UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

MONISE CRISTINA RIBEIRO CASANOVA

***Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas
metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis***

São Carlos

2010

MONISE CRISTINA RIBEIRO CASANOVA

Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Sergio A. Spinola Machado

São Carlos

2010

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus queridos pais, Ana Lúcia e Luiz, por todo seu amor e por sempre estarem ao meu lado.

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus pelo dádiva da Vida, pelos ensinamentos através dos momentos difíceis e pelos muitos momentos de alegria.

Aos meus pais, Luiz e Ana Lúcia, pela dádiva da vida, pela eterna amizade, por todo o carinho e amor incondicionais. Pelas melhores oportunidades de vida, de estudo, de aprendizado. Vocês fizeram de mim uma pessoa melhor. Obrigada! Amo vocês!!!

Ao meu orientador Prof. Sérgio Spinola por todo o apoio durante esses anos de mestrado, pelo suporte nos momentos difíceis e por todos os ensinamentos. Muito obrigada!

Ao Prof. Valtencir Zucolotto, meu orientador adotivo, por todo o apoio, suporte e ensinamentos. Aprendi muito com você! Meu eterno Muito Obrigada!

Aos meus avôs, Alcides e Pedro, que apesar de não estarem mais no plano terreno, me ensinaram muito e tenho certeza que torcem por mim de onde estão. A oração traz o Céu de vocês mais pertinho de mim. Saudades.

As minhas avós, Arilda e Esther, por tanto amor, carinho e sabedoria por todos esses anos. Pelas sopas de feijão, pelas panquecas e docinhos maravilhosos.

'As minhas amigas eternas, Milena, Gisele, Mariana e Vanessa por estarem me acompanhando durante esses seis anos de USP...por todos os momentos de alegria, superação, pelas risadas, pelo carinho e companheirismo. Adoro vocês!

'As minhas outras eternas amigas...do Quarteto Fantástico...ou melhor agora Quinteto...Karen, Letícia, Renata, e Ana Maria. Obrigada por me aturar durante todos esses anos, pelo carinho, companheirismo e momentos de descontração.

Ao amor da minha vida, Wendell, por todos esses anos juntos de muito amor, carinho, paciência, aprendizado e risadas. Eu te amo demais!

Aos meus amigos do laboratório...Juliana, Elias, Lilian, Luana, Vanessa, Rafaela, Júnior, e em especial Valéria e a todos que passaram pela minha estadia no lab.

Aos técnicos Níbio, Bertho, Ademir, Felipe, á Rosângela, Bel, Andressa e João por todo o apoio e infraestrutura e pelos momentos de descontração.

A Sílvia e Andréia, por todo o apoio e infraestrutura, mesmo nos momentos difíceis. Valeu pela força.

As moças da Biblioteca do IQSC, Bernardete, Wilheide e Cia.

E a todas as pessoas, que mesmo não mencionadas aqui, fizeram parte desta minha caminhada me apoiando sempre e torcendo por mim!

Epígrafe

“ LEMBREMO-NOS DE QUE O HOMEM INTERIOR SE RENOVÁ SEMPRE. A LUTA ENRIQUECE-O DE EXPERIÊNCIA, A DOR APRIMORA-LHE AS EMOÇÕES E O SACRIFÍCIO TEMPERA-LHE O CARÁTER. O ESPÍRITO ENCARNADO SOFRE CONSTANTES TRANSFORMAÇÕES POR FORA, A FIM DE ACRISOLAR-SE E ENGRANDECER-SE POR DENTRO.”

CHICO XAVIER

Resumo

Nanomateriais, incluindo as nanopartículas e nanotubos, tem sido extensivamente utilizados em diversas aplicações tecnológicas, devido principalmente às suas interessantes propriedades, advindas da alta relação área/volume. Para a efetiva aplicação destes materiais em dispositivos nanotecnológicos, no entanto, é crucial o desenvolvimento de sistemas altamente estáveis, que mantenham suas propriedades por longos períodos. Neste trabalho foi proposta uma rota sintética para a preparação de nanopartículas de ouro na presença de polieletrólitos e tióis numa só fase, juntamente com um estudo sistemático da estabilidade dos sistemas produzidos. Os espectros de UV-vis obtidos demonstraram a formação de nanopartículas de ouro, com banda plasmônica característica. As nanopartículas foram também visualizadas por imagens de microscopia de Transmissão. Análise de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) mostraram as ligações químicas que ocorrem entre os materiais constituintes dos sistemas híbridos de AuNPs. O estudo de estabilidade das AuNps foi realizado com medidas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) bem como por medidas de UV-vis, o que permitiu a obtenção do tipo de solução e condições mais estáveis. Através de análise estatística, por meio da análise de componentes principais (PCA), foi possível verificar quais fatores influenciam de forma significativa a estabilidade das diferentes soluções preparadas.

Abstract

The use of nanomaterials - including nanoparticles and nanotubes - for technological applications has received tremendous attention in the last few years, mainly due to their unique, size-dependent properties. The proper application of such nanomaterials in technological devices, however, has been limited by parameters such as their physical or chemical stability. In this Master's dissertation, we introduce a single step synthetic route for preparation of gold nanoparticles in the presence of polyelectrolytes and thiols, with emphasis on the stability of the nanomaterials under different storage conditions. Four different hybrid nanoparticles had been investigated, containing either PAH or PVA as the polymeric phase, in the presence of 3-AMP or 11-AMP thiols, respectively. After synthesis, the formation of the Au nanoparticles (AuNPs) was evidenced by UV-vis spectroscopy, upon appearance of a characteristic plasmonic band centered at ca. 510 or 540 nm, depending on the stabilizing agents used. The AuNPs were also investigated via TEM images. FTIR analyses evidenced that electrostatic interactions occurred between the thiols and the polyelectrolytes, within the hybrid nanoparticles structure. The stability of the four different systems was detailed investigated using UV-Vis spectroscopy, dynamic light scattering (DLS), and visual analyses. The data pointed to the higher stability presented by the AuNps stabilized with PAH in the presence of 3-AMP (PAH/3-AMP AuNPs). In contrast, the AuNPs stabilized with PVA exhibited the lowest stability. This feature was corroborated by statistical analysis, using principal component analysis (PCA), through which was possible to identify the main factor affecting AuNPs stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Imagem da Taça de Lycurgus.....	19
Figura 2.	Imagem de MET de nanocilindros de CdSe/ZnS de 7nm de diâmetro e 35nm em comprimento.....	23
Figura 3.	Exemplos de nanoprismas de ouro.....	25
Figura 4.	Imagem obtida por MET de nanopartículas de prata obtidas por redução de ácido fórmico e estabilizadas com dendrímero PAMAM.....	28
Figura 5.	Mecanismo de formação de AuNps por redução por citrato.....	32
Figura 6.	Estrutura do dendrímero PAMAM G4.....	35
Figura 7.	Esquema da síntese de nanopartículas de ouro estabilizadas em tiól pela ação do borohidreto.....	36
Figura 8.	Espectro eletrônico (UV-vis) de solução H ₂ AuCl ₄ , PAH AuNps e 3-AMP-PAH-AuNps.....	50
Figura 9.	Imagem de MET das PAH-AuNps.....	50
Figura 10.	Imagem de MET das 3-MPA-PAH-AuNps usando uma grade de cobre recoberta por um filme polimérico de carbono. Inset- Histograma da solução de 3-MPA-PAH-AuNp com diâmetro médio de partículas de 3,5nm.....	51
Figura 11.	MET acoplado com EDX de AuNps com PAH e 3-MPA.....	52
Figura 12.	Imagem de MET das PVA AuNps.....	52
Figura 13.	Imagem de MET das 11-MPA-AuNps.....	53
Figura 14.	Espectro de FTIR para: (I) 3 AMP cast, (II) PAH cast, (III) PAH + 3AMP cast, (IV) PAH + 3AMP + H ₂ AuCl ₄ cast, (V) PAH + 3AMP + H ₂ AuCl ₄ + NaBH ₄ cast.....	54
Figura 15.	Sistema com PAH a 25°C.....	56
Figura 16.	Sistema com PAH a 5°C.....	57
Figura 17.	Sistema com PAH a 50°C.....	58
Figura 18.	Espectros UV-Vis dos sistemas de AuNPs com PVA, mantidas a temperatura de 25°C, no claro e escuro.....	60
Figura 19.	Espectros UV-Vis dos sistemas de AuNPs com PVA, mantidas a temperatura de 5°C, no claro e escuro.....	61
Figura 20.	Sistema com PVA a 50°C.....	62

Figura 21.	Imagens de espalhamento de luz dinâmico (DLS) para AuNps com tiól 3-AMP e AuNps com PAH, respectivamente, da esquerda para a direita..	65
Figura 22.	Variação de tamanho de partículas com o tempo (dias) para PAH AuNPs e PAH/3-AMP AuNPs.....	65
Figura 23.	Variação de tamanho de partícula com o tempo (dias) para PVA AuNps e PVA/11-AMP AuNPs.....	66
Figura 24.	Soluções de nanopartículas de ouro com (1) PAH, (2) PAH e ácido 3-mercaptopropiônico, (3) PVA, e (4) PVA e ácido 11-mercaptoundecanóico 1 semana após o preparo das soluções.....	67
Figura 25.	Soluções de nanopartículas de ouro com (1) PAH, (2) PAH e ácido 3-mercaptopropiônico, (3) PVA, e (4) PVA e ácido 11-mercaptoundecanóico 2 semanas após o preparo das soluções.....	68
Figura 26.	Soluções de nanopartículas de ouro com (1) PAH, (2) PAH e ácido 3-mercaptopropiônico, (3) PVA, e (4) PVA e ácido 11-mercaptoundecanóico 3 semanas após o preparo das soluções.....	68
Figura 27.	Soluções de nanopartículas de ouro com (1) PAH, (2) PAH e ácido 3-mercaptopropiônico, (3) PVA, e (4) PVA e ácido 11-mercaptoundecanóico 4 semanas após o preparo das soluções.....	69
Figura 28.	Exemplificação dos três componentes principais.....	71
Figura 29.	Seleção de fatores na PCA.....	72
Figura 30.	Seleção de fatores na PCA na forma de tabela.....	73
Figura 31.	Visualização da separação das amostras levando-se em conta os diferentes dias de medidas.....	74
Figura 32.	Exemplo de “Outlier diagnostics” para as amostras da PCA.....	75
Figura 33.	PCA das amostras com ativação da classe mês.....	76
Figura 34.	PCA das amostras com ativação da classe tiól.....	76
Figura 35.	Espectros de absorbância mostrando crescimento de filmes finos de 3-MPA-PAH-AuNps/PVS pelo aumento de pico de absorbância com o número de bicamadas. Inset: Imagem de filmes 3-MPA-PAH-AuNps/PVS.....	78
Figura 36.	Imagens de altura 3D em modo tapping correspondendo a (a) 5, (b) 10 e (c) 15 bicamadas dos filmes 3AMP-PAH-AuNps/PVS em vidro hidrofílico.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Picos de absorbância do sistema PAH em relação aos 1º e 26º dia de medida.....	59
Tabela 2.	Picos de absorbância do sistema PVA em relação aos 1º e 26º dia de medida.....	63
Tabela 3.	Potencial Zeta de soluções PAH AuNPs e PAH/3-AMP AuNPs.....	64

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

AuNps	nanopartículas de ouro
AgNps	nanopartículas de prata
PtNps	nanopartículas de platina
TiO₂	óxido de titânio
ZnO₂	óxido de zinco
CdS	sulfeto de cádmio
Fe₂O₃	óxido de ferro
PAMAM G4	dendrímico poliamidoamina de geração 4
PAH	Polialilamina
PVA	Polivinilálcool
PVS	ácido polivinilsulfônico
AgNO₃	nitrato de prata
pH	potencial hidrogeniônico
HAuCl₄	ácido tetracloreáurico
1D	uma dimensão
2D	duas dimensões
3D	três dimensões
PANI	Polianilina
ELbL	Automontagem por interação eletrostática

UV	Ultravioleta
Vis	Visível
SPR	ressonância plasmônica de superfície
MET	microscopia eletrônica de transmissão
EDX	difração de raios-X
PCA	análise de componentes principais
PC1	1º componente principal
PC2	2º componente principal
PC3	3º componente principal
FTIR	espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
AFM	microscopia de força atômica
3-AMP	ácido 3-mercaptopropanóico
11-AMP	ácido 11-mercaptoundecanóico

SUMÁRIO

1.Introdução.....	15
2. Revisão Bibliográfica.....	17
2.1. Nanotecnologia e Nanomateriais.....	17
2.1.1. Nanopartículas Metálicas.....	19
2.2. Síntese de nanomateriais.....	21
2.3. Processos de estabilização de nanopartículas de ouro.....	31
2.3.1. Utilização de citrato.....	31
2.3.2. Utilização de polímero.....	32
2.3.2.1. Utilização de dendrímeros.....	33
2.3.3. Utilização de Fosfina, óxido de Fosfina.....	35
2.3.4. Utilização de aminas.....	35
2.4. Estabilização com tiol.....	36
2.5. Análise Multivariada.....	37
2.5.1. Análise de Componentes Principais (PCA).....	38
3. Objetivos.....	39
4. Experimental.....	40
4.1. Materiais.....	40
4.2. Síntese de nanopartículas de ouro estabilizadas com PAH.....	40
4.3. Síntese de nanopartículas de ouro estabilizadas com PVA.....	41
4.4. Imobilização das AuNPs na forma de filmes nanoestruturados.....	42
4.5. Caracterização das soluções de AuNps.....	42
4.5.1. Espectroscopia na região do UV-visível.....	42
4.5.2. Microscopia eletrônica de Transmissão (MET).....	43
4.5.3. Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	43
4.5.4. Espalhamento de Luz Dinâmico.....	44
4.5.5. Potencial Zeta.....	45
4.6. Caracterização de filmes automontados.....	45
4.6.1. Microscopia de força atômica (AFM).....	45
4.6.2. Perfilometria.....	46
4.7. Estudo da estabilidade.....	46
4.7.1. Análise de componentes principais	48

5. Resultados e Discussão.....	49
5.1. Síntese das Nps de ouro estabilizadas com tióis e polímeros.....	49
5.2. Estudo sistemático da estabilidade das AuNps.....	55
5.2.1. Análise por Espectroscopia no UV-visível.....	55
5.2.2. Análise de estabilidade por Espalhamento de Luz (DLS).....	63
5.2.3. Análise visual das soluções.....	67
5.2.4. Análise estatística (Análise de Componentes Principais).....	70
5.3. Imobilização das nanopartículas de ouro em filmes nanoestruturados.....	77
5.3.1. Análise de crescimento dos filmes finos.....	78
5.3.2. Análise morfológica dos filmes.....	79
6. Conclusões.....	80
7. Sugestões e trabalhos futuros.....	82
8. Referências Bibliográficas.....	83

1. Introdução

A ciência e tecnologia em nanoescala têm atraído considerável atenção nos últimos anos, pela expectativa do impacto que os materiais nanoestruturados podem causar na melhoria da qualidade de vida. Com isso, espera-se que o avanço da nanociência estimule a exploração de novos fenômenos¹. A pesquisa e o desenvolvimento em nanotecnologia visam a manipulação de estruturas em nanoescala, e integrá-las de modo a formar sistemas maiores. O aumento das velocidades das reações tende a vir do uso de nanocatalisadores, por exemplo².

