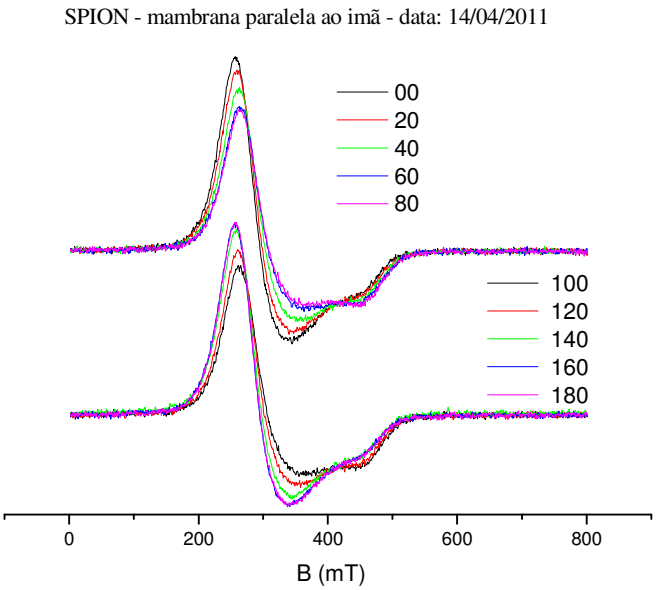


FIG. 4.22 Variação angular da membrana com concentração de SPION - ímã paralelo à amostra.

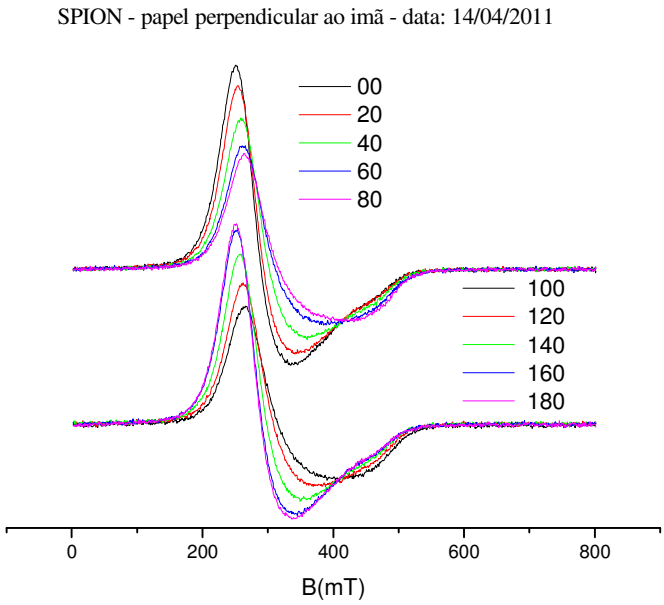


FIG. 4.23 Variação angular da membrana com SPION - ímã perpendicular à amostra.

O sinal das amostras de SPION é bastante estreito, uma característica de material superparamagnético.

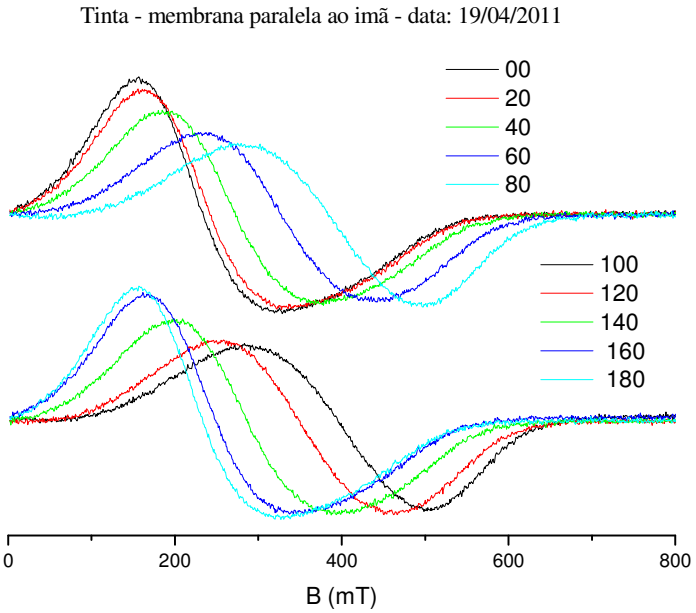


FIG. 4.24 Variação angular da membrana com concentração de tinta - ímã paralelo à amostra.

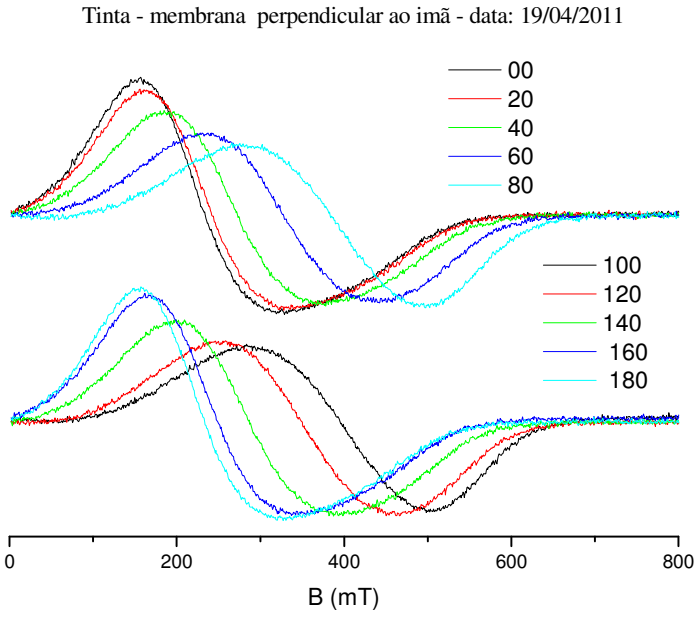


FIG. 4.25 Variação angular da membrana com concentração de tinta - ímã perpendicular à amostra.

O sinal da tinta é característico da presença de partículas maiores. A FIG. 4.26 mostra o campo de ressonância em função do ângulo formado com o campo fixo do espectrômetro das diferentes amostras. Observa-se que as partículas presentes nas bactérias apresentam uma resposta de variação angular bastante peculiar.

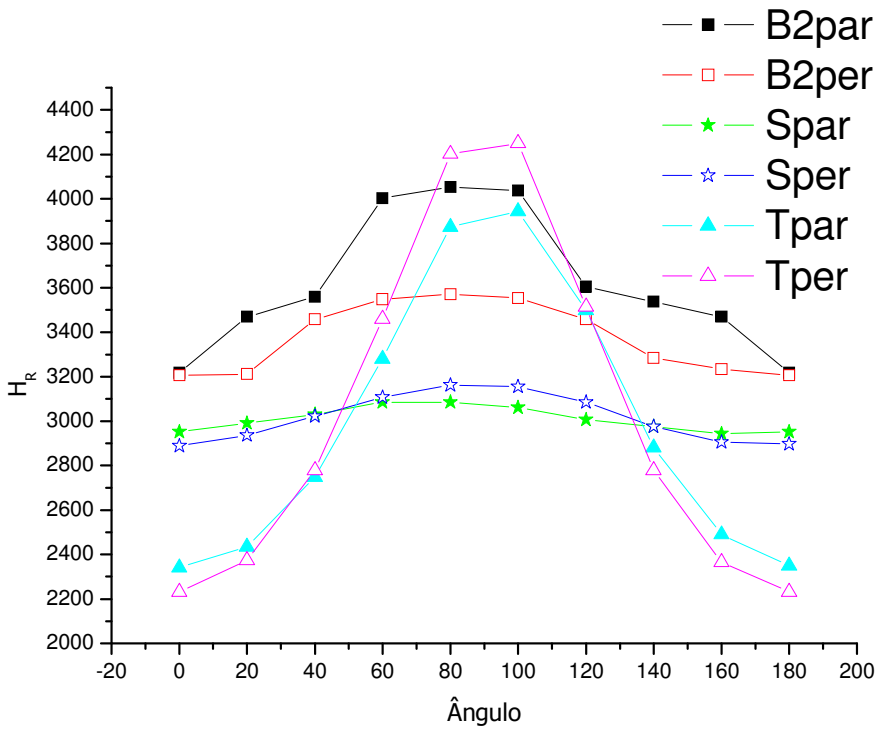


FIG. 4.26 Curvas mostrando o campo de ressonância (máximo de absorção) das diferentes amostras de magnetita.

