

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação de Mestrado

**Síntese de nanocompósitos magnéticos porosos com potencial
aplicação nos processos de encapsulamento de hidrogênio e
separação imunomagnética**

Matheus Zorzoli Krolow

Pelotas, outubro de 2010

Matheus Zorzoli Krolow

Síntese de nanocompósitos magnéticos porosos com potencial aplicação nos processos de encapsulamento de hidrogênio e separação imunomagnética

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Química).

Orientador: Prof. Dr. Nefthalí Lenin Villarreal Carreño

Pelotas, outubro de 2010

A banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado intitulada “Síntese de nanocompósitos magnéticos porosos com potencial aplicação nos processos de encapsulamento de hidrogênio e separação imunomagnética”, de autoria de Matheus Zorzoli Krolow.

Banca examinadora:

.....
Prof. Dr. Neftalí Lenin Villarreal Carreño (Orientador)

.....
Prof. Dr. Sergio da Silva Cava

.....
Prof. Dr. Edilson Valmir Benvenutti

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”

Leonardo da Vinci

Dedico este trabalho
especialmente aos meus pais, Vera
Lúcia e Milton Krolow, e aos meus
irmãos – o alicerce da minha
caminhada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus. Aquele em quem todas as coisas são possíveis. Se ele não estivesse ao meu lado, não poderia ter chegado até aqui.

Ao meu orientador, prof. Dr. Nefalí Carreño, meu muito obrigado! Foram muitas as dúvidas e problemas encontrados nessa caminhada e sua experiência, profissionalismo, paciência e dedicação foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Agradeço ao CNPq e a CAPES pelo suporte financeiro.

Agradeço aos meus pais, Milton e Vera, que sacrificaram muitos desejos e sonhos em favor da realização dos meus. Eu amo vocês!

Aos meus irmãos, Charlene e André, que, mesmo de longe, sempre estiveram orando por mim e me incentivando a seguir adiante, minha gratidão.

Faço um agradecimento especial aos amigos que Deus colocou em minha vida e que, mesmo sem conhecer o trabalho realizado, me apoiaram grandemente. Não posso citar todos aqui, mas alguns são essenciais: Felipe, Frederico, Claudine, Bruno e Jonatã e André. Vocês são meus irmãos!

À minha amiga Cristiane Ratmann devo boa parte deste trabalho. Muito mais do que uma colega de laboratório, graduação e mestrado, uma grande amiga. Se não fosse pelo seu apoio talvez eu tivesse desistido. Muito obrigado!

Agradeço aos meus colegas de mestrado: Caroline, Cátia, Maraísa e Fabi. Sua amizade e companheirismo foram fundamentais!

Agradeço ao apoio dos colegas de laboratório de hoje e ontem: Rossana, Patrícia, Pamela, Gabriela, Andressa, Tuane, Cláudia. Especialmente aos colegas Marcius e Gabriele, grandes contribuidores deste trabalho, e aos colegas que dedicaram tempo para realização das análises: Gian e Ricardo.

Agradeço a minha amiga Janaína pelas análises de Infravermelho. Muito Obrigado!

Agradeço ao prof. Dr. Marcelo Orlandi pelas imagens de Microscopia de Transmissão, obtidas na UNESP e no LNLS.

Agradeço aos professores Márcia Mesko e Sergio Cava pelo apoio e pelos bons conselhos.

Aos parceiros de projeto da área de Biotecnologia, especialmente ao

Leonardo e à Mariana: obrigado pela ajuda.

Meus sinceros agradecimentos aos membros da banca avaliadora deste trabalho por sua disposição e, certamente, grandiosa contribuição científica.

Enfim, muito obrigado a todos aqueles que, de alguma maneira, contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigado!

RESUMO

KROLOW, Matheus Zorzoli. **Síntese de nanocompósitos magnéticos porosos com potencial aplicação nos processos de encapsulamento de hidrogênio e separação imunomagnética**. 2010. 83f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O desenvolvimento de nanocompósitos porosos e magnéticos tem recebido grande atenção nos últimos anos. Atualmente, o campo da biotecnologia tem buscado empregar compósitos magnéticos em processos de separação e purificação celular, além de outras aplicações. Já nas pesquisas com energia limpa, tem-se buscado empregar materiais carbonosos como adsorventes e sensores de gases, especialmente no encapsulamento de hidrogênio. Neste trabalho, foram sintetizados compósitos magnéticos porosos contendo nanopartículas metálicas embebidas numa matriz de carbono, através do método dos precursores poliméricos.

Os compósitos sintetizados foram caracterizados através de difração de raios X (DRX), fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX), fisissorção de N₂ (BET e BJH), técnicas de microscopia eletrônica (MET e MEV) e espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR). Os compósitos apresentaram nanopartículas dos metais, responsáveis pelo comportamento ferromagnético e pelos sítios de quimissorção, embebidas na matriz de carbono amorfo, responsável pela porosidade e pelos sítios de fisissorção. Ensaio de redução termoprogramada e microscopia de imunofluorescência comprovaram a potencial aplicação dos compósitos nos processos de separação imunomagnética e encapsulamento de hidrogênio.

Palavras-chave: cobalto, níquel, carbono, separação imunomagnética, porosidade, magnetismo.

ABSTRACT

KROLOW, Matheus Zorzoli. **Síntese de nanocompósitos magnéticos porosos com potencial aplicação nos processos de encapsulamento de hidrogênio e separação imunomagnética.** 2010. 83f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The development of magnetic and porous nanocomposites has received great attention in recent years. Currently, biotechnology has sought to employ magnetic composites in processes of cell separation and purification, and other applications. Moreover, researches on clean energy have tried to use carbon materials as adsorbents and gas sensors, especially on hydrogen storage. In this study, we synthesized porous magnetic composites containing metal nanoparticles embedded in carbon matrix by polymeric precursor method.

The composites synthesized were characterized by X-ray diffraction (XRD), X-ray fluorescence (EDX), N₂ physisorption (BET and BJH), electron microscopy (TEM and SEM) and infrared spectrometry (FT-IR). The analysis confirmed the presence of metals nanoparticles, responsible for the ferromagnetic behavior and the chemisorption sites, embedded in the matrix of amorphous carbon, responsible for porosity and the sites of physisorption. Temperature-programmed reduction assays and immunofluorescence microscopy demonstrated the potential application of composites on immunomagnetic separation and hydrogen storage processes.

Keywords: cobalt, nickel, carbon, immunomagnetic separation, porosity, magnetism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema de classificação para NM de acordo com sua composição química e a dimensionalidade dos cristalitos formadores dos NM	4
Figura 2	Reação de formação dos precursores poliméricos	6
Figura 3	Evolução da gelatinização com o aumento da fração de microgel	7
Figura 4	Esquema do aparato experimental para reações hidrotermais	9
Figura 5	Imagens ilustrativas das formas convencionais de armazenamento de hidrogênio.....	14
Figura 6	Esquema de um MEV	20
Figura 7	Esquema de um MET	22
Figura 8	Projeção de várias espécies microestruturais contidas em uma lâmina fina	23
Figura 9	Representação da incidência e difração de raios X paralelos sobre uma amostra com planos separados por uma distância d	24
Figura 10	Isotermas (n versus P/P_0) dos tipos I ao tipo VI	27
Figura 11	Diagrama esquemático de um equipamento de quimissorção .	30
Figura 12	Fluxograma do processo aplicado na síntese dos nanocompósitos metal/carbono	34
Figura 13	Esquema do forno tubular com fluxo de N ₂ utilizado na síntese dos nanocompósitos	35
Figura 14	Estrutura química do ácido acrílico	36
Figura 15	Espectro de EDX dos compósitos cobalto/carbono e níquel/carbono	40
Figura 16	Difratogramas de raios X das amostras Co600 e Co800	41
Figura 17	Difratograma de raios X das amostras Ni600 e Ni800	42
Figura 18	Imagens de MET do compósito Co800, em baixa resolução.....	44
Figura 19	Imagens de MET do compósito Co800 em baixa e alta resolução	44

Figura 20	Imagens de MET do compósito Ni800, em baixa resolução	45
Figura 21	Imagens de MET do compósito Ni800, em baixa e alta resolução	45
Figura 22	Isotermas de fisissorção de N ₂ e distribuição do tamanho de poros das amostras Co600 e Co800	47
Figura 23	Isotermas de fisissorção de N ₂ e distribuição do tamanho de poros das amostras Ni600 e Ni800	48
Figura 24	Difratograma de raios X das amostras Co800 e Co800AA	49
Figura 25	Imagens de MEV das amostras Co800 e Co800AA	50
Figura 26	Isotermas de fisissorção de N ₂ e distribuição de tamanho de poros (BJH) da amostra Co800AA	52
Figura 27	Espectros de IV das amostras Co800 e Co800AA	53
Figura 28	Perfis de TPR das amostras Co600 e Co800	54
Figura 29	Perfis de TPR das amostras Ni600 e Ni800	54
Figura 30	Ensaio de imunofluorescência com LipL32 recombinante ancorada na superfície dos NCMs utilizando tampão borato para a imobilização	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação dos poros segundo seu diâmetro	28
Tabela 2	Materiais utilizados durante a síntese dos compósitos	33
Tabela 3	Nome das amostras de acordo com o tratamento térmico aplicado e o metal precursor	36
Tabela 4	Tamanho de cristalito das amostras Co600, Co800, Ni600 e Ni800, obtidos pela Equação de Scherrer	43
Tabela 5	Valores de área superficial, obtidos pelo método BET, das amostras sintetizadas	46
Tabela 6	Valores de área superficial, obtidas pelo método BET, das amostras Co800 e Co800AA	51
Tabela 7	Valores de energia de ativação calculados para as reações de redução à temperatura programada de H ₂	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NCM	Nanocompósito magnético
MN	Materiais nanoestruturados
AC	Ácido cítrico
EG	Etilenoglicol
PTFE	Politetraluoretileno
NTC	Nanotubo de carbono
EDT	Espectroscopia de dessorção térmica
IMS	Separação imunomagnética, do inglês <i>immunomagnetic separation</i>
MEV	Microscópio eletrônico de varredura ou microscopia eletrônica de varredura
TRC	Tubo de raios catódicos
ES	Elétrons secundários
ERE	Elétrons retroespalhados
MET	Microscópio eletrônico de transmissão ou microscopia eletrônica de transmissão
DRX	Difratometria de raios X
XRF	Fluorescência de raios X, do inglês <i>X-ray fluorescence</i>
EDX	Fluorescência de raios X por energia dispersiva
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva de raios X, do inglês <i>Energy-dispersive X-ray spectroscopy</i>
BET	Isoterma de Brunauer, Emmett e Teller
BJH	Método de Barrett, Joyner e Halenda
TPR	Redução à temperatura programada, do inglês <i>temperature-programmed reduction</i>
TCD	Detector de condutividade térmica, do inglês <i>thermal conductivity detector</i>

FT-IR	Espetrometria de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier, do inglês <i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>
AA	Ácido acrílico
JCPDS	<i>Joint Committee of Powder Diffraction Standards</i>
EMJH	<i>Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris</i>
FITC	Isotiocianato de fluoresceína, do inglês <i>fluorescein isothiocyanate</i>

Sumário

AGRADECIMENTOS	VI
RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS.....	XII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XIII
Sumário.....	XV
1 Introdução	1
2 Objetivos.....	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
3 Revisão da literatura.....	4
3.1 Materiais nanoestruturados	4
3.2 Métodos de síntese de nanomateriais.....	5
3.2.1 Método dos precursores poliméricos.....	6
3.2.2 Método Sol-Gel	7
3.2.3 Método Hidrotérmico	8
3.2.4 Método Solvotérmico	9
3.3 Nanocompósitos	10
3.3.1 Materiais à base de carbono	10
3.3.2 Nanocompósitos magnéticos	11
3.4 Propriedades e características dos elementos Co e Ni	12
3.5 O hidrogênio como combustível.....	13
3.5.1 Adsorção de hidrogênio	14
3.5.2 Adsorção em materiais à base de carbono.....	15
3.6 Separação imunomagnética.....	17

4 Técnicas de caracterização de materiais	19
4.1 Técnicas de microscopia.....	19
4.1.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	19
4.1.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	21
4.2 Difração de raios X (DRX)	23
4.3 Espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX) .	25
4.4 Fisissorção de N ₂	25
4.4.1 Isoterma de BET	26
4.4.2 Método de Barret, Joyner e Halenda (BJH).....	28
4.5 Redução à Temperatura Programada (TPR)	29
4.6 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (FT-IR)	31
4.7 Microscopia de imunofluorescência.....	31
 5. Metodologia de síntese dos nanocompósitos magnéticos metal/carbono.....	33
5.1 Síntese química da resina precursora pelo método dos precursores poliméricos	33
5.2 Tratamentos térmicos aplicados para obtenção dos nanocompósitos metal/carbono	34
5.3 Funcionalização dos nanocompósitos magnéticos cobalto/carbono	36
5.4 Caracterização das amostras.....	37
5.4.1 Espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX)	37
5.4.2 Difractometria de raios X (DRX)	37
5.4.3 Fisissorção de N ₂ a 77 K.....	37
5.4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	38
5.4.5 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	38
5.4.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR).....	38
5.4.7 Redução termoprogramada (TPR)	38
5.4.8 Microscopia de imunofluorescência.....	39
 6. Resultados e discussão	40
6.1 Síntese dos nanocompósitos.....	40
6.1.1 Fluorescência de raios X (EDX)	40

6.1.2 Difração de raios X (DRX)	40
6.1.3 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	43
6.1.4 Fisissorção de N ₂	46
6.2 Funcionalização dos compósitos Co800	49
6.2.1 Difração de raios X.....	49
6.2.2 Microscopia eletrônica de varredura.....	50
6.2.3 Fisissorção de N ₂	51
6.2.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR).....	52
6.3 Aplicabilidade como adsorventes de H ₂	54
6.3.1 Redução termoprogramada (TPR)	54
6.4 Aplicabilidade no processo de separação imunomagnética.....	56
6.4.1 Microscopia de imunofluorescência.....	56
6.4.2 Sistema de separação celular	57
 7 Conclusões	 59
 8 Sugestões para trabalhos futuros	 61
 9 Referências	 62

1 Introdução

A cada instante, pesquisadores de todas as partes do mundo têm buscado desenvolver novos materiais e tecnologias para sua aplicação nos mais diversos ramos da ciência e sociedade. O avanço tecnológico a partir dos anos 80 na área de ciência dos materiais (MARTI *et al.*, 1987) impulsionou a pesquisa e o desenvolvimento de uma nova categoria de materiais compostos de grãos com dimensões nanométricas (BATSON *et al.*, 2002; PONCHARAL *et al.*, 1999).

As propriedades físicas e químicas de materiais em escala nanométrica são de imenso interesse e crescente importância para futuras aplicações tecnológicas. Materiais nanoestruturados, geralmente, exibem propriedades diferenciadas com relação aos demais materiais. Muitas das aplicações destes materiais estão diretamente relacionadas às suas propriedades estruturais. Em ciência dos materiais, o tamanho das partículas figura como um parâmetro importante na explicação de vários fenômenos físicos e químicos, tais como propriedades elétricas, magnéticas e superficiais, entre outras, apresentadas por um determinado material (BAKKER *et al.*, 1995; FONSECA *et al.*, 2002; VALENTINI *et al.*, 2006).

Neste sentido, os nanocompósitos têm atraído grande interesse, pois além de terem suas propriedades potencializadas pelo tamanho das partículas, agregam as principais características de cada um de seus componentes para a formação de um novo composto com propriedades únicas (DUBOIS; ALEXANDRE, 2000; LEITE *et al.*, 2005). No presente trabalho, foram sintetizados compósitos magnéticos porosos, à base de carbono e metais de transição.

O desenvolvimento de nanocompósitos magnéticos vem se destacando na última década como fonte de materiais para diversas aplicações biotecnológicas, tais como no diagnóstico de doenças infecciosas, tratamento do câncer, administração de drogas, ressonância magnética e na separação/purificação de células e biomoléculas. (MOHANRAJ; CHEN, 2006). Neste trabalho foram sintetizados compósitos cobalto/carbono recobertos com ácido acrílico capazes de ancorar anticorpos, através de ligação covalente, para aplicação no processo de separação imunomagnética.

Os materiais apresentados neste trabalho também possuem características porosas, em função de sua porção carbonácea, bastante abundante. Uma aplicação

muito estudada para este tipo de material é o encapsulamento de hidrogênio. No presente estudo, buscou-se aliar, através deste material, adsorção física e química para potencializar a capacidade de armazenamento de hidrogênio deste tipo de compósito.

Diversos métodos de síntese de nanomateriais podem ser utilizados para a produção deste tipo de material. No presente, priorizou-se utilizar um método rápido, de formação dos compósitos em uma única etapa, e relativamente barato, por não envolver muitos reagentes, nem produtos de alto custo – foi utilizado o método dos precursores poliméricos, uma modificação do método sol-gel, que se mostrou bastante eficiente e viável.

Além das aplicações mostradas até aqui, esse tipo de material ainda têm inúmeras aplicações, como na função de catalisador em rotas sintéticas e em reações de reforma.

Baseando-se nisso, este trabalho visou ao desenvolvimento de uma rota sintética simples, de baixo custo e fácil aplicação, para a síntese de materiais aplicáveis como concebidos e, além disso, de fácil modificação superficial para ainda mais aplicações, ampliando sua funcionalidade.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo primordial a síntese de compósitos magnéticos formados por nanopartículas metálicas embebidas em uma matriz de carbono e sua aplicação nos processos de adsorção de hidrogênio e de separação imunomagnética.

2.2 Objetivos específicos

Cada etapa deste trabalho buscou atingir um dos objetivos específicos listados a seguir:

- Obter nanocompósitos magnéticos metal/carbono a partir do método dos precursores poliméricos seguido de tratamento térmico;
- Caracterizar os compósitos sintetizados através de técnicas analíticas adequadas para a caracterização dos materiais em questão;
- Estudar o efeito da temperatura de calcinação aplicada aos compósitos;
- Avaliar a capacidade adsortiva dos poros derivados do material carbonoso, envolvendo estudo por redução termoprogramada e titulação com hidrogênio, viabilizando e monitorando amostras com significativo potencial para estocagem de hidrogênio.
- Funcionalizar a superfície dos compósitos, através de seu recobrimento com grupos orgânicos;
- Aplicar os nanocompósitos funcionalizados no processo de separação imunomagnética.

3 Revisão da literatura

3.1 Materiais nanoestruturados

Materiais nanoestruturados (MN) são definidos como sendo sólidos compostos por elementos estruturais – geralmente cristalitos – com um tamanho característico de alguns nanômetros, em pelo menos uma dimensão. Os vários tipos de MN podem ser classificados de acordo com a sua composição química e a forma (dimensionalidade) dos seus constituintes estruturais (Fig. 1), de acordo com Gleiter (1995).

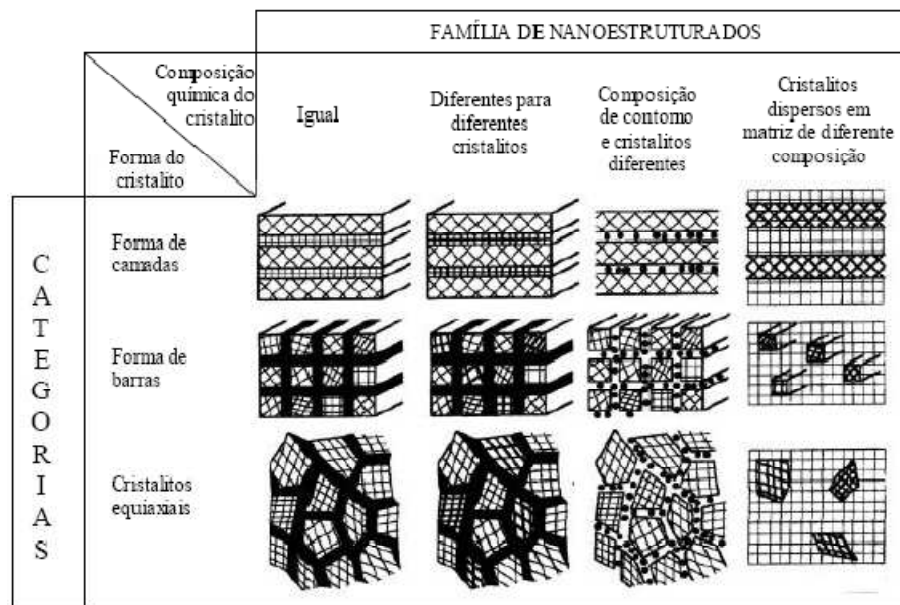


Figura 1. Esquema de classificação para MN de acordo com sua composição química e a dimensionalidade dos cristalitos formadores dos MN (GLEITER, 1995).

De acordo com a forma dimensional dos cristalitos, três categorias de MN podem ser diferenciadas:

- 1) Cristalitos em forma de camadas;
- 2) Cristalitos em forma de barras de seção circular, com diâmetro nanométrico;
- 3) Cristalitos nanométricos equiaxiais.

Dependendo da composição química do cristalito, as três categorias supracitadas podem ser agrupadas em quatro famílias. No caso mais simples (primeira família, Fig. 1), todos os cristalitos e regiões interfaciais têm mesma

composição química. Os MN pertencentes à segunda família consistem de cristalitos com diferentes composições químicas (indicadas na Fig. 1 por diferentes hachurados). A terceira família de MN é obtida pela variação da composição química que ocorre entre cristalitos e regiões interfaciais. Nesse caso, átomos de um determinado elemento (ou moléculas) segregam preferencialmente para as regiões interfaciais, de modo que a modulação estrutural (cristais/interfaces) fica acoplada à modulação química local. Exemplos são ligas Cu-Bi, em que se têm nanocristais de Cu e átomos de Bi segregados para os contornos dos grãos. A quarta família é formada por cristalitos nanométricos (camadas, barras, equiaxiais) dispersos em uma matriz de diferente composição química (GLEITER, 1995).

Acima foram relacionados MN de componentes cristalinos. Entretanto, além desses, há aqueles em que um ou todos os constituintes são não-cristalinos. Por exemplo, polímeros semicristalinos constituídos de camadas espessas alternadas entre cristalinas e não-cristalinas. Outro exemplo são os vidros parcialmente cristalizados. Os vidros decompostos rotatoriamente representam MN nos quais todos os constituintes são não-cristalinos (GLEITER, 1995).

Os materiais nanocristalinos, por possuírem grãos de tamanho extremamente pequeno, apresentam alta área de superfície se comparados aos policristais (SUNDARARAMAN, 1995). Gleiter e Marquadt (1984) ilustraram que mais que 50% dos átomos estão localizados nas fronteiras de interface. Com isso, as propriedades dos nanocristais se mostram fortemente dependentes da estrutura da superfície dos grãos. De fato, uma alta densidade de interfaces, caracterizada pela presença de uma larga distribuição de espaços interatômicos, influencia consideravelmente várias propriedades físicas e químicas (SUNDARARAMAN, 1995).