Nanopartículas são termodinamicamente instáveis e têm a tendência natural de se agregar e crescer. Desta forma, o grande desafio atualmente consiste exatamente em preparar nanomateriais estáveis (ou seja, que permaneçam nesta escala de tamanho sem sofrer decomposição e sem agregação e crescimento) e monodispersos, tanto com relação ao tamanho quanto com relação à forma de suas partículas, que possam ser manipulados, dispersos, depositados sobre substratos, sem perder suas características. Para que possam ser eficientemente utilizados em aplicações tecnológicas e biomédicas, os materiais nanoestruturados, como as nanopartículas de ouro, devem ser capazes de se manterem estáveis por longos períodos de tempo, sem que haja perda de suas propriedades, ou modificações estruturais. Dessa maneira, a busca por novos métodos de síntese ou funcionalização voltados a aumentar a estabilidade química das nanopartículas tem se tornado objeto de estudo de vários pesquisadores³⁻¹⁰.

Nanopartículas de ouro, por exemplo, são tema de um crescente número de artigos e se constituem em perspectivas interessantes para aplicações biomédicas, catalíticas, magnéticas, eletrônicas¹¹⁻¹³. Por exemplo, a utilização das nanopartículas de ouro (AuNps) em aplicações biológicas exploram a sua grande biocompatibilidade. A razão para tal, em vista da grande

perspectiva das pesquisas com AuNps, está relacionada com a estabilidade das nanopartículas, a extraordinária diversidade de seus modos de preparação envolvendo cerâmicas, vidros, polímeros, ligantes, superfícies, filmes, óxidos, biomoléculas, assim como às suas propriedades e seu papel em nanociência e nanotecnologia¹⁴.

No presente trabalho, tivemos por objetivo sintetizar, caracterizar e investigar detalhadamente o processo de estabilização de nanopartículas de ouro (AuNps) utilizando-se tiól. Uma rota de síntese química, na qual polieletrólitos e tióis são usados como *templates* para sintetizar nanocompósitos de ouro é apresentada. A estratégia oferece, além da rapidez, a vantagem distinta de conseguir soluções estáveis de nanopartículas de ouro num esquema de síntese de um só passo. As AuNps foram preparadas pela redução química do HAuCl_4 usando borohidreto de sódio (NaBH_4) como agente redutor. O polieletrólito cloreto de polialilamina (PAH) e o polivinil álcool (PVA) também são usados como agentes estabilizadores na presença ou ausência do ácido 3-mercaptopropiônico (3 MPA).

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Nanotecnologia e Nanomateriais

O termo *nanotecnologia* foi introduzido pelo engenheiro japonês Norio Taniguchi, para designar uma nova tecnologia que ia além do controle de materiais e da engenharia em microescala. Entretanto, o significado do termo atualmente se aproxima mais da formulação de Eric Drexler, que corresponde à metodologia de processamento envolvendo a manipulação átomo a átomo¹⁵. O termo nanotecnologia se refere ao estudo do fenômeno e da manipulação de sistemas físicos que produzam informações significativas (isto é, diferenças perceptíveis), em uma escala conhecida como nano (10^{-9} m = 1 nm) com dimensões típicas que não excedam 100 nm em pelo menos uma dimensão. Portanto, a nanotecnologia foca o projeto, caracterização, produção e aplicação de sistemas e componentes em nanoescala¹⁶.

A maioria das indústrias se beneficiará com as inovações da nanotecnologia. As interações entre indústria, meio acadêmico e instituições governamentais irão acelerar o desenvolvimento de novos produtos. O tradicional modelo de negócio em larga escala deverá ser revisto, de modo a considerar o elevado valor agregado dos nanomateriais e o valor social deverá incluir um menor impacto ambiental na manufatura dos produtos⁵. Os processos deverão ser mais limpos e com maior eficiência no uso da energia e, possivelmente, com o emprego de novas fontes renováveis. O consumidor irá se beneficiar pela diversidade de produtos baseados na nanotecnologia, que irão melhorar a qualidade de vida das pessoas em todo o mundo.

O estudo de materiais cujos tamanhos das partículas que os constituem encontram-se na faixa dos nanômetros ganhou importância significativa no final do século XX, levando ao aparecimento e consolidação de toda uma área do conhecimento. Assim, pode-se definir nanomateriais como sendo materiais que possuem ao menos uma dimensão na faixa de

tamanho nanométrica, abaixo do tamanho crítico capaz de alterar alguma de suas propriedades.

Alguns produtos em nanoescala já estão sendo comercializados, como dióxido de titânio, ouro, prata e cobre que, adicionados aos plásticos, tintas e outros materiais, melhoraram o seu desempenho. Outros produtos estão próximos da comercialização, como veículos de transportes de drogas no corpo humano e nanotubos de carbono. Para permitir a ampla comercialização dos produtos baseados na nanotecnologia, deve-se procurar atender às seguintes demandas: i) síntese: construção de blocos em nanoescala incluindo nanopartículas, nanotubos e materiais nanoestruturados; ii) fabricação e processamento: manipulação e processamento em nanoescala dos blocos construídos para uma dada finalidade; iii) incorporação: incorporação em nanoescala dos blocos até obter a forma do produto final, incluindo compósitos, materiais eletrônicos e dispositivos biomédicos, e iv) caracterização - medida e caracterização das propriedades básicas dos blocos em nanoescala ou das formas dos produtos finais, assim como de processos de manufatura.

Talvez o exemplo mais antigo conhecido de utilização de nanomateriais se refere à Taça de Lycurgus (4 a.c.) mostrada na Figura 1. Essa taça ainda pode ser vista no *British Museum* e possui a propriedade de mudar de cor dependendo da luz incidente. Análise deste vidro revela que ele contém uma pequena quantidade de nanocristais metálicos (~ 70nm) contendo Ag e Au na proporção 14: 1.

Figura 1. Imagem da Taça de Lycurgus¹⁷.

2.1.1. Nanopartículas Metálicas

Pesquisas em nanopartículas metálicas têm aumentado consideravelmente desde o trabalho pioneiro de Michael Faraday no século XIX, com o estudo das propriedades óticas de filmes finos preparados com soluções de nanopartículas de ouro. A partir de seu trabalho, vários estudos científicos foram publicados em síntese, modificação e propriedades de AuNps usando uma grande diversidade de condições experimentais. Concomitantemente, nanopartículas de ouro de alta qualidade foram sintetizadas em solventes não aquosos. O método Brust-Schiffrin para síntese de AuNps, publicado em 1994, tem tido um impacto considerável neste campo de pesquisa, uma vez que facilitou a síntese de AuNps estáveis termicamente, de tamanho controlado e dispersão reduzida, pela primeira vez¹⁸. Além disso, as AuNps podem ser repetidamente isoladas e redissolvidas em solventes orgânicos comuns sem agregação irreversível ou decomposição, podendo ser facilmente manipuladas e funcionalizadas com compostos orgânicos estáveis e moleculares. A técnica de síntese é

inspirada no sistema de Faraday de duas fases e faz uso de ligantes tiól que se ligam fortemente ao ouro devido ao caráter mole de ambos Au e S.

Colóides metálicos, especialmente as AuNps, são as nanopartículas metálicas mais estáveis, demonstrando propriedades importantes com aplicações em sistemas *drug delivery* e marcadores biológicos, entre outros. Um dos aspectos mais interessantes de nanopartículas de ouro é que suas propriedades óticas dependem do formato e tamanho das partículas. Ouro metálico parece amarelo em luz refletida, mas em filmes finos parecem azul para a transmissão. Essa coloração azul característica muda para laranja ou para vários tons de vermelho, à medida que o tamanho de partícula é aumentado¹⁹. Esses efeitos de cor são consequência do confinamento quântico dessas partículas e estão relacionados a mudanças na ressonância plasmônica de superfície – a frequência em que elétrons de condução oscilam em resposta ao campo elétrico alternante da radiação eletromagnética incidente. Este fenômeno, chamado banda plasmônica de superfície, ocorre quando as dimensões do condutor são reduzidas, e nanopartículas pequenas de metais com elétrons livres na banda de condução tais como Pt, Ag e Au, por exemplo, sofrem efeitos ressonantes entre os elétrons condutores e a radiação eletromagnética incidente²⁰. Essa propriedade é muito sensível ao formato da partícula, gerando mudanças de coloração bastante intensas. A banda plasmônica de superfície se mostra ausente para AuNps com diâmetro inferior a 2 nm, como também para ouro maciço. O máximo de absorção da banda plasmônica e a sua largura são influenciados pelo formato da partícula, constante dielétrica do meio e temperatura. O índice de refração do solvente usado induz um deslocamento de banda, como predito pela teoria de Mie²¹.

A teoria de Mie foi desenvolvida a partir das leis do eletromagnetismo clássico de Maxwell e tem sido utilizada em excelente concordância com resultados experimentais. Embora grande parte dos autores considere o termo absorção (A) de luz, a teoria de Mie trata

dessa unidade como extinção (δ_{ext} ou Q_{ext}), ou seja, a quantidade de luz que chega ao detector de um espectrofotômetro após a mesma passar através de uma suspensão diluída de nanopartícula é uma contribuição da radiação absorvida pela nanopartícula (δ_{abs}) e da radiação espalhada (dispersada) (δ_{sca}), onde a extinção (absorbância total) é dada por $\delta_{\text{ext}} = \delta_{\text{abs}} + \delta_{\text{sca}}$. Em alguns casos a extinção é descrita como a atenuação da onda propagada em um meio contendo nanopartículas. A extinção está intimamente relacionada com a secção transversal das nanopartículas esféricas, logo δ_{ext} pode ser calculado em função do tamanho da nanopartícula. Considerando a intensidade de luz medida absorvida por uma amostra, pode-se escrever:

$$\delta = (2\pi |EmKo2) \sum (2n + 1) \text{Re}(an + bn) \quad (1)$$

onde a_n e b_n são os coeficientes de Mie e n é a ordem da excitação do multipolo esférico das nanopartículas. Os coeficientes de Mie estão relacionados com a parte real das funções de Riccati-Bessel²², em que são considerados o tamanho da partícula e constante dielétrica do meio. Uma dedução completa dos termos de a_n e b_n pode ser encontrada na literatura citada.

2.2. Síntese de Nanomateriais

Os processos de preparação de nanomateriais metálicos envolvem geralmente o uso de agentes redutores, tais como citrato de sódio, boridreto de sódio, hidrazinas, formaldeídos, hidroxilaminas, álcoois saturados e insaturados e açúcares. Dentre os açúcares, o ácido ascórbico produz as nanopartículas mais estáveis e mais dispersas no suporte, devido à sua ação redutora. O controle rigoroso de variáveis como pH do meio reacional, temperatura de

calcinação, e a dispersão das espécies químicas de interesse, é considerado crítico, especialmente quando se considera o controle do tamanho de partícula.

Materiais nanoestruturados preparados por dispersão de silicatos (argilas) com polímeros e borrachas, por exemplo, são interessantes porque podem ser obtidos de forma a possuir uma combinação de propriedades mecânicas, térmicas e óticas requisitadas, assim como resistência química a óleo e solventes. Num trabalho desenvolvido pelo Grupo do Prof. Galembeck²³ são estudados os efeitos de cátions nas propriedades e morfologia de nanocompósitos de borracha-argila obtidas usando o método de dispersão de latex-argila. Argilas de potássio, lítio e cálcio foram cuidadosamente preparadas e os efeitos desses íons nas propriedades da argila de poliestireno-co butil ácido acrilatecoacrilico foram determinadas e comparadas às da argila de sódio nativa.

No campo de síntese de nanomateriais, destacam-se os nanocilindros em solução. O primeiro método de síntese foi baseado na redução eletroquímica de HAuCl_4 na presença de indutores de forma, surfactantes catiônicos e outros aditivos. Estes foram usados empiricamente para favorecer a formação do cilindro e agir como eletrólito suporte e estabilizante para as nanopartículas cilíndricas de Au resultantes. No método eletroquímico, o sistema micelar consiste de dois surfactantes catiônicos. A razão entre esses dois surfactantes controla a proporção média de nanocilindros. A síntese, no entanto, funciona em pequena escala. Exemplo de nanocilindros de ouro de CdSe/ZnS com aproximadamente 7nm de tamanho são mostrados na figura 2.