Os resultados acima observados podem refletir estrutura de magnetita em cadeia das bactérias magnetotácticas. A resposta a RME difere da dos cristais de magnetita da SPION e da tinta que se encontram aleatoriamente espalhados. Isto pode ser claramente visualizado na variação angular.

4.4 SQUID

Foram feitas as medidas de magnetização das três amostras Spion (S), tinta (T) e bactérias (B).

A FIG. 4.27 exibe a curva da Magnetização versus Campo Magnético (*MxH*) da amostra B com uma componente diamagnética e uma componente ferromagnética devido à presença das nanopartículas.

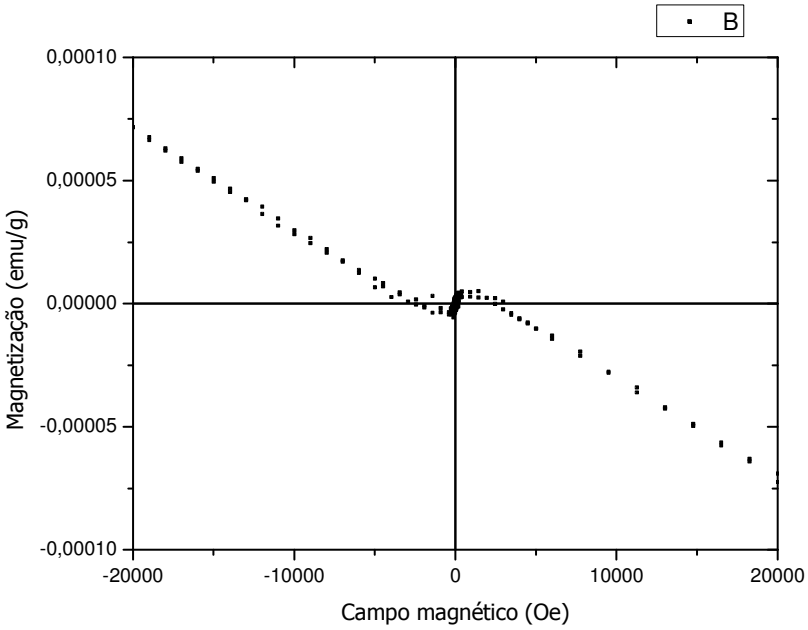


FIG. 4.27 Curva MxH da amostra B.

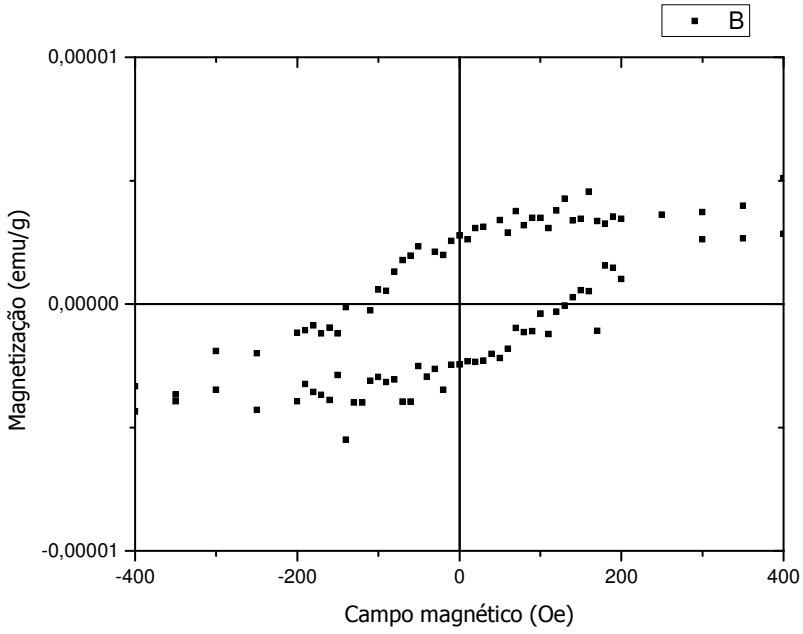


FIG. 4.28 Curva MxH no intervalo de campo entre -400 a 400 Oe.

A FIG. 4.28 exibe a curva da Magnetização versus Campo Magnético no intervalo de campo entre -400 a 400 Oe. Observa-se um evidente comportamento de histerese ferromagnética devido à presença de nanopartículas. No caso da amostra B, para medida da magnetização (*M*), foi preciso extrair a componente diamagnética. Esta se dá devido ao substrato biológico da amostra. A FIG. 4.29 contém os parâmetros do ajuste linear para as medidas entre 500 e 2000 Oe. Com este ajuste foi possível extrair a inclinação da componente diamagnética da curva acima.

.

21/3/2011 16:20 "/Graph4" (2455641)]
Linear Regression for Data4_B:
Y = A + B * X

Parameter	Value	Error
A	1,09419E-5	5,59329E-7
B	-4,0328E-9	4,25281E-11

R	SD	N	P
-0,99956	6,60693E-7	10	<0.0001

FIG. 4.29 Parâmetros do ajuste linear para as medidas entre 500 e 2000 Oe.

A FIG. 4.30 exibe a inclinação da componente diamagnética da curva de magnetização mostrada anteriormente. Esta componente, como dito anteriormente, se dá devido ao rico substrato biológico da amostra.

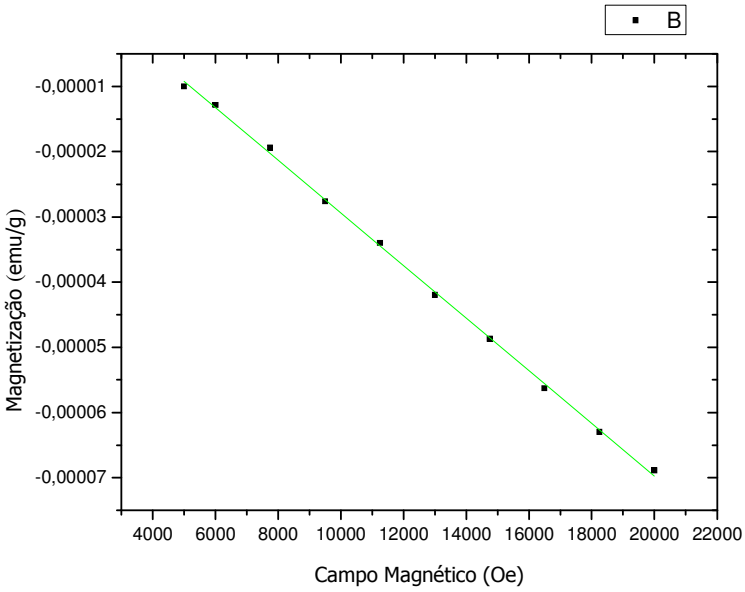


FIG. 4.30 Inclinação da componente diamagnética do ajuste da curva anterior.