3.2 Métodos de síntese de nanomateriais

Há diversos tipos de métodos utilizados na síntese de nanomateriais, atualmente. E cada vez mais se tem buscado aperfeiçoar esses métodos e, principalmente, desenvolver métodos mais eficientes, com menos impactos ambientais e de menor custo. Nesta seção serão descritos apenas alguns dentre os vários métodos de síntese de nanomateriais existentes.

3.2.1 Método dos precursores poliméricos

Uma das características apresentadas pelo método dos precursores poliméricos é o processo combinado de formação de complexo metálico e polimerização de orgânicos *in situ*. Um exemplo representativo desta abordagem é o método patenteado por Pechini (1967).

O método Pechini, ou método dos precursores poliméricos se baseia na síntese de um poliéster a partir de uma reação de condensação de um polihidroxi-álcool, geralmente etilenoglicol (EG), com um alfa-hidroxicarboxílico, como o ácido cítrico (AC). Para isso, é formada uma solução contendo AC, EG e a quantidade estequiométrica de metal ou metais desejados. Nesta solução espera-se que a mistura de sais metálicos (cloretos, carbonatos, nitratos) reaja com o ácido carboxílico, formando citratos metálicos que, quando submetidos a agitação e aquecimento moderado (entre 70 e 100 °C) passam por reações de condensação e poliesterificação (decorrente da adição de EG) com a formação de uma molécula de água. Sucessivas reações de poliesterificação podem ocorrer entre o AC e o EG formando um polímero. O objetivo deste método é promover uma distribuição homogênea dos diferentes íons metálicos ao longo do polímero formado, conforme a Fig. 2.

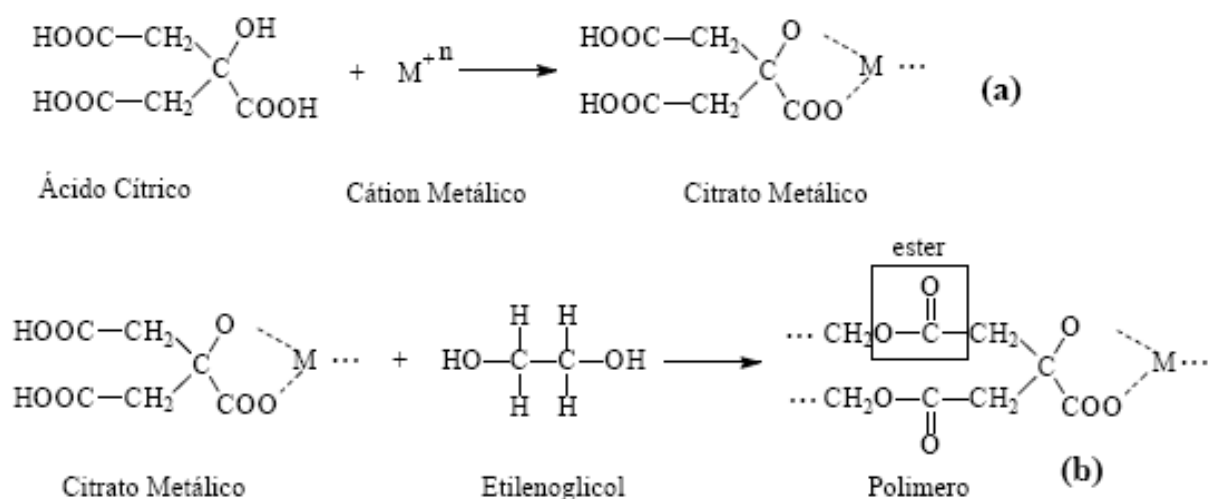


Figura 2. Reação de formação dos precursores poliméricos (PARIS, 2000)

Após a formação da resina polimérica, o material é tratado termicamente para quebra da porção orgânica, a temperaturas moderadas, formando o chamado “puff”,

que depois poderá sofrer tratamentos térmicos diferenciados, conforme aplicação desejada.

3.2.2 Método Sol-Gel

O termo “sol” é definido como uma dispersão de partículas coloidais em um líquido, enquanto que o termo “gel” é definido como um sistema formado por uma rede rígida de partículas coloidais ou de cadeias poliméricas (HENCH, 1990; ILER, 1979). Neste método, materiais inorgânicos podem ser preparados a partir de soluções contendo sais inorgânicos (cloretos, nitratos, sulfetos, etc.), compostos metálicos, como os alcóxidos, ou outros sais orgânicos ou inorgânicos como fontes de cátions, água como agente de hidrólise e álcoois como solvente (BRINKER; SCHERER, 1993).

Como resultado da hidrólise dos precursores metálicos, a solução se torna um “sol”. As reações continuam e, pouco a pouco, interligam as partículas, solidificando o “sol” em um “gel”. A Fig. 3 ilustra as modificações estruturais que ocorrem durante a transição sol-gel, segundo a abordagem de Iler (1979).

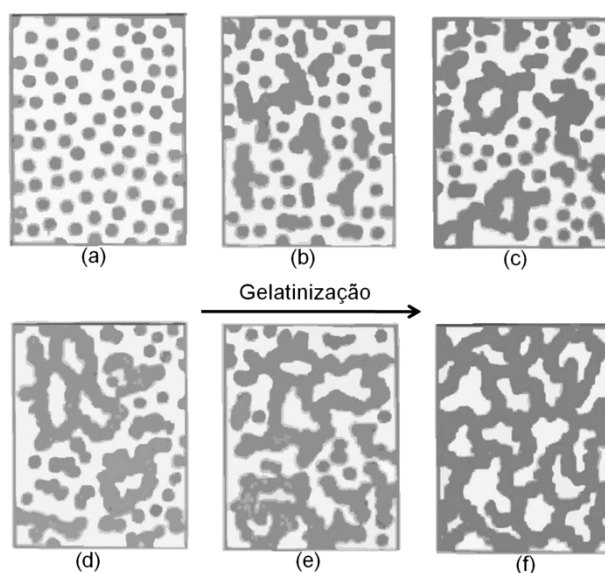


Figura 3. Evolução da gelatinização com o aumento da fração de microgel. (a) no início do processo as partículas coloidais estão dispersas, (b) e (c) formação de pequenas cadeias ramificadas e tridimensionais – o microgel, (d) a rede sólida ocupa cerca de metade do volume total, atingindo o sistema o ponto de gel – comportamento de sólido elástico, (e) e (f) as cadeias estruturadas crescem, formando uma rede contínua (ILER, 1979).

O interesse na utilização deste método se deve à possibilidade de controlar variáveis como homogeneidade, porosidade, estado físico, composição química, viscosidade e resistência mecânica, além de as temperaturas de processamento serem bastante inferiores aos métodos tradicionais para obtenção de cerâmicas, por exemplo (AIROLDI, 2004).

3.2.3 Método Hidrotérmico

Uma alternativa para cristalização sem o uso de tratamento térmico em temperaturas elevadas é o uso de condições hidrotermais e solvotermas. Em condições hidrotermais a solubilidade das partículas amorfas é significativamente aumentada e a cristalização pode ocorrer concomitantemente com processos de redissolução e reprecipitação - porém no núcleo cristalino. Também, o aumento da solubilidade das partículas favorece processos de crescimento por maturação de Ostwald (LIFSHITZ; SLYOZOV, 1961; WAGNER, 1961; OSKAM *et al.*, 2002), o que torna a estratégia útil para estas observações. Trabalhos recentes demonstraram também a ocorrência do fenômeno de coalescência orientada em partículas hidrotermalizadas, provavelmente por aumento de eventos de colisão interpartículas, mostrando que este fenômeno também pode ser considerado neste processo (PENN; BANFIELD, 1999; PEN; BANFIELD, 1998; LEE *et al.*, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2005; LEE *et al.*, 2006a).

A Fig. 4 apresenta o esquema do aparato normalmente utilizado em ensaios hidrotermais. Consiste basicamente de um reator em aço inox com uma cápsula interna de politetrafluoretileno (PTFE), para minimização de efeitos de ataque químico por parte da solução, o qual é aquecido externamente por um forno tubular. Uma sonda interna de temperatura e uma sonda de pressão mantêm o controle do sistema, que pode assim operar em temperatura constante, a uma pressão de até 40 atm, por longos períodos de tempo (RIBEIRO *et al.*, 2009).

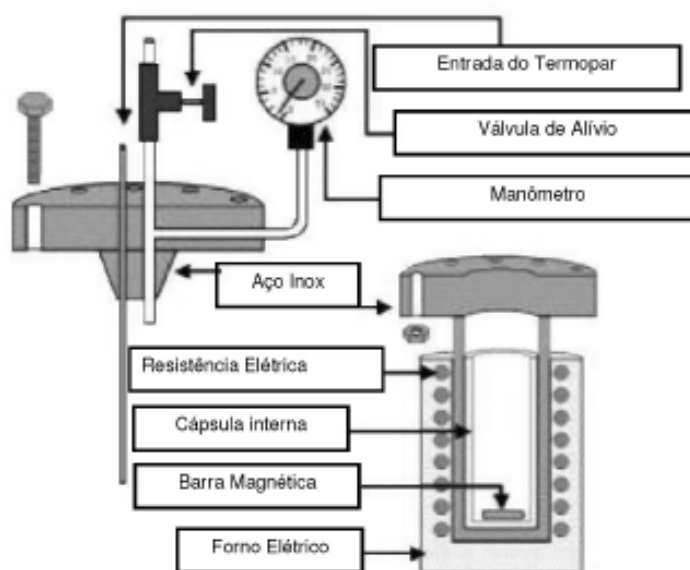


Figura 4. Esquema do aparato experimental para reações hidrotermais (RIBEIRO *et al.*, 2009).

3.2.4 Método Solvotérmico

Uma variante do método hidrotérmico é a reação em meio não aquoso, normalmente chamada de método solvotérmico. Nestas condições, reações não hidrolíticas podem ser favorecidas, permitindo maior controle de etapas de reação pelo impedimento estérico das cadeias orgânicas envolvidas. O método foi muito explorado para reações de precursores metálicos em álcool benzílico, um solvente que se demonstrou hábil para atuar como reagente e surfactante das partículas formadas (NIEDERBERG *et al.*, 2005; GARNWEITNER e NIEDERBERG, 2006; NIEDERBERG e GARNWEITNER, 2006; NEIDERBERG, 2007).

De forma geral, o método consiste na dissolução de um precursor metálico em álcool benzílico anidro e solvothermalização em temperaturas superiores a 150 °C. Nestas condições, a hidroxila presente no álcool liga-se parcialmente ao íon metálico, iniciando uma reação de policondensação, na qual o grupo orgânico é participante. O impedimento estérico exercido pelo maior volume do grupo orgânico age controlando a formação das nanopartículas, que tendem a se estabilizar em tamanhos menores e em dispersões de tamanhos mais estreitas que as obtidas no processo sol-gel hidrolítico (NIEDERBERG e GARNWEITNER, 2006).

A estratégia, apesar de demonstrar vantagens no controle da síntese, apresenta como principal problema a possibilidade da presença de grupos orgânicos

remanescentes na superfície das nanopartículas formadas, o que poderia envenenar sítios catalíticos. Porém, estudos recentes têm demonstrado que é possível remover os grupos orgânicos, trocando-os por grupos hidrofílicos e redispersando-os em outros solventes (ZHOU *et al.*, 2007).

3.3 Nanocompósitos

Os compósitos são produzidos quando dois ou mais materiais (ou fases) são utilizados juntos para resultar em uma combinação de propriedades que não podem ser obtidas de outra maneira. Materiais compósitos podem ser selecionados para resultar em combinações incomuns de rigidez, resistência mecânica, peso, desempenho em altas temperaturas, resistência à corrosão, dureza ou condutividade, por exemplo. Por agregar as propriedades mais atraentes de seus componentes, os compósitos apresentam propriedades superiores às propriedades dos mesmos. Vários materiais existentes na natureza, conhecidos e utilizados pelo homem, são exemplos de compósitos naturais, tais como madeira, ossos e dentes (SHACKERLFORD, 2008; ASKELAND, 2008).

Os nanocompósitos são aqueles materiais compósitos em que a fase dispersa consiste de partículas em escala nanométrica e é distribuída em uma matriz, a fase contínua (ASKELAND, 2008). Os nanocompósitos possuem duas características importantes: apresentam propriedades superiores às dos seus componentes e, por estarem em escala nanométricas, intensificam essas propriedades, proporcionando aplicações ainda mais atraentes.

3.3.1 Materiais à base de carbono

Materiais à base de carbono nanoestruturado e nanocompósitos têm recebido grande atenção, em virtude da sua versatilidade de morfologias alotrópicas e propriedades físico-químicas, além da grande gama de aplicações, devidas a propriedades mecânicas, eletrônicas, estruturais, dentre outras (CHANG *et al.*, 2003; CHOI *et al.*, 2006; HU *et al.*, 2006).

Carreño e colaboradores (2007) sintetizaram um nanocompósito metal/carbono para aplicação na reação de decomposição de gás natural, como catalisador. Os autores obtiveram os catalisadores a partir de uma rota sintética

simples e de baixo custo, baseada no método dos precursores poliméricos, e, como resultado da sua aplicação, obtiveram formas diferentes de carbono amorfo e cristalino, incluindo a formação de nanotubos de carbono, o que comprovou a eficiência dos compósitos utilizados.

Já na linha de materiais porosos adsorventes, Cao e coautores (2010) produziram nanocompósitos carbono/Fe pelo método da impregnação a vácuo, com posterior tratamento térmico. Os autores observaram que o compósito era composto por carbono amorfo, grafeno nanoestruturado e nanopartículas de Fe. Estas foram distribuídas uniformemente na matriz amorfa e as nanofitas de grafeno se interligaram formando uma rede. O material apresentou área superficial alta, com mesoporos, próxima de materiais similares, como os carbonos ativados. Conseqüentemente, o nanocompósito tem potenciais aplicações como adsorvente.

Muitos materiais à base de carbono têm sido aplicados a testes como armazenadores de hidrogênio. Um exemplo deste tipo de materiais são nanotubos de carbono (NTCs) dopados com partículas de Ni, sintetizados por Lin e colaboradores (2010). Baseados no fato de que estruturas de carbono dopadas com metal apresentam maior poder de adsorção de hidrogênio, os autores sintetizaram os compósitos pelo método de *electroless*, utilizando diversas temperaturas, tempos de deposição e concentração do dopante. O teste de adsorção de hidrogênio foi realizado em uma microbalança de alta pressão. Os autores observaram que os NTCs dopados com Ni chegaram a armazenar três vezes mais hidrogênio do que os NTCs não dopados.

3.3.2 Nanocompósitos magnéticos

Diversas aplicações têm sido dadas aos materiais magnéticos (MARTORANA *et al.*, 2006; MOURÃO *et al.*, 2010; ŠULEK *et al.*, 2010; MOHAPATRA; PRAMANIK, 2010), porém uma classe de aplicações tem chamado atenção especial – as bioaplicações. Dentro das bioaplicações podem-se encontrar trabalhos em diversos ramos, tais como: distribuição de fármacos (*drug delivery*) (GUO *et al.*, 2009), imagens de ressonância magnética (LEE *et al.*, 2010; TAN *et al.*, 2010), separação e identificação celular (GAO *et al.*, 2009; XU *et al.*, 2004), dentre outros.

A maior parte dos trabalhos envolvendo nanocompósitos magnéticos

bioaplicáveis compreende materiais à base de óxido de ferro. Kim e coautores (2009) sintetizaram compósitos com núcleo de magnetita recoberto com uma camada de sílica porosa, na qual foram embebidas nanopartículas de NiO. Baseados na afinidade existente entre as partículas de NiO e a histidina (HOCHULI *et al.*, 1987), os autores conseguiram isolar as proteínas marcadas com histidina da solução, por meio de um processo físico.

Sharma e colaboradores (2006), ao invés de trabalharem com óxidos magnéticos, produziram compósitos cobalto/carbono com alta área superficial. Os autores descreveram os compósitos obtidos como capazes de adsorver as drogas em sua superfície, além de comprovarem a grande capacidade de carrear essas drogas através do corpo, devido às propriedades magnéticas apresentadas pelas nanopartículas de cobalto.

3.4 Propriedades e características dos elementos Co e Ni

O cobalto, elemento de configuração eletrônica $[Ar] 3d^7 4s^2$, apresenta-se com pouca abundância na crosta terrestre, estando na 29ª posição na ordem de abundância relativa dos elementos na crosta terrestre. Este elemento, com estados de oxidação mais comuns (+II) e (+III), forma importantes ligas de alta temperatura, empregadas na confecção de turbinas a jato e na obtenção de aços rápidos. Além disso, é amplamente utilizado na fabricação de pigmentos para as indústrias de cerâmica, vidro e tintas (LEE, 1996).

O cobalto metálico, existente nas redes de bravais hexagonal compacta (hcp) e cúbica de face centrada (cfc), é ferromagnético, ou seja, pode ser magnetizado de modo permanente, como o ferro e o níquel. Boa parte da produção de Co se destina à obtenção de ligas magnéticas, como o “Alnico” (que contém Al, Ni e Co). Com essa liga, é possível preparar poderosos ímãs permanentes, 20 a 30 vezes mais fortes do que os ímãs de Fe (LEE, 1996; SHACKELFORD, 2008). Semelhante ao ferro, o cobalto é muito resistente. É mais duro e apresenta maior resistência à tração do que o aço. O cobalto é ferromagnético como o Fe, mas quando aquecido acima de 1.000 °C converte-se numa forma não-magnética (LEE, 1996).

Apesar de ser relativamente inerte, não reagindo com H_2O , H_2 ou N_2 , o cobalto reage com vapor de água, formando CoO. É oxidado quando aquecido ao ar e queima emitindo luz branca, formando Co_3O_4 . Além disso, se dissolve lentamente

em ácidos diluídos (LEE, 1996).

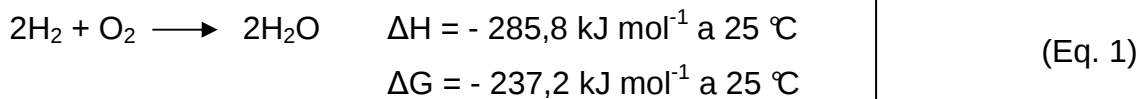
O níquel é moderadamente abundante e produzido em grandes quantidades. É utilizado para a preparação de várias ligas, tanto ferrosas como não-ferrosas. É o vigésimo segundo elemento mais abundante em peso na crosta terrestre, sendo encontrado principalmente em minérios de sulfeto e depósitos aluviais de silicatos e óxidos/hidróxidos (LEE, 1996).

O níquel, de configuração eletrônica $[\text{Ar}] 3d^8 4s^2$ pode ser encontrado nos estados de oxidação (-I) a (+IV), mas sua química é dominada pelo Ni^{2+} . Na sua forma metálica, arranja-se de acordo com a rede de bravais cúbica de face centrada (cfc), também chamada de cúbica compacta (cc). Apresenta-se na forma de um metal branco prateado, perdendo o brilho quando aquecido ao ar (LEE, 1996; SHACKELFORD, 2008).

3.5 O hidrogênio como combustível

Vários combustíveis alternativos em potencial têm sido propostos a fim de substituir os combustíveis fósseis, tanto em aplicações estacionárias quanto no setor de transportes. Dentre esses novos combustíveis, podem ser citados o biodiesel, o metanol, o etanol, o hidrogênio, etc., dos quais este último apresenta o maior conteúdo de energia específica, quando comparado aos outros. Ele também é o elemento mais abundante no universo, perfazendo 75 % da matéria em massa e mais de 90 % em número de átomos (MARIOLAKOS, 2007).

A base da chamada “energia do hidrogênio” é o fato de este reagir facilmente com o oxigênio, produzindo apenas água e energia, de acordo com a Eq. 1.



Considerando as propriedades que fazem com que o hidrogênio seja um combustível potencial, a principal limitação para aplicação dessa tecnologia se encontra nas formas de armazenamento e transporte desse combustível (DEMIRBAS, 2005; SHAKYA, 2005). Devido às propriedades físicas do hidrogênio, como seu ponto de ebulição do H_2 (20,2 K) e sua densidade (0,09 kg m³ na forma

gasosa e $70,9 \text{ kg m}^3$ na forma líquida) serem muito baixas, as instalações tradicionais para o seu armazenamento, tanto para aplicações estacionárias como móveis, são bastante complexas e exigem alto gasto energético agregado a sua utilização (SHAKYA, 2005).

O armazenamento convencional se procede de duas formas principais: o confinamento de hidrogênio gasoso em cilindros (Fig. 5A) e a criogenização do hidrogênio e seu confinamento em tubos de Dewar (Fig. 5B). No primeiro, as pressões utilizadas podem chegar a mais de 700 bar, já no segundo as temperaturas ficam abaixo de 20 K (BÉNARD, 2007). Além das formas convencionais, nas quais são variadas condições como pressão, temperatura e fase do combustível, o hidrogênio pode ser armazenado química ou físico-quimicamente em vários tipos de compostos sólidos e líquidos (SHAKYA, 2005).

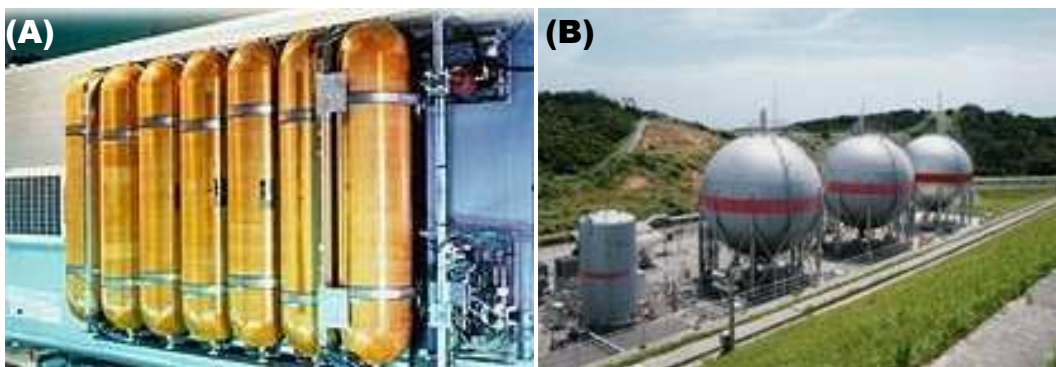


Figura 5. Imagens ilustrativas das formas convencionais de armazenamento de hidrogênio: (A) H_2 gasoso comprimido em altas pressões, (B) H_2 líquido mantido no interior de tubos de Dewar (FONTE: <http://www.ambientebrasil.com.br>).