Figura 2. Imagem de MET de nanocilindros de CdSe/ZnS de 7nm de diâmetro e 35nm em comprimento²⁴.

Outro exemplo de síntese vem de Murphy *et al.*, que relataram as condições de redução de nanocilindros de Au e Ag em soluções com controle excelente de tamanho²⁵. O método usa sementes pré-formadas nas quais nanopartículas crescem usando um agente redutor fraco (ácido ascórbico, por exemplo) na presença do surfactante, levando à formação de nanocilindros.

Já para a síntese de nanofios, Hernández e colaboradores²⁶ relataram a produção de nanofios de polipirrol modificados por proteínas. Foi utilizado um método eletroquímico usando óxido de alumínio poroso como *template*. Os efeitos das condições da síntese eletroquímica no crescimento de polipirrol e incorporação da proteína (avidina ou estraptavidina) foram estudados. Os nanofios modificados por estraptavidina a potencial

constante tiveram melhores propriedades eletroquímicas e equilibraram mais rápido quando expostos à biotina marcada com fluorescência do que nanofios formados por ciclagem de potencial.

Enquanto isso, os pioneiros na síntese de outro tipo de nanomaterial – os nanoprismas metálicos – foram Jin e colaboradores²⁷. Eles obtiveram nanoprismas triangulares truncados pela irradiação de lâmpada fluorescente na presença de bis(p-sulfonatofenil) fenilfosfina partindo de nanoesferas de Ag estabilizadas por citrato. O espectro óptico dos nanoprismas apresenta bandas para ressonância de dipolo no plano, assim como ressonância quadrupolar no plano e fora do plano. Malikova e colaboradores²⁸ conseguiram sintetizar nanoprismas de ouro em solução aquosa pela redução de HAuCl_4 com ácido salicílico a 80°C. A formação de nanoprismas não foi homogênea, no entanto, medidas de UV mostram o acoplamento entre os prismas como satisfatório.

Quando a formação de nanoprismas não é homogênea, apresenta-se variação no formato dos nanoprismas obtidos, com variação do seu número de lados, como mostra a figura 3. Isso depende de fatores como escolha do catalisador, concentração de reagentes.

Figura 3. Exemplos de nanoprismas de ouro²⁹.

Em outro estudo³⁰ que faz uso de polímeros na estabilização dos nanomateriais, nanoprismas de prata poligonais (principalmente triangulares) foram sintetizados pela fervura de AgNO_3 em *N,N*-dimetil formamida, na presença de polivinilpirrolidona (PVP). Apesar de que uma mistura de nanoprismas e nanoesferóides é formada durante a síntese, os últimos podem ser removidos por centrifugação. O espectro de UV-vis dos nanoprismas apresenta uma banda de ressonância plasmônica intensa, dipolar no plano. Estes nanoprismas também são estáveis em outros solventes, como etanol e água.

Do ponto de vista da química verde, no entanto, todas as rotas sintéticas não-aquosas estão longe do ideal. Neste aspecto, Shankar e colaboradores³¹ descobriram uma possibilidade biológica de obtenção de nanoprismas de ouro a partir da reação do sal de ouro com o extrato do lemoeiro (*Cymbopogon flexuosus*). Experimentos mostraram o

aparecimento da banda de ressonância plasmônica de superfície (SPR) à temperatura ambiente em 580 nm aproximadamente após 90 min de reação, que é deslocada para 500 nm e cresce em intensidade com o tempo.

Dentre os nanomateriais, as nanopartículas metálicas em geral se destacam por sua versatilidade de aplicações e ampla variação de tamanho que se consegue pelo controle da síntese utilizada. Na literatura encontram-se vários exemplos de redução do sal dos metais por solventes orgânicos para preparação de nanopartículas metálicas como Pt, Pd, Au ou Rh, por exemplo.

Os métodos empregados na preparação de nanopartículas metálicas são o método de decomposição térmica, microemulsão, síntese hidrotérmica, entre os mais comumente utilizados, além dos métodos eletroquímico, deposição-precipitação, co-precipitação, impregnação e o método de deposição química a vapor.

No processo de coprecipitação, um hidróxido ou carbonato é obtido através da adição simultânea das soluções dos sais precursores. Em seguida, o precipitado obtido é lavado, seco e calcinado. Este método é frequentemente usado para preparar nanopartículas de metais da primeira série de transição nos grupos 4 a 12 da tabela periódica. Em especial, nanopartículas de ouro suportadas em óxidos de cério, ferro, cobalto e manganês são preparadas por esse método.

O método de deposição a vapor pode ser dividido em duas classes principais: a deposição física, e a deposição química a vapor. A deposição física a vapor envolve processos físicos de formação de nanocristais, como a eletrodeposição de nanopartículas. Por outro lado, a deposição química a vapor consiste na passagem de uma corrente de vapor do precursor metálico volátil, sobre um suporte com elevada área superficial específica. O composto, sob a forma de vapor, reage quimicamente com a superfície do suporte formando as espécies ativas.

Este método é empregado na preparação de nanopartículas de metais nobres sobre vários suportes, incluindo a alumina, a titânia, a sílica e a MCM-41.

Dentre a classe das nanopartículas metálicas, as nanopartículas de prata apresentam grande interesse devido a sua aplicação como agente bactericida e fungicida. Um método sintético completamente “verde” para produção de nanopartículas de prata foi desenvolvido recentemente³². Esse processo é simples, benéfico para o meio ambiente e eficiente. Pelo aquecimento de uma solução de fermento contendo nitrato de prata e glicose, pode-se obter nanopartículas de prata relativamente monodispersas. A β -D-glicose serve como um agente redutor verde, enquanto que o fermento serve como agente estabilizante.

Uma alternativa inovadora consiste na fabricação de nanopartículas de prata (AgNps) na presença de quitosana³³. A quitosana é um biopolímero derivado da desacetilação da quitina, um polissacarídeo obtido de crustáceos, apresentando propriedades de mucoadesividade e de biocompatibilidade, além da ausência de toxicidade. O polímero quitosana não apenas age como agente redutor para íons metálicos, mas também como estabilizante das nanopartículas, já que as ancoram. A maior parte das nanopartículas produzidas desta forma apresentou tamanho inferior a 5nm. A atividade catalítica do composto foi investigada fotometricamente pelo monitoramento da redução de 4-nitrofenol (4-NP) na presença de excesso de NaBH_4 em água sob condições heterogêneas.

Knecht e colaboradores³⁴ também fizeram uso de dendrímeros para a síntese de nanopartículas de níquel magnéticas contendo menos que 150 átomos. Essas partículas foram preparadas em solvente orgânico usando dendrímeros hidrofóbicos como templates, resultando num alto grau de monodispersividade. As nanopartículas de níquel preparadas com poliamidoamina (PAMAM) da sexta geração, funcionalizadas com grupos alquil, apresentam,

como característica inovadora, a solubilidade em tolueno e, portanto, proteção contra a oxidação por água e oxigênio.

A figura 4 mostra uma imagem de nanopartículas de prata obtidas por redução com ácido fórmico e PAMAM pelo grupo do prof. Zucolotto. Consiste num método fácil e bastante eficiente na obtenção de nanopartículas de prata.

Figura 4. Imagem obtida por MET de nanopartículas de prata obtidas por redução por ácido fórmico e estabilizadas com dendrímero PAMAM.

O grupo do Prof. Crooks³⁵⁻³⁸ pioneiro na utilização de dendrímeros como templates para fabricação de nanopartículas com altíssimo controle de tamanho, relatou também sínteses de outras nanopartículas metálicas na presença de dendrímeros, entre elas, Fe, Au e Pd, mostrando a grande importância de dendrímeros na síntese de nanopartículas metálicas.

Nanopartículas bimetálicas contendo ouro como um de seus elementos, sendo o outro Ag, Pd, Pt, TiO₂, Zn, Cu, ZnO₂, CdS, Fe₂O₃ e Eu foram sintetizadas de várias maneiras³⁹. Embora Nps bimetálicas sejam conhecidas há muito tempo, o grupo de Schmid foi o primeiro a apresentar a síntese de Nps bimetálicas *core-Shell*, cuja estrutura foi demonstrada com o uso de MET de alta resolução e EDX.

Nanopartículas de ouro têm sido manipuladas para formar nanoredes 1D⁴⁰⁻⁴², 2D⁴³ e 3D⁴⁴ e superestruturas⁴⁵ altamente organizadas. Wei et al.²⁴ identificaram separações no formato de nanopartículas de ouro esféricas e cilíndricas pela análise de cromatogramas 3-D obtidos empregando um sistema de detecção de diodo, confirmado posteriormente pelas imagens de TEM. O espectro de absorção do detector de diodo foi utilizado para interpretar o formato das nanopartículas de Au mostrando a potencialidade da cromatografia de separação por tamanho com detector de diodo de nanopartículas de Au. Blonder e colaboradores²⁷ descreveram em um de seus trabalhos, uma nova montagem de colóides metálicos tridimensionais compostos de colóides de Au, Ag e compósitos de Ag e Au. Os colóides foram ligados por uma unidade ponte molecular redox. Já o grupo de pesquisa de Gutiérrez-Wing²⁸ descreveu o crescimento de formas ordenadas de nanopartículas de ouro passivadas com moléculas de 1-dodecanotíol por cristalização com vapor de tolueno. É mostrado que no estágio inicial de crescimento, nanocorrentes de partículas são produzidas, seguida por agregação dessas correntes para formar estruturas 2D. Por sua vez, tais estruturas formam um quadrado que relaxa a uma estrutura empacotada.

O uso de microemulsões e micelas, surfactantes e polieletrólitos é um campo de pesquisa significativo para a síntese de AuNps na presença ou ausência de ligantes tíol. As sínteses envolvem um sistema bifásico com um surfactante, que causa a formação de microemulsões, mantendo um ambiente favorável junto à extração de íons metálicos da fase aquosa para a fase orgânica. Esta é uma vantagem sobre o sistema bifásico convencional⁴⁶. Esse papel duplo do surfactante e a interação entre o tíol e a superfície da AuNp controla o crescimento e a estabilização da AuNp. A pequena faixa de tamanho das AuNps permite a ordenação das partículas de modo que elas apresentem tamanho em torno de 4nm.

Outro método usado é baseado no processo fotoquímico. McGilvray⁴⁷ *et al.* descreveram recentemente um método de síntese de nanopartículas de ouro por fotoquímica sem o uso de estabilizantes que não necessita de nenhum ligante estabilizador convencional (S, N ou P). A grande vantagem desse método é que este pode ser efetuada em segundos, ao invés de minutos ou horas, sob condições brandas, e usando precursores comuns. Além disso, o tamanho da partícula pode ser controlado alterando a intensidade da iluminação. A síntese das AuNps foi feita usando Irgacure-2959 (1-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-2-hydroxy-2-methyl-1-propane-1-one) (I-2959)⁴⁸. Sob 350nm de excitação, o I-2959 gera radicais cetil via clivagem Norrish tipo I, que nada mais é do que a reação de clivagem alfa em cetonas, uma reação orgânica capaz de gerar radicais que funcionam como agentes redutores capazes de reduzir o Au (3+) a Au(0) (no caso de nanopartículas) e formar AuNps com grande resolução temporal e espacial como resultado do controle fotoquímico.

Na síntese de AuNps estabilizadas por polímeros, no sentido de proteger as nanopartículas da coagulação, destacam-se os polieletrólitos. Exemplo dessa utilização extensiva pode ser citado pelo trabalho de Caruso e colaboradores⁴⁹. Outro exemplo são os trabalhos de Corbierre⁵⁰ e colaboradores, que descrevem a síntese de nanopartículas de ouro decoradas com macromoléculas de poliestireno encapadas com tiól e sua dispersão em matriz de poliestireno. Esse polímero foi escolhido porque sua alta temperatura de transição vítrea permite a formação de filmes robustos à temperatura ambiente.

Já na área da química verde, uma das mais recentes inovações nesse aspecto consiste na síntese de nanopartículas de ouro com soja⁵¹. O novo processo para obtenção de nanopartículas de ouro foi possível devido à propriedade antioxidante da soja, que possibilita a redução química de sais de ouro (como o tetracloroaurato de sódio – Na[AuCl₄]). O

principal responsável pela redução dos sais de ouro é o coquetel de proteínas da soja, auxiliado pela presença de carboidratos (como a sacarose, a rafinose e a estaquiase).

2.3. Processos de Estabilização de Nanopartículas de Ouro

2.3.1. Utilização de Citrato

A síntese e estabilização de partículas de ouro por redução por citrato⁵² é uma boa metodologia modelo, e talvez a mais simples, já que inclui apenas três materiais de partida, como ácido áurico, citrato de sódio e água. Foi primeiro mencionado em 1951 por Turkevich, e posteriormente estudado por vários grupos de pesquisa. Frens, por sua vez, demonstrou que a variação de tamanho pela redução por citrato pode ser conseguida apenas com a mudança de concentração do citrato de sódio⁵⁹. O processo de formação das AuNps, neste caso, foi primeiramente descrito como uma nucleação rápida seguida por crescimento difusional controlado. Basicamente, o processo se baseia na mistura do sal de ouro com o citrato em água fervente, e uma vez formada as AuNps, obtém-se um líquido estável de cor avermelhada. O citrato, neste caso, apresenta dois papéis distintos e complementares: agente redutor e estabilizante⁵⁹ como ilustrado na figura 5.

Figura 5. Mecanismo de formação de AuNps por redução por citrato⁵².