Através da subtração da componente diamagnética (FIG. 4.30) da curva de Magnetização versus Campo Magnético no intervalo de campo entre -500 a 500 Oe (FIG. 4.31), pode-se quantificar a saturação magnética (M_s). Este valor ficou em torno de 1,05 x 10^{-5} emu/g para a amostra biológica.

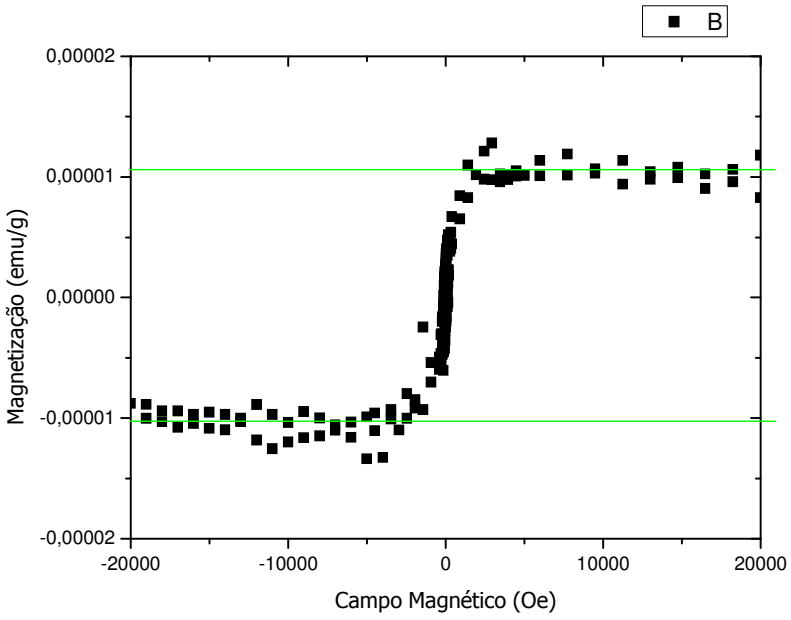


FIG. 4.31 Curva mostrando o ponto de saturação magnética (M_s).

Com a curva apresentada na FIG. 4.32, a coercividade (*Fc*) e a magnetização remanente (*Mr*) foram obtidas. A amostra biológica apresentou comportamento ferromagnético, apresentando uma coercividade de 120 Oe e uma remanência de 2,62 x 10^{-6} emu/g. Estes parâmetros estão representados na curva a seguir:

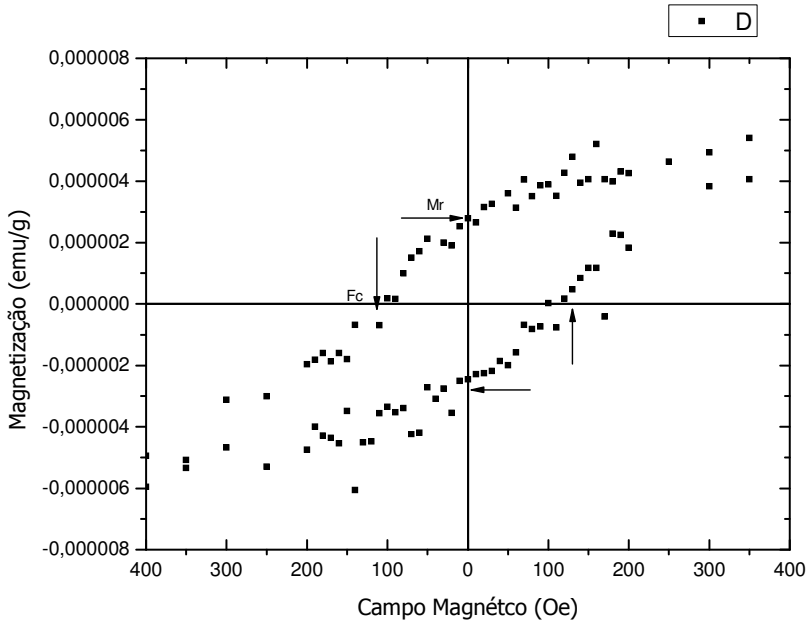


FIG. 4.32 Curva mostrando *Fc* e *Mr* da amostra B.

A curva apresentada na FIG. 4.31 é a que mais se aproxima de uma curva de um material apresentando monodomínio magnético.

A FIG. 4.33 mostra a curva MxH das nanopartículas SPION (S). A M_s ficou em torno de 3,06x 10^{-3} emu/g. Este valor é mais alto que o dos magnetossomas.

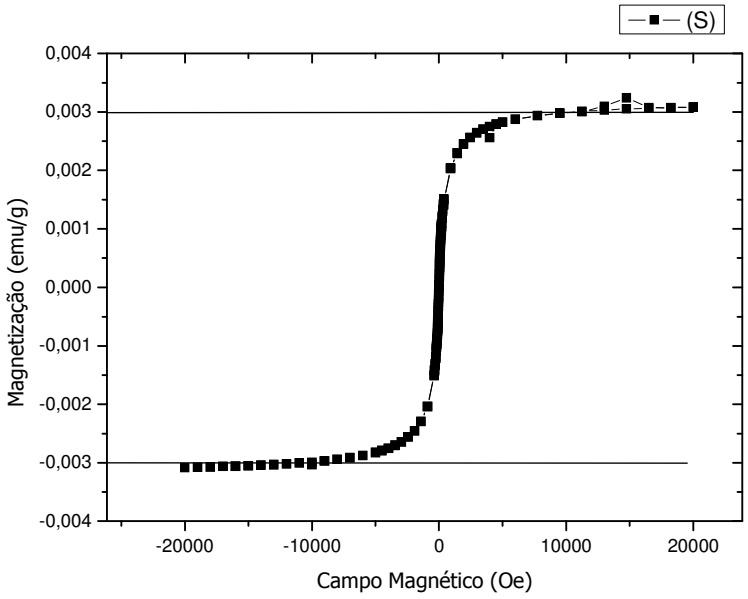


FIG. 4.33 Curva mostrando o ponto de saturação magnética (M_s) da amostra S.

Na curva MxH da FIG. 4.34 pode-se observar um comportamento típico de superparamagnetismo, isto é, coercividade nula e remanência desprezível.

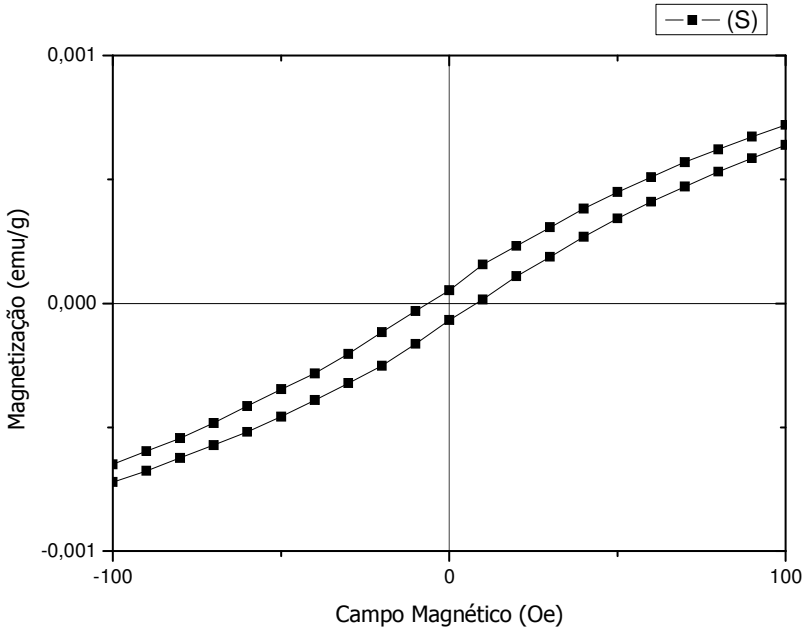


FIG. 4.34 Curva mostrando *Fc* e *Mr* da amostra S.