3.5.1 Adsorção de hidrogênio

O desenvolvimento de métodos eficientes para estocagem de hidrogênio é um grande obstáculo a ser superado para colocar habilitar o hidrogênio à comercialização e aplicação em massa. O desenvolvimento de materiais com alta capacidade de armazenagem de hidrogênio que podem ser recarregados sob condições moderadas é fundamental para a viabilização da economia de hidrogênio. Muitos estudos (XIAO *et al.*, 2007; SU *et al.*, 2009; KOJIMA *et al.*, 2006) têm relatado materiais com potencial para adsorção e encapsulamento de hidrogênio.

3.5.2 Adsorção em materiais à base de carbono

O armazenamento de hidrogênio através da adsorção em materiais à base de carbono pode ser visto como um contínuo de dois mecanismos. Primeiramente ocorre a adsorção de hidrogênio na superfície disponível do adsorvente e a transferência de massa e a subsequente “internalização” das moléculas de H_2 nos espaços internos do adsorvente. A capacidade que um dado compósito apresenta de adsorver hidrogênio, ou qualquer adsorvato, depende de vários fatores, tais como área superficial efetivamente acessível, tamanho dos poros, topografia da superfície, composição química da superfície e a pressão e temperatura nas quais o processo é realizado (YÜRÜM *et al.*, 2009).

Idealmente, um material compósito que possa combinar as propriedades de adsorção em multicamadas nos sítios de carbono com a reatividade dos sítios metálicos, pela quimissorção com entalpia e cinética otimizadas, poderia proporcionar uma alta capacidade de adsorção de hidrogênio, além de um armazenamento facilmente reversível (YÜRÜM *et al.*, 2009). Considerando as limitações de se utilizar apenas adsorção física, alguns pesquisadores têm buscado combinar fisissorção e quimissorção para armazenamento de hidrogênio, utilizando, por exemplo, nanotubos decorados com titânio (YÜRÜM; CIRACI, 2005) ou níquel disperso em nanotubos de carbono (LEE *et al.*, 2006b) ou fulerenos (YILDIRIM *et al.*, 2005).

Além do óbvio papel desempenhado pela pressão e pela temperatura, a velocidade de adsorção e liberação está diretamente relacionada com eventos que ocorrem antes, durante e depois da adsorção. A cinética de adsorção, quando regida por mecanismos de fisissorção, tem apresentado rápido encapsulamento e liberação, além de reversibilidade completa. Pela própria definição de quimissorção, a presença de um centro catalítico influenciará profundamente na taxa de atomização após a fisissorção inicial de hidrogênio molecular. De mesmo modo, a recombinação dos átomos de hidrogênio no processo inverso pode depender fortemente da natureza do centro catalítico. As fortes ligações metal-hidrogênio têm se apresentado como uma barreira para a reversão da quimissorção, necessitando de redução de pressão e aumento de temperatura para realizar a dessorção. Muitas vezes, os átomos de hidrogênio quimissorvidos são transferidos, por difusão, da superfície do sítio metálico para sítios livres dentro da matriz de carbono. Por esses

e outros fatores, a quimissorção apresenta mecanismos muito mais complexos do que a fisissorção.

Maddox e colaboradores (1995; 1996) avaliaram a adsorção física de gases em materiais com poros cilíndricos através da simulação Monte-Carlo. Deve ser reconhecido que as aproximações teóricas têm dado resultados mais coerentes que os resultados experimentais, cujos dados são relativamente esparsos e, algumas vezes, contraditórios (DRESSELHAUS; WILLIAMS, 1999; TIBBETTS, 2000). Uma das principais explicações é a diferença nas características dos materiais como concebidos. Os nanotubos de carbono considerados na simulação molecular são tubos abertos, bem estruturados, sem carbono amorfo e impurezas, tendo diâmetros e geometrias nos feixes bem definidas. Nas investigações experimentais, ao contrário, devido a dificuldades de purificação, os nanotubos apresentam carbono amorfo e uma série de impurezas, normalmente resíduos catalíticos resultantes do processo de síntese. Além disso, os nanotubos em si não são abertos, ou são parcialmente abertos, e só estão disponíveis em pequenas quantidades, fazendo com que sejam utilizados aparelhos menos sensíveis e inevitavelmente menos precisos que os aparelhos convencionais.

Quanto à determinação experimental de adsorção, basicamente, três técnicas diferentes são aplicadas. O método volumétrico mede a queda de pressão devido à adsorção de hidrogênio após aplicação de pressão de hidrogênio em uma amostra contida em um volume constante (FAN *et al.*, 1999; FRIEDLMEIER *et al.*, 1994). De forma similar, o aumento de pressão proveniente da dessorção pode ser medida. Para uma boa precisão e para resultados confiáveis, esse método exige tipicamente amostras com mais de 500 mg ou mais. Além disso, vazamento no aparato ou instabilidade na temperatura de teste pode criar erros experimentais. A vantagem desta técnica é que ambas, adsorção e dessorção, podem ser medidas e as condições usadas são similares às usadas em tanques de armazenamento.

O método gravimétrico mede a mudança de massa das espécies devido à adsorção ou dessorção de hidrogênio. Em dispositivos especialmente desenvolvidos, pode-se obter uma grande precisão mesmo para massas de 10 mg (STROBEL *et al.*, 1999; BENHAM; ROSS, 1989). Contudo, essa técnica é sensível a todos os gases adsorvidos ou dessorvidos, já que apenas se baseia em medidas de massa.

A espectroscopia de dessorção térmica (EDT) mede apenas a dessorção de

hidrogênio em alto vácuo utilizando espectroscopia de massa. O método é seletivo e muito sensível, permitindo o estudo de amostras abaixo de 1 mg (DILLON *et al.*, 1997; MOMMER *et al.*, 1998). A sensibilidade e sensibilidade podem ser melhoradas utilizando espécies dopadas com deutério (MOMMER *et al.*, 1998). Neste caso, não surge ruído de fundo causado pela presença de água ou outro adsorvente presente.

3.6 Separação imunomagnética

O princípio do processo de separação magnética é extremamente simples e permanece inalterado desde os primeiros exemplos. Baseia-se no simples fato de que os materiais com diferentes momentos magnéticos sofrem diferentes forças na presença de gradientes de campo magnético. Assim, um campo externo aplicado pode selecionar misturas fisicamente semelhantes cujos componentes têm características magnéticas diferentes (SVOBODA; FUJITA, 2003). O uso deste princípio é comum em misturas em que um componente é magnético; um material intrinsecamente magnético pode ser separado usando eletroímãs ou fortes ímãs permanentes. O processo é geralmente binário e resulta em uma porção magnética retida (usualmente sólida) e o solvente residual não magnético (YAVUZ *et al.*, 2009).

A metodologia convencional para detecção de agentes patogênicos, baseada no isolamento em meios seletivos e posterior identificação bioquímica e sorológica, requer um tempo relativamente longo para ser completada e é dificultada pela presença de microorganismos contaminantes e/ou substâncias inibidoras (FDA, 1992; FAINE *et al.*, 1999). A separação imunomagnética (IMS) é uma técnica que utiliza anticorpos monoclonais ou policlonais ancorados à superfície de partículas, essa técnica reduz o custo, o tempo de isolamento do microrganismo alvo e as possibilidades de contaminantes, já que é possível realizar diversas lavagens com o produto imuno separado (OLSVIK *et al.*, 1994; GRAY *et al.*, 2005; FERNANDES *et al.*, 2008; MOREIRA *et al.*, 2008).

A imobilização de biomoléculas através de ligação covalente entre a matriz e a biomolécula é um dos tipos mais estudados de separação biomolecular. A ligação covalente se dá através dos grupos amino e carboxi terminais (-NH₂, -COOH) das proteínas ou grupos amino pendentes contendo resíduos de lisina, histidina (grupos imidazol) e arginina (grupos guanidínil) com os grupos ativos do suporte insolúvel, como aldeídos, aminos, diazônios, azidas ácidas, isocianatos e haletos. Este tipo de

ligação tem a vantagem de não ser reversível frente à mudanças de pH, força iônica ou substrato.

Estudos recentes demonstram a aplicação biotecnológica de nanocompósitos para as mais diversas finalidades. Xu e coautores (2004) sintetizaram nanopartículas magnéticas de ferro conjugadas ao ácido nitrilo acético de níquel (Ni-NTA) e relataram sua eficiência na purificação de proteínas com cauda de histidina. Das e colaboradores (2009) funcionalizaram nanopartículas para detectar, marcar, e destruir células cancerígenas. Liébana e colaboradores (2009) desenvolveram um método sensível e rápido utilizando separação imunomagnética para a detecção de *Salmonella* em amostras de leite.

4 Técnicas de caracterização de materiais

4.1 Técnicas de microscopia

4.1.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica de caracterização microestrutural extremamente versátil, encontrando suas principais aplicações no exame topográfico de superfícies rugosas (contraste topográfico), em áreas como engenharia e ciência dos materiais, ciências biológicas, geociências, dentre outras. A técnica se baseia na interação de um fino feixe de elétrons focalizado sobre a área ou microvolume a ser analisado, a qual gera uma série de sinais utilizados para caracterizar propriedades da amostra, tais como composição, superfície topográfica, cristalografia, etc. (MANHEIMER, 2002; GOLDSTEIN, 1992).

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) origina “imagens indiretas”, isto é, não existe um caminho óptico entre a amostra e a imagem, sendo os sistemas de geração e de visualização de imagem separados. A imagem no MEV é o mapeamento das interações que ocorrem entre elétrons e a superfície da amostra. Para tal, esta é varrida por um feixe colimado de elétrons e, com auxílio dos sinais secundários assim originados, a intensidade de um tubo de raios catódicos é modulada, originando a imagem do objeto (MANHEIMER, 2002)

Os sinais de maior interesse referem-se usualmente às imagens de elétrons secundários e de elétrons retroespalhados. Esses dois tipos de elétrons emanam da superfície da amostra pela incidência do feixe de elétrons sobre a mesma. Os elétrons secundários, formados pela excitação de elétrons ligados fracamente aos átomos, apresentam energia abaixo de 50 eV; esses elétrons possibilitam a visualização da topografia da amostra com elevada profundidade e foco. Já os elétrons retroespalhados são aqueles cuja trajetória foi desviada em mais de 90° em relação ao feixe incidente, apresentam energia variando de 50 eV até valores correspondentes à energia do feixe incidente, e mantêm estreita dependência com o número atômico. Isso permite a identificação de fases através do contraste de tons de cinza em função do número atômico médio (MANHEIMER, 2002; GOLDSTEIN, 1992).

Os componentes de um MEV estão mostrados no esquema ilustrado na Fig. 6 e detalhados em seguida (MANHEIMER, 2002):

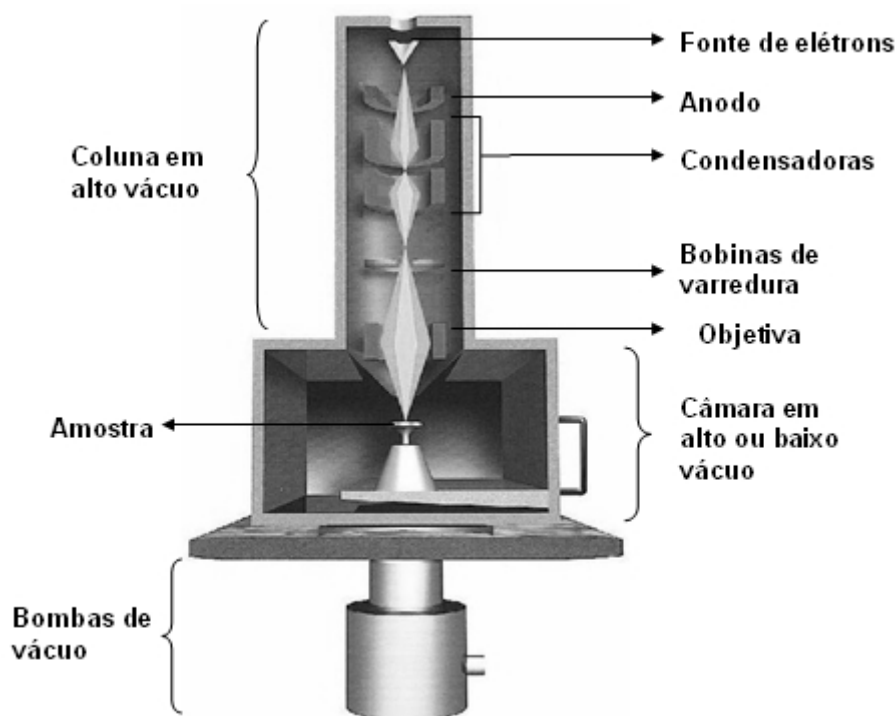


Figura 6. Esquema do Microscópio Eletrônico de Varredura (GOLDSTEIN, 1992).

- **Canhão de elétrons:** os elétrons são gerados pelo canhão a partir do aquecimento de um material, geralmente um filamento de tungstênio, a alta temperatura. Com isso, sua energia aumenta o bastante para que a barreira de alguns elétrons-volt de sua função de trabalho seja superada, e elétrons térmicos passem a ser emitidos.

- **Conjunto de lentes:** A coluna do MEV possui três lentes eletromagnéticas – duas condensadoras e uma objetiva. As primeiras agem como desmagnificadoras do ponto luminoso do canhão. A terceira lente tem a função de focalizar o feixe de elétrons sobre a amostra.

- **Bobinas de varredura:** A varredura do feixe para tatear a amostra é executada pelas bobinas de varredura, controladas em sincronismo com o tubo de raios catódicos (TRC). A varredura pode ser feita de diversas formas, porém a mais comum é a varredura X-Y.

- **Detector:** Cada um dos sinais gerados no MEV (elétrons secundários, retroespalhados, fótons, raios X, etc.) requer um detector apropriado para sua

aquisição e transformação em sinal elétrico. Aqui serão destacados os detectores para elétrons secundários (ES) e retroespalhados (ERE).

Detector de ES – o detector mais comum de ES consiste em uma gaiola de Faraday que atrai os elétrons para um cintilador; este sinal é guiado até uma célula fotomultiplicadora onde é, então, convertido em sinal elétrico (GOLDSTEIN, 1992; MANHEIMER, 2002).

Detector de ERE – o detector de estado sólido para coleta de ERE tem formato anelar e situa-se logo abaixo da objetiva do MEV, apresentando um orifício central para a passagem do feixe de elétrons incidente. O detector é segmentado em quatro partes, podendo coletar tanto imagens de contraste de número atômico, como de topografia (GOLDSTEIN, 1992; MANHEIMER, 2002).

4.1.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

O MET é um dos instrumentos mais importantes na área de caracterização de materiais, devido ao poder de resolução inigualável, que hoje atinge a ordem de 0,2 nm; em equipamentos especiais pode chegar a 0,1 nm. Para a caracterização de metais, esta é uma técnica importante por revelar suas características metalográficas, tanto por contraste de massa quanto por contraste de difração, o que só é possível exclusivamente através desta técnica (FLEWITT; WILD, 1986; REIMER, 1997).

Um microscópio eletrônico de transmissão (Fig. 7) consiste de um feixe de elétrons e um conjunto de lentes eletromagnéticas, que controlam o feixe, encerrados em uma coluna evacuada com uma pressão cerca de 10^{-5} mm Hg. Um microscópio moderno de transmissão possui cinco ou seis lentes magnéticas, além de várias bobinas eletromagnéticas de deflexão e aberturas localizadas ao longo do caminho do feixe eletrônico. Entre estes componentes, destacam-se os três seguintes pela sua importância com respeito aos fenômenos de difração eletrônica: lente objetiva, abertura objetiva e abertura seletiva de difração. A função das lentes projetoras é apenas a produção de um feixe paralelo e de suficiente intensidade incidente na superfície da amostra (FLEWITT; WILD, 1986; REIMER, 1997).

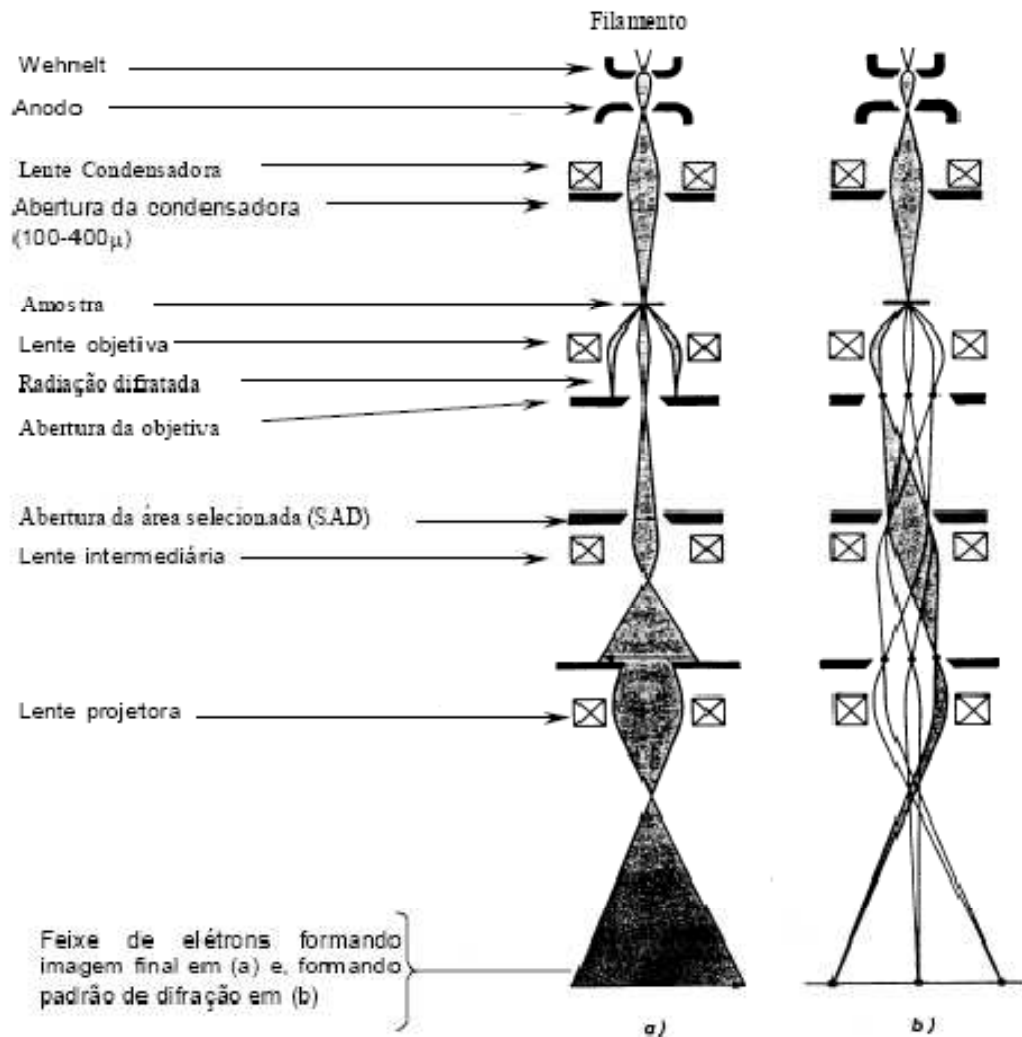


Figura 7. Esquema de um MET nos modos de operação (a) imagem e (b) difração (WILLIAMS; CARTER, 1996).

Os elétrons saem da amostra pela superfície inferior com uma distribuição de intensidade e direção controladas principalmente pelas leis de difração impostas pelo arranjo cristalino dos átomos na amostra. Em seguida, a lente objetiva entra em ação, formando a primeira imagem desta distribuição angular dos feixes eletrônicos difratados. Após este processo importantíssimo da lente objetiva, as lentes restantes servem apenas para aumentar a imagem ou diagrama de difração para futura observação na tela (FLEWITT; WILD, 1986; REIMER, 1997).

Em microscopia eletrônica de transmissão a imagem observada é a projeção de uma determinada espessura do material, havendo uma diferença com relação ao observado numa superfície. A Fig. 8 apresenta a projeção de uma lâmina fina conforme observada no microscópio de transmissão. Como pode ser observado, ocorre uma projeção das linhas, áreas e volumes de interesse, podendo ocorrer

superposição (FLEWITT e WILD, 1986; REIMER, 1997).

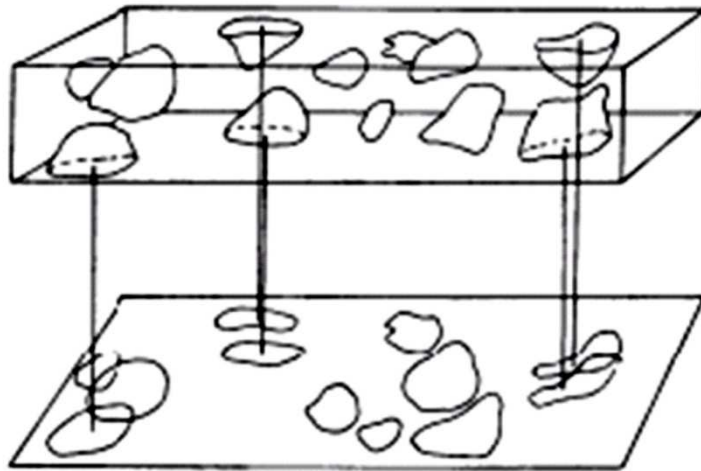


Figura 8. Projeção de várias espécies microestruturais contidas em uma lâmina fina; a parte superior representa a lâmina fina da amostra e a parte inferior, a projeção (REIMER, 1997).

O contraste nas imagens formadas em MET tem diversas origens, tais como diferença de espessura, diferença de densidade ou de coeficiente de absorção de elétrons (contraste de massa), difração e campos elásticos de tensão.

4.2 Difração de raios X (DRX)

Na técnica de difração, uma onda incidente é direcionada ao material e o detector é, normalmente, movido sobre a amostra, gravando todas as direções e intensidades das ondas difratadas. Na difração, a onda incidente deve ter comprimento de onda comparável ao espaçamento entre átomos, visto que esta é a distância média de separação dos átomos na maioria dos planos cristalinos, o que faz os feixes de raios X serem adequados para a técnica, visto que apresentam esse comprimento de onda (FILTZ; HOWE, 2002).

A Fig. 9 ilustra o princípio da difração em relação a dois planos paralelos, que estão separados por uma distância d , os quais são incididos por um feixe de raios X.