2.3.2. Utilização de Polímeros

Desde o artigo de Helcher em 1718, indicando que amido estabiliza partículas de ouro solúveis em água, sabe-se que esses materiais, reconhecido dois séculos depois como polímeros, favorecem o isolamento de AuNps⁵³. Com o melhoramento do entendimento dos parâmetros que levam a estabilização de AuNps, têm ocorrido um *revival* da atividade no campo de AuNps estabilizadas por polímeros. Os polímeros mais usados para a estabilização de AuNps são polivinil pirrolidona (PVP) e polietilenoglicol. Apesar da variedade de maneiras de se alcançar compósitos de nanopartículas / polímeros, duas maneiras se sobressaem. A primeira consiste na síntese *in situ* de nanopartículas na matriz polimérica ou por evaporação dos metais na superfície do polímero aquecido. A segunda, usada com menos frequência, envolve polimerização da matriz em volta das nanopartículas.

Nesse aspecto, polímeros têm se mostrado uma alternativa bastante interessante na estabilização de AuNps. Um exemplo recente é o uso de polivinilálcool (PVA)⁵⁴ como agente estabilizante de AuNps em meio aquoso usando dois agentes redutores distintos: hidrato de hidrazina, um agente redutor forte e sulfoxilato de formaldeído (SFS), um agente redutor um pouco mais fraco. As AuNps apresentaram coloração vermelha forte e ficaram estáveis por um longo período sem mostrar de agregação.

Vale ressaltar os agentes redutores geralmente usados nas sínteses poliméricas. A maioria dos processos de redução envolve o reagente borohidreto de sódio que é adicionado *in situ*, ou o agente redutor também pode ser o solvente, como álcool. Por exemplo, o sal de ouro gera AuNps estáveis sob refluxo em metanol/água na presença de PVP, até mesmo após a adição de NaOH. Em poliacrilamida, AuCl₄ não pode ser reduzido por álcool, mas pode ser reduzido por borohidreto⁵⁵.

2.3.2.1. Utilização de Dendrímeros

Os dendrímeros são polímeros ramificados, monodispersos, que têm estrutura bem definida e versatilidade química, controladas pela modificação do núcleo, tipo e número de unidades repetitivas dos ramos, e os grupos funcionais terminais, como mostrado na figura 6. As moléculas de poliamidoamina (PAMAM), por exemplo, possuem um núcleo de etilenodiamina, sendo que as moléculas de PAMAM geração 4 (G4) possuem quatro unidades de poliamidas ligadas ao núcleo de etilenodiamina (figura 6). Essas ramificações fazem com que a molécula possua cavidades intramoleculares, possibilitando seu uso como nano-reator na preparação de nanopartículas metálicas. A síntese das nanopartículas metálicas se dá pela redução de um sal metálico na presença do dendrímero, por exemplo, PAMAM, em solução aquosa. As moléculas de PAMAM G4 possuem aproximadamente 4,5 nm de diâmetro e contêm 32 grupos interiores de amina terciária e 64 grupos funcionais periféricos. O diâmetro do dendrímero aumenta de maneira praticamente linear com a geração, enquanto o número de grupos funcionais na periferia aumenta exponencialmente. Uma consequência importante deste fato é que a distância entre grupos funcionais na superfície do dendrímero e, conseqüentemente, a flexibilidade dos grupos periféricos, diminuem com o aumento da

geração. A distância entre grupos periféricos é importante, pois pode ser usada para controlar o acesso de nanopartículas aos catalisadores encapsulados.

Crespilho e colaboradores⁵⁶ produziram nanopartículas de ouro estabilizadas em polieletrólito polialilamina (PAH) na presença do dendrímero PAMAM G4 de modo bastante simples. Utilizou-se o ácido fórmico como agente redutor do sal de ouro, sendo que a coloração vermelha da solução resultante demonstra a presença de nanopartículas em solução aquosa.

Além da capacidade de estabilizar nanopartículas metálicas, a molécula de PAMAM G4 possui 64 grupos aminas na periferia, tornando-a altamente solúvel em água. Uma vez protonadas, as aminas ficam carregadas positivamente, permitindo que a molécula de PAMAM seja utilizada em filmes automontados juntamente com um polieletrólito de carga contrária, como poli(ácido vinilssulfônico) (PVS).

Templates sintéticos de fase sólida para AuNps foram desenvolvidos usando resinas e dendrímeros poliamidoamina (PAMAM)⁵⁷. Este esquema de síntese oferece a oportunidade de preparação de nanopartículas metálicas na ausência de ar e água e também não necessita de agentes de transferência de fase que podem ser difíceis de serem removidos em passos subsequentes. Dendrímeros PAMAM com terminação amina, de quinta geração (G5) foram adicionados à resina de poliestireno funcionalizada com anidrido e alcalinizados com 1,2-epoxidodecano para produzir dendrímeros ancorados. Estes se ligam aos sais de Co (II) e ao Au (III) de soluções de tolueno. Os sais de Au(III) encapsulados poderiam ser reduzidos por NaBH₄ para a obtenção das nanopartículas encapsuladas com dendrímeros, como desejado.

Figura 6. Estrutura do dendrímero PAMAM G4.

2.3.3. Utilização de Fosfina, óxido de fosfina

O método bifásico de Brust foi aplicado em fosfina (PPh_3)⁵⁸ para melhorar a síntese do cluster de Schmid $[\text{Au}_{55}(\text{PPh}_3)_{12}\text{C}_{16}]$, usando $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e $\text{N}(\text{C}_8\text{H}_{15})_4$. Foi estimado que o cluster sintetizado tinha a fórmula $[\text{Au}_{101}(\text{PPh}_3)_{21}\text{C}_{15}]$ e continha 3,7 por cento em massa de $[\text{Au}(\text{PPh}_3)\text{Cl}]$ como impureza. A análise térmica de $[\text{AuI}(\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{COO})(\text{PPh}_3)]$ a 180°C sob N_2 revelou AuNps monodispersas encapadas com ligantes fosfina.

Outro exemplo recente consiste no uso de mistelas⁵⁹ estabilizando nanopartículas de ouro usando difenilfosfina 1 (fosfinina é o equivalente à piridina com fósforo) e a família dos ligantes tiol: ácido mercaptoundecanóico, dodecanotiol e tiofenol. Fosfina 1 e tióis têm pouca afinidade de um a outro., então as nanopartículas se auto segregam em domínios puros.

2.3.4. Utilização de Aminas

Vários outros complexos de ouro, em particular complexos de amina com Au (I) têm sido usados como precursores para a síntese de AuNps estabilizadas por aminas. Redução de

AuCl₄ por NaBH₄ numa mistura de óxido de tri-n-octilfosfina e octadecilamina⁶⁰ (proporção molar 1: 0,57) a 190°C resultaram no crescimento controlado de AuNps esféricas estáveis por meses em tolueno e foram manipuladas em cristais e arranjos 2D. Encapsular AuNps com aminoácido lisina estabiliza as AuNps em solução eletrostaticamente e lhes oferece dispersão e estabilidade em água – uma descoberta promissora em direção à pesquisas biológicas importantes⁶⁹.

2.4. Estabilização com Tiol

A estabilização de AuNps com alcanotióis foi apresentada por Mulvaney e Giersig em 1993⁶¹. Eles mostraram a possibilidade de usar tióis com diferentes tamanhos de cadeia. O método de Brust-Schiffrin⁶², publicado em 1994, teve um impacto significativo na comunidade científica, uma vez que permitiu a síntese simplificada de AuNps termicamente estáveis de tamanho controlado e dispersão reduzida pela primeira vez.

A síntese consiste na transferência de AuCl₄⁻ para tolueno usando brometo de tetraoctilamônio como agente de transferência de fase e reduzido por NaBH₄ na presença de dodecanotiol. A fase orgânica muda de cor laranja para marrom escuro em poucos segundos após a adição do borohidreto de sódio.

Figura 7. Esquema da síntese de nanopartículas de ouro estabilizadas em tiol pela ação do borohidreto⁶³.

2.5. Análise multivariada

A necessidade do uso de um programa de análise multivariada surge dos dados instrumentais que, com uma gama de algoritmos podem confundir o operador, além de apresentarem uma falta de um mecanismo para organizar todos os dados obtidos num único arquivo para posterior análise. Pela definição estatística, a análise multivariada consiste na análise de múltiplas variáveis em um único relacionamento ou conjunto de relações.

De modo geral, a análise multivariada refere-se a todos os métodos estatísticos que analisam, simultaneamente, múltiplas medidas sobre cada indivíduo ou objeto sobre investigação. Qualquer análise simultânea de mais de duas variáveis de certo modo pode ser considerada análise multivariada. Uma das características mais interessantes dos instrumentos modernos é o número das variáveis que podem ser medidas em uma única amostra. Um exemplo notável é a intensidade de absorção em um número muito grande de comprimentos de onda, que é registrada em um único espectro. Com essa grande quantidade de dados, surgiu a necessidade de ferramentas sofisticadas para tratá-los e extrair informações relevantes, dando origem à Quimiometria, que é uma área especificamente destinada à análise de dados químicos de natureza multivariada.

Assim é dada uma definição formal de quimiometria: "uma disciplina química que emprega métodos matemáticos e estatísticos para planejar ou selecionar experimentos de forma otimizada e para fornecer o máximo de informação química com a análise dos dados obtidos".

Experimentos envolvendo a análise espectrofotométrica quantitativa de amostras com muitos componentes cujos espectros sejam superpostos são bastante importantes em disciplinas de química analítica. Em geral, as concentrações dos compostos de interesse numa

amostra são determinadas através da resolução de um sistema de equações simultâneas obtido pela lei de Beer em tantos comprimentos de onda quantos forem os analitos. Curvas de calibração são construídas em cada comprimento de onda a partir de soluções padrão de cada analito, a fim de estabelecer constantes de proporcionalidade individuais entre concentração e intensidade de absorção. No caso de misturas simples, muitas vezes obtemos bons resultados por este método. Entretanto, quando se passa para amostras reais, podem surgir problemas devido a interferências espectrais e desconhecimento da real identidade dos compostos de interesse. Nestas situações, a resolução simultânea das equações já não fornece resultados precisos e por isso foram buscados novos métodos para resolver este tipo de problema.

2.5.1. Análise de componentes principais (PCA)

A Análise de Componentes Principais (PCA), introduzida em 1901 por Pearson, é um método estatístico multivariado simples, que pode ser usado para comprimir dados, reduzir a dimensão de conjuntos de dados multivariados, além de extrair características e projetar dados multivariados. Um fator importante para reconhecer padrões estatísticos é o *fator de seleção* ou *fator de extração*. O *fator de seleção* refere-se ao processo pelo qual um espaço de dados é transformado em um fator espaço que, nada mais é do que o conjunto de dados original. No entanto, a transformação é desenvolvida de uma maneira que o conjunto de dados sofra uma redução de dimensão, mas agora com um número menor de fatores “efetivos”. Mais especificadamente, suponhamos ter um vetor x com dimensão p e desejamos transmiti-lo utilizando m números, onde $m < p$. Se simplesmente truncarmos o vetor x , estaremos propagando um erro no tratamento de dados. Assim, uma solução para diminuir os erros seria a utilização da análise de componentes principais, que procura minimizar a taxa de variância. O objetivo principal da análise de componentes principais é a obtenção de um pequeno

número de combinações lineares (componentes principais) de um conjunto de variáveis, que mantenham o máximo possível da informação contida nas variáveis originais.

Na PCA, um número pequeno de componentes pode ser usado, em substituição as variáveis originais, nas regressões, análises de agrupamentos, etc. Os componentes são extraídos na ordem do mais explicativo para o menos explicativo. Vale lembrar que o número de Componentes é sempre igual ao número de variáveis. Porém, alguns Componentes são responsáveis por grande parte da explicação total. A análise de componentes principais (PCA), é talvez a mais antiga e melhor técnica conhecida na análise multivariada.

3. OBJETIVOS

Neste trabalho, o principal objetivo foi investigar a estabilidade de nanopartículas de ouro estabilizadas com diferentes tióis e diferentes estabilizantes poliméricos, utilizando-se basicamente medidas espectroscópicas e de análise multivariada. Os objetivos específicos foram:

- a síntese de nanopartículas de ouro estabilizadas em tiól em uma única rota sintética que não utilizasse solventes orgânicos poluentes;
- a síntese de nanopartículas de ouro estabilizadas em tiól em meio aquoso e que permanecesse estável (sem precipitar nem agregar) por um longo período de tempo;
- investigar a estabilidade das nanopartículas estabilizadas em tióis e capas poliméricas de modo a analisar a solução de AuNps mais estável para futuras aplicações como biossensores.
- Imobilização das AuNPs na forma de filmes finos pela técnica layer-by-layer e estudo de suas propriedades;

4. EXPERIMENTAL

4.1. Materiais

Ácido tetracloroáurico (200mg/mL, Sigma- Aldrich), borohidreto de sódio (Mw 37,83, Vetec), hidrocloreto de polialilamina (PAH),(Alfa Aesar), álcool polivinílico (PVA), (Aldrich Co.), ácido 11- mercaptoundecanóico (11-AMP, Aldrich Co.), ácido 3- mercaptopropiônico (3-AMP, 99 %, Aldrich Co.), ácido polivinil sulfônico (PVS), (Aldrich Co.), foram utilizados sem purificação prévia. Todas as soluções foram preparadas usando água purificada no sistema Millipore modelo Milli-Q com resistividade maior que 18,3 MΩ.cm.

4.2. Síntese de nanopartículas de ouro estabilizadas com PAH:

Nanopartículas de ouro estabilizadas somente com PAH (PAH AuNPs)

PAH AuNPs foram preparadas como segue: 1 mL de solução de NaBH₄ (10 mmol L⁻¹) preparado imediatamente, foi adicionado a 1 mL da solução de HAuCl₄ (2 mmol L⁻¹) e a 1 mL de solução de PAH (1 molL⁻¹). Esta mistura foi gentilmente agitada até a solução torna-se de coloração avermelhada e homogênea.