A tinta, como era de se esperar, mostrou um comportamento tipicamente ferromagnético. A FIG. 4.35 apresenta a M_s da amostra T que ficou em torno de 8,69 x 10^{-3} emu/g.

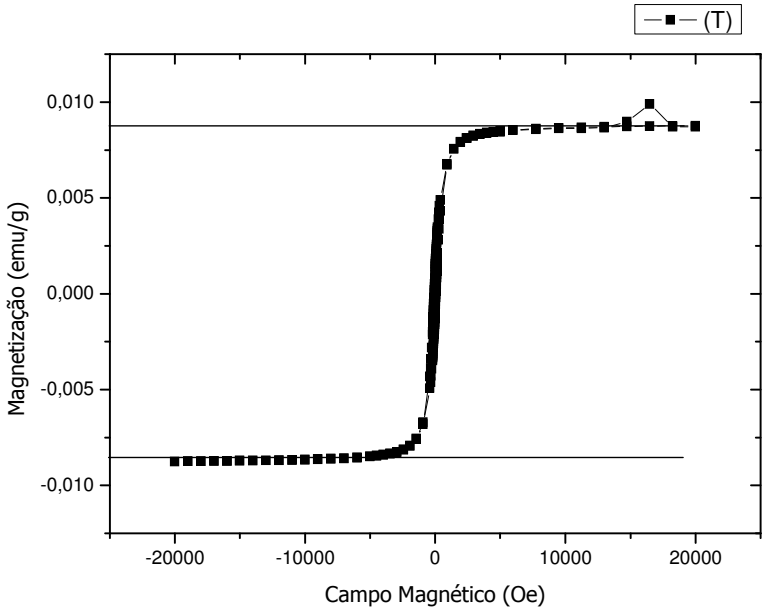


FIG. 4.35 Curva mostrando o ponto de saturação magnética (M_s) da amostra T.

Observa-se nesta amostra uma coercividade de 70 Oe e remanência de 1,45 x 10^{-3} como visto na FIG. 4.36 a seguir:

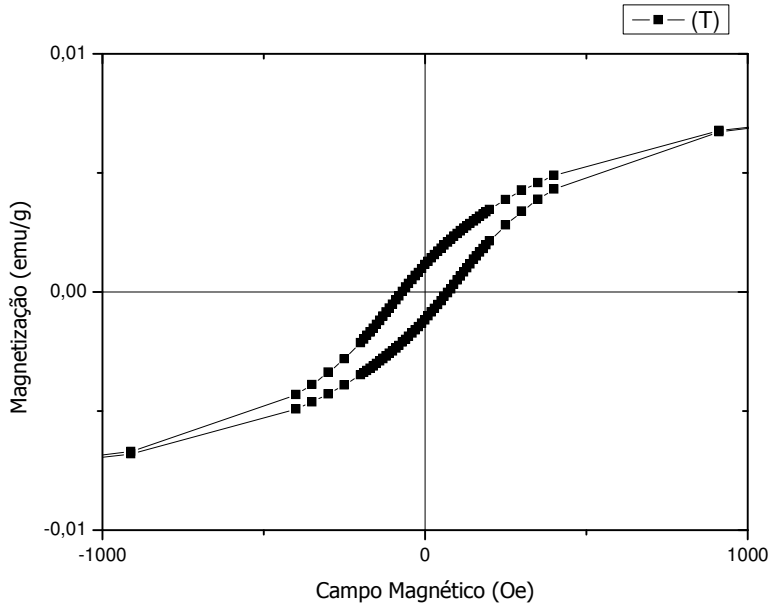


FIG. 4.36 Curva mostrando *Fc* e *Mr* da amostra T.

4.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A FIG. 4.37 apresenta a análise por difração de raios X e o refinamento pelo método de Rietveld da amostra SPION. Pode-se notar pela análise quantitativa por Rietveld, que a fase majoritária é a magnetita, apesar de outras fases estarem presentes. O difratograma mostra os picos da magnetita. Por ser um material nanométrico os picos da magnetita se mostraram largos. O tubo de cobre utilizado, não se mostrou ideal para análise de materiais magnéticos, ocasionando uma série de ruídos indesejáveis na mesma.

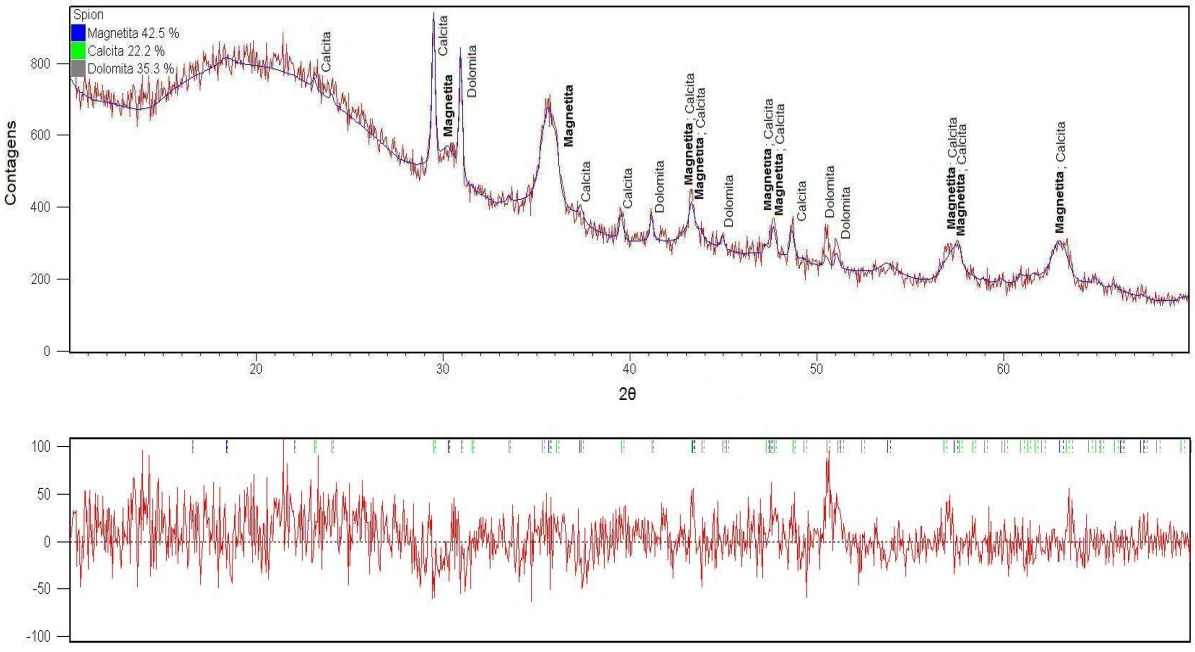


FIG. 4.37 Difratograma e análise pelo método Rietveld da amostra SPION.

A FIG. 4.38 mostra o difratograma e o refinamento por Rietveld da amostra de tinta. Os picos da magnetita são predominantes, assim como sua quantidade na amostra (análise quantitativa). Foram observados alguns picos da hematita. A

análise quantitativa mostrou, porém, que sua presença é bem inferior em relação à magnetita.