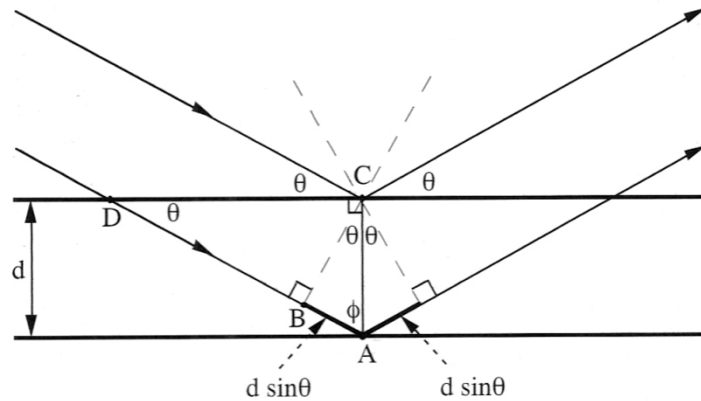


Figura 9. Representação da incidência e difração de raios X paralelos sobre uma amostra com planos separados por uma distância d (FULTZ; HOWE, 2002).

Esta técnica segue os princípios da Lei de Bragg (Eq. 2), que relaciona o ângulo de difração e a distância entre os planos que a originaram, sendo característico de cada fase cristalina.

$$2d \sin \theta = n\lambda \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

d = distância interplanar ($\text{\AA}$)

θ = ângulo de difração

λ = comprimento de onda dos raios X incidentes

n = número inteiro

O tamanho médio dos cristalitos presentes em um dado material pode ser determinado de forma simples a partir da medida da largura à meia altura de um pico de difração. Esse dado é, então, aplicado na Equação de Scherrer, Eq. 3 (FULTZ; HOWE, 2002).

$$D_{\text{Sch}} = \frac{K \lambda}{\sqrt{[(B_{\text{obs}})^2 - (B_p)^2] \cos \theta}} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:

D_{Sch} = tamanho do cristalito

K = constante com valor próximo a 1 (valor utilizado por arredondamento)

λ = comprimento de onda dos raios X incidentes

B_{obs} = largura à meia altura do pico de maior intensidade do difratograma

B_p = largura à meia altura do pico de difração do padrão externo

4.3 Espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX)

Depois que um elétron interno é emitido de um átomo, o átomo ionizado rapidamente decai de seu estado excitado para seu estado originário. Isso pode ocorrer por processo “radioativo” ou “não-radioativo”, no qual o átomo emite ou um raio X ou um elétron Auger, respectivamente. Ambos os processos competem pelo decaimento atômico. Para uma ionização na camada K, a fluorescência é definida como a fração de decaimento que ocorre pela emissão de um raio X da mesma camada (FULTZ; HOWE, 2002).

A fluorescência de raios X (XRF) utiliza sinais de raios X para excitar uma amostra desconhecida. Assim, Os elementos individuais presentes na amostra emitem seus raios X característicos (fluorescência). O espectrômetro de EDX detecta estes raios X e, qualitativamente, determina quais elementos estão presentes no material (SHIMADZU, 2010).

O EDX é um sistema XRF de energia dispersiva, conhecido como EDS. Isto significa que os raios-X são recebidos através de um detector (semicondutor), o qual permite análises simultâneas multielementar, possibilitando uma análise extremamente rápida mesmo na faixa de ppm (SHIMADZU, 2010).

4.4 Fisissorção de N₂

O fenômeno de fisissorção é aquele em que interações de Van der Waals fazem com que átomos e moléculas de um adsorvato e um adsorvente se liguem. O gás livre e o gás adsorvido estão em equilíbrio dinâmico, e o grau de recobrimento da superfície depende da pressão do gás em equilíbrio. A variação do grau de recobrimento com a pressão, a uma temperatura constante, é denominada isoterma de adsorção (ATKINS, 2008).

Diferentes modelos matemáticos para isotermas são utilizados para descrever o fenômeno de fisissorção, dentre eles as isotermas de Langmuir, de Temkin, de Freundlich e de Brunauer, Emmett e Teller (BET), cada uma descrevendo a adsorção considerando algumas particularidades. Neste estudo, descrever-se-á a isoterma BET, modelo mais aplicado para cálculo de área superficial (ATKINS, 2008).

4.4.1 Isoterma de BET

A isoterma BET considera que o substrato da adsorção é capaz de adsorver mais de uma camada de gás. Brunauer, Emmett e Teller generalizaram a equação de Langmuir considerando que a velocidade de condensação das moléculas da fase gasosa sobre a primeira camada é igual à velocidade de evaporação da segunda camada.

Desconsiderando o longo desenvolvimento matemático realizado por Brunauer, Emmett e Teller, obtém-se finalmente a expressão denominada equação de BET:

$$P/V(P_0 - P) = 1/V_m c + [(c - 1)/V_m c] P/P_0 \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde:

$$c = \exp[(Q_1 - Q_L)/RT];$$

Q_1 = calor de adsorção;

Q_L = calor molar de condensação;

V_m = volume da monocamada.

A equação de BET (Eq. 4) foi desenvolvida com o objetivo de relacionar valores obtidos a partir das isotermas de adsorção com a área específica de um sólido. Para tal, obtém-se o volume da monocamada V_m através do volume de gás adsorvido V a uma determinada pressão. A área pode, então, ser calculada. Todo o tratamento matemático desenvolvido leva em consideração a formação de multicamadas, porém, observou-se que a equação não é válida em toda a faixa de valores de pressão. A relação linear só é obedecida, para a maioria dos sistemas adsorvente/adsorvato, na faixa de valores de pressão relativa entre 0,05 e 0,35 – o valor máximo dessa faixa determina o ponto onde começa a formação de camadas múltiplas (TEIXEIRA *et al.*, 2001; GREGG; SING, 1982).

Uma isoterma mostra a relação entre a quantidade de gás adsorvida ou dessorvida por um sólido, a uma temperatura constante, em função da pressão do gás. Por convenção, costuma-se expressar a quantidade de gás adsorvida pelo seu volume em condição padrão de temperatura e pressão (0°C e 760 torr), enquanto

que a pressão é expressa pela pressão relativa P/P_0 , ou seja, a relação entre a pressão de trabalho e a pressão de vapor do gás na temperatura utilizada (TEIXEIRA *et al.*, 2001).

O formato da isoterma é função do tipo de porosidade do sólido. Várias são as formas de isotermas conhecidas até hoje, porém todas são variações de seis tipos principais. Os cinco primeiros tipos foram primeiramente sugeridos por Brunauer em 1938, sendo o sexto tipo proposto mais tarde. A Fig. 10 mostra os seis tipos de isotermas.

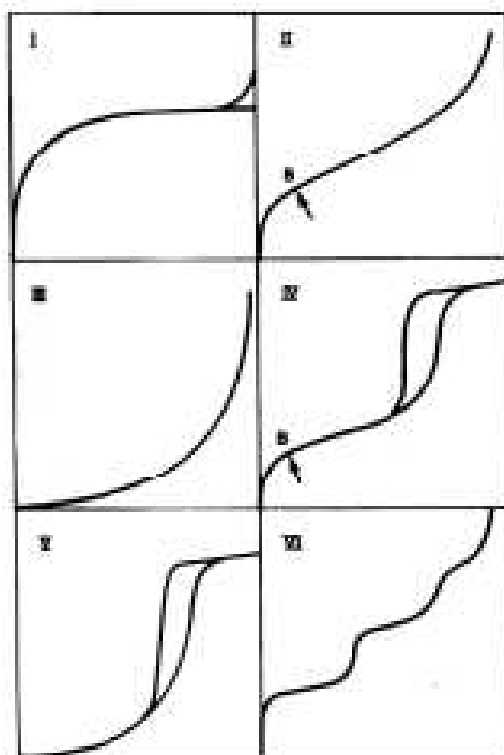


Figura 10. Isotermas (n versus P/P_0) dos tipos I ao tipo VI (GREGG; SING, 1982).

A isoterma do tipo I é característica de sólidos com microporosidade. As isotermas do tipo II e IV são típicas de sólidos não porosos e de sólidos com poros razoavelmente grandes, respectivamente. As isotermas do tipo III e V são características de sistemas onde as moléculas do adsorvato apresentam maior interação entre si do que com o sólido. Estes dois últimos tipos não são de interesse para a análise da estrutura porosa. A isoterma do tipo VI é obtida através da adsorção do gás por um sólido não poroso de superfície quase uniforme, o que representa um caso muito raro entre os materiais mais comuns (WEBB; ORR, 1997). Pode-se perceber que o tipo de isoterma é função do efeito do tamanho do poro

sobre o fenômeno de adsorção. De acordo com as curvas conhecidas, foi estabelecida uma classificação dos poros em função de seu diâmetro (Tab. 1), já que este é seu principal parâmetro dimensional (GREGG; SING, 1982).

Tabela 1. Classificação dos poros segundo seu diâmetro (GREGG; SING, 1982).

Classificação	Diâmetro (Å)
Microporo	$\Phi < 20$
Mesoporo	$20 < \Phi < 500$
Macroporo	$\Phi > 500$

As isotermas dos tipos IV e V são características de sólidos mesoporosos e macroporosos, nos quais o processo de evaporação é diferente do processo de condensação. Quando a condensação se dá dentro dos poros, onde as forças de atração são maiores devido à proximidade entre as moléculas, esta pode ocorrer a pressões menores do que em sólidos não porosos. A evaporação, porém, é dificultada pelo formato do poro. Os diferentes caminhos caracterizam uma histerese entre os processos de adsorção e dessorção. A isoterma do tipo IV nada mais é do que a isoterma do tipo II com o fenômeno de histerese, que será mais pronunciado quanto maior for a dispersão de tamanhos de poro. A ausência de histerese não significa a ausência de porosidade, já que alguns formatos de poro podem levar a processos iguais de adsorção e dessorção (WEBB; ORR, 1997).

4.4.2 Método de Barret, Joyner e Halenda (BJH)

Em 1951, Barret, Joyner e Halenda (BARRETT *et al.*, 1951) propuseram um método matemático denominado BJH que é utilizado até hoje no cálculo da distribuição dos tamanhos de poro. Baseado no fenômeno de condensação capilar, o método utiliza a equação de Kelvin (Eq. 5) e assume o esvaziamento progressivo dos poros cheios de líquido com o decréscimo da pressão (WEBB; ORR, 1997). Pode ser aplicado tanto ao ramo de adsorção como ao de dessorção da isoterma, desde que o decréscimo da pressão se inicie do ponto onde os poros sejam considerados totalmente preenchidos, normalmente para P/P_0 igual a 0,95 ou uma pressão igual a 95% da pressão de saturação.

$$\ln(P/P_0) = -(2\gamma M_v \cos\theta / RT r_m) \quad (\text{Eq. 5})$$

Onde:

P = pressão crítica de condensação;

γ = tensão superficial do líquido;

M_v = volume molar do adsorvato;

θ = ângulo de contato entre o sólido e a fase condensada;

r_m = raio de curvatura médio do menisco do líquido.

A quantidade de adsorvato evaporada a cada decréscimo de pressão, após conversão de volume de gás para volume de líquido, representa o volume de poro sem considerar o filme de adsorvente nas paredes do sólido. Para cada decréscimo de pressão, pode-se então relacionar o volume do poro com o diâmetro e, com vários pontos, obtém-se um diagrama de volume de poro versus diâmetro de poro, que caracteriza a distribuição de tamanhos de poro.

Este método apresenta as mesmas limitações que a equação de Kelvin, já que o cálculo do raio do poro utiliza essa equação.

4.5 Redução à Temperatura Programada (TPR)

A adsorção química foi definida pela IUPAC (EVERETT, 1972) como “adsorção na qual as forças envolvidas são forças de valência do mesmo tipo das que operam na formação de compostos químicos” e a “adsorção que resulta da formação de ligação química entre o adsorvente e o adsorvato em uma monocamada na superfície” (McNAUGHT; WILKINSON, 1997). Em virtude da formação de ligações químicas entre as moléculas do adsorvato e as do adsorvente, o número de sítios ativos pode ser determinado simplesmente medindo a quantidade de gás quimissorvido (LOWELL *et al.*, 2006).

Medidas de redução termoprogramada (TPR) são as mais comumente usadas para determinar a capacidade de redução de um óxido de metal ou composto metálico contendo oxigênio. Para tanto, hidrogênio diluído com um gás inerte é utilizado. A concentração usual de hidrogênio, em volume, é de 5 %, permitindo não só uma grande sensibilidade do aparelho, mas também alto fator de segurança para a operação. O produto da reação é água, a qual deve ser removida

do fluxo de gás antes de chegar ao detector, garantindo um sinal limpo para o resultado (LOWELL *et al.*, 2006).

A medida descrita é processada em um aparato munido de um detector de condutividade térmica (TCD), sensível o suficiente para detectar qualquer desprendimento anômalo de gás da amostra (no caso da redução, geralmente vapor de água; a área sob a curva gerada pelo sinal elétrico é proporcional ao consumo de hidrogênio, em caso de atmosfera redutora. A amostra é mantida no interior de um forno, cuja temperatura pode ser variada da temperatura ambiente a 1200 °C. Um diagrama esquemático do aparato experimental é mostrado na Fig. 11.

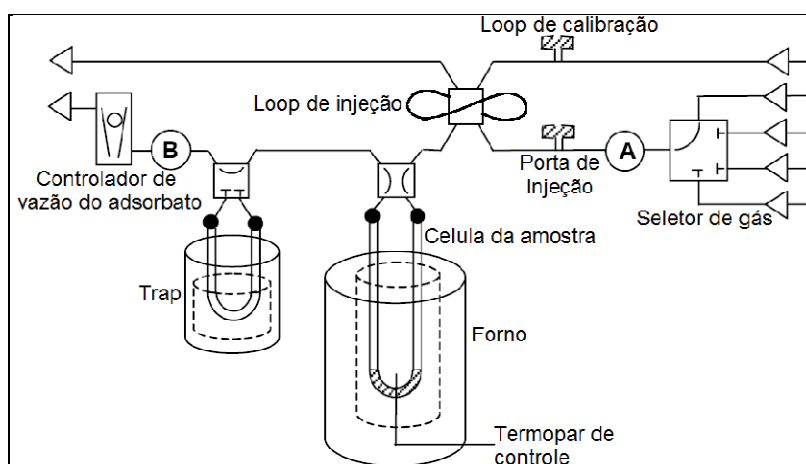


Figura 11. Diagrama esquemático de um equipamento de quimissorção (QUANTACHROME INSTRUMENTS, 2006).

A amostra geralmente necessita de uma preparação mínima, mas sofre remoção de umidade através de purga com gás inerte puro. Misturas residuais podem afetar a redutibilidade dos óxidos a baixas temperaturas (BURWELL; TAYLOR, 1936).

A mistura de gás redutor deve ser completamente eliminada da célula da amostra e do detector antes de se começar o aquecimento. Após iniciar o aquecimento, a taxa de variação de temperatura não deve ser alterada. Para amostras reduzidas que serão analisadas por titulação, para determinação de área metálica, é importante evitar temperaturas excessivamente altas, capazes de comprometer a amostra pela sinterização do metal. Os resultados de um TPR são normalmente expressos por uma representação gráfica do sinal do detector em função da temperatura (LOWELL *et al.*, 2006).

4.6 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (FT-IR)

A radiação infravermelha não é suficientemente energética para causar as transições eletrônicas que ocorrem com outras radiações. A absorção de radiação infravermelha está muito restrita a espécies moleculares que têm diferenças de energia pequenas entre vários estados rotacionais e vibracionais. Para absorver radiação infravermelha, uma molécula precisa sofrer uma variação no momento de dipolo com consequência do movimento vibracional ou rotacional. Somente nessas circunstâncias o campo elétrico alternado da radiação pode interagir com a molécula e causar variações na amplitude de um de seus movimentos. O momento dipolar é determinado pela magnitude da diferença de carga e a distância entre os centros de carga dos átomos de uma molécula. Assim, se a frequência da radiação coincidir exatamente com a frequência vibracional natural da molécula, ocorre uma transferência de energia efetiva e resulta em uma variação da amplitude da vibração molecular; a absorção de radiação é a consequência. Do mesmo modo, a rotação de moléculas assimétricas em torno dos seus centros de massa resulta em uma variação periódica do dipolo que pode interagir com a radiação (SKOOG, 2002).

Os espectrômetros com transformada de Fourier (FT-IR), operação matemática através da qual uma função de onda complexa pode ser decomposta em componentes simples, apresentam eficiência de transporte devida a possuírem poucos elementos ópticos e nenhuma fenda para atenuar a radiação; como consequência, a potência da radiação que incide no detector é muito maior que em instrumentos dispersivos e são observadas relações sinal-ruído bem melhores. Outro aspecto que colabora para uma melhor relação sinal-ruído é o acúmulo de espectros feito pelos espectrômetros (SKOOG, 2002).

4.7 Microscopia de imunofluorescência

A imunofluorescência indireta é um procedimento em que as reações antígeno-anticorpo são observadas por microscopia por meio da utilização de um anticorpo (específico ou não), marcado com fluorocromo (fluoresceína ou rodamina). Os complexos imunes contendo estes anticorpos marcados podem ser detectados pela emissão de luz fluorescente, quando excitadas por uma luz de menor comprimento de onda. A luz emitida pode ser observada com o auxílio de um

microscópio de fluorescência. Os fluorocromos podem ser conjugados às regiões Fc de uma molécula de anticorpo, sem afetar a sua especificidade (MADIGAN *et al.*, 2000).

Os parasitos (antígenos) são fixados em lâminas e incubados com o soro que se deseja testar, sendo posteriormente tratados com outro soro que contenha anticorpos específicos para imunoglobulina humana (anti-Ig) conjugada a um fluorocromo, como a fluoresceína. A presença de anticorpos é revelada por meio de microscopia de fluorescência, que utiliza incidência de luz azul e ultravioleta para a leitura. Será considerado então como reagente o aparecimento de coloração esverdeada, resultado da fluorescência emitida pela fluoresceína, enquanto a ausência de fluorescência será interpretada como não-reagente. Esta técnica é dita indireta porque o anticorpo em estudo se ligará ao conjugado e não diretamente ao seu antígeno (FRÉJAVILLE; KAMOUN, 1989).

5. Metodologia de síntese dos nanocompósitos magnéticos metal/carbono

Para realizar a síntese dos compósitos estudados neste trabalho, foram utilizados reagentes de grau P.A., conforme Tab. 2.

Tabela 2. Materiais utilizados durante a síntese e a funcionalização dos compósitos.

Reagente	Fórmula molecular	P.M. (g mol ⁻¹)	Pureza (%)	Fabricante
Ácido cítrico anidro	C ₆ H ₈ O ₇	192,13	99,5	LabSynth
Etilenoglicol*	HO(CH ₂) ₂ OH	62,07	99,7	LabSynth
Nitrato de cobalto hexahidratado	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	291,03	98	Vetec
Nitrato de níquel hexahidratado	Ni(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	290,81	97	Vetec

* Densidade 1,110-1,116 g cm⁻³, a 20 °C.

5.1 Síntese química da resina precursora pelo método dos precursores poliméricos

Os nanocompósitos cobalto/carbono e níquel/carbono foram sintetizados através do método dos precursores poliméricos (CARREÑO *et al.*, 2007), este baseado na rota sintética desenvolvida por Pechini (1967). Inicialmente foi preparada uma solução aquosa de citrato do metal de transição desejado, utilizando-se Ni(NO₃)₂.6H₂O ou Co(NO₃)₂.6H₂O e ácido cítrico anidro (AC), numa proporção molar de 1:3 de metal em relação ao ácido cítrico. Esta solução precursora foi deixada sob agitação por aproximadamente 15 min, aguardando total solubilização e homogeneização, à temperatura ambiente. Logo após, como agente polimerizante, foi adicionado etilenoglicol (EG) numa relação mássica 4:6, em relação ao AC utilizado na solução precursora. Sob temperaturas moderadas, entre 80 e 100 °C, em recipiente aberto e sob agitação obteve-se como produto a resina polimerizada. Este aumento de temperatura promove, através de reações de poliesterificação e eliminação de água do meio, uma resina sólida e solúvel em água. Em seguida, a

resina foi tratada termicamente, a 250 °C em atmosfera natural, como etapa de pré-pirólise, com objetivo de eliminar a água e excesso de material orgânico, resultando na formação do “puff”. Como produtos desta etapa, após moagem em gral e pistilo, obtiveram-se as amostras na forma de pó, denominadas como Ni250 e Co250, para as amostras produzidas à base de níquel e cobalto, respectivamente. Uma visualização geral do processo realizado na síntese pode ser realizada no fluxograma da Fig. 12, abaixo.

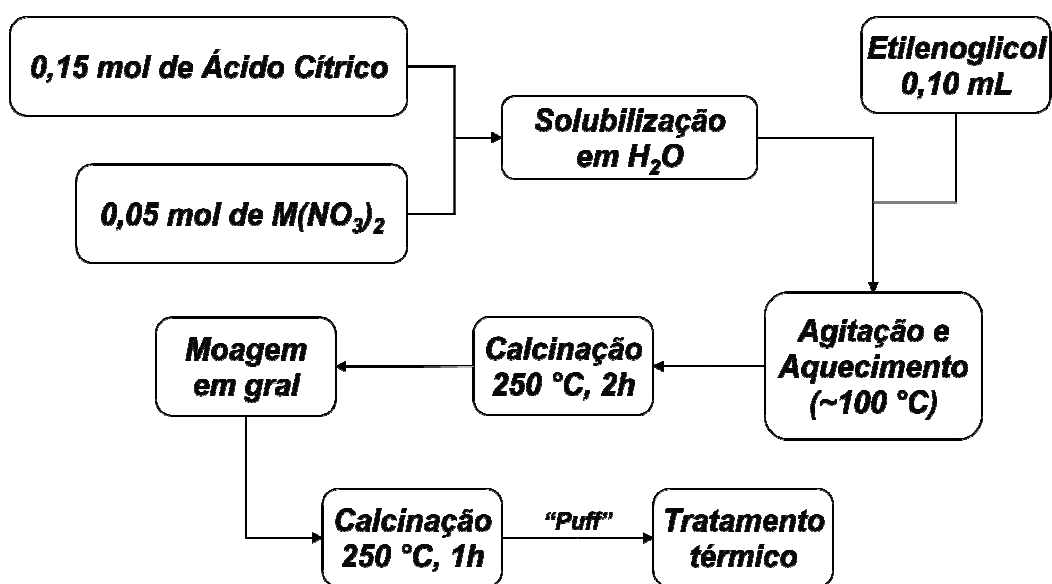


Figura 12. Fluxograma do processo aplicado na síntese dos nanocompósitos metal/carbono.

5.2 Tratamentos térmicos aplicados para obtenção dos nanocompósitos metal/carbono

Após a formação dos pós, estes foram submetidos a dois diferentes tratamentos térmicos visando à obtenção dos nanocompósitos níquel/carbono e cobalto/carbono. Este procedimento foi realizado em forno tubular vertical, sob fluxo de gás nitrogênio, com a amostra suspensa em uma base de fibra de quartzo, no interior de um reator de quartzo, conforme Fig. 13.