Nanopartículas de ouro estabilizadas com PAH e tiol (PAH/3-AMP AuNPs)

PAH/3-AMP AuNPs foram preparadas como segue: 1 mL de solução de NaBH₄ (10 mmol L⁻¹) foi adicionado a 1 mL da solução de HAuCl₄ (2 mmol L⁻¹), a 1 mL de 3-AMP (2 mmol L⁻¹) e a 1 mL de solução de PAH (1 mmol L⁻¹). Esta mistura foi agitada até que a solução torna-se de coloração marrom - avermelhada e homogênea.

4.3. Síntese de nanopartículas de ouro estabilizadas com PVA:

Nanopartículas de ouro estabilizadas somente com PVA (PVA AuNPs)

PVA AuNPs foram preparadas como segue: 1 mL de solução de NaBH_4 (10 mmol L^{-1}) preparado imediatamente, foi adicionado a 1 mL da solução de HAuCl_4 (2 mmol L^{-1}) e a 1 mL de solução de PVA (10 mmol L^{-1}). Esta mistura foi agitada até a solução torna-se de coloração arroxeada e homogênea.

Nanopartículas de ouro estabilizadas com PVA e tiol (PVA/11-AMP AuNPs)

PVA/11-AMP AuNPs foram preparadas como segue: 1 mL de solução de NaBH_4 (10 mmol L^{-1}) foi adicionado a 1 mL da solução de HAuCl_4 (2 mmol L^{-1}), a 1 mL de 11-AMP (2 mmol L^{-1}) e a 1 mL de solução de PVA (10 mmol L^{-1}). Esta mistura foi agitada até que a solução torna-se de coloração arroxeada e homogênea.

Ressaltamos que não foram produzidas nanopartículas com PVA e 3-AMP, pois as soluções assim preparadas imediatamente precipitavam, não eram estáveis. Daí, a escolha de um tiol de cadeia maior para os sistema com PVA. Para o sistema com PAH, no entanto, por ambos, PAH e Tiol possuírem cargas, o sistema permanecia estável.

Como o objetivo desse trabalho é investigar qual sistema possui maior estabilidade, não é feita nenhuma comparação quanto ao tamanho da cadeia de tiol utilizada, e sim, quanto ao polieletrólito empregado, carregado (PAH), ou neutro (PVA).

4.4. Imobilização das AuNPs na forma de filmes nanoestruturados

Após a síntese, devido à sua maior estabilização, as PAH/3-AMP AuNPs foram selecionadas e imobilizadas sobre substratos sólidos utilizando-se a técnica de automontagem por interação eletrostática (ELbL). A idéia foi avaliar a possibilidade de imobilização e caracterizar os filmes obtidos, espectroscopicamente e morfologicamente, por se tratar de uma maneira alternativa para a utilização de AuNPs em dispositivos tecnológicos. Os filmes ELbL foram fabricados imergindo o substrato de vidro alternadamente numa solução policatiónica de PAH/3-MPA AuNPs (pH 9) por 10 min, seguido pela imersão numa solução polianiónica de PVS (pH 9) por 5 min. Vale ressaltar que o ajuste de pH das soluções preparadas foi feito mediante a adição de solução de NaOH na concentração de 1M. Após cada camada depositada os filmes foram lavados numa solução de lavagem pH 9. No final do processo, tínhamos um filme composto por bicamadas de (PAH/3-AMP / PVS), com o número desejado de bicamadas.

4.5. Caracterização de soluções de AuNPs

4.5.1. Espectroscopia na região do UV-visível

Espectroscopia UV-Vis se refere à análise da absorção de luz por uma amostra (absorção eletrônica). Luz UV e/ou visível numa faixa de comprimentos de ondas é passada pela amostra, enquanto a quantidade de luz absorvida pela amostra é medida por um espectrofotômetro. Simbolizando a intensidade da luz antes de passar pela amostra por I_0 e a intensidade da luz depois de passar pela amostra por I , tem-se que a transmitância da amostra é definida pela razão (I / I_0) . Assim, a absorbância é determinada como uma função de uma faixa de comprimentos de onda.

A espectroscopia na região do UV-vis foi utilizada para monitoramento da formação de AuNPs em soluções estabilizadas por tióis e capas poliméricas, através da formação de bandas plasmônicas características. Além disso, esta técnica foi importante no estudo da estabilidade das soluções de AuNPs, uma vez que era capaz de monitorar o decaimento da banda plasmônica das soluções, desde o seu preparo. Foi utilizado um espectrofotômetro modelo Hitachi U-2001 pertencente Laboratório de Biofísica Molecular localizado no Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo. As medidas espectroscópicas na região do UV-vis foram feitas posicionando as duas cubetas de quartzo no interior do espectrofotômetro. Em uma das cubetas de quartzo colocou-se a solução de nanopartículas de ouro. Na outra cubeta, colocou-se água do sistema Millipore Milli-Q como branco. A varredura do espectro obtido variou de 800 a 190 nm com resolução de 1nm.

4.5.2. Microscopia eletrônica de Transmissão (MET)

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) permitiu visualizar a distribuição de tamanho de partícula. As amostras de TEM foram preparadas por imersão nas grades de cobre recobertas com carbono nas suspensões de AuNP por 10 min,, e deixados secar à temperatura ambiente. Foi utilizado um microscópio de transmissão eletrônica de 200 kV (TEM, Model CM200; Philips, Netherlands) pertencente ao Instituto de Química da UNESP – campus Araraquara.

4.5.3. Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no infravermelho se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamados nesse caso de *níveis vibracionais*). Os níveis de vibração das moléculas dependem de vários fatores, como geometria molecular, massas dos átomos, e acoplamento de vibrações. Se a molécula receber radiação eletromagnética com a mesma energia de uma dessas vibrações, a luz será absorvida somente se a molécula sofrer uma variação no seu momento dipolar durante essa vibração.

A Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (do inglês, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) (FTIR) é uma técnica de análise onde, ao invés de se coletar os dados variando-se a frequência da luz infravermelha monocromática, a luz IV (com todos os comprimentos de onda da faixa usada) é guiada através de um interferômetro. Depois de passar pela amostra o sinal medido é o interferograma. Realizando-se uma transformada de Fourier no sinal resulta-se em um espectro idêntico ao da espectroscopia IV convencional (dispersiva).

As medidas de FTIR foram obtidas em soluções de AuNps, para monitoramento das bandas características da solução de nanopartículas, e monitoramento das ligações formadas na síntese. As amostras foram preparadas depositando-se cerca de 100µL de solução de AuNPs em triplicata sobre uma placa de vidro BK7 recoberta com uma camada de cromo e outra camada de ouro de 100nm de espessura cada. As medidas foram realizadas no modo reflexão. As medidas foram realizadas em um equipamento Nicolet 470 Nexus, com resolução de 4 cm⁻¹ pertencente Laboratório de Polímeros localizado no Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo.

4.5.4. Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

O espalhamento dinâmico de luz dinâmico (DLS – *Dynamic Light Scattering*) foi utilizado para medir o tamanho das nanopartículas sintetizadas, tendo em vista a distribuição de tamanho da partícula em função de intensidade, área, volume e quantidade. Vale ressaltar que as medidas de espalhamento também foram utilizadas no estudo da estabilidade das AuNPs, mostrando o grau de agregação das mesmas. Foi utilizado um equipamento Keithley Instruments, Inc, modelo KPCI-3116 pertencente Laboratório de Polímeros localizado no Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo.

4.5.5. Potencial Zeta

O potencial zeta é uma técnica utilizada para investigar a estabilidade de suspensões ou emulsões coloidais. A medida baseia-se na carga superficial da partícula em análise, de qualquer camada adsorvida na interface com o meio, e da natureza e composição do meio que a circunda. Esse potencial reflete a carga efetiva nas partículas, que se correlaciona com a repulsão eletrostática entre elas, e com a estabilidade da suspensão. Quanto maior o potencial zeta, mais provável que a suspensão seja estável, pois as partículas carregadas se repelem, e essa força supera a tendência natural à agregação. O valor ideal deve ser maior ou igual a ± 30 mV.

A medida do potencial zeta foi utilizada para medir a carga superficial das nanopartículas, através da velocidade da partícula sob um campo elétrico utilizando-se o aparelho Keithley Instruments, Inc, modelo KPCI-3116 pertencente Laboratório de Polímeros localizado no Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo.

4.6. Caracterização de filmes automontados de PAH/3-AMP AuNPs / PVS

4.6.1. Microscopia de força atômica (AFM)

Os filmes ELbL de PAH/3-AMP AuNPs / PVS fabricados pela técnica de Lbl foram caracterizados por espectroscopia na região do UV-visível, e por microscopia de força atômica (AFM). AFM tem sido utilizado na análise da superfície de materiais sólidos, com dimensões que alcançam a ordem dos nanômetros. Essa técnica é baseada na varredura da superfície do material por uma ponta de prova (tip), registrando – se as forças de atração e repulsão que esta sofre, devido ao contato com a superfície. Ao passar o tip por diferentes regiões da amostra, revelam-se diversas características como morfologia, relevo, rugosidade da superfície, rigidez do material, etc. Neste trabalho, a técnica de AFM foi utilizada na análise da morfologia e rugosidade dos filmes finos. O equipamento utilizado foi um SPM Multimode – Nanoscope III da Digital Instruments. A área de varredura das imagens foi de 10 µm pertencente ao Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo.

4.6.2. Perfilometria

O funcionamento do perfilômetro baseia-se no deslocamento de uma caneta de diamante que se move verticalmente em contato com o filme de interesse, para uma distância e força de contato específicos. O perfilômetro mede pequenas variações de superfície com variação da altura da caneta de diamante. A posição da altura da ponta de diamante gera um sinal analógico, convertido em digital e analisado. Neste trabalho, as medidas de perfilometria foram utilizadas para medir a espessura do filme PAH/3-AuNPs/PVS de 30 bicamadas. À ponteira utilizada foi aplicada uma força de 30 mg para medida da espessura. O equipamento utilizado para as medidas de perfilometria dos filmes PAH/3-AMP AuNPs/PVS foi um Veeco

Modelo Dektak 150 pertencente Laboratório de Polímeros localizado no Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo.

4.7. Estudos da estabilidade

As diferentes soluções foram preparadas em $n = 6$ replicatas e mantidas em diferentes condições. Os quatro diferentes tipos de soluções preparadas foram classificados como:

Solução 1 (PAH AuNPs),

Solução 2 (PAH/3-AMP AuNPs),

Solução 3 (PVA AuNPs), e

Solução 4 (PVA/11-AMP AuNPs).

Vale ressaltar que na preparação das PVA AuNPs, foi utilizado o 11-AMP, um tiól diferente do 3-AMP, pois as AuNps não conseguiam ser estabilizadas pelo tiól de menor cadeia, talvez por não haver interação entre o 3-AMP e o PVA.

As quatro diferentes soluções foram mantidas em condições diferentes, a saber: em estufa com luz a 50°C, em estufa sem luz a 50°C, na temperatura ambiente (25°C) com luz, na temperatura ambiente (25°C) sem luz, e em geladeira (5°C) com luz, e em geladeira (5°C) sem luz.

A vedação das soluções para proteção da luz foi feita embrulhando-se o frasco em papel alumínio. As medidas foram feitas diariamente na primeira semana de análise, e posteriormente feitas a cada 3 dias, visto que não havia mudança significativa nas medidas efetuadas diariamente.

O estudo da estabilidade das soluções de AuNPs foi feito utilizando três tipos de análises: espectroscopia no UV-visível (Hitachi U-2001), Espalhamento de Luz (DLS) (Microtac Zetatrac) e análise visual das soluções (obtidas por fotografias das soluções). O programa computacional utilizado para a análise de componentes principais das amostras obtidas foi o Pirouette 4.0 versão 2.

4.7.1. Análise de componentes principais (PCA)

Neste trabalho, a análise de componentes principais foi utilizada no estudo de estabilidade das nanopartículas de ouro para reduzir o número de dados originais obtidos pela técnica de UV-vis diariamente, e indicar as classes (variáveis) mais importantes e significativas na separação das diferentes soluções de AuNPs preparadas, ou seja, quais variáveis eram capazes de diferenciar as amostras preparadas, e quais eram mais significativas para a estabilidade. O programa utilizado para a análise de componentes principais (PCA) foi o programa *Pirouette* 4.0 versão 2 da Infometrix, Inc.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Síntese das AuNPs estabilizadas com tióis e polímeros

Vários agentes redutores podem ser utilizados para reduzir o sal de ouro, como ácido fórmico, formaldeído, peróxido de hidrogênio, borohidreto de sódio, entre outros. No entanto, o borohidreto foi escolhido devido à rapidez com que as nanopartículas são formadas após sua adição. Vale ressaltar a importância de se quantificar corretamente a quantidade de borohidreto de sódio desejada, já que se trata de um agente redutor forte, e qualquer modificação em relação ao seu preparo pode alterar características da síntese.

Após a síntese, as soluções apresentaram uma coloração avermelhada para soluções de PAH AuNPs. Já para soluções de PVA AuNPs, a coloração obtida foi roxa. Foram obtidos os espectros de absorção relativos à solução de PAH AuNPs e à solução de PAH/3-AMP AuNPs. Os espectros de absorção gerados são devido ao fenômeno de confinamento quântico gerado, causando o surgimento de bandas plasmônicas de superfície, resultando num comprimento de onda ressonante único, que corresponde à banda de absorção plasmônica mencionada. Verifica-se a formação de banda plasmônica característica em ambas as soluções. O espectro de UV-vis para a solução de PAH AuNPs mostrou uma banda de absorção centrada em 540 nm, em comparação com o espectro de PAH/3-AMP AuNPs, que apresentou uma banda em 510 nm, como mostrado na figura 8. Este deslocamento é relacionado, por exemplo, a diferença de tamanho entre os dois tipos de soluções de nanopartículas preparados⁶⁴.