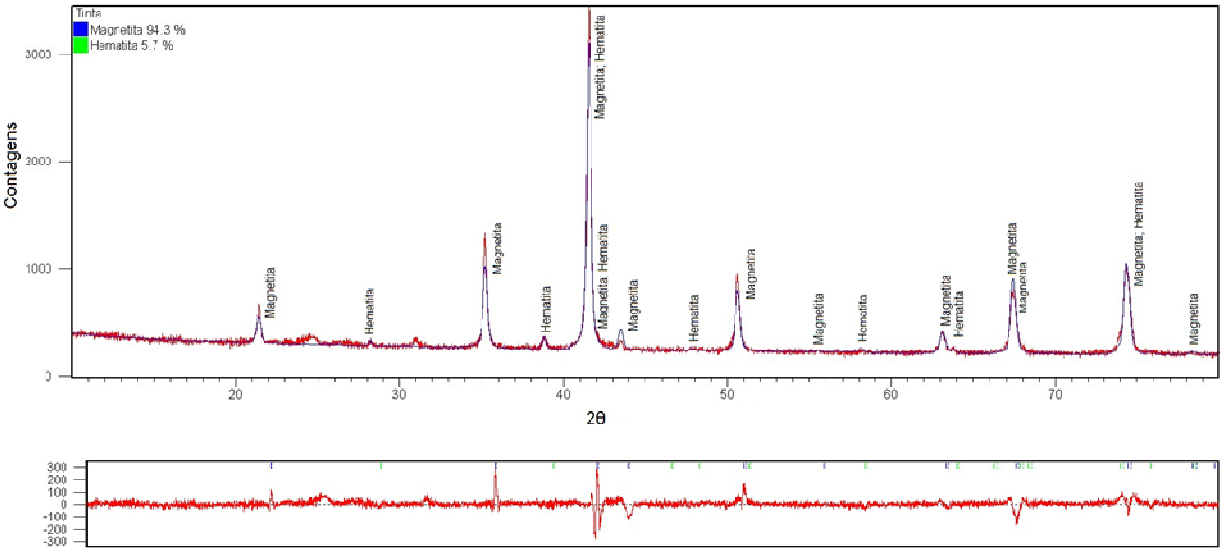


FIG. 4.38 Difratograma e análise pelo método de Rietveld da amostra de tinta.

A FIG. 4.39 apresenta o difratograma e a análise pelo método de Rietveld da amostra de bactérias magnetotácticas. As partículas em escala nanométrica são responsáveis pela presença de picos largos da magnetita. Devido à grande quantidade de impurezas presentes na amostra, a oldamita (CaS) e dióxido de silício (SiO_2) também foram encontrados. O SiO_2 é o principal componente da areia, o que explica o fato de estar presente no difratograma.

Na análise quantitativa deve-se considerar que grande parte da amostra se trata de composto amorfo, como evidenciado pela região entre 16 e 32º2θ. Isto também se deve ao rico substrato biológico da amostra.

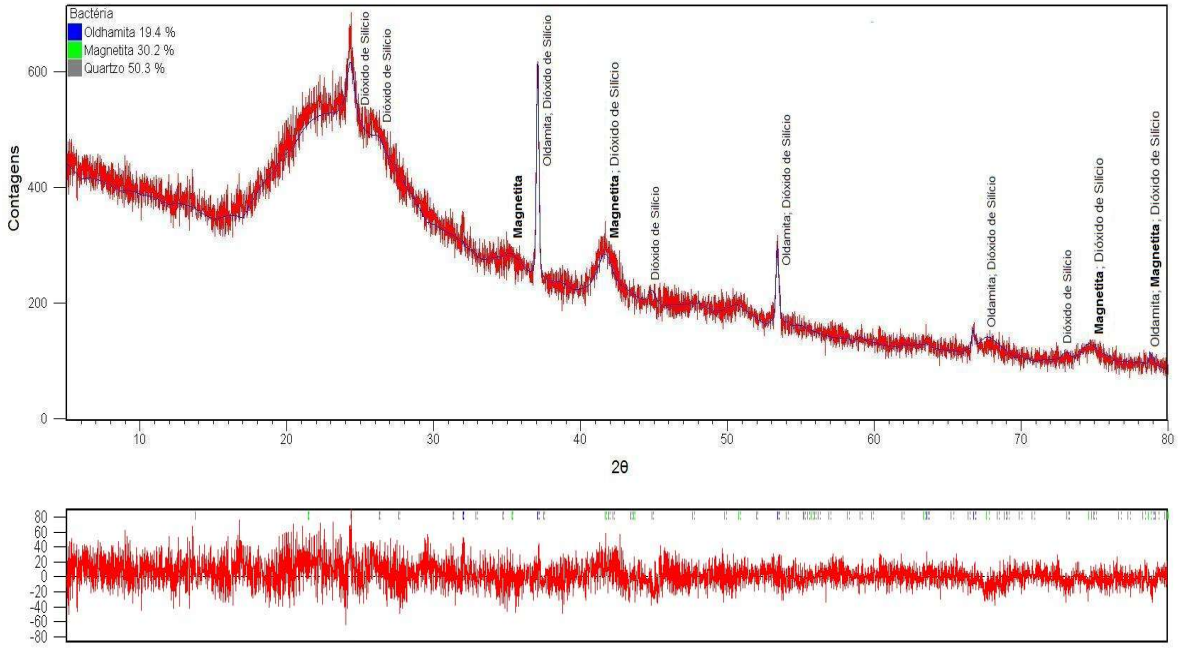


FIG. 4.39 Difratograma e análise pelo método de Rietveld da amostra de bactérias magnetotácticas.

4.6 ESPECTROSCOPIA *MÖSSBAUER*

Primeiramente foram tomados os espectros em temperatura ambiente (300K), com o objetivo de determinar as fases presentes, os sítios e as valências do Fe na amostra, além de identificar a propoção de partículas que se encontravam em regime superparamagnético, em processo de relaxação magnética ou bloqueadas a esta temperatura.

A FIG. 4.40 exibe o espectro Mössbauer à temperatura ambiente com seus parâmetros hiperfinos. *WID* (mm/s) é a largura da linha, *AREA*(%) é a área percentual de cada subespectro, *ISO-α* (δ em mm/s) é o deslocamento isomérico, *QUA* (Δ em mm/s) é o desdobramento quadrupolar e B_{hf} (T) é o campo magnético hiperfino. O resultado mostra, os dois sítios da estrutura espinélio da magentita (tetra e octaédrico). A TAB. 4.6 exibe os parâmetros hiperfinos da amostra de tinta.