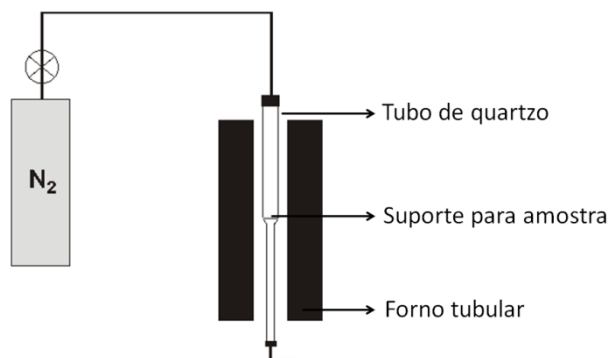


Figura 13. Esquema do forno tubular com fluxo de N₂ utilizado na síntese dos nanocompósitos.

Nesta etapa, as temperaturas avaliadas para a formação dos nanocompósitos foram 600 °C e 800 °C, com uma taxa de aquecimento do forno estabelecida em 10 °C min⁻¹. Este tratamento foi totalmente realizado em atmosfera inerte, objetivando a permanência da porção orgânica formada exclusivamente por carbono, visto que este é parte do compósito final, junto com a porção metálica. Assim, o tratamento térmico sob fluxo de N₂ possibilitou uma atmosfera levemente redutora, eliminando o oxigênio restante na forma de CO₂, porém mantendo a maior parte da porção carbonácea.

Os produtos finais, obtidos após o tratamento térmico, foram designados conforme nomenclatura expressa na Tab. 3.

Tabela 3. Nome das amostras de acordo com o tratamento térmico aplicado e o metal precursor.

Metal precursor	Temperatura	Nome da amostra
Níquel	600 °C	Ni600
	800 °C	Ni800
Cobalto	600 °C	Co600
	800 °C	Co800

De acordo com as propriedades dos metais utilizados para a síntese, após o tratamento térmico, foram obtidos compósitos magnéticos. Os metais utilizados, cobalto e níquel, apresentam ferromagnetismo quando em seu estado de oxidação zero, claramente visível através da ação de um campo magnético gerado por um

magneto (LEE, 1996; SHACKELFORD, 2008).

5.3 Funcionalização dos nanocompósitos magnéticos cobalto/carbono

Para promover a funcionalização dos compósitos para bioaplicações, as amostras Co800, sintetizadas através do método dos precursores poliméricos, foram funcionalizadas empregando-se o recobrimento da sua superfície com grupos carboxila. Para tanto, o precursor orgânico utilizado como fonte dos grupos funcionais citados foi o ácido acrílico (AA), Fig. 14. Este foi escolhido como agente funcionalizante devido à sua estrutura química e a facilidade que apresenta em se polimerizar na superfície das nanopartículas, em virtude da ligação dupla que apresenta em sua cadeia principal.

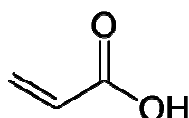


Figura 14. Estrutura química do ácido acrílico.

Antes de produzir material em grande quantidade, foi avaliado o aspecto físico da dispersão formada pela mistura dos compósitos magnéticos com o tampão borato, meio no qual foi, posteriormente, realizada a ligação dos anticorpos, para o teste de separação imunomagnética. Como as amostras de calcinadas a 600 °C apresentaram menor cristalinidade e magnetismo, a amostra Co800 foi escolhida para recobrimento com ácido acrílico e testes de aplicações biotecnológicas, visto que ainda não havia sido sintetizadas amostras de níquel calcinadas a 800 °C.

No procedimento, foi utilizada uma solução 2,9 mol L⁻¹ de ácido acrílico, em cujos 4,0 mL foram embebidas 0,1500 g de partículas Co800. Nos primeiros 10 min a dispersão formada foi deixada em banho ultrassônico e, após, sob agitação magnética e leve aquecimento (aproximadamente 50 °C) até secagem dos grânulos.

Em virtude da polimerização do ácido acrílico, foi observada aglomeração das nanopartículas magnéticas funcionalizadas, as quais passaram por uma leve maceração, utilizando béquer e bastão de vidro, para promover a segregação do material.

5.4 Caracterização das amostras

5.4.1 Espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX)

As análises qualitativas de EDX foram realizadas em instrumento Shimadzu, modelo EDX-720, utilizando rotinas de duas varreduras, para análise de metais, com utilização de vácuo

5.4.2 Difratometria de raios X (DRX)

Para determinação de porção cristalina, foi utilizado difratômetro modelo DRX-6000, Shimadzu. Os parâmetros utilizados nas análises, de forma padronizada, estão listados abaixo:

- Monocromador de grafite;
- Radiação $K\alpha$ do Cu: $\lambda = 0,1542$ nm;
- Aceleração do tubo de emissão dos raios X: 30 kV e 30 mA;
- Padrão externo utilizado para calibração: SiO_2
- Velocidade de varredura: 1°min^{-1} .

Para o cálculo do tamanho de cristalito, os perfis dos picos foram ajustados utilizando-se a função PseudoVoigt, no *software* Fityk, versão 0.8.7.

5.4.3 Fisissorção de N_2 a 77 K

As determinações de área superficial específica, distribuição e tamanho de poros foram realizadas em um instrumento Quantachrome, modelo AS-1. Todas as amostras foram degaseificadas por 1h, a 150°C . As isotermas foram obtidas com a aquisição de 40 pontos de adsorção e dessorção e a área superficial foi determinada utilizando 5 pontos de referência.

5.4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens de MEV foram obtidas a partir de um microscópio Shimadzu, SSX-550, o qual possui baixo vácuo e EDS acoplados. As amostras foram dispersas em acetona e depositadas sobre substratos de silício e, posteriormente, sobre a fita de carbono junto ao *stub*. As amostras foram metalizadas com Au, por 3 min e corrente de 5 mA, em equipamento Quick Coater SC-701, da Sanyu Electron.

5.4.5 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As imagens de MET foram obtidas a partir de um microscópio Philips, modelo CM200, no Laboratório Interdisciplinar de Eletroquímica e Cerâmica (LIEC), na UNESP/Araraquara. As amostras foram previamente dispersas em álcool isopropílico e dispersas em ultrassom por 5 min. Após, foram depositadas sobre a grade de deposição e esta colocada no porta-amostra.

5.4.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)

Os espectros de FT-IR foram obtidos com o uso de aparelho Varian, modelo 640-IR FT-IR Spectrometer. As amostras foram preparadas na forma de pastilhas com KBr e a varredura realizada na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} . A resolução dos espectros foi padronizada em 4 cm^{-1} e a leitura foi de 32 *scans*.

5.4.7 Redução termoprogramada (TPR)

As medidas de redução à temperatura programada foram realizadas em instrumento modelo ChemBet-3000, Quantachrome. A degaseificação foi feita a 200 °C, por 1 h, sob fluxo dinâmico de N_2 . A atenuação utilizada foi de 32, corrente em 150 mA. A mistura de gases utilizada para a redução foi de 5 % de H_2 e 95 % de N_2 , a 75 $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$.

5.4.8 Microscopia de imunofluorescência

As imagens de microscopia de imunofluorescência foram obtidas em um microscópio de fluorescência Olympus, modelo BX 41, com lente objetiva de 100x. A sensibilização das lâminas foi realizada no dia anterior com poly-L-lisina, diluída em água destilada 1: 10 e deixadas por uma hora a 37° C. Logo após foram deixadas em temperatura ambiente *overnight*. Cinco espécies de *Leptospira* foram usadas para a realização do experimento: *L. interrogans* (L 1 130), *L. borgpetersenii*, *L. kirschineri*, *L. noguchii* e *L. weilii*, todas de baixa passagem induzidas com cloreto de sódio. As suspensões foram centrifugadas a 10000 RPM por 5 min. e o pellet foi ressuspenso em PBS estéril em volume igual ao inicial. Dez microlitros do meio contendo as leptospiros foi acrescentado em cada círculo da lâmina e deixados a 30 °C por uma hora (até a gota secar). As lâminas foram lavadas duas vezes com BSA2% diluído em PBS. Vinte microlitros dos anticorpos diluídos 1:5 foram acrescentados a cada círculo da lâmina, a qual foi deixada em câmara úmida por 1 h. O processo de lavagem foi novamente realizado e 20 uL do anticorpo secundário (conjugado anti-IgG/M/A com FITC de camundongo) diluído 1:2000 foi acrescentado à lâmina e incubado por 1 h em câmara úmida. Uma gota de meio de montagem (solução anti-*fading*) foi adicionada sobre os poços. Em seguida a visualização foi feita em microscópio de fluorescência.

6. Resultados e discussão

6.1 Síntese dos nanocompósitos

6.1.1 Fluorescência de raios X (EDX)

Na Fig. 15 são mostrados os espectros de fluorescência de energia dispersiva de raios X dos nanocompósitos sintetizados.

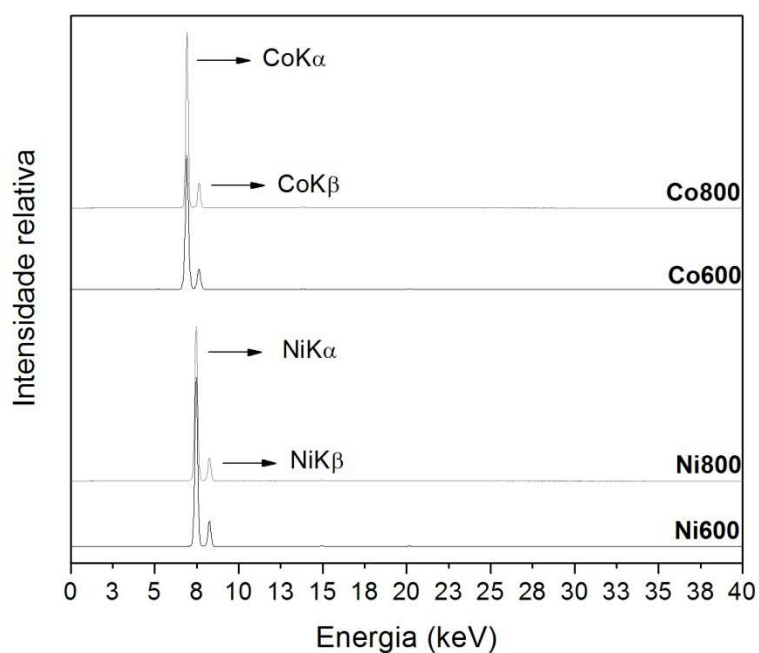


Figura 15. Espectros de EDX dos compósitos cobalto/carbono e níquel/carbono.

Os espectros da Fig. 15 comprovam a presença, sem contaminantes, dos metais níquel e cobalto em cada um dos compósitos. Podem ser observados nos espectros apenas as energias das linhas K α e K β do níquel (7,47 e 8,26 keV, respectivamente) e do cobalto (6,92 e 7,65 keV, respectivamente).

6.1.2 Difração de raios X (DRX)

Na Fig. 16 são mostrados os difratogramas de raios X dos compósitos à base de cobalto e carbono calcinados a 600 °C e 800 °C, em atmosfera de N₂.

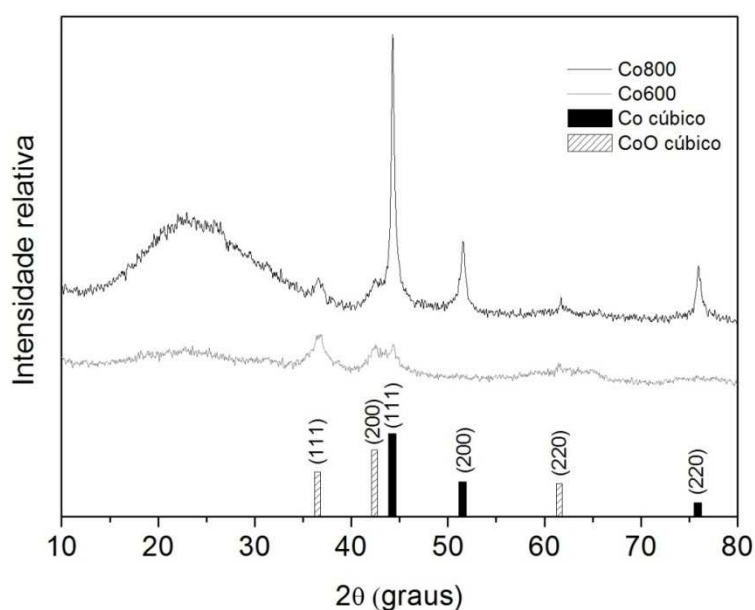


Figura 16. Difratogramas de raios X das amostras Co600 e Co800.

No difratograma da amostra C600, mostrado na Fig. 16, pode ser observada baixa cristalinidade, visto que os picos característicos dos ângulos de difração do cobalto cfc, esperados para este material, tem pequena intensidade e/ou chegam a ser inexistentes. Em contrapartida, os picos em 36,5°, 42,4° e 61,5°, referentes ao arranjo cfc do óxido de cobalto II (CoO) foi observada em ambas as amostras. No compósito Co800, pode-se perceber uma relativamente grande intensidade dos picos de Co^0 , localizados em aproximadamente 44,2°, 51,5°, 75,9°, referentes aos planos cristalinos (111), (200) e (220), respectivamente. Além disso, mantém-se presente no material a matriz carbonácea, responsável pela presença de uma larga banda entre 20° e 25°. Os ângulos de difração de Co e CoO foram identificados através dos dados cristalográficos contidos nas fichas JCPDS 89-4307 e 43-1004, respectivamente.

A Fig. 17 traz os difratogramas das amostras à base de níquel, calcinadas a 600 °C e 800 °C.

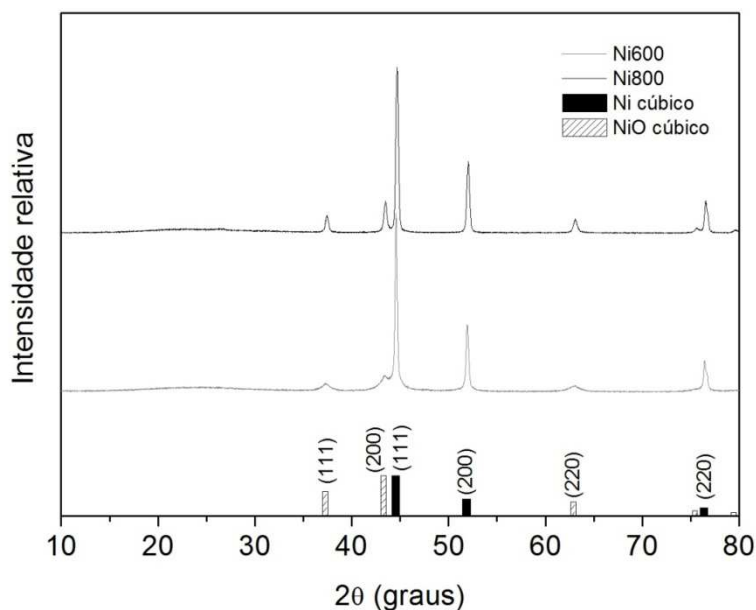


Figura 17. Difrátogramas de raios X das amostras Ni600 e Ni800.

Nos difratogramas dos compósitos Ni600 e Ni800, Fig. 17, são observados picos de difração referentes à fase cfc do Ni^0 e NiO (JCPDS 04-0850 e 47-1049, respectivamente) sendo que na amostra tratada a 800 °C os picos de difração do óxido de níquel II se mostraram mais intensos do que na amostra sintetizada à menor temperatura. Ao contrário do que fora observado nos difratogramas das amostras à base de cobalto, as amostras à base de níquel não apresentaram a banda característica de carbono amorfo, entre 20° e 25°, de forma avantajada. Muitas vezes o teor de carbono é baixo e o sinal da linha de base, quando comparado com os picos dos cristais, é grande, o que pode levar à suavização da banda alargada característica do carbono.

A partir dos resultados da difração de raios X foram calculados os tamanhos de cristalito, disponíveis na Tab. 4, para a fase metálica de cada uma das quatro amostras sintetizadas, através da Equação de Scherrer (FULTZ; HOWE, 2002). Como base para o cálculo, foi utilizado o plano cristalino de máxima difração, (111), de cada uma das amostras.

Tabela 4. Tamanho de cristalito das amostras Co600, Co800, Ni600 e Ni800, obtidos pela Equação de Scherrer.

Amostra	Tamanho de cristalito (nm)
Co600	*
Co800	31
Ni600	39
Ni800	45

* O tamanho de cristalito da amostra Co600 não foi determinado em virtude da pequena intensidade e alto ruído apresentado pelo difratograma.

Os valores de tamanho de cristalito para ambas as amostras indica que os cristalitos aumentam de tamanho em função da temperatura do tratamento térmico aplicado. Isso pode ser explicado pelo fenômeno de coalescência das partículas metálicas. Pois, com a eliminação da matéria orgânica há formação de “buracos” na estrutura, para onde se expandem as partículas metálicas, em virtude da sinterização.

Pode-se inferir, dos valores de tamanho de cristalito, que existem partículas metálicas de tamanho nanométrico embebidas na matriz de carbono, o que pode ser confirmado através das imagens de microscopia eletrônica de transmissão. Portanto, os compósitos sintetizados podem ser classificados como nanométricos se considerada a definição de nanocompósitos descrita anteriormente.

6.1.3 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Como foi observada maior cristalinidade dos compósitos tratados a 800 °C, através de DRX, essas amostras foram escolhidas para análise de MET, cujas imagens são mostradas nas Fig. 18 a 21.

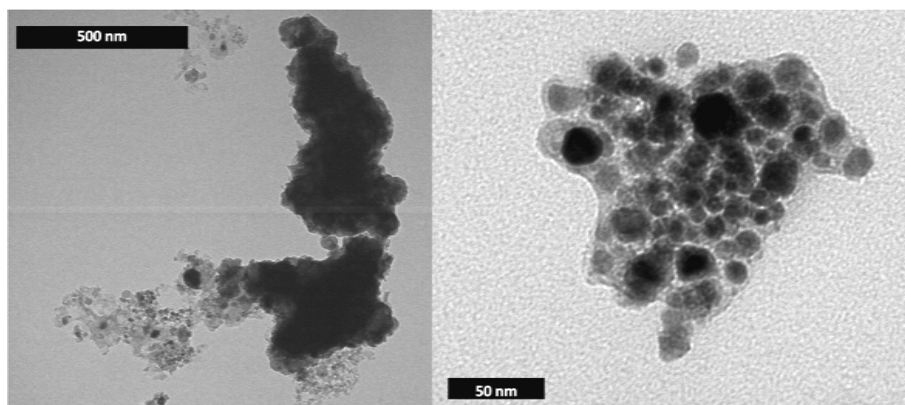


Figura 18. Imagens de MET do compósito Co800, em baixa resolução.

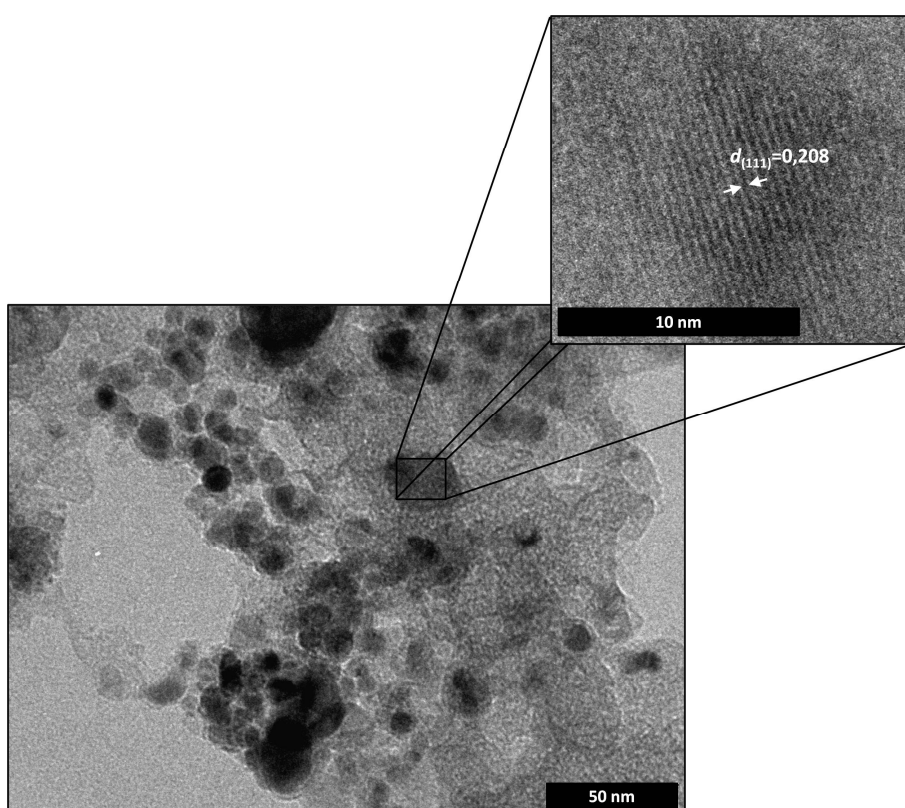


Figura 19. Imagens de MET do compósito Co800 em baixa e alta resolução.

Na Fig. 18, têm-se imagens dos compósitos Co800. É perceptível a presença de diversos tamanhos e formatos dos agregados formados, desde partículas nanométricas até micrométricas. Porém, todos são agregados formados pelas nanopartículas de cobalto embebidas na matriz de carbono. A grande quantidade de carbono chegou a prejudicar a visualização dos planos atômicos pela microscopia de alta resolução, Fig. 19. Apesar disso, foi possível encontrar planos atômicos que

apresentaram distância interplanar $d_{(111)} = 0,208$ nm, valor encontrado na literatura como sendo dos cristais de cobalto cfc (POLA *et al.*, 2010; JCPDS 89-4307).

As Fig. 20 e 21 mostram as imagens microscopia eletrônica de transmissão dos compósitos à base de níquel.

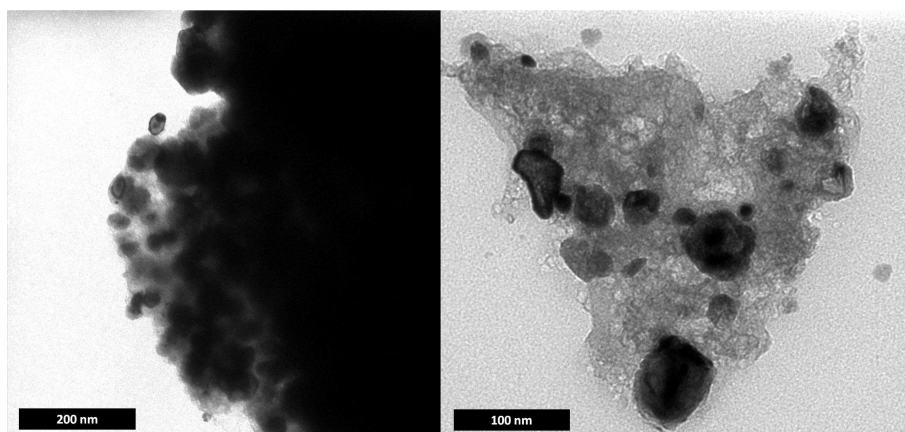


Figura 20. Imagens de MET do compósito Ni800, em baixa resolução.