Figura 8. Espectro eletrônico da solução de HAuCl₄ (linha azul), da solução PAH AuNPs (linha preta) e da solução de PAH/3-AMPAuNPs (linha vermelha).

Como a ação do borohidreto de sódio como agente redutor é extremamente rápida, a cinética de crescimento das AuNPs não pode ser monitorada por espectroscopia UV- visível.

Foram obtidas imagens por microscopia eletrônica de transmissão para AuNPs com : (1) PAH; (2) PAH/3-AMP; (3) PVA; (4) PVA/11-AMP. A imagem de MET referete às para PAH AuNPs são mostradas na figura 9.

Figura 9. Imagem obtida por MET das PAH AuNPs.

Imagens obtidas para PAH/3-AMP AuNPs, como mostrado na figura 10, apresentaram a formação de nanoestruturas híbridas na qual AuNps (com diâmetro médio de 3 nm) tendem a se concentrar dentro das nanopartículas do polieletrólito polialilamina (PAH) (diâmetro médio de aproximadamente 100 nm). O inset da figura 10 apresenta o histograma das PAH /3-AMP AuNPs, em número de partículas vs diâmetro, mostrando que essas AuNps apresentam um diâmetro médio de 4 nm. Obs: Esse comportamentento bifásico não foi observado para o sistema com PVA/11-AMP AuNPs, mostrado na figura 13.

Figura 10. Imagem de MET das PAH/3-AMP AuNPs. *Inset:* Número de partículas em função do diâmetro.

Vale ressaltar que a identificação das AuNPs foi possível através do uso da técnica de espectroscopia de Raios-X com energia dispersa (EDX), utilizada para caracterizar amostras através de análise elementar. Na análise de MET acomplada ao EDX da amostra da figura 10, observa-se que os pontos pretos correspondem ao ouro, enquanto que o PAH corresponde às estruturas maiores. Essa estruturação é melhor visualizada na Figura 11.

Figura 11. Imagem de MET de PAH/3-AMP AuNPs em campo escuro.

Ao se observar a imagem de MET das PVA AuNPs, como mostrado na figura 12, verifica-se que apresentam um comportamento similar às PAH AuNPs, encontrando-se dispersas no meio.

Figura 12. Imagem de MET das PVA AuNPs.

Na figura 13, por sua vez, verifica-se a presença de PVA/11-AMU AuNPs. Como já mencionado, quando comparadas às PAH/3-AMP AuNPs, elas não apresentam formação de nanopartículas do polímero estabilizante, como no caso com PAH, figura 10. No entanto, elas apresentam certa dispersão, como nas figuras 9 e 12, porém parte de suas NPs encontram-se aglomeradas impedindo a identificação de uma única nanopartícula em certas regiões.

Figura 13. Imagem de MET das PVA/11-AMU AuNPs. Observa-se a grande tendência de agregação.

A fim de investigarmos as possíveis interações entre as NPs e os polímeros estabilizantes, foram realizadas análises de FTIR das amostras obtidas com PAH, e de seus componentes individuais (PAH e tiol 3-AMP). As amostras foram preparadas na forma de filmes *cast*. Ressalta-se que devido à agregação observada nas imagens das amostras com PVA, não foram realizados estudos de FTIR com esse sistema. A figura 14 mostra os espectros das amostras de PAH, 3-AMP, PAH + 3-AMP, e PAH + 3-AMP + HAuCl_4^- + NaBH_4 , que corresponde às Nps.

A solução de 3-AMP apresenta uma intensa banda de absorção em 1693 cm^{-1} atribuída ao modo de vibração simétrico do grupo C=O presente em tióis⁶⁵, já a ausência de uma banda em 2655 cm^{-1} que corresponde ao modo de vibração simétrica dos grupos S-H⁷⁶ deve-se a interação do S do tiól com o Au presente na lâmina de vidro recoberta com ouro para análise de FTIR no modo reflectância. A solução de PAH apresentou uma banda de absorção em 2922 cm^{-1} atribuída à vibração simétrica dos grupos N-H do NH_3^+ , e duas bandas de absorção fracas em 1603 cm^{-1} e 1509 cm^{-1} correspondendo aos modos de vibração tesoura e balanço do NH_3^+ ⁷⁶. Por sua vez, o espectro obtido para a solução PAH/3-AMP mostra uma diminuição nestas bandas, possivelmente devido à interação entre NH_3^+ do PAH e COO^- do 3-AMP.

Figura 14. Espectro de FTIR para: (I) 3-AMP cast; (II) PAH cast; (III) PAH + 3-AMP cast; (IV) PAH + 3-AMP + HAuCl_4^- + NaBH_4 cast.

Para a solução (PAH/ 3-AMP / HAuCl₄ / NaBH₄), pode-se notar um alargamento da vibração simétrica dos grupos N-H do NH₃⁺, em 2900-3300 cm⁻¹. Através dos espectros de FTIR, e imagens de MET, imagina-se que as nanopartículas estejam ligadas ao tiól por meio do enxofre, enquanto que a ponta de ácido carboxílico do tiól esteja ligada ao nitrogênio presente na extremidade da estrutura do polímero PAH, formando assim a nanopartícula estabilizada. Assim, a banda em 1404 cm⁻¹ pode ser referente ao modo de vibração simétrico do íon carboxilato (C = O) enquanto que a banda em 1184 cm⁻¹ corresponde ao modo de vibração simétrico da ligação C-N⁷⁶, presente nas nanopartículas formadas pela ligação entre o tiól e o polímero PAH.

5.2. Estudo da estabilidade das AuNPs

Foi realizado um estudo detalhado sobre a estabilidade das soluções, estocadas em diferentes condições. Vale ressaltar que estabilidade, neste caso, refere-se à agregação e precipitação das AuNPs estudadas. Foi observado que nenhuma das soluções avaliadas apresentava a formação de precipitados imediatamente após a síntese. As diferentes soluções foram preparadas em n replicatas ($n = 6$) e mantidas em diferentes condições. Os quatro diferentes tipos de soluções preparadas foram classificadas como apresentado na seção experimental.

5.2.1. Análise por Espectroscopia no UV-vis.

Para comparação de estabilidade química entre as quatro soluções de AuNPs (na presença e ausência de tiol), espectros de UV-vis de PAH AuNPs, PAH/3-AMP AuNPs, PVA AuNPs e PVA/11-AMP AuNPs foram obtidos diariamente, até que mudanças na absorbância ou no comprimento de onda não fossem observados. As figuras 15 a 18 mostram os espectros

de UV-vis das quatro AuNps em diferentes temperaturas (5°C, 25°C, 50°C), e condições de luz e escuro.

Analisando a figura 15 de PAH com luz, observa-se que a intensidade da banda de absorção correspondente ao primeiro dia de medida é de 0,25 enquanto que o sistema PAH + 3-AMP com luz, apresenta uma absorbância em 0,45. Já para o sistema com PAH, para o 26º dia, a intensidade da banda é praticamente nula, enquanto para o sistema PAH + 3-AMP a intensidade da banda é de cerca de 0,32. Esse fato mostra a maior estabilidade do sistema contendo o tiol, nessas condições.

Figura 15. Espectros UV-Vis dos sistemas de AuNPs com PAH, mantidas a temperatura de 25°C, no claro e escuro.

Para amostras mantidas no escuro, o sistema contendo somente PAH também apresentou certa estabilidade mesmo após 26 dias. Ou seja, para amostras do sistema PAH

mantidas a 25°C, tanto no escuro quanto no claro, as AuNps com PAH + 3-AMP são mais estáveis que as AuNPs com apenas PAH. Esse fato é melhor visualizado pelos dados de variação da absorbância dos sistemas, apresentados na Tabela 1.

Em relação à amostras do sistema com PAH mantidas à 5°C, como mostrado na figura 16, observa-se que as AuNps com PAH com luz no 26° dia apresentam banda de absorbância com intensidade em 0,025 enquanto que o sistema PAH + 3-AMP apresenta intensidade em 0,15. No escuro, no 26° dia, as PAH AuNPs apresentam banda com intensidade em 0,2, enquanto que o sistema PAH + 3-AMP apresentou intensidade de 0,25. Esses dados estão sumarizados na Tabela 1.

Figura 16. Espectros UV-Vis dos sistemas de AuNPs com PAH, mantidas a temperatura de 5°C, no claro e escuro.

Independente dos valores nominais das intensidades, que obviamente são relativos, e não se pode utilizar para comparar os sistemas (mas são apresentados aqui apenas para

facilitar a análise), é clara a maior estabilidade do sistema contendo o tiol, em ambas as condições de claro e escuro, à temperatura de 5°C. Isto pode ser justificado pelo fato de que as nanopartículas, durante o movimento Browniano e a menor temperatura são mais estáveis, por apresentarem menor agitação térmica, e um espalhamento no UV-vis característico de maior estabilidade. Além disso, observa-se que, comparando as intensidades das bandas num mesmo dia (26º dia), o sistema PAH no escuro é mais estável que o sistema PAH no claro, enquanto que o sistema PAH + 3-AMP no escuro é mais estável que o mesmo sistema no claro, como já esperado, já que a luz tende a acelerar o processo de degradação (neste caso, provavelmente devido maior agitação térmica) das AuNPs.

Figura 17. Espectros UV-Vis dos sistemas de AuNPs com PAH, mantidas a temperatura de 50°C, no claro e escuro.

No sistema com PAH a 50°C, mostrado na figura 17, a interpretação dos dados em função dos valores das intensidades não foi direta, devido à grande flutuação dos valores das intensidades, observados em diferentes dias após a síntese. Contudo, de maneira geral, observamos que, ao contrário do ocorrido para as temperaturas acima, nesse caso, houve uma menor diminuição dos valores da intensidade, para ambos os sistemas, principalmente para as amostras mantidas na luz, que mostraram grande diminuição da intensidade de absorção para as temperaturas de 5 e 25°C (nota-se, entretanto, que o sistema com tiol é mais estável). Uma possível explicação para este fato é de que com a maior temperatura, e devido à maior agitação térmica, dificulta-se o processo de agregação das NPs.

Tabela 1. Intensidade da absorbância na banda de máxima absorção do sistema PAH em relação aos 1º e 26º dias de medidas.

<i>Sistema com PAH</i>	<i>Pico de absorbância no 1º dia</i>	<i>Pico de absorbância no 26º dia</i>	Δ_I
PAH AuNPs a 25°C na luz	0,25	0	0,25
PAH/3-AMPA AuNPs a 25°C na luz	0,45	0,32	0,13
PAH AuNPs a 25°C no escuro	0,27	0,15	0,12
PAH/3-AMP AuNPs a 25°C no escuro	0,42	0,35	0,07
PAH AuNPs a 5°C na luz	0,28	0,025	0,26
PAH/3-AMP AuNPs a 5°C na luz	0,43	0,15	0,28
PAH AuNPs a 5°C no escuro	0,24	0,20	0,04
PAH/3-AMP AuNPs a 5°C no escuro	0,45	0,25	0,20
PAH AuNPs a 50°C na luz	0,24	0,19	0,05
PAH/3-AMP AuNPs a 50°C na luz	0,45	0,38	0,07
PAH AuNPs a 50°C no escuro	0,17	0,12	0,05
PAH/3-AMP AuNPs a 50°C no escuro	0,41	0,38	0,03

No sistema com PVA, as soluções de AuNPs mantidas na luz, e a 25°C, a intensidade da absorbância após 26 dias, tanto para as amostras com apenas PVA, quanto para as amostras com PVA e 11-AMP, é nula, como mostrado na figura 18. Essa pouca estabilidade foi observada também para as amostras mantidas no escuro, porém, nesse caso, a amostra contendo apenas PVA apresentou o menor decaimento da banda de absorção, com uma intensidade remanescente de 0,35 após 26 dias. Esse fato comprova a menor estabilidade das PVA AuNPs, como observado nas imagens de MET. Essa baixa estabilidade, como observado nas imagens de MET, provavelmente é devida a um processo de agregação das AuNPs. A Tabela 2 sumariza os dados.

Figura 18. Espectros UV-Vis dos sistemas de AuNPs com PVA, mantidas a temperatura de 25°C, no claro e escuro

Uma mesma tendência foi observada para todas as amostras com PVA mantidas a 5°C, contendo tiol ou não, como evidenciado na figura 19. Observe que após 26 dias, não é possível identificar bandas de absorção para nenhuma condição. O mesmo efeito foi observado para amostras do sistema com PVA matidas a 50°C como mostrado na figura 20.

Figura 19. Espectros UV-Vis dos sistemas de AuNPs com PVA, mantidas a temperatura de 5°C, no claro e escuro.

Figura 20. Espectros UV-Vis dos sistemas de AuNPs com PAH, mantidas a temperatura de 50°C, no claro e escuro.

Ou seja, com exceção da solução de PVA AuNPs, e mantidas a 25 °C no escuro, todas as outras soluções contendo PVA exibiram uma acentuada degradação, mostrando que a estabilização com PAH é mais efetiva, principalmente com a adição de tiol (sistemas PAH/3-AMP).

Tabela 2. Intensidade da absorbância do sistema PVA em relação aos 1º e 26º dia de medida.