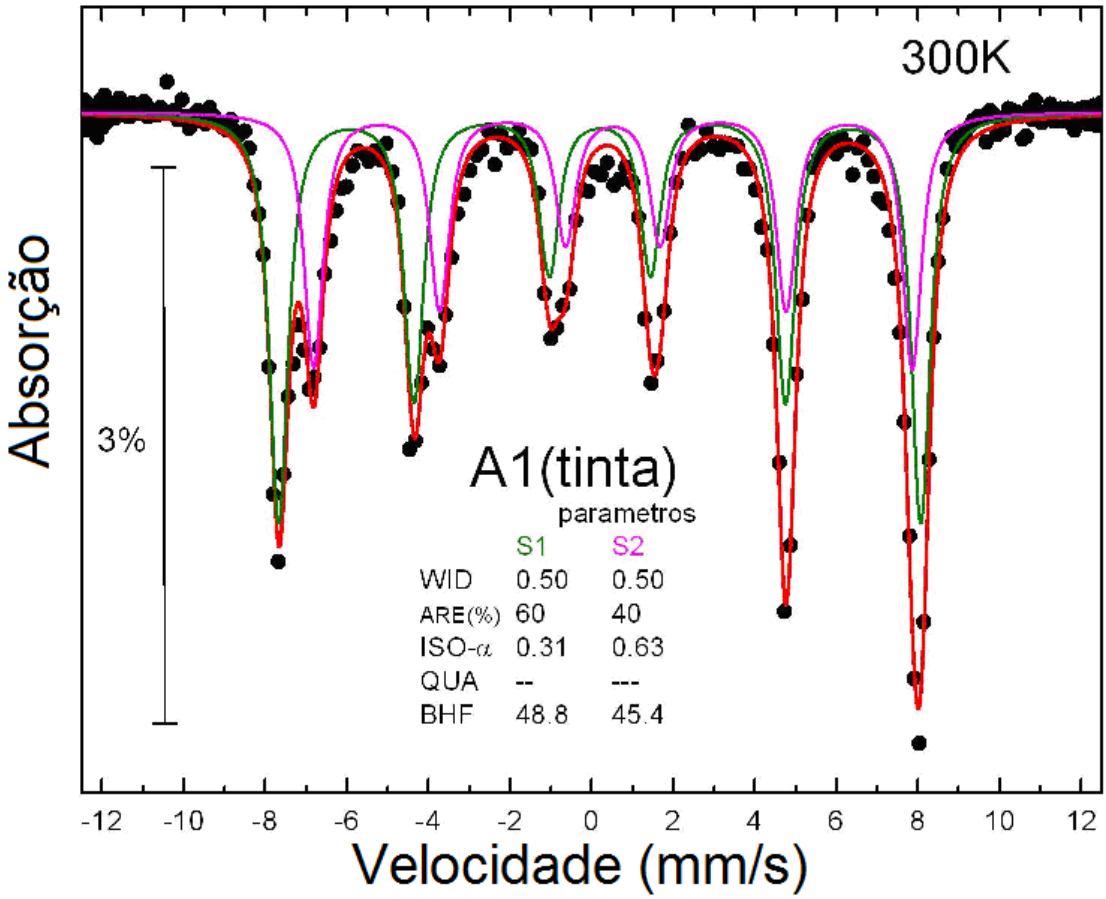


FIG. 4.40 Espectro Mössbauer à temperatura ambiente de uma amostra de tinta comercial.

TABELA 4.6

Parâmetros hiperfinos para a amostra de tinta a temperatura ambiente

Sítio	δ (mm/s)	Δ (mm/s)	WID (mm/s)	B_{hf} (T)	Área (%)	Config.	Valência
Fe_3O_4	0.31	-	0.50	48.8	60	S1*	Fe^{+3}
	0.63	-	0.50	45.4	40	S2*	Fe^{+2}, Fe^{+3}

*S1:Tetraédrico; *S2: Octaédrico

A FIG. 4.41 mostra o espectro *Mössbauer* à temperatura ambiente de uma amostra de SPION, com uma distribuição de campo hiperfino (B_{hf}) e um dubleto. Segundo uma análise preliminar a distribuição do tamanho das partículas é larga. Esta distribuição é proporcional à distribuição do B_{hf}. As nanopartículas de magnetita ou maghemita, ainda por definir, estão em transição entre o regime

superparamagnético e bloqueado, esse processo de transição também é chamado de processo de relaxação magnética.

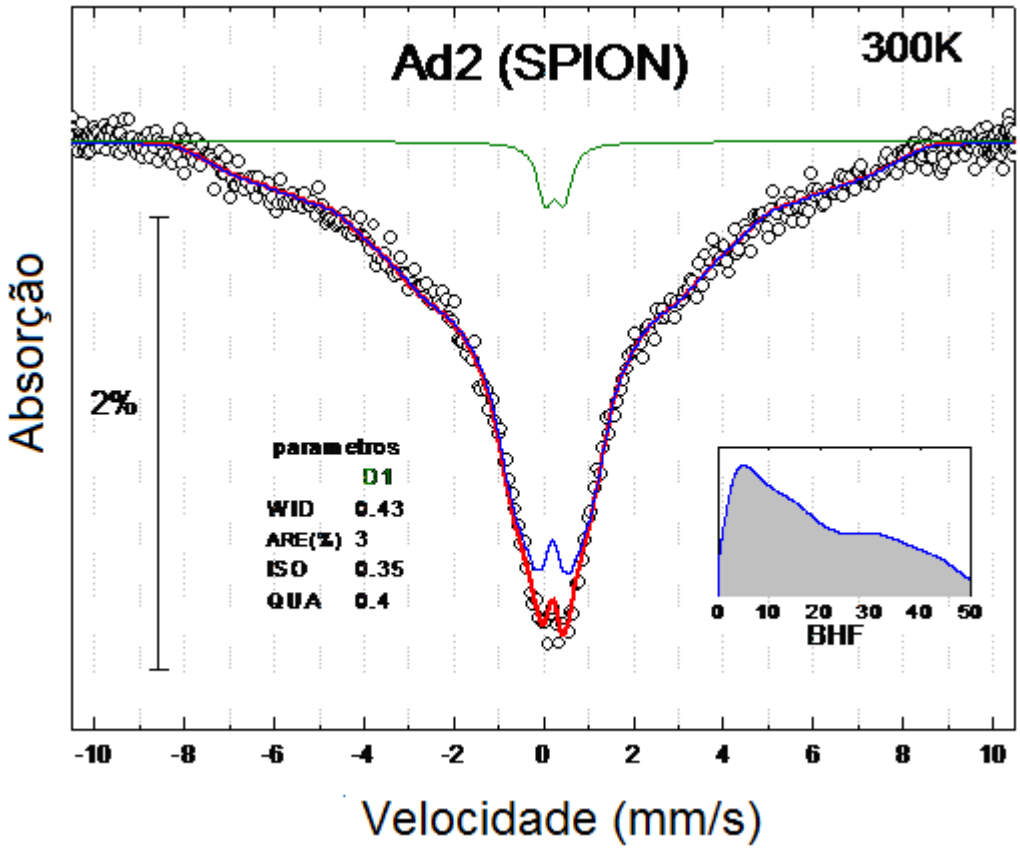


FIG. 4.41 Espectro Mössbauer à temperatura ambiente de uma amostra de SPION.

Para que se tenha a completa relaxação magnética das partículas, faz-se necessário uma medida a baixa temperatura (4K). Assim, torna-se possível a identificação da fase das partículas, magnetita ou maghemita.

Não foi possível realizar esta técnica de caracterização com amostra de bactérias devido à falta de uma cultura das mesmas.

5 CONCLUSÃO

Foi destacado em um dos documentos do plano de implementação do programa americano *National Nanotechnology Initiative* (Iniciativa Americana para Nanotecnologia): “uma vez que seja possível controlar o tamanho das estruturas, também será possível aprimorar propriedades e funções dos materiais, além do que atualmente somos capazes de fazer ou mesmo considerar como factível”.

Através do estudo da magnetita produzida por três rotas distintas, coprecipitação, biossíntese, e moagem, pôde-se observar o material em três níveis diferentes de uma escala. A magnetita foi estudada em três ordens de grandeza decimal numa escala nanométrica 10, 100 e 1000 nm. A escala de 10 nm foi representada pela magnetita sintética, a de 100 nm pelos cristais de magnetita presentes no citoplasma de bactérias magnetotácticas e a de 1000 nm representada pelas partículas presentes no pigmento das tintas comerciais.