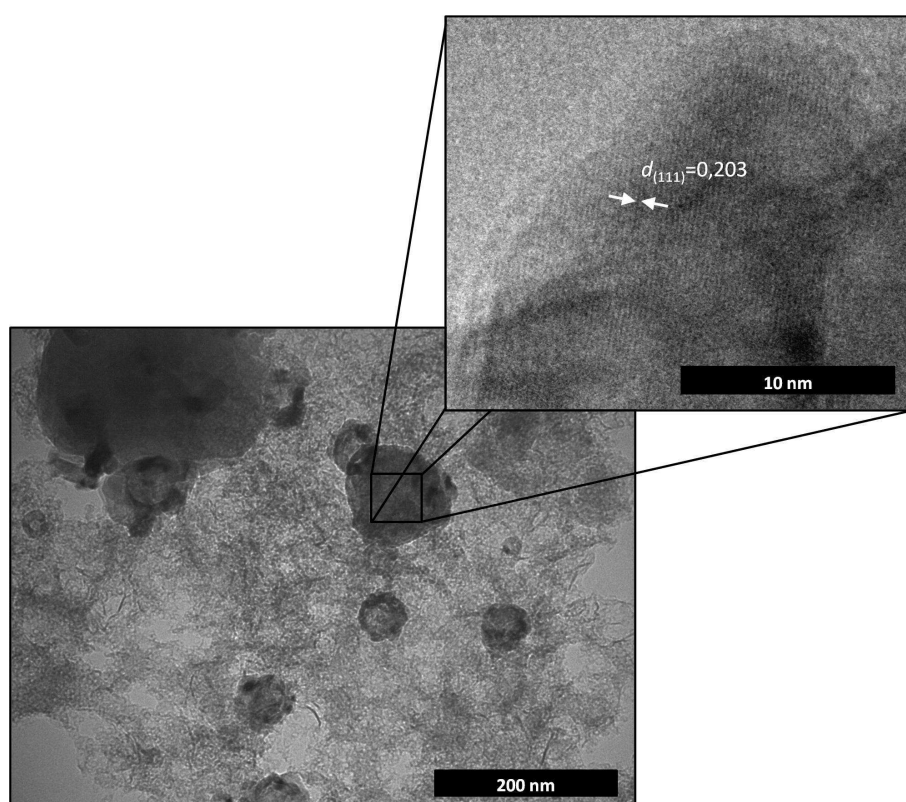


Figura 21. Imagens de MET do compósito Ni800, em baixa e alta resolução.

De acordo com as imagens acima, assim como para os compósitos Co800, é possível observar as partículas metálicas embebidas na matriz carbonácea, porém é visível o maior tamanho das partículas de níquel em comparação com as de cobalto. Também foi possível comprovar os resultados de DRX pela análise do plano atômico encontrado por TEM de alta resolução, o qual apresentou $d_{(111)} = 0,203$ nm, coerente com o descrito na literatura (JCPDS 04-0850).

6.1.4 Fisissorção de N₂

A primeira avaliação feita através da fisissorção de N₂ a 77 K foi da área superficial específica dos compósitos, calculada através do método BET, conforme mostrado na Tab. 5.

Tabela 5. Valores de área superficial, obtidos pelo método BET, das amostras sintetizadas.

Amostra	Área superficial (m ² g ⁻¹)
Co600	134
Co800	116
Ni600	47
Ni800	45

Comparando-se os valores de área superficial específica dos compósitos, pode-se perceber que a mesma diminui, infimamente, conforme o aumento da temperatura de calcinação do material. Além disso, observou-se uma grande diferença entre a área superficial dos compósitos contendo cobalto e os contendo níquel. Os compósitos à base de cobalto apresentaram área superficial de até 134 m² g⁻¹, significativamente maior, do que a área superficial apresentada pelos compósitos de níquel, de no máximo 47 m² g⁻¹.

A Fig. 22 mostra as isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio nos compósitos à base de cobalto, além da distribuição de tamanho de poros.

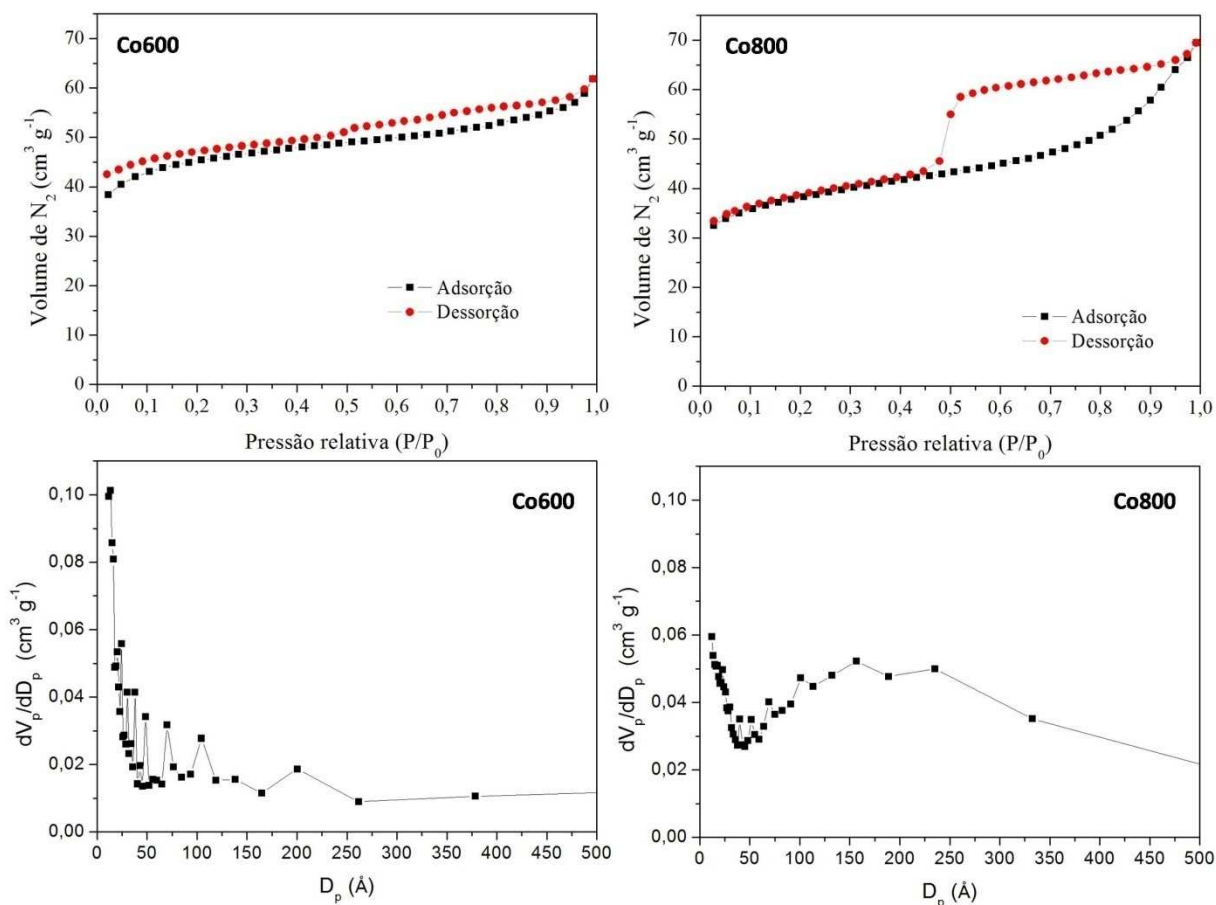


Figura 22. Isotermas de fisissorção de N₂ e distribuição do tamanho de poros das amostras Co600 e Co800.

De acordo com o referencial teórico descrito anteriormente, pode-se classificar as isotermas de fisissorção de N₂ apresentadas na Fig. 22 como do Tipo IV, característico de materiais mesoporosos. Entretanto, as histereses presentes em cada isoterma são de tipos diferentes. A presença de histerese é atribuída à diferença entre os fenômenos de condensação (adsorção) e evaporação (dessorção). Histereses estão presentes especialmente quando o material analisado tem mesoporosidade, pois nestes casos acontece o fenômeno de capilaridade na adsorção, o qual limita a adsorção a altas pressões relativas.

Na distribuição de tamanho de poros, também apresentada na Fig. 22, vê-se que o diâmetro de poros não é homogêneo, porém, se encontra dentro do limite para classificar os materiais como mesoporosos. Comparando-se os histogramas da distribuição dos compósitos Co600 e Co800 percebe-se que, em sua maioria, os poros do compósito Co800 possuem maior volume em função do diâmetro do que o compósito Co600.

Pode-se ainda, sugerir uma relação entre o volume de poro com a isoterma de adsorção, especificamente a histerese presente na isoterma da amostra Co600. Com a menor temperatura de tratamento e a menor coalescência das partículas metálicas no interior dos poros, a matriz de carbono da amostra Co600 apresentou poros com mais volume e mesmo diâmetro que a amostra Co800. Com isso, o desprendimento do nitrogênio na dessorção é dificultado, formando a histerese; já na amostra Co800, com poros mais rasos, essa dificuldade é amenizada e a curva de dessorção encontra a adsorção.

A Fig. 23 mostra as isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio nos compósitos à base de níquel, além da distribuição de tamanho de poros.

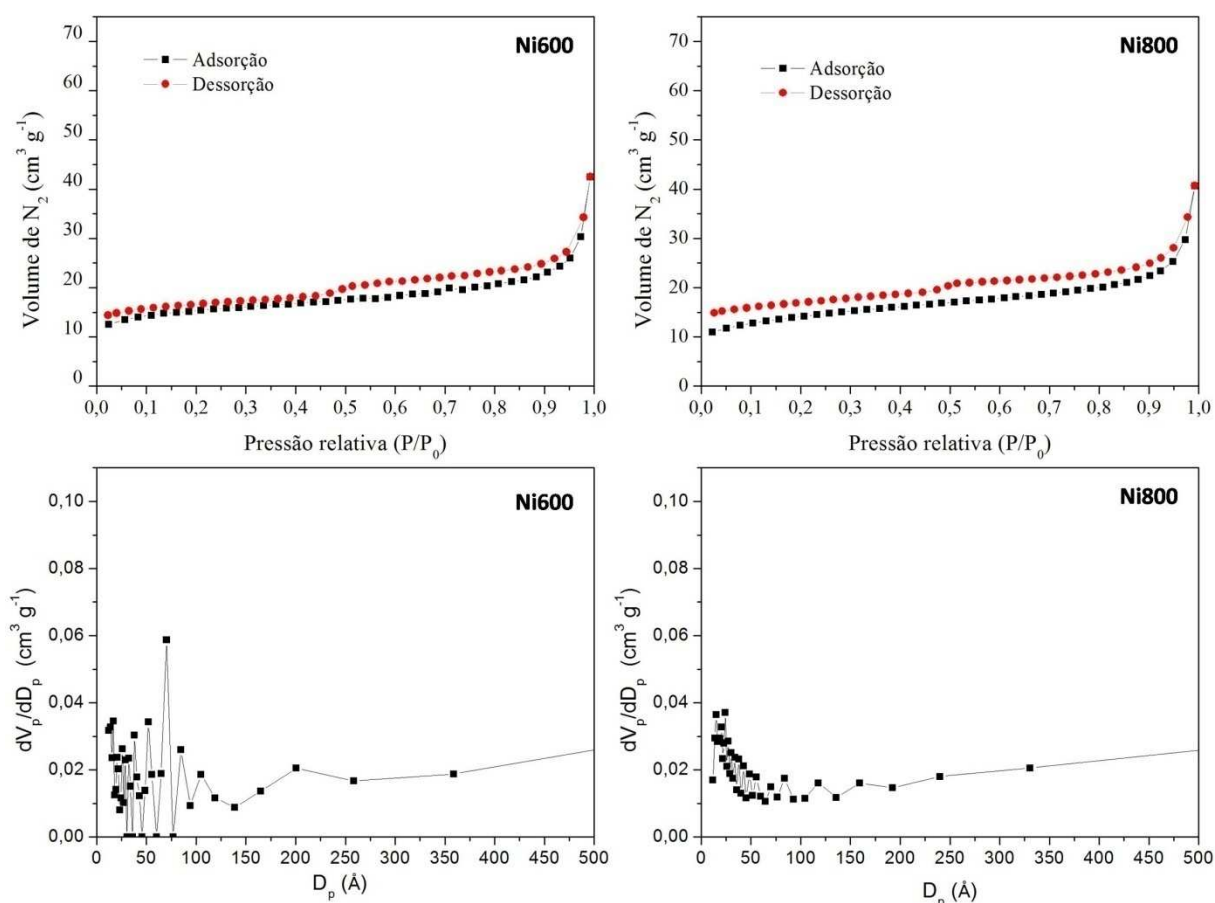


Figura 23. Isotermas de fisissorção de N_2 e distribuição do tamanho de poros das amostras Ni600 e Ni800.

As isotermas mostradas na Fig. 23, dos compósitos sintetizados com níquel, são do Tipo IV, assim como as isotermas dos compósitos de cobalto. A diferença é que, nas amostras Ni600 e Ni800 o fenômeno de histerese é menos acentuado e similar para as duas amostras. Além disso, a curva de dessorção está visivelmente

acima da dessorção, tendo diferença ainda mais acentuada na amostra Ni800. Isso pode ser atribuído à grande heterogeneidade observada na distribuição do tamanho de poros. As histereses observadas nas amostras Co600, Ni600 e Ni800 são típicas de poros do tipo fenda (TEIXEIRA *et al.*, 2001).

Nas amostras à base de níquel não foi observada diferença expressiva entre a distribuição dos poros das amostras Ni600 e Ni800, assim como não houve discrepância nas curvas de dessorção das mesmas. Pode-se sugerir, então, que com a homogeneidade no volume e diâmetro de poros o fenômeno de histerese foi bastante amenizado.

6.2 Funcionalização dos compósitos Co800

6.2.1 Difração de raios X

A Fig. 24 mostra o resultado da difração de raios X sobre a amostra à base de cobalto recoberta com ácido acrílico (Co800AA).

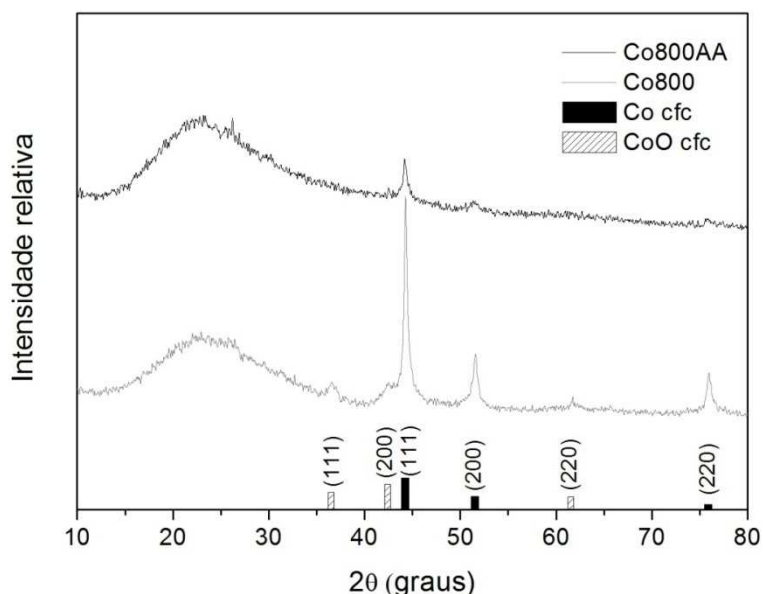


Figura 24. Difratograma de raios X das amostras Co800 e Co800AA.

No difratograma acima, pode-se identificar a diminuição dos picos referentes aos planos cristalinos de cobalto. Isso provavelmente está ligado ao fato de que, como no recobrimento com ácido acrílico não foi controlada a quantidade de ácido preso à superfície dos compósitos, a quantidade matéria orgânica presente no

material funcionalizado é bastante alta. Isso faz com que a banda característica de matéria orgânica seja destacada frente à intensidade dos picos dos cristais presentes.

No difratograma da amostra Co800 os picos intensos de Co e, menos intensos, de CoO estão presentes. Já na amostra Co800AA os picos de óxido desapareceram e somente o pico de máxima difração do cobalto metálico é bastante perceptível. Isso evidencia que o procedimento realizado com ácido acrílico de fato recobriu a superfície do compósito, inclusive impedindo que o difratômetro detectasse de forma mais expressiva a presença do cobalto metálico, presente no núcleo do material.

6.2.2 Microscopia eletrônica de varredura

A Fig. 25 traz imagens de MEV dos compósitos recobertos com ácido acrílico.

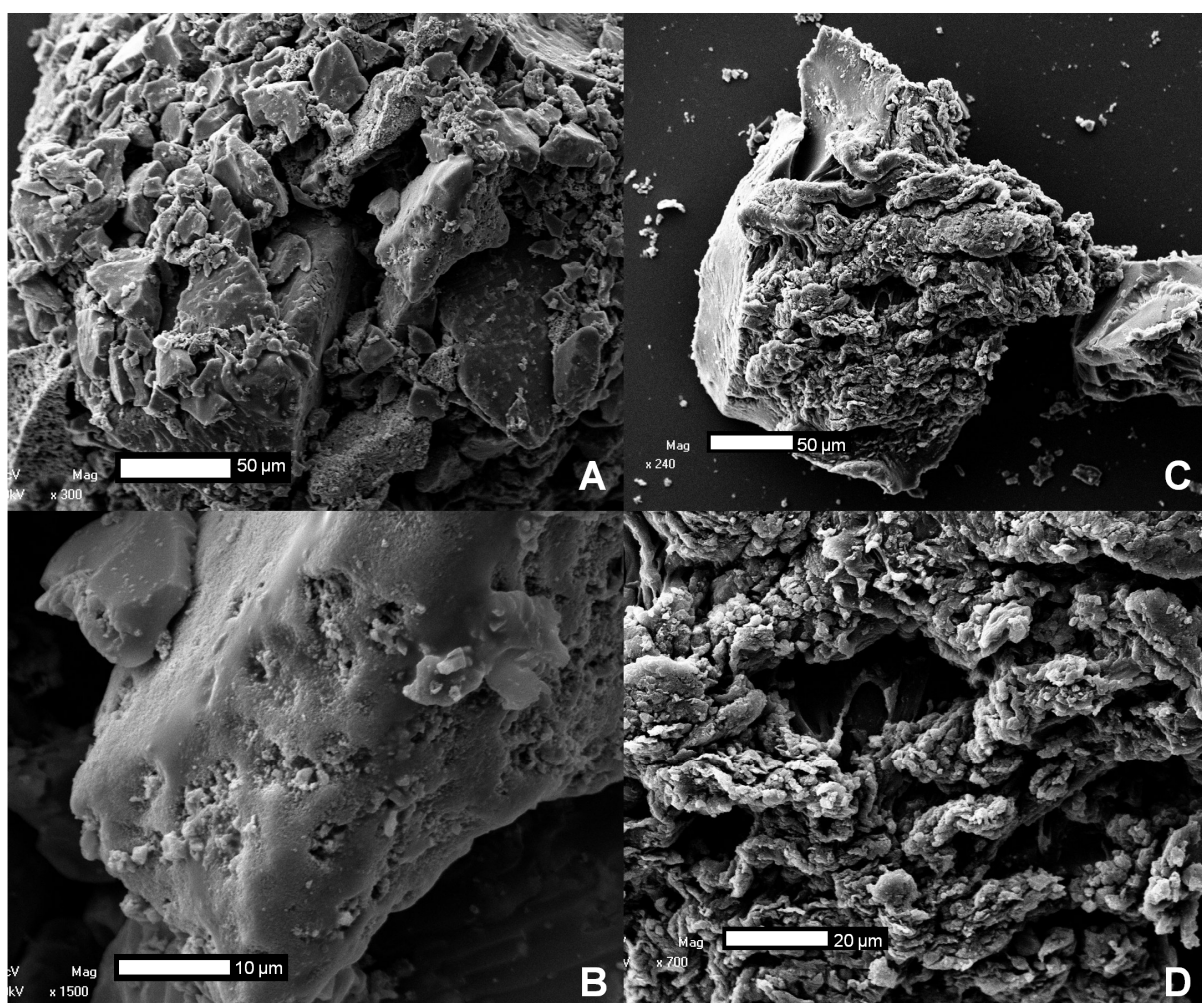


Figura 25. Imagens de MEV das amostras Co800 (A e B) e co800AA (C e D).

Comparando-se as imagens mostradas na Fig. 25 pode-se comprovar que a funcionalização com ácido acrílico modificou eficientemente a superfície das nanopartículas. Os nanocompósitos não-funcionalizados, micrografias A e B, apresentam superfície porosa, porém com característica alisada. Já nas micrografias C e D, nanocompósitos funcionalizados, pode-se ver a superfície rugosa, inclusive levemente fibrosa, típica de polímeros e materiais orgânicos. Não é apresentada regularidade na rugosidade das fibras poliméricas, provavelmente, em virtude da porosidade e irregularidade da superfície dos aglomerados do compósito sobre o qual o ácido foi depositado.

6.2.3 Fisissorção de N₂

A área superficial específica do compósito Co800AA foi avaliada pelo método BET, de acordo com a Tab. 6.

Tabela 6. Valores de área superficial, obtidas pelo método BET, das amostras Co800 e Co800AA.

Amostra	Área superficial (m ² g ⁻¹)
Co800	116
Co800AA	2

Comparando-se os dados de área superficial específica, apresentados na Tab. 6, pode-se observar um decréscimo substancial de 116 m²g⁻¹, no compósito puro, para 2 m²g⁻¹, no compósito funcionalizado. Esta grande diferença se deve, possivelmente, ao fato de os poros existentes no compósito originário terem sido obstruídos pelo ácido acrílico, o qual, em virtude da polimerização, não gera poros acessíveis para adsorção/dessorção de N₂.

A Fig. 26 mostra a isoterma de adsorção-dessorção de nitrogênio e a distribuição de tamanho de poros para a amostra Co800AA.