<i>Sistema com PAH</i>	<i>Pico de absorbância no 1º dia</i>	<i>Pico de absorbância no 26º dia</i>	Δ_t
PVA AuNPs a 25°C na luz	0,23	0,0	0,23
PVA/11-AMP AuNPs a 25°C na luz	0,097	0,0	0,097
PVA AuNPs a 25°C no escuro	0,60	0,35	0,25
PVA/11-AMP AuNPs a 25°C no escuro	0,26	0,0	0,26
PVA AuNPs a 5°C na luz	0,38	0,0	0,38
PVA/11-AMP AuNPs a 5°C na luz	0,31	0,0	0,31
PVA AuNPs a 5°C no escuro	0,25	0,0	0,25
PVA/11-AMP AuNPs a 5°C no escuro	0,25	0,0	0,25
PVA a 50°C na luz	0,28	0,0	0,28
PVA/11-AMP AuNPs a 50°C na luz	0,015	0,0	0,015
PVA AuNPs a 50°C no escuro	0,21	0,0	0,21
PVA/11-AMP a 50°C no escuro	0,19	0,0	0,19

5.2.2. Análise da estabilidade por espalhamento de Luz (DLS)

O espalhamento dinâmico de luz dinâmico foi utilizado para medir o tamanho médio das nanopartículas, logo após a síntese, e também em função do tempo decorrido após a síntese. No mesmo equipamento é possível medir o potencial zeta das soluções de AuNPs, como mostrado na Tabela 3, exemplificado para o sistema com PAH.

Tabela 3. Potencial Zeta de soluções de PAH AuNPs e de soluções de PAH/3-AMP AuNPs.

PAH AuNPs	PAH/3-AMP AuNPs
+0,79mV	+ 30,82mV

O potencial zeta medido em soluções PAH AuNPs foi de +0.79 mV, enquanto que para soluções de PAH/3-AMP AuNPs, o valor foi de + 30.82 mV. Considerando que o potencial zeta reflete a repulsão eletrostática entre partículas, e que o valor padrão do potencial zeta igual ou maior que +/- 30 mV é associado à soluções estáveis, pode-se dizer que soluções PAH/3-AMP AuNPs são mais estáveis que soluções PAH AuNPs. É importante mencionar que essas medidas foram tiradas no mesmo dia, 10 dias após o preparo das amostras. Uma possível explicação para o maior valor de potencial das amostras com tiol, é devido à maior quantidade de moléculas de PAH que adsorvem às AuNPs, através de interações eletrostáticas com o tiól, em comparação ao número de moléculas que adsorve às AuNPs sem tiol. A figura 21 ilustra distribuições de tamanho de partícula por espalhamento de luz dinâmico (DLS). Para maior clareza, apenas o sistema com PAH é mostrado (obs: um estudo da variação dos tamanhos das AuNPs com o tempo, através de DLS, foi realizado para ambos os sistemas com PAH e PVA, como será mostrado a seguir). Observa-se uma maior frequência de tamanho ocorrendo numa faixa de 5 a 7 nm para soluções PAH/3-AMP AuNPs, valores que condizem com a média de 3,5 nm encontrada por MET, enquanto soluções PAH AuNPs apresentam uma faixa de tamanho maior entre 30-50 nm. Vale ressaltar o não aparecimento de sinais característicos do polieletrólito no meio. Isso pode ter ocorrido devido

a erros experimentais durante o preparo das soluções para análise por DLS e variações de temperatura do ambiente.

Figura 21. Imagens de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) para PAH AuNPs e PAH/3-AMP AuNPs, respectivamente, da esquerda para a direita.

Um estudo sistemático acerca da distribuição dos tamanhos das AuNPs, para ambos os sistemas com PAH ou PVA foi realizado, analisando-se a distribuição em função do tempo decorrido após a síntese. Os dados são apresentados nas figuras 22 e 23. Nestas análises, as amostras foram mantidas no claro a 25°C.

Figura 22. Variação de tamanho médio de partículas com o tempo (dias) para PAH AuNPs e para PAH/3-AMP AuNPs, como indicado no eixo Y das figuras.

Pela figura 23, observa-se que as PAH/3-AMP AuNPs são, e continuam menores que as AuNps estabilizadas apenas com PAH (com exceção dos dois primeiros pontos da curva das PAH/3-AMP AuNPs, que devem ser devidos a erros experimentais).

Para as soluções de AuNps do sistema com PVA, como mostrado na figura 23, um comportamento oposto é apresentado, ou seja aparentemente o sistema com tiol apresenta menores valores de diâmetros, em função do tempo. Outro ponto importante a observar é que para o sistema com PVA/11-AMP, as amostras apresentam inicialmente um grande tamanho, e tendem a diminuir com o tempo. Não temos explicação para esse fato. O importante a ressaltar nessas medidas, como comprovado por espectroscopia no UV-Vis, é o alto grau de agregação, e falta de estabilidade em ambos os sistemas.

Figura 23. Variação de tamanho de partícula com o tempo (dias) para PVA AuNPs e para PVA/11-AMP AuNPs, da esquerda para a direita, como indicado no eixo Y.

Vale ressaltar que o que ocorre é agregação, seguida de precipitação das AuNPs. Observando as duas figuras 22 e 23, nota-se que com o passar do tempo, as nanopartículas de ouro com apenas polímeros (PAH e PVA) apresentam uma maior tendência à agregação, demonstrando que a presença de tióis favorece a estabilidade das AuNPs.

5.2.3. Análise visual das soluções

As soluções de nanopartículas foram monitoradas diariamente. A variação de cor das soluções está relacionada com os espectros já apresentados na análise por espectroscopia no UV-Vis (item 5.2.1). Para maior clareza, apresentamos nas figuras 24 a 27, as fotografias das soluções em ambos os sistemas com PAH e PVA, obtidas 1, 2, 3 ou 4 semanas após a síntese, mantidas a 25°C e na luz.

Figura 24. Solução de AuNPs a 25°C e luz com (1) PAH/3-AMP; (2) PAH; (3) PVA; (4) PVA/11-AMU, 1 semana após o preparo das soluções

Figura 25. Solução de AuNPs a 25°C e luz com (1) PAH/3-AMP; (2) PAH; (3) PVA; (4) PVA/11-AMU, 2 semanas após o preparo das soluções.

Observando-se a figura 24 , nota-se que a solução de PVA AuNPs (3) começa a perder a intensidade na sua coloração após o período de 2 semana, enquanto que a solução PVA/11-AMU AuNPs tem sua quantidade de precipitado aumentada desde a primeira semana. Já as soluções de PAH AuNPs (2) e PAH/3-AMP AuNPs (1) mantiveram suas colorações, e nelas não se observou formação de precipitados nas duas primeiras semanas.

Figura 26. Solução de AuNPs a 25°C e luz com (1) PAH/3- AMP; (2) PAH; (3) PVA; (4) PVA/11-AMU, 3 semanas após o preparo das soluções.

Nota-se, observando a figura 26, que a solução de PVA AuNPs (3) perde a intensidade na sua coloração por completo após um período de 3 semanas, enquanto que a solução PVA/11-AMU AuNPs (4) não sofre alterações visuais desde a 2ª semana após a síntese. Já as soluções de PAH AuNPs (2), e PAH/3-AMP AuNPs (1) ainda mantiveram sua coloração e nelas não se observou formação de precipitado.

Nota-se na figura 27, que a solução de PAH AuNPs (2), perdeu toda a intensidade de sua coloração, enquanto que a solução de PAH AuNPs (1) manteve sua coloração original mesmo após 4 semanas da data de seu preparo.

Figura 27. Solução de AuNPs a 25°C e luz com (1) PAH/3- AMP; (2) PAH; (3) PVA; (4) PVA/11-AMU, 4 semanas após o preparo das soluções.

5.2.4. Análise estatística (Análise de Componentes Principais)

Apenas através da visualização dos espectros de UV-Vis, relacionados à estabilidade das amostras, fica difícil uma análise acurada sobre a estabilidade das nanopartículas. Diante da premissa, surge a necessidade do uso de um método estatístico que normalize os espectros de modo que não altere a análise final dos espectros, além de diminuir a dimensão do conjunto de dados obtidos.

A análise de componentes principais (PCA) é uma poderosa ferramenta de visualização, que pode representar graficamente a relação entre amostras e variáveis. Além disso, oferece uma maneira de reduzir a dimensão de um conjunto de dados, como é o caso. A PCA encontra combinações lineares das variáveis originais independentes.

Por exemplo, se essa idéia de redução de dimensão de dados é aplicada a uma banana, o comprimento do eixo x da banana corresponde à 1ª componente principal (PC1). Um segundo eixo, perpendicular ao primeiro descreve a 2ª componente principal (PC2). A 3ª componente principal (PC3), é o eixo desenhado a ângulos retos para ambas PC1 e PC2 (Figura 28). A PCA se baseia na idéia de expressar uma matriz X como o produto de outras 2 matrizes – a matriz T de amostras - e a matriz transposta L , de variáveis. X contém n linhas e n colunas, correspondendo ao número de amostras e variáveis independentes, respectivamente. A matriz T contém n linhas e g colunas. A matriz L contém m linhas e g colunas, enquanto que a transposta de L contém g linhas e m colunas. O valor de g é o número de variáveis independentes ou amostras, o qual for menor, chamando de ranking das matrizes. E diante da premissa, se apenas a primeira coluna (k) das matrizes de amostras e variáveis são retidas, então:

$X = \hat{X} = T k L k(T)$ onde $\hat{X}$ é uma estimativa de X , e a então a dimensão dos dados é dito como reduzido.

A análise de PCA foi a ferramenta matemática escolhida para diminuição do tamanho de conjuntos de dados originais – os espectros de UV – visível das nanopartículas de ouro, em todos os sistemas estudados.

Figura 28. Exemplificação das três componentes principais.

Os espectros obtidos pelas medidas no UV-visível forneceram informações a respeito da intensidade da absorbância em cada comprimento de onda fornecido, variando de 190 a 1100nm. Cada absorbância medida corresponde a uma variável do sistema. Levando em consideração que o sistema estudado apresenta sete classes distintas (mês, semana, dia, temperatura, luminosidade, polímero estabilizante e presença ou não de tiól), pode-se notar que o número de variáveis do sistema é enorme, o que torna imprescindível a adoção de um sistema matemático que reduza esse número de variáveis de forma a não danificar o produto final da análise desejada.

Todos os dados dos espectros de UV foram colocados em uma tabela do programa Excel da Microsoft Inc. Na linha superior foram posicionados os diferentes comprimentos de

onda, de 1100 a 190 nm. Na linha vertical esquerda posicionaram-se todas as amostras do sistema, enquanto nas últimas colunas da direita posicionaram-se as classes do sistema:

Cada uma dessas classes foi analisada separadamente ,com o conjunto de absorbâncias resultantes totais, de modo a inferir a importância de cada uma delas na separação das amostras e, portanto na estabilidade das mesmas.

Os dados foram submetidos ao PCA com tipo de pré-processamento centrado na média. Essa escolha se deu pela necessidade de normalização dos espectros obtidos na mesma linha de base, baseados na absorbância máxima de cada espectro – por isso centrado na média.

A seleção de fatores é feita escolhendo o número mínimo de fatores (variáveis) necessário para que haja separação das amostras. UM exemplo é mostrado no gráfico da figura 29.

Figura 29. Seleção de fatores na PCA

Verificando-se o gráfico da figura 29, nota-se que, selecionando um número de fatores igual a quatro, obtêm-se cerca de 94% de separação das amostras por PCA, , como comprovado pela figura 30, um número bastante satisfatório. Qualquer acréscimo neste número de fatores torna-se desnecessário, pois o acréscimo na variância cumulativa é bem pequeno, como mostrado na figura 30, não aumentando de forma significativa a separação das amostras.

		1	2	3	4	5	6
		Variance	Percent	Cumulative	Press Cal		
1	Factor1	3713.409424	75.3883	75.3883	1212.2993		
2	Factor2	580.9710	11.7947	87.1830	631.3283		
3	Factor3	225.5445	4.5789	91.7619	405.7839		
4	Factor4	125.3900	2.5456	94.3075	280.3939		
5	Factor5	96.9085	1.9674	96.2749	183.4854		
6	Factor6	83.7362	1.7000	97.9749	99.7492		
7	Factor7	44.6090	0.9056	98.8806	55.1401		
8	Factor8	26.9639	0.5474	99.4280	28.1763		
9	Factor9	10.3192	0.2095	99.6375	17.8571		
10							
11							
12							
13							
14							

Figura 30. Seleção de fatores na PCA na forma de tabela.

Em seguida, são avaliadas as separações das amostras em 2D variando-se os fatores entre si, como forma de verificação da melhor separação obtida das amostras, se houver, como mostrado na figura 31.

Figura 31. Visualização da separação das amostras levando-se em conta os diferentes dias de medida.

Diante de todas as amostras para análise, fazendo o procedimento de “outlier diagnostics” (diagnóstico de pontos fora da curva), verifica-se as amostras que estão fora do padrão requerido, ou seja, tratam-se de “ pontos fora da curva” que devem ser ignorados, como por exemplo as amostras 55b, 51b, 33b, como mostrado na figura 32.

Figura 32. Exemplo de “Outlier Diagnostics” para as amostras da PCA.

Os estudos da estabilidade das soluções de AuNps pela análise de componentes principais (PCA) mostrou que analisando a influência das sete diferentes classes a que elas foram submetidas, como já mencionado, mês, semana, dia, temperatura, luminosidade, polímero e tiól, as classes mais significantes, as que são mais importantes para a separação das amostras são mês, tiól e luminosidade.

Pode ser visto, observando-se a figura 33, que as amostras são claramente separadas em duas cores diferentes, que correspondem aos diferentes meses, provando a importância do tempo no processo da estabilidade das AuNPs.

Figura 33. PCA das amostras com ativação da classe mês mostrando separação das amostras.