Através da microscopia eletrônica de transmissão obteve-se de imediato o tamanho e a forma das partículas para uma primeira caracterização. Com as micrografias foi possível obter-se a distribuição de tamanho dos três tipos de partículas de magnetita: as nanopartículas SPION, de menor tamanho, mostraram forma e tamanho bastante regular; a tinta comercial, apresentou forma e tamanho com uma larga distribuição; a bactéria, por sua vez, apresentou as partículas mais uniformes tanto em forma quanto tamanho. O EDS mostrou-se uma ferramenta importante para uma imediata identificação qualitativa do material. Comprovou-se a presença do ferro nas amostras.

Com o auxilio da difração de raios X, quantificou-se as fases presentes em cada amostra obtida. Todas as amostras analisadas, apresentaram magnetita como principal constituinte em sua composição. Por causa das impurezas presentes nas amostras biológicas, o difratograma das nanopartículas sintetizadas por bactérias, mostrou um grande halo de material amorfo.

As propriedades magnéticas puderam ser analisadas com a ajuda de ressonância magnética eletrônica, magnetometria SQUID e espectroscopia Mössbauer. O caráter superparamagnético da magnetita sintética pôde ser

comprovado, mostrando que as propriedades magnéticas dos materiais são dependentes do tamanho das partículas. A curva obtida pela magnetometria SQUID da amostra de bactérias foi a que mais se aproximou da curva de um material apresentando monodomínio magnético. Uma técnica mostrou-se importante na complementação da outra.

A maior dificuldade encontrada neste trabalho, foi a falta de uma cultura das bactérias estudadas, para que a quantidade das mesmas não tivesse sido um empecilho para repetição de algumas caracterizações ou até mesmo para que outras pudessem ter sido feitas.

Os próximos anos serão importantes para o futuro da humanidade diante da previsão de esgotamento dos recursos naturais não renováveis e do crescimento da população. Há um aumento nas buscas por materiais e fontes de energia renováveis que, além disso, sejam ambientalmente corretas. A nanotecnololgia pode contribuir por meio do desenvolvimento de processos inspirados na natureza. Por isso tantos trabalhos têm sido feitos com as bactérias magnetotácticas. Ainda não se conhece a importância biológica/ecológica das mesmas, mas através do estudo de suas partículas pôde-se notar que seus cristais apresentam uma regularidade de forma e tamanho dificilmente mimetizada pelo homem. As bactérias conseguem manter suas partículas em cadeia, através de um encapsulamento natural. Diversas pesquisas têm sido feitas no sentido de tentar mimetizar este invólucro natural, já que o maior problema encontrado na síntese de nanopartículas de magnetita é a aglomeração das mesmas. A eficiência e eficácia das diferentes técnicas e métodos existentes para explorar o futuro da ciência e da tecnologia são aspectos que terão que ser sempre considerados.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como prosseguimento ao trabalho iniciado neste estudo, sugere-se:

- Fazer espectroscopia Mössbauer a baixa temperatura para diferenciar as fases magnetita e maghemita na amostra SPION;
- Fazer espectroscopia Mössbauer com maior tempo de contagem para certificar-se da presença ou não de hematita na tinta;
- Estudar um meio de cultura para as bactérias magnetotácticas;
- Isolar os cristais de magnetita das bactérias e estudar a membrana que os mantém em cadeia;
- Analisar o comportamento *in vitro* e *in vivo* dos cristais de magnetita das bactérias, com o objetivo de avaliar a biocompatibilidade e toxicidade das mesmas, para uma possível aplicação biomédica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADOBE PHOTOSHOP CS5 EXTENDED, **About Photoshop**, 2010.

ALBUQUERQUE, M.P., **Rotulação e Labelização**, Livro da "V Escola do CBPF", Rio de Janeiro, 2004.

BAZYLINSKI, D.A., FRANKEL R.B., **Magnetosome formation in prokaryotes**. Nature Reviews Microbiology, vol.2, 217-230, 2004.

BELLINI, S. **Ulteriori studi sui "Batteri Magnetosensibili"**. Instituto di Mocrobiologia Dell'Università di Pavia, 1963.

BLAKEMORE, R.P., **Magnetotactic Bactéria**. Ann. Rev. Microbiol. 36217-38, 1982.

CALLISTER, W.D., **Fundamentos da Ciência e Engenharia de Materiais – Uma Abordagem Integrada**, 2° Edição. LTC Editora, 2006.

CARDOSO, L.H.G., **Nanopartículas de Magnesioferrita produzidas pelo método sol-gel/combustão**, Tese de Mestrado, IME, 2009.

CHASTELLAIN, A., PETRI, A., HOFMANN, H., **Particle size investigation of multistep synthesis of PVA coated superparamagnetic nanoparticles**. Journal of Colloid and Interface Science 278: 353-360, 2004.

CORNELL, R.M., SCHWERTMANN, U., **The Iron Oxides: Properties, Reactions, Occurances and Uses**, WILEY-VCH, 2003.

COSTA, C.M., SANTOS, W.M.S., LUIZ, A.M., **Supercondutores: Aplicações das Junções Josephson na Eletrônica**. IX Encontro Nacional de Pesquisa em Ensino de Física, Jaboticabas, MG, 2004.

COSTA RIBEIRO, P. et al., **Imagens Magnéticas de Pinturas Acrílicas e Imagens Sacras**. Revista Brasileira de Arqueometria, Restauração e Conservação, vol.1, N°.2, pp. 056-059, 2007.

CULLITY, B.D., STOCK, S.R., STOCK, S., **Elements of X ray Diffraction** – 3rd Edition, Prantice Hall, NY, 2001.

CULLITY, B.D., GRAHAM, C.D., **Introduction to Magnetic Materials**, 2nd Edition, WILEY, 2009.

DE NADAI, N., KNOBEL, M., **Estudo de Propriedades Magnéticas de Nanopartículas de Óxido de Ferro**, projeto de pesquisa, IFGW – UNICAMP. Disponível em: www.ifi.unicamp.br, acesso em 03/11/2010.

DIAS, F.C., **Uso do Software ImageJ para Análise Quantitativa de Imagens de Microestruturas de Materiais**, Dissertação de Mestrado, INPE, 2008.

DUARTE, E.L., **Síntese e caracterização de nanopartículas baseadas em óxido de ferro**. Tese de Douturado, Instituto de Física, USP, 2005.

FAIRBANKS, M., **Pigmentos**, Revista Química e Derivados, Edição 503, Novembro, 2010. Disponível em: www.quimica.com.br, acesso em 23/03/2011.

FARIA, R.N., **Introdução ao Magnetismo dos Materiais** – Editora Livraria da Física, SP, 2005.

FERNANDEZ, R.M., SANCHEZ, S.A., **O magnetismo animal e seus aspectos ao longo do desenvolvimento da biologia e do magnetismo**. Instituto de Física "Gleb Wataghin", Universidade Estadual de Campinas, 2001. Disponível em: www.ifi.inicamp.br, acesso em 17/10/2010.

FRANKEL, R.B., BAZYLINSKI, D.A., **How magnetotactic bacteria make magnetosomes queue up**. TRENDS in Microbiology, vol.14, N°8, 2006.

GONDIN, E.C., **Medida da Distribuição de Tamanhos de Nanopartículas Magnéticas Orientada Aleatoriamente**, Tese de Doutorado, IME. 2004.

GOODHEW, P.J., HUMPHREYS, J., BEANLAND, R., **Electron Microscopy and Analyses** - 3rd Edition, Taylor & Francis, 2001.