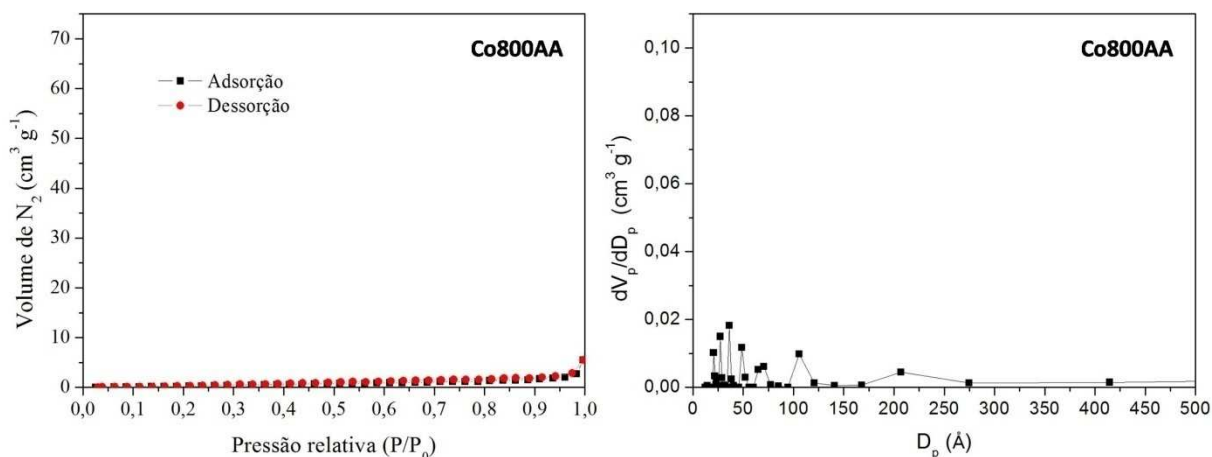


Figura 26. Isotermas de fisissorção de N_2 e distribuição de tamanho de poros (BJH) da amostra Co800AA.

Analisando os resultados da Fig. 26, pode-se perceber que o volume de nitrogênio adsorvido pelo compósito Co800AA é praticamente desprezível. Comparando essa informação com a distribuição de tamanho de poros e com o valor da área superficial específica, observa-se uma quase inexistência de poros. E os poucos poros existentes possuem volume bastante pequeno. Por isso, a pequena quantidade de N_2 adsorvida só foi alcançada em pressões relativas próximas de 1,0.

6.2.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)

A Fig. 27 traz os espectros do compósito Co800 antes e após a funcionalização com ácido acrílico

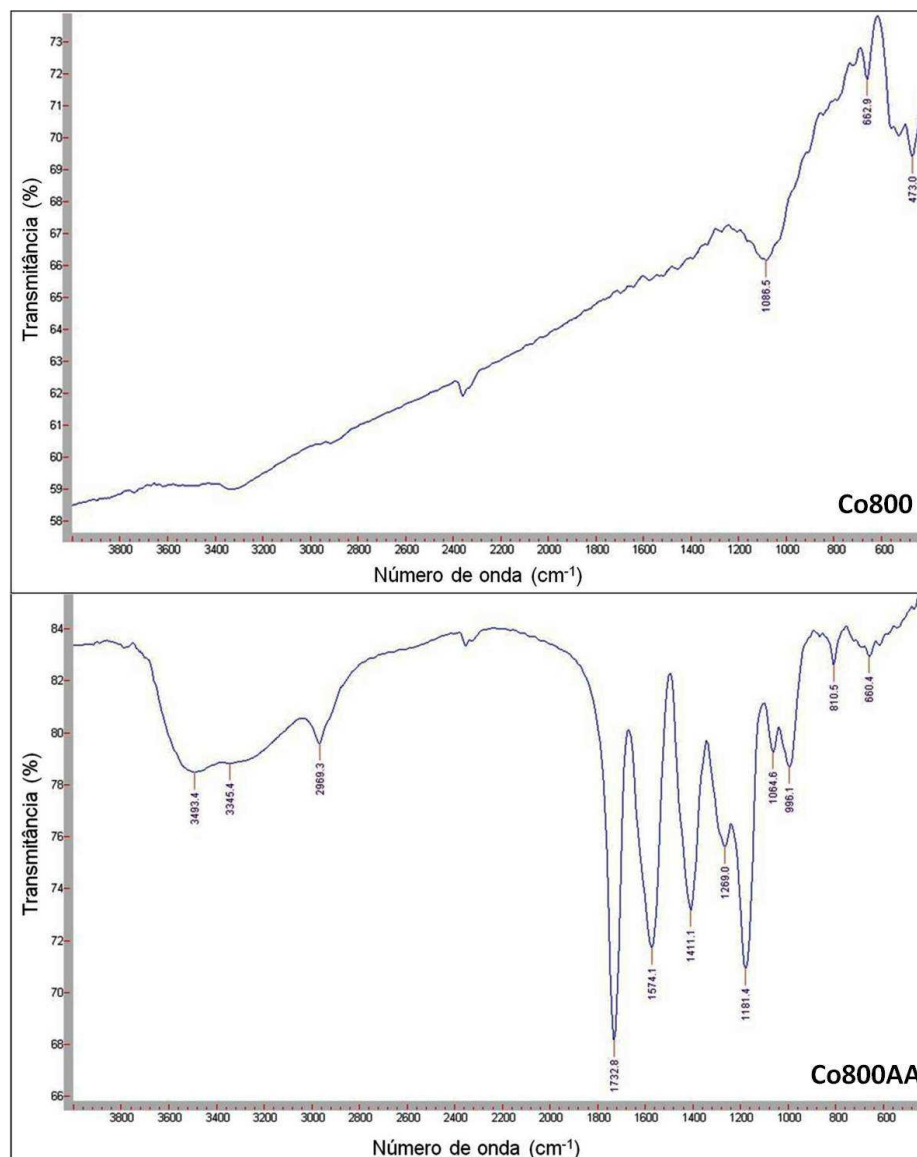


Figura 27. Espectros de FT-IR das amostras Co800 e Co800AA.

No espectro de FT-IR da amostra Co800, Fig. 27, não são observadas bandas de absorção significativas, visto que esta amostra é composta apenas por cobalto metálico e carbono amorfo. Já no espectro da amostra Co800AA, compósito Co800 funcionalizado com ácido acrílico, três bandas de interesse especial foram observadas e estão localizadas em aproximadamente 1733 cm^{-1} , 1411 cm^{-1} e 3493 cm^{-1} . Estas bandas podem ser atribuídas a estiramentos de ligações C=O, C-O e OH, respectivamente (ZHENG *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2009). Esses resultados comprovam a existência de grupos carboxila nos nanocompósitos funcionalizados, mostrando que o objetivo do recobrimento foi alcançado.

6.3 Aplicabilidade como adsorventes de H₂

6.3.1 Redução termoprogramada (TPR)

Nas Fig. 28 e 29 são mostrados perfis de TPR das amostras à base de cobalto e níquel, respectivamente.

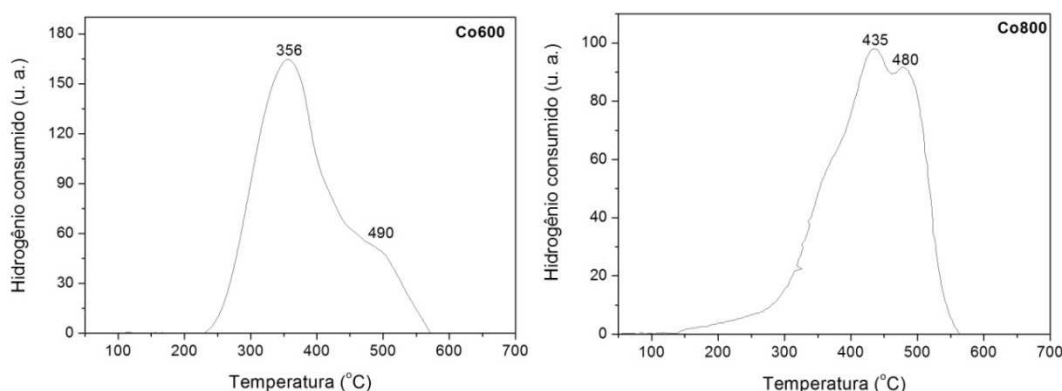


Figura 28. Perfis de TPR das amostras Co600 e Co800.

No perfil de TPR da amostra de cobalto calcinada a 600 °C observa-se um pico intenso, com máximo de redução próximo a 356 °C, seguido de uma saliência em sua base, que pode ser considerada um segundo pico de redução próximo a 490 °C. Já no composto Co800, houve um desdobramento do máximo de redução, o que pode ser ocasionado pela redução de CoO mais exposto na superfície e, posteriormente, do óxido presente no *bulk* do material (TAVASOLI *et al.*, 2008; RODRIGUES; BUENO, 2002).

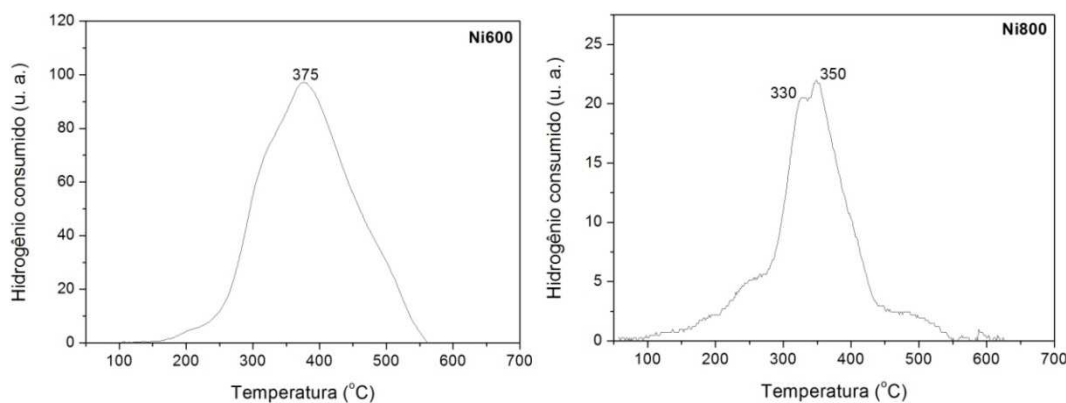


Figura 29. Perfis de TPR das amostras Ni600 e Ni800.

No perfil de TPR da amostra Ni600, Fig. 29, é nítida a existência de um pico alargado, que se estende de aproximadamente 200 °C até 550 °C, com máximo próximo a 375 °C. Este pico é referente à redução de NiO para Ni⁰. Já na amostra Ni800, esse pico se desdobra em dois máximos de redução, a temperaturas um pouco mais brandas, o que pode ser atribuído à maior acessibilidade dos sítios de redução, já que, com a maior temperatura de calcinação, os cristalitos crescem ocupando os “buracos” deixados pelo material orgânico eliminado, mais próximos da superfície do material; isso facilitaria a reação de redução, diminuindo sua temperatura (CARREÑO *et al.*, 2009; RODRIGUEZ *et al.*, 2002).

Traçando um comparativo entre os perfis de TPR das amostras de cobalto e de níquel, percebe-se que, em geral, as amostras de níquel reduzem a temperaturas menores do que as de cobalto. Analisando paralelamente as imagens de MET das mesmas amostras, vê-se que as partículas de níquel se apresentaram mais dispersas na matriz de carbono e, conseqüentemente, em menor quantidade em cada agregado, do que as partículas de cobalto, que se mostraram mais agrupadas em cada agregado. Com isso, pode-se sugerir que a menor temperatura de redução para os compósitos de níquel/carbono seja função da melhor dispersão das partículas, já que as partículas de Co se apresentam também no *bulk*, o que não foi evidenciado de forma tão intensa para o material com níquel (HOLMEMN *et al.*, 2009; NISHIMOTO *et al.*, 2004).

Em ambos os casos, o desdobramento do segundo pico de consumo de H₂ pode ser atribuído à redução de óxidos interagidos mais fortemente com a matriz. Além disso, não se pode descartar a possibilidade de outras espécies de óxidos (CoOx e NiOx), cujas quantidades poderiam estar abaixo do limite de detecção do difratômetro utilizado nas análises de DRX. Isso também pode ocasionar desdobramento dos picos de redução e alargamento das bases dos mesmos.

A fim de verificar qual dos compósitos sintetizados estaria mais propício a adsorver hidrogênio quimicamente, foi realizado um breve estudo acerca da energia de ativação para a reação de redução à temperatura programada de hidrogênio, conforme Tab. 7. Esses valores foram obtidos a partir de três curvas de adsorção, com três taxas de variação de temperatura diferentes, a saber 10, 15 e 20 °C min⁻¹, através de um gráfico de $\ln(B/T^2)$ versus $(1/T)$, onde a inclinação da curva corresponde $(-E_a/R)$, onde R é a constante dos gases ideais (QUANTACHROME INSTRUMENTS, 2006).

Tabela 7. Valores de energia de ativação calculados para as reações de redução à temperatura programada de H₂.

Amostra	Energia de ativação (kJ mol⁻¹)
Co600	185,71
Co800	25,21
Ni600	20,58
Ni800	11,29

Considerando a energia de ativação como a entalpia de reação da redução das espécies redutíveis dos compósitos, podemos identificar a amostra com menor entalpia como a mais adequada para aplicação no processo de quimissorção de hidrogênio (LOWELL *et al.*, 2006), em virtude de sua “economia de energia”. Assim, a amostra Ni800 se mostrou mais aplicável. As partículas de Ni estão mais dispersas na matriz e, em virtude do tratamento térmico em maiores temperaturas, seus cristalitos são maiores, o que pode indicar um material com boa aplicabilidade no processo de adsorção de hidrogênio.

Entretanto, o mesmo material apresentou área superficial bastante baixa se comparada com outros carbonáceos aplicados ao mesmo fim (KOJIMA *et al.*, 2006), em se tratando de fisissorção. Isso poderia ser solucionado pela deposição de carbono na superfície dos compósitos, o que possibilitaria maior homogeneização da forma, bem como o aumento substancial da área superficial dos nanoestruturados.

6.4 Aplicabilidade no processo de separação imunomagnética

6.4.1 Microscopia de imunofluorescência

A Fig. 30 mostra imagens de microscopia de imunofluorescência referentes à aplicação dos compósitos funcionalizados na separação imunomagnética.

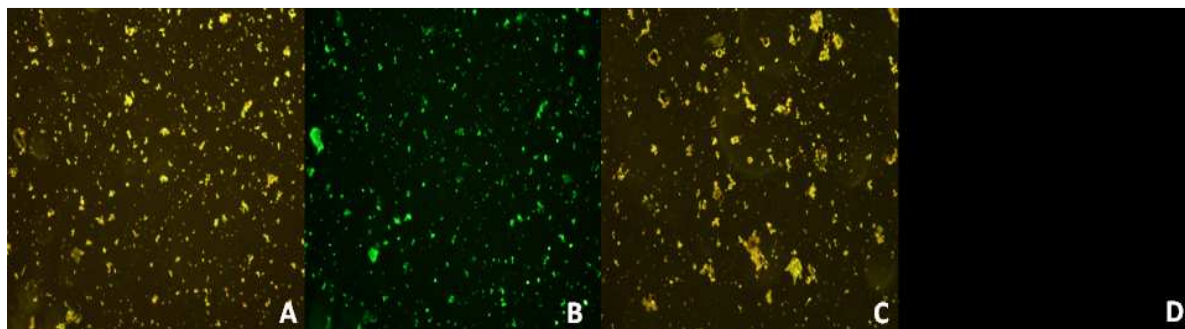


Figura 30. Imagens de microscopia de imunofluorescência com LipL32 recombinante ancorada na superfície dos nanocompósitos. (A) e (C) compósitos em campo escuro; (B) detecção do MAb 1D9 ligado à LipL32 na superfície dos compósitos; (D) controle negativo apresentado ausência de fluorescência.

A ligação covalente do anticorpo monoclonal MAb 1D9 e das proteínas recombinantes na superfície recoberta dos nanocompósitos magnéticos foi de fato realizada, sendo comprovada pela visualização dos compósitos fluorescentes. Para representar o padrão de fluorescência obtido nos ensaios foi utilizada a detecção do MAb 1D9 ligado à proteína LipL32, esta cobrindo a superfície dos compósitos, através dos anticorpos de cabra anti camundongo conjugados com isotiocianato de fluoresceína (FITC), agente cromógeno, Fig. 30. Na mesma figura é representada a ausência de fluorescência dos nanocompósitos usando o PAb anti R1 como controle negativo, anticorpo policlonal produzido contra outra proteína. O sistema utilizado para a imobilização das biomoléculas à superfície dos compósitos comprovou a capacidade de ligação do material e a especificidade dos métodos empregados, já que foi possível detectar o MAb 1D9 ancorado diretamente às proteínas recombinantes na superfície dos compósitos magnéticos. Além disso, o tratamento utilizado para a esterilização do material não comprometeu o processo de funcionalização dos mesmos compósitos.

6.4.2 Sistema de separação celular

Constatada a capacidade de ancoramento das biomoléculas aos compósitos recobertos com ácido acrílico, foi realizado um ensaio de separação celular magnética utilizando leptospiros vivas e intactas. Após a separação celular utilizando o complexo nanocompósito-MAb 1D9, as leptospiros capturadas foram capazes de se multiplicar em meio EMJH; o cultivo bacteriano alcançou uma concentração aproximada de 10^4 leptospiros por mL. Durante o cultivo não foi verificada a

presença de contaminantes. Esses resultados demonstram a eficiência de esterilização do material e a capacidade de multiplicação da bactéria mesmo com o MAb 1D9 ancorado na membrana externa da leptospira.

7 Conclusões

O método dos precursores poliméricos se mostrou eficiente para a síntese dos nanocompósitos de níquel e cobalto dispersos numa matriz de carbono, em etapa única e com baixo custo. Devido à atmosfera inerte utilizada na calcinação proporcionou que grande parte da porção orgânica do material fosse mantida, mas apenas na forma de carbono amorfo, como observado nas análises de DRX.

As técnicas de caracterização permitiram uma avaliação geral dos materiais sintetizados. Com isso observou-se que a área superficial dos compósitos não se mostrou tão grande como em outros materiais à base de carbono, como os carbonos ativados ou nanotubos de carbono. Através das técnicas de microscopia, foram confirmadas a razoável porosidade do material e a existência dos planos cristalinos, já observados pela difração de raios X.

As duas temperaturas utilizadas no tratamento térmico das amostras, 600 e 800 °C, proporcionaram a formação de cristais em ambas as amostras, porém a 800 °C a cristalinidade observada foi muito mais intensa, especialmente nas amostras à base de Co. Isso gerou maior efeito ferromagnético dos compósitos, visualizado pela atração de pequenos magnetos. Também ocorreu aumento do tamanho dos cristalitos, em função do fenômeno de coalescência das partículas.

Avaliando-se os resultados obtidos em função de área superficial, distribuição de tamanho de poros e redução termoprogramada e comparando-os com dados da literatura, relativos a outros materiais à base de carbono, estudados para encapsulamento de hidrogênio, os compósitos sintetizados neste trabalho, na forma em que foram concebidos, não apresentaram as propriedades ideais para encapsular hidrogênio. Entretanto, podem ser feitos alguns tratamentos posteriores para melhorar algumas características e aumentar seu potencial de aplicação no processo de encapsulamento de hidrogênio.

Os compósitos à base de cobalto tratados a 800 °C foram efetivamente funcionalizados com ácido acrílico, como observado nas imagens de microscopia eletrônica de varredura e nos espectros de infravermelho. Isso possibilitou que, através dos grupos carboxila disponíveis na superfície dos compósitos, estes se ligassem aos anticorpos e às proteínas recombinantes.

Nos testes de aplicação no processo de separação imunomagnética, foram

isoladas leptospiros vivas e intactas, as quais foram recultivadas e chegaram a se reproduzir a 10^4 bactérias por mililitro. Esse resultado comprovou a eficiência dos nanocompósitos para aplicação em processos de separação imunomagnética.

8 Sugestões para trabalhos futuros

- Continuar o estudo dos materiais sintetizados neste trabalho, realizando medidas de adsorção física de H_2 , decomposição de carbono, medidas de propriedades magnéticas, dentre outras;
- Propor novos materiais similares com propriedades otimizadas para aplicação nos processos estudados neste trabalho;
- Desenvolver novos tipos de funcionalização para aplicações biológicas e ambientais, especialmente para os compósitos magnéticos;
- Aperfeiçoar a síntese dos nanomateriais, de forma a modelar sua estrutura, a fim de proporcionar maior eficiência nos processos de separação imunomagnética e encapsulamento de hidrogênio.

9 Referências

- AIROLDI, C.; FARIAS, R. F. Alcóxidos como precursores na síntese de novos materiais através do processo sol-gel. **Química Nova**, v.27, n.1, p.84-88, 2004.
- ASKELAND, D. R.; PHULÉ, P. P. **Ciência e Engenharia dos Materiais**. São Paulo: Cengage Learning, 2008. 525-528p.
- ATKINS, P.; PAULA, J. de. **Físico-Química**. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 330-334p.
- BAKKER, H.; ZHOU, G. F.; YANG, H. Mechanically driven disorder and phase transformations in alloys. **Progress in Materials Science**, v.39, n.3, p.159-241, 1995.
- BARRETT, E. P.; JOYNER, L. C.; HALENDA, P. P. The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms. **Journal of American Chemical Society**, v.73, n.1, p.373-380, 1951.
- BATSON, P. E.; DELLBY, N.; KRIVANEK, O. L. Sub-ångstrom resolution using aberration corrected electron optics. **Nature**, v.418, n.6898, p.617-620, 2002.
- BÉNARD, P.; CHANINE, R. Storage of hydrogen by physisorption on carbon and nanostructured materials. **Scripta Materialia**, v.56, n.10, p.803-808, 2007.
- BENHAM, M. J.; ROSS, D. K. Experimental-determination of adsorption-desorption isotherms by computer-controlled gravimetric analysis. **Zeitschrift für physikalische chemie**, v.163, p.25-32, 1989.
- BRINKER, C. J.; SCHERER, G. W. **Sol Gel Science: The physics and chemistry of sol-gel processing**. San Diego: Academic press, 1993.
- BURWELL, R. L.; TAYLOR, H. S. The Activated Adsorption of Hydrogen and Carbon Monoxide on Zinc Oxide. The Effect of Water Vapor. **Journal of American Chemical Society**, v.58, n.9, p.1753-1755, 1936.
- CAO, B.; LIU, Q. L.; ZHANG, D. Synthesis and Characterization of Porous Carbon/Fe Nanocomposite. **Journal of Inorganic Materials**, v.25, n.5, p.457-462, 2010.
- CARREÑO, N. L. V.; GARCIA, I. T. S.; LEITE, E. R.; LONGO, E.; LUCENA, P. E.; CARREÑO, L. S. S. M., BARRETO, L. S.; SANTOS, R. C. F. A. Catalyst nanocomposites templates of carbon nanoribbons, nanospheres and nanotubes **Materials Letters**, v.61, n.16, p.3341-3344, 2007.
- CARREÑO, N. L. V.; GARCIA, I. T. S.; RAUBACH, C. W.; KROLOW, M.; SANTOS, C. C. G.; PROBST, L. F. D.; FAJARDO, H. V. Nickel-carbon nanocomposites prepares using castor oil as precursor: A novel catalyst for ethanol steam reforming. **Journal of Power Sources**, v.188, n.2, p.527-531, 2009.
- CHANG, Y. H.; CHIU, H. T.; WANG, L. S.; WANG, C. Y.; PENG, C. W.; LEE, C. Y. Synthesis of sp(2) carbon nano- and microrods with novel structure and morphology. **Journal of Materials Chemistry**, v.13, n.5, p.981-982, 2003.
- CHOI, J. H.; PARK, J. H.; MOON, J. S.; NAM, J. W.; YOO, J. B.; PARK, C. Y.; PARK, J. H.; LEE, C. G.; CHOE, D. H. Fabrication of carbon nanotube emitter on the flexible substrate. **Diamond & Related Materials**, v. 15, n.1, p.44-48, 2006.
- DAS, M.; MISHRA, D.; DHAK, P.; GUPTA, S.; MAITI, T.K.; BASAK, A.; PRAMANIK, P. Biofunctionalized, Phosphonate-Grafted, Ultrasmall Iron Oxide Nanoparticles for Combined Targeted Cancer Therapy and Multimodal Imaging. **Small**, v.5, n.24, p.2883-2893, 2009.
- DEMIRBAS, A. Hydrogen and boron as recent alternative motor fuels. **Energy Sources**, v.27, n.18, p.741-748, 2005.