GORBY, Y.A., BEVERIDGE, T.J., BLAKEMORE, R.P., **Characterization of the bacterial magnetosome membrane**. J. Bacterial. 170: 834-841, 1988.

GRÜNBERG, K. et al., **A large gene cluster encoding several magnetosome proteins is conserved in different species of magnetotactic bacteria**. Appl.Environ.Microbiol. 67:4573-4582, 2001.

GUIMARÃES, A.P., **From Lodestone to Supermagnets – Understanding Magnetic Phenomena**. WILEY-VCH, Weinheim, 2005.

HARBS, T.H., **A moagem superfine em moinho agitador – "Um processo físico para obtenção de nanopartículas"**. Disponível em: www.tecmos.com, acesso em 23/03/2011.

IKEYA, M., **New Applications of Electron Spin Resonance**, World Scientific Publishing Co.Pte.Ltd., Singapore, 1993.

ITO, A., SHINKAI, M., HONDA, H., KOBAYASHI, T., **Medical application of functionalized magnetic nanoparticles**. J. Bioscience and Bioeng. Vol 100, N° 1, 1-11, 2005.

JILES, D., **Introduction to Magnetism and Magnetic Materials** – Chapman & Hall/CRC, 2nd Edition, USA, 1998.

JOLIVET, J-P., TRONC, E., CHANÉAC, C., **Iron oxides: from molecular clusters to solid. A nice example of chemical versatility** – Compte Rendue Geoscience 338:488-497, 2006.

JOACHIM, C., PLÉVERT, L., **Nanociências – A Revolução do Invisível**. Zahar, 2009.

KLAVA, B., **Segmantação interativa de imagens via transformação watershed**, Dissertação de Mestrado, IME-USP, 2009.

LANDI JR, S., **ressonância Ferromagnética em Super-redes NiFe/Ru**, Dissertação de Mestrado, UFG, 2009.

LINS DE BARROS, H.G.P., ESQUIAVEL, D.M.S., FARINA, M., **Magnetotaxis**. Sci. Progress Oxford 74: 347-359, 1990.

LINS DE BARROS, H.G.P., **Fe_3O_4**, Palestra para Pós-Graduação, IME, 2011.

LU, A-H., SALABAS, E.L., SCHUTH, F., **Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization and application**, Angewandte Chemie International Edition, vol.46, N°8, p. 1222-1244, 2007.

MAITY, D., AGRAWAL, D.C., **Synthesis of iron oxide nanoparticles under oxidizing environment and their stabilization in aqueous and non-aqueous media**. J. Magnetism and Magnetic Materials 308: 46-55, 2007.

MANNHEIMER, W.A., **Microscopia dos Materiais – Uma Introdução**, Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, E-papers, 2002.

MARGATO, B., SANTOS, M., LINS DE BARROS, H., **Propriedades magnéticas de organismos magnetotácticos: um trabalho multidisciplinar**. Revista Brasileira de Ensino de Física, vol.29, N°3, p. 347-353, 2007.

MELO, C.P., PIMENTA, M., **Nanociências e Nanotecnologia**. Parcerias Estratégicas. CGEE, N°18, 2004.

MURUOKA, T.K., ZUTIN, K., ANANIAS, S.R., MAURO, A.E., NOGUEIRA, V.M., RECHENBERG, H.R., **Investigação por espectroscopia Mössbauer de compostos de ferro(0) contendo dissulfeto de carbono**, Eclética Química, vol.29, N°2, 2004.

NDT EDUCATION RESOURCE CENTER, **Hysteresis Loop**, The collaboration for NDT Education, Iowa State University. Disponível em: www.ndt-ed.org, acesso em 03/11/2010.

NOVAK, M.A., **Introdução ao Magnetismo**, II Escola Brasileira de Magnetismo. Disponível em: www.cbpf.br, acesso em 17/10/2010.

OLIVEIRA, J.F., **Caracterização do material magnético em antenas de formigas *Pachycondyla marginata*: um possível sistema magnetosensor**, Tese de Doutorado, CBPF, 2010.

OLIVEIRA, T.F., **Análise das incertezas da quantificação de fase pelo método de Rietveld em análise de pó por difração de raios X**, Tese de Doutorado, PUC-RIO, 2005.

PIGMENTS THROUGH THE AGES, Disponível em: www.webexhibits.org, acesso em 17/03/2011.

POTTER, M.J., **Iron Oxide Pigment**, 2006 Mineral Yearbook, 2007.

RASBAND, W., **ImageJ documentation**. Disponível em: www.rsb.info.nih.gov, acesso em 01/04/2011.

RIBEIRO, G.A.P., **As Propriedades Magnéticas da Matéria: um Primeiro Contato**, Revista Brasileira de Ensino de Física, vol.22, N°3, p. 299-305, 2000.

SAMPAIO, L.C., GARCIA, F., GERNICCHIARO, G.R.C., TAKEUCHI, A.Y., **Técnicas de Magnetometria**, Revista Brasileira de Ensino de Física, vol.22, N°3, p. 406-410, 2000.

SANDS, R.H., **EPR Spectroscopy** – Manual de utilização do espectrômetro V-4502 EPR, Califórnia, 1959.

SCINTAG, INC., **Basics of X ray diffraction**, University of New México, 1999.

SCHEFFEL, A., et al., **An acidic protein aligns magnetosomes along a filamentous structure in magnetotactic bacteria**, Nature 440: 110-114, 2005.

SCHETTINO JR, M.A., **Obtenção e caracterização de nanopartículas magnéticas inseridas em materiais carbonosos porosos a partir da decomposição do pentacarbonil ferro**, Tese de Doutorado, UFES, 2009.

SCHOSSLER, P., **Caracterização química de materiais pictóricos artísticos acrílicos e vinílicos**, Dissertação de Mestrado, UFMG, 2001.

SCHÜLER, D., **Genetics and cell biology of magnetosome formation in magnetotactic bactéria**, FEMS Microbiol.Rev.32: 654-672, 2008.

STOPA, L.C.B., **Quitosana Magnética para Remoção de Urânio (VI)**, Dissertação de Mestrado, IPEN, 2007.

TARTAJ, P., MORALES, M.P., GONZÁLES-CARREÑO, T., VEITEMILLAS-VERDAGUER, S. SERNA, C.J., **Advances in magnetic nanoparticles for biotechnology applications**, J. Magnetism and Magnetic Materials, 290-291, 28-34, 2005.

VIRT, R.L., **Iron Oxide Pgment [Advanced Release]**, 2009 Mineral Yearbook, 2010.

WAJNBERG, E., SOUZA, L.H.S., LINS DE BARROS, H., ESQUIAVEL, D.M.S., **A study of magnetic properties of magnetotactic bactéria**, Biophysics J., vol.50, 1986.

WEISS, B.P., KIM, S.S., KIRSCHVINK, J.L., KOPP, R.E., SANKARAN, M., KOBAYASHI, A., KOMEILI, A., **Ferromagnetic resonance and low-temperature magnetic tests for biogenic magnetite**, Earth Plan.Sci.Let. 224:73-89, 2004.

WILLIAMS, D.B., CARTER, C.B., **Transmission Electron Microscopy – Textbook for Material Sciences – Basics**, Plenum Publishing Corporation, 1996.

XIANG, L., BIN, W., HUALI, J., JIESHENG, T., FENG, G., YING, L., **Bacterial magnetic particles (BMPs)-PEI as a novel and efficient non-viral gene delivery system**, The Journal of Gene Medicine Research, article 9: 679-690, 2007.