DILLON, A. C.; JONES, K. M.; BEKKENDAHL, T. A.; KIANG, C. H.; BETHUNE, D. S.; HEBEN, M. J. Storage of hydrogen in singlewalled carbon nanotubes. **Nature**, v.386, p.377-379, 1997.

DRESSELHAUS, M. S.; WILLIAMS, K. A.; *et al.* Hydrogen absorption in carbon materials. **MRS Bulletin**, v.24, n.11, p.45-50, 1999.

DUBOIS, P.; ALEXANDRE, M. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v. 28, n.1-2, p.1-63, 2000.

EVERETT, D.H. **Pure and Applied Chemistry**. v.31, n.4, p.579-638, 1972.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis**, 2.ed. Melbourne: Edna MedSci. p. 272, 1999.

FAN, Y.-; LIAO, B.; LIU, M.; WEI, Y.-; LU, M.-. CHENG, H-. Hydrogen uptake in vapor-grown carbon nanofibers. **Carbon**, v.37, n.10, p.1649-1652, 1999.

FDA. **Bacteriological Analytical Manual**, 8.ed., Arlington: AOAC. 1992.

FERNANDES, C.H.; SEIXAS, F.K.; COUTINHO, M.L.; VASCONCELLOS, F.A.; MOREIRA, A.N.; CONCEIÇÃO, F.R.; DELLAGOSTIN, O.A.; ALEIXO, J.A. An immunomagnetic separation-PCR method for detection of pathogenic *Leptospira* in biological fluids. **Hybridoma**, v. 27, p. 381-386, 2008.

FLEWITT, P. E. J.; WILD, R. K. **Microstructural characterisation of metals and alloys**. London: The Institute of Metals, 1986.

FONSECA, F. C.; GOYA, G. F.; JARDIM, R. F.; MUCCILLO, R.; CARREÑO, N. L. V.; LEITE, E. R.; LONGO, E. Superparamagnetism and magnetic properties of Ni nanoparticles embedded in SiO₂. **Physical Review B**, v.66, n.10, p.10440, 2002.

FRÉJAVILLE, J. P.; KAMOUN, P. **Manual de exames de laboratório**. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 1989. 98p.

FRIEDLMEIER, G.; SCHAAF, M; *et al.*. How to measure pressure-concentration-isotherms representative for technical applications. **Zeitschrift Für Physikalische chemie**, v.183, p.185-195. 1994.

FULTZ, B.; HOWE, J. M. **Transmission Electron Microscopy and Diffractometry of Materials**. 2.ed. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 2002. 1-12p, 424-426p.

GAO, J.; GU, H.; XU, B. Multifunctional Magnetic Nanoparticles: Design, Synthesis, and Biomedical Applications. **Accounts of Chemical Research**, v.42, n.8, p.1097-1107, 2009.

GARNWEITNER, G.; NIEDERBERGER, M. **Journal of the American Ceramic Society**, v.89, n.6, p.1801-1808, 2006

GLEITER, H. Nanostructured materials: State of the art and perspectives. **Nanostructured Materials**, vol.6, p.03-14, 1995.

GLEITER, H.; MARQUADT, P. Nanocrystalline structures – An approach to new materials. **Zeitschrift Für Metallkunde**, v.75, n.4, p.263-267, 1984.

GOLDSTEIN, J. I. *et al.*. **Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis**: A textbook for Biologist, Materials Scientists and Geologists. New York: Plenum Press, 1992.

GRAY, K. M.; BHUNIA, A. K. Specific detection of cytopathogenic *Listeria monocytogenes* using a two-step method of immunoseparation and cytotoxicity analysis. **Journal of Microbiological Methods**, v.60, p.259-268, 2005.

GREGG, S. J.; SING, K. S. W. **Adsorption, Surface Area and Porosity**. London: Academic Press, 1982; p 41.

- GUO, S.; LI, D.; ZHANG, L.; LI, J. WANG, E. Monodisperse mesoporous superparamagnetic single-crystal magnetite nanoparticles for drug delivery. **Biomaterials**, v.30, n.10, p.1881-1889, 2009.
- HENCH, L. L.; WEST, J. K. The sol-gel process. **Chemical Reviews**, v.90, n.1, p.33-72, 1990.
- HOCHULI, E.; DÖBELI, H.; SCHACHER, A. **Journal of Chromatography**, v.411, p.177-184, 1987.
- HOLMEN, A.; ENGER, B. C.; LØDENG, R. Modified cobalt catalysts in the partial oxidation of methane at moderate temperatures. **Journal of Catalysis**, v.262, n.2, p.188-198, 2009.
- HU, J.; BANDO, Y.; ZHAN, J.; ZHI, C.; GOLDBERG, D. **Nano Letters**, v.6, n.6, p.1136-1140, 2006.
- ILER, R. K. **The chemistry of silica**: solubility, polymerization, colloid and surface properties, and biochemistry. New York: John Wiley & Sons, 1979.
- KIM, J.; PIAO, Y.; LEE, N.; PARK, Y. I.; LEE, I.; LEE, J.; PAIK, S. R.; HYEON, T. Magnetic Nanocomposite Spheres Decorated with NiO Nanoparticles for a Magnetically Recyclable Protein Separation System. **Advanced Materials**, v.21, n.1, p.1-4, 2009.
- KOJIMA, Y.; KAWAI, Y.; KOIWAI, A.; SUZUKI, N.; HAGA, T.; HIOKI, T.; TANGE, K. Hydrogen adsorption and desorption by carbon materials. **Journal of Alloys and Compounds**, v.421, n.1-2, p.204-208, 2006.
- LEE, C. G.; CHOE, D. H.; PARK, J. H.; PARK, C. Y.; YOO, J. B.; NAM, J. W.; MOON, J. S.; PARK, J. H.; CHOI, J. H. Fabrication of carbon nanotube emitter on the flexible substrate. **Diamond and Related Materials**, v.15, n.1, p. 44-48, 2006.
- LEE, E. J. H.; RIBEIRO, C.; LONGO, E.; LEITE, E. R. Growth kinetics of tin oxide nanocrystals in colloidal suspensions under hydrothermal conditions. **Chemical Physics**, v.328, n.1-3, p.229-235, 2006a.
- LEE, E. J. H.; RIBEIRO, C.; LONGO, E.; LEITE, E. R. Oriented attachment: An effective mechanism in the formation of anisotropic nanocrystals. **The Journal of Physical Chemistry B**, v.109, n.44, p. 20842-20846, 2005.
- LEE, E. S. M.; SHUTERA, B.; CHAN, J.; CHONG, M. S. K.; DING, J.; TEOH, S.; BEUFG, O.; BRIGUET, A.; TAM, K. C.; CHOOLANI, M.; WANG, S. The use of microgel iron oxide nanoparticles in studies of magnetic resonance relaxation and endothelial progenitor cell labeling. **Biomaterials**, v.31, n.12, p.3296-3306, 2010.
- LEE, J. D. **Química Inorgânica não tão concisa**. 5.ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda., 1996. 397-413p.
- LEE, J. W.; KIM, H. S.; LEE, J. Y.; KANG, J. K. Hydrogen storage and desorption properties of Ni-dispersed carbon nanotubes **Applied Physics Letters**, v.88, n.14, p.143126, 2006b.
- LEITE, E. R.; LONGO, LONGO, E.; ESCOTE, M. T.; GOUVEIA, P. S.; CARREÑO, N. L. V.; FONSECA, F. C.; JARDIM, R. F. Síntese e caracterização de nanocompósitos Ni:SiO₂ processados na forma de filmes finos. **Química Nova**, v.28, n.5, p.842-846, 2005.
- LIÉBANA, S.; LERMO, A.; CAMPOY, S.; BARBÉ, J.; ALEGRET, S.; PIVIDORI, M.I. Magneto Immunoseparation of Pathogenic Bacteria and Electrochemical Magneto Genosensing of the Double-Tagged Amplicon. **Analytical Chemistry**, v.8, p.5812-5820, 2009.
- LIFSHITZ, I. M.; SLYOZOV, V. V. The kinetics of precipitation from supersaturated solid solutions. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v.19, n.1-2, p.35-50, 1961.
- LIN, K.; TSAI, W.; CHANG, J. Decorating carbon nanotubes with Ni particles using an electroless deposition technique for hydrogen storage applications. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.35, n.14, p.7555-7562, 2010.
- LIU, X.; HU, Q.; FANG, Z.; WU, Q.; XIE, Q. Carboxyl Enriched Monodisperse Porous Fe₃O₄ Nanoparticles with Extraordinary Sustained-Release Property. **Langmuir**, v.25, n.13, p.7244-7248,

2009.

LOWELL, S.; SHIELDS, J. E.; THOMAS, M. A.; THOMMES, M. **Characterization of Porous Solids and Powders: Surface Area, Pore Size and Density**. Dordrecht: Springer, 2006.

MADDOX, M. W.; GUBBINS, K. E. Molecular simulation of fluid adsorption in buckytubes. **Langmuir**, v.11, n.10, p.3988-3996, 1995.

MADDOX, M. W.; SOWERS, S. L. *et al.* Molecular simulation of binary mixture adsorption in buckytubes and MCM-41. **Adsorption - Journal of the International Society**, v.2, n.1, p.23-32. 1996.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Brock of Microorganisms**. 9.ed. Rio de Janeiro: Prentice-Hall do Brasil, 2000. 872p.

MANNHEIMER, W. A. **Microscopia dos Materiais – Uma introdução**. Rio de Janeiro: E-papers, 2002. II.21-22, V.2-5, VII.1-6.

MARIOLAKOS, I.; *et al.* Water, mythology and environmental education. **Desalination**, v.213, n.1-3, p.141-146, 2007.

MARTI, O.; BINNIG, G.; ROHRER, H.; SALEMINK, H. Low-temperature scanning tunneling microscope. **Surface Science**, v.181, n.1-2, p.230-234, 1987.

MARTORANA, B.; CAROTENUTO, G.; PULLINI, D.; ZVEZDIN, K.; LA PERUTA, G.; PERLO, P.; NICOLAIS, L. Preparation of plastic ferromagnetic composite materials for magnetic encoders. **Sensors and Actuators A - Physical**, v.129, n.1-2, p.176-179, 2006.

McNAUGHT, A. D.; WILKINSON, A. **Compendium of Chemical Terminology: The Gold Book**. 2.ed. IUPAC, 1997.

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles – A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v.5, n.1, 561-573, 2006.

MOHAPATRA, S.; PRAMANIK, P. Synthesis and stability of functionalized iron oxide nanoparticles using organophosphorus coupling agents. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.339, n.1-3, p.35-42, 2009.

MOMMER, N.; HIRSCHER, M.; CUEVAS, F.; KRONMULLER, H. Influence of the microstructure on the desorption kinetics of single- and multiphase LaNiFe alloys. **Journal of Alloys and Compounds**, v.266, n.1-2, p.255-259, 1998.

MOREIRA, Â. N.; CONCEIÇÃO, F. R.; CONCEIÇÃO, R. C. S.; RAMOS, R.J.; CARVALHAL, J.B.; DDELAGOSTIN, O.A.; ALEIXO, J.A.G. Detection of *Salmonella typhimurium* in raw meats using inhouse prepared monoclonal antibody coated-magnetic beads and PCR assay of the fimA gene. **Journal of Immunoassay & Immunochemistry**, v. 29, n.1, p.58-69, 2008.

MOURÃO, H. A. J. L.; MALAGUTTI, A. R.; RIBEIRO, C. Synthesis of TiO₂-coated CoFe₂O₄ photocatalysts applied to the photodegradation of atrazine and rhodamine B in water. **Applied Catalysis A: General**, v.382, n.2, p.284-292, 2010.

NIEDERBERGER, M. Nonaqueous sol-gel routes to metal oxide nanoparticles. **Accounts of Chemical Research**, v.40, n.9, p.793-800, 2007.

NIEDERBERGER, M.; GARNWEITNER, G. Organic reaction pathways in the nonaqueous synthesis of metal oxide nanoparticles. **Chemistry – A European Journal**, v.12, n.28, p.7283-7302, 2006.

NIEDERBERGER, M.; GARNWEITNER, G.; PINNA, N.; NERI, G. Non-aqueous routes to crystalline metal oxide nanoparticles: Formation mechanisms and applications. **Progress in Solid State Chemistry**, v.33, n.2-4, p.59-70, 2005.

NISHIMOTO, H.; NAKAGAWA, K.; IKENAGA, N.; NISHITANI-GAMO, M.; ANDO, T.; SUZUKI, T. Partial oxidation of methane to synthesis gas over oxidized diamond catalysts. **Applied Catalysis A:**

General, v.264, n.1, p.65-72, 2004.

OLSVIK, O.; POPOVIC, T.; SKJERVE, E.; CUDJOE, K. S.; HORNES, E.; UGELSTAD, J.; UHLEN, M. Magnetic separation techniques in diagnostic microbiology. **Clinical Microbiology Reviews**, v.7, n.1 p.43-54, 1994.

OSKAM, G.; HU, Z. S.; PENN, R. L.; PESIKA, N.; SEARSON, P. C. Coarsening of metal oxide nanoparticles. **Physical Review E**, v.66, n.1, 011403, 2002.

PARIS, E. C. **Estudo de pós cerâmicos de PbTiO₃ utilizando-se o método dos precursores poliméricos, Brasil**. 2000. 88p. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.

PECHINI, M. P. U.S.Pat. 3.330.697, 1967.

PENN, R. L.; BANFIELD, J. F. Imperfect oriented attachment: Dislocation generation in defect-free nanocrystals. **Science**, v.281, n.5379, p.969-971, 1998.

PENN, R. L.; BANFIELD, J. F. Morphology development and crystal growth in nanocrystalline aggregates under hydrothermal conditions: Insights from titania. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.63, n.10, p.1549-1557, 1999.

POLA, J.; URBANOVÁ, M.; POKORNÁ, D.; ŠUBRT, J.; BAKARDJIEVA, S.; BEZDIČKA, P.; BASTL, Z. IR laser-induced formation of amorphous Co-C films with crystalline Co, Co₂C and Co₃C nanograins in a graphitic shell. **Journal of Photochemistry and Photobiology A – Chemistry**, v.210, n.2-3, p.153-161, 2010.

PONCHARAL, P.; WANG, Z. L.; UGARTE, D.; de HEER, W. A. **Science**, v.283, n.5407, p.1513-1516, 1999.

QUANTACHROME INSTRUMENTS. **Chembet-3000 operation manual**. Florida: Quantachrome Corporate, p. 14-76, 2006.

REIMER, L. **Transmission Electron Microscopy**. 54.ed. Berlin: Springer Verlag, 1997.

RIBEIRO, C.; LEE, E. J. H.; LONGO, E.; LEITE, E. R. A kinetic model to describe nanocrystal growth by the oriented attachment mechanism. **ChemPhysChem**, v.6, n.4, p.690-696, 2005.

RIBEIRO, C.; LEE, E. J. H.; LONGO, E.; LEITE, E. R. Oriented attachment mechanism in anisotropic nanocrystals: A "polymerization" approach. **ChemPhysChem**, v.7, n.3, p.664-670, 2006.

RIBEIRO, C.; MOURÃO, H. A. J. L.; MENDONÇA, V. R.; MALAGUTTI, A. R. Nanostructures in photocatalysis: A review about synthesis strategies of photocatalysts in nanometric size. **Química Nova**, v.32, n.8, p.2181-2190, 2009.

RODRIGUES, E. L.; BUENO, J. M. C. Co/SiO₂ catalysts for selective hydrogenation of crotonaldehyde II: influence of the CO surface structure on selectivity. **Applied Catalysis A: General**, v.232, n.1-2, p.147-158, 2002.

RODRIGUEZ, J. A.; HANSON, J. C.; FRENKEL, A. I.; KIM, H. Y.; PEREZ, M. Experimental and theoretical studies on the reaction of H₂ with NiO: Role of O vacancies and mechanism for oxide reduction. **Journal of the American Chemical Society**, v.124, n.2, p.346-354, 2002.

SHACKELFORD, J. F. **Ciência dos Materiais**. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2008. 47-48p, 317-319, 493p.

SHAKYA, B. D.; AYE, L.; MUSGRAVE, P. Technical feasibility and financial analysis of hybrid windphotovoltaic system with hydrogen storage for Cooma. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.30, n.1, p.9-20, 2005.

SHARMA, A.; NAKAGAWA, H.; MIURA, K. A method to prepare a cobalt-carbon composite as a potential magnetic carrier for a drug delivery system. **Carbon**, v.44, n.10, p.2089-2091.

- SHIMADZU DO BRASIL. Disponível em: <http://www.shimadzu.com.br/analitica/produtos/espectrometros/raios-x/eds/funciona.aspx> Acesso em: set. 2010.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Istrumental**. Porto Alegre: Bookman, 2002. 118-119, 131, 343p.
- STROBEL, R.; JORISSEN, L.; Schliermann, T.; Trapp, V.; Schutz, W.; Bohmhammel, K.; Wolf, G.; Garche, J. Hydrogen adsorption on carbon materials. **Journal of Power Sources**, v.84, n.2, p.221-224, 1999.
- SU, F.; BRAY, C. L.; CARTER, B. O.; OVEREND, G.; CROPPER, C.; IGGO, J. A.; KHIMYAK, Y. Z.; FOGG, A. M.; COOPER, A. I. Reversible hydrogen storage in hydrogel clathrate hydrates. **Advanced Materials**, v.21, p.2382-2386, 2009.
- ŠULEK, F.; DROFENIK, M.; HABULIN, M.; KNEZ, Ž. Surface functionalization of silica-coated magnetic nanoparticles for covalent attachment of cholesterol oxidase. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v.322, n.2, p.179-185, 2010.
- SUNDARARAMAN, D. Nanocrystalline state and solid state amorphization. **Materials Science and Engineering B**, v.32, p.307-313, 1995.
- SVOBODA, J.; FUJITA, T. Recent developments in magnetic methods of material separation. **Minerals Engineering**, v.16, p.785, 2003.
- TAN, H.; XUE, J. M.; SHUTER, B.; LI, X.; WANG, J. Synthesis of PEOlated $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ Nanoparticles via Bioinspired Silification for Magnetic Resonance Imaging. **Advanced Functional Materials**, v.20, p.722, 2010.
- TAVASOLI, A.; SADAGIANI, K.; KHORASHE, F.; SEIKFORDI, A. A.; ROHANI, A. A.; NAKHAEIPOUR, A. Cobalt supported on carbon nanotubes – A promising novel Fischer-Tropsch synthesis catalyst. **Fuel Processing Technology**, v.89, p.491, 2008.
- TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S. Principais métodos de caracterização de porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**, vol. 24, n. 6, p.808-818, 2001.
- TIBBETTS G. **Proceedings of the 10th Canadian Hydrogen Conference**, Quebec, 28-31 May, Canadian Hydrogen Association, 2000.
- VALENTIN, A.; CARREÑO, N. L. V.; PROBST, L. F. D.; BARISON, A.; FERREIRA, A. G.; LEITE, E. R.; LONGO, E. Ni:CeO₂ nanocomposite catalysts prepared by polymeric precursor method. **Applied Catalysis A: General**, v.310, p.174-182, 2006.
- WAGNER, C. Z. **Zeitschrift Für Elektrochemie**, v.65, p.581, 1961.
- WEBB, P. A.; ORR, C. **Analytical Methods in Fine Particle Technology**. Norcross: Micrometrics Instruments Corp., 1997; p. 5.
- WILLIAMS, D. B.; CARTER, C. B. **Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science**. New York: Plenum Press, 1996.
- XIAO, X.; CHEN, L.; WANG, X.; WANG, Q.; CHEN, C. The hydrogen storage properties and microstructure of Ti-doped sodium aluminum hydride prepared by ball-milling. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.32, p.2475-2479, 2007.
- XU, C. J.; XU, K. M.; GU, H. W.; ZHONG, X. F.; GUO, Z. H.; ZHENG, R. K.; ZHANG, X. X.; XU, B. Nitrilotriacetic Acid-Modified Magnetic Nanoparticles as a General Agent to Bind Histidine-Tagged Proteins. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 3392-3393, 2004.
- YAVUZ, C. T.; PRAKASH, A.; MAYO, J. T.; COLVIN, V. L. Magnetic separations: From steel plants to biotechnology. **Chemical Engineering Science**, v.64, n.10, p.2510-2521, 2009.
- YILDIRIM, T.; CIRACI, S. **Physical Review Letters**, v.94, n.17, 175501, 2005.

YILDIRIM, T.; IÑIGUEZ, J.; CIRACI, S. Molecular and dissociative adsorption of multiple hydrogen molecules on transition metal decorated C-60. **Physical Review B**, v.72, n.15, 153403, 2005.

YÜRÜM, Y.; TARALP, A.; VEZIROGLU, T. N. Storage of hydrogen in nanostructured carbon materials. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.34, n.9, p.3784-3798, 2009.

ZHENG, W.; GAO, F.; GU, H. Carboxylated magnetic polymer nanolatexes: Preparation, characterization and biomedical applications. **Journal of Magnetism and magnetic materials**, v. 293, n.1, p.199-205, 2005.

ZHOU, S. X.; GARNWEITNER, G.; NIEDERBERGER, M.; ANTONIETTI, M. Dispersion behavior of zirconia nanocrystals and their surface functionalization with vinyl group-containing ligands. **Langmuir**, v.23, n.18, p.9178-9187, 2007.