Na figura 34, observamos três situações diferentes, em relação ao uso e dos tipos de tióis utilizados, como 3-AMP (tiol 1), 11-AMP (tiol 2) e ausência de tiol, na presença de PAH ou PVA (chamado de tiol 3). Observando o conjunto de dados mostra-se que houve uma separação clara das amostras em três regiões diferentes. Isso indica que a presença e o tipo de tiol é importante no processo de estabilidade ou não das soluções de AuNPs.

Figura 34. PCA das amostras com ativação da classe tiol com separação das amostras.

O restante das classes a que as soluções de AuNPs foram submetidas, como dias, semanas, temperatura, luminosidade e polímero não foram importantes nem significativas na separação das amostras analisadas. Vale ressaltar que não houve separação entre as amostras que não contém tiól, mas com polímeros distintos. A classe polímeros, como já mencionado, não foi capaz de separar as amostras.

Em suma, analisando a influência das sete diferentes classes a que as AuNPs foram submetidas (mês, semana, dia, temperatura, luminosidade, polímero e tiól), as classes mais significantes, as que são mais importantes para a separação das amostras são mês, tiól e luminosidade, mostrando que tempo e tiól são fundamentais para a estabilidade das AuNps.

5.3. Imobilização das AuNPs em filmes nanoestruturados

Após a preparação e estudo de vários sistemas contendo AuNPs, verificamos a possibilidade de imobilização destas nanopartículas, na forma de filmes automontados por interação eletrostática (LbL). A motivação para este estudo é devido à possível aplicação destes materiais como elementos ativos em sensores e biossensores, onde sua imobilização sobre plataformas adequadas se faz necessária.

A técnica de LbL baseia-se na atração eletrostática entre as camadas do filme. Usa duas soluções de cargas opostas, nas quais o substrato é imerso. A imerção sequencial gera o depósito do material na superfície devido às interações eletrostáticas e hidrofóbicas entre a superfície com carga e o polieletrólito. Uma vez depositada, a camada do polieletrólito inverte a carga superficial do material que é adsorvido ao substrato, permitindo a deposição de uma camada subsequente do material a ser depositado da segunda solução. Este processo pode ser repetido indefinidamente para formar um filme de multicamadas uniforme. O processo tem

sido aplicado para uma variedade de substratos, incluindo vários suportes sólidos, e uma vasta gama de materiais e partículas de tamanho submicrométrico.

Além disso, uma das soluções de polieletrólitos pode ser substituída por proteínas, corantes e nanopartículas, por exemplo. Neste caso, escolhemos apenas o sistema com PAH/3-AMP AuNPs, devido à sua maior estabilidade. Os filmes foram depositados em conjunto com ácido polivinilsulfônico (PVS) como polieletrólito aniônico, para formar filmes finos de PAH/3-AMP / AuNPs/PVS.

5.3.1. Análise do crescimento de filmes finos

A espectroscopia de UV-visível foi utilizada para monitorar o crescimento de filmes finos de PAH/3-AMP AuNPs / PVS. A etapa de crescimento dos filmes é monitorada pelo aumento da intensidade da banda de absorção em função do número de bicamadas do filme. A figura 35 ilustra esse processo. Nota-se que durante o monitoramento do crescimento dos filmes, a banda plasmônica característica praticamente desaparece com a formação do filme fino. Isso porque as nanopartículas passam a não ter mais elétrons livres, o que permite a formação de bandas plasmônicas. A legenda mostra o número de bicamadas de filme presentes em cada espectro obtido. Uma fotografia de um típico filme contendo as AuNps também é mostrada na figura 35.

Figura 35. Espectros de absorvância mostrando crescimento de filmes finos de PAH/3-AMP AuNPs/PVS pelo incremento da absorvância com o número de bicamadas. *Inset*: Imagem de um filme PAH/3-AMP AuNPs/PVS contendo 30 bicamadas.

5.3.2. Análise Morfológica dos Filmes

A análise da morfologia de filmes com 5, 10 e 15 bicamadas de PAH/3-AMP AuNPs/PVS, foi realizada através de AFM, cujas imagens são mostradas na figura 36. As amostras apresentaram aumento de rugosidade com o número de bicamadas dos filmes finos como esperado em uma área varrida de 10 μm x 10 μm .

Figura 36. Imagens de altura 3D em modo tapping correspondendo a (a) 5, (b) 10 e (c) 15 bicamadas dos filmes PAH/3-AMP AuNPs/ PVS em vidro hidrofílico.

As análises acima mostraram ser possível a imobilização das PAH/3-AMP AuNPs na forma de filmes finos nanoestruturados, com elevado controle da quantidade de material adsorvido, através do número de bicamadas. As imagens de AFM mostram que os filmes apresentam elevada rugosidade, o que em alguns casos pode ser desejável, como em aplicações como sensores, onde se deseja que uma maior área específica do filme esteja disponível para reagir com o analito. A espessura média de cada bicamada foi estimada em 17 nm.

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho mostramos a viabilidade de se produzir AuNPs estabilizadas com polieletrólitos e tióis. Ênfase Foi dado ao estudo da estabilidade das soluções.

A formação das AuNPs foi evidenciada pelas medidas de UV-visíveis através da formação de bandas plasmônicas características de partículas de tamanho nanométrico. Para o sistema com PAH, por exemplo, a presença do tiol foi evidenciada pelo deslocamento da banda para 510 nm (PAH/3-AMP), ao passo que AuNps estabilizadas somente com PAH apresentaram banda em 540 nm. Esse deslocamento é relacionado ao acoplamento de ressonância plasmônica que ocorre quando AuNps com tiól são colocados em contato direto.

Análises por FTIR mostraram que para a solução (PAH/ 3-AMP / HAuCl_4 / NaBH_4), o aumento da banda em 1404 cm^{-1} deve-se justamente à formação do íon carboxilato presente na estrutura das nanopartículas. Isso porque através dos espectros de FTIR, e imagens de MET, imagina-se que as nanopartículas estejam ligadas ao tiól por meio do enxofre, enquanto que a ponta de ácido carboxílico do tiól esteja ligada ao nitrogênio presente na extremidade da estrutura do polímero PAH, formando assim a nanopartícula estabilizada. A banda em 2600 cm^{-1} , correspondente ao modo de vibração simétrico do grupo S-H, parece desaparecer, o que pode ser um indicativo das interações ocorrendo entre ouro e enxofre do 3-AMP.

A estabilidade das nanopartículas foi analisada através de um estudo sistemático por espectroscopia no UV-Vis, medidas de espalhamento de luz (DLS) e análise visual. Neste caso, nos referimos à estabilidade da solução em termos de agregação e precipitação das AuNPs. Quatro sistemas foram analisados, com AuNPs contendo PAH ou PVA, e na presença e ausência de tiol. Foi observado que nenhuma das soluções avaliadas apresentava a formação de precipitados imediatamente após a síntese. Analisando todos os espectros de UV-visível

observamos que o sistema PAH + 3-AMP apresentou a maior estabilidade, para qualquer condição experimental, justificando-se a síntese desse tipo de estruturas híbridas, para aplicações que requerem estabilidade a longo prazo. Com exceção da solução de PVA AuNPs, mantidas a 25 °C no escuro, todas as outras soluções contendo PVA não foram estáveis nas condições analisadas, mostrando que a estabilização com PAH é mais efetiva, principalmente as soluções de AuNPs do sistema PAH/3-AMP .

Todos os dados obtidos no estudo da estabilidade por UV-Vis foram processados utilizando-se o método da análise de componentes principais (PCA), analisando a influência das sete diferentes classes a que elas foram submetidas (mês, semana, dia, temperatura, luminosidade, polímero e tiol). Como resultado, foi evidenciado que as classes mais significantes, ou sejam, as que afetam mais a estabilidade das AuNPs são mês, presença ou não de tiol, e luminosidade.

Finalmente, a solução contendo PAH/3-AMP AuNPs foi usada como polieletrólito catiônico, juntamente com ácido polivinilsulfônico (PVS) para mostrar a viabilidade de imobilização das AuNPs na forma de filmes finos.. Filmes com até 30 bicamadas de PAH/3-AMP / PVS foram fabricados com sucesso, sobre lâminas de vidro, com alto controle da espessura, estimada em cerca de 17 nm por bicamada.

7. SUGESTÕES E TRABALHOS FUTUROS

Sugerimos como continuidade deste trabalho um estudo mais detalhado do processo de degradação das soluções, para determinação da ocorrência ou não de dissolução dos íons metálicos, e análise das interações químicas ocorridas durante os processos de agregação e precipitação das nanopartículas.

Sugerimos também um estudo sobre a viabilidade da aplicação das PAH-3-AMP AuNPs como elementos, ou como mediadores eletrônicos em sensores e biossensores.

8. REFERÊNCIAS

- ¹ DURAN, N.; DE MORAIS, P.C.; MATTOSO, L.H.C. **Nanotecnologia** – introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação. São Paulo: Artliber, 2006. 208 p.
- ² SCHWANK, J.; GALVANO, S.; PARRAVANO, G. Isotopic Oxygen Exchange on Supported Ruthenium and Gold Catalysts. **J. Catal.** v.63, p. 415-424, 1980.
- ³ TURKEVITCH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. Nucleation and Growth Process in the Synthesis of Colloidal Gold. **Discuss. Faraday Soc.** v. 11, p. 55-75, 1951.
- ⁴ FRENS, G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. **Nature: Phys. Sci.** v. 241, p. 20-22, 1973.
- ⁵ SCHMID, G.; PFEIL, R.; BOESE, R.; BANDERMANN, F.; MEYER, S.; CALIS, G.M.; VAN DER VELDEN, J.W.A. A $[\text{Au}_{55}(\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3)_3(\text{Cl})_6]$ – A Gold Cluster of Unusual Size. **Chem. Ber.**, v.114, p.3634-3642, 1981.
- ⁶ GIERSIG, M.; MULVANEY, P. Preparation of ordered colloid monolayers by electrophoretic deposition. **Langmuir.** v. 9, n. 12, p.3408-3413, 1993.
- ⁷ BRUST, M.; FINK, J.; BETHELL, D.; SCHIFFRIN, D. J.; KIELY, C. J. Synthesis and Reactions of Functionalised Gold Nanoparticles. **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, p.1655-1656, 1995.
- ⁸ ASLAN, K.; PÉREZ-LUNA, V. H. Surface Modification of Colloidal Gold by Chemisorption of Alkanethiols in the Presence of a Nonionic Surfactant. **Langmuir**, v.18, n. 16, p.6059-6065, 2002.
- ⁹ ANDRES, R. P.; BIELEFELD, J. D.; HENDERSON, J. I.; JANES, D. B.; KOLAGUNTA, V. R.; KUBIAK, C. P.; MAHONEY, W. J.; O. R. G. Self- Assembly of a Two-Dimensional Superlattice of Molecularly Linked Metal Clusters. **Science.** v. 273, n. 5282, p.1690-1693, 1996.
- ¹⁰ BROWN, L. O.; HUTCHISON, J. E. Formation and Electron Diffraction Studies of Ordered 2-D and 3-D Superlattices of Amine-Stabilized Gold Nanocrystals. **J. Phys. Chem. B.** v. 105, p. 8911-8916, 2001.
- ¹¹ BARRAT, G.M. Therapeutic applications of colloidal drug carriers. **Pharma. Sci. Technol. Today**, v.3, n.5, p.163-171, 2000.
- ¹² LACAVAL, Z.G.M. Aplicações biomédicas das nanopartículas magnéticas. In: **Nanotecnologia**. Art Liber Editora, 2006. p.175-181.
- ¹³ PEREIRA, F.C.; ZANONI, M.V.B.; MORETTO, L.M.; UGO, P. Características ópticas e morfológicas de nanoestruturas de ouro. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p.1550-1554, 2007.
- ¹⁴ DANIEL, M.C.; ASTRUC, D. Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. **Chem. Rev.** v.104, p. 293-346, 2004.
- ¹⁵ DREXLER, K. E. Proc. Natl. Acad. Sci. **USA.** v. 78, p. 5275 – 5278, 1981.
- ¹⁶ CRESPILO, F. N. A Nanociência em Parceria com o Meio Ambiente. In: Rubens Pantano Filho, Derval dos Santos Rosa. (Org.). Meio Ambiente Múltiplos Olhares. 1 ed. Campinas: Companhia da Escola, 2005, v. 1, 8 p.
- ¹⁷ PUBLICAÇÃO eletrônica. Disponível em: < www.jornalcomunicacao.ufpr.br/node/5230>. Acesso em: 21 nov. 2009.

-
- ¹⁸ BRUST, M.; WALKER, M.; BETHELL, D.; SCHIFFRIN, D.J.; WHYMAN, R. Synthesis of Thiol-derivatized Gold Nanoparticles in a Two-phase Liquid-Liquid System. **J. Chem. Soc. – Chem. Commun.** p. 801-802, 1994.
- ¹⁹ PUBLICAÇÃO eletrônica. Disponível em: < <http://www.fho-emden.de/~hoffmann/ciexyz29082000.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2009.
- ²⁰ BARNES, W.L.; DEREUX, A.; EBBESEN, T.W. **Nature**. v. 424, p. 824, 2003.
- ²¹ WRIEDT, T. Mie theory 1908, on the mobile phone 2008. **Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer**. v. 109, n. 8, p.1543–1548, 2008.
- ²² BOHREN, C.F.; HUFFMANN, D.R. Absorption and scattering of light by small particles. New York :Wiley-Interscience, 1983.
- ²³ BRAGANÇA, F.C.; VALADARES, L.F.; LEITE, C.A.P.; GALEMBECK, F. Counterion Effect on the Morphological and Mechanical Properties of Polymer-Clay Nanocomposites Prepared in an Aqueous Medium. **Chem. Mater.** v.19, n.13, p.3334-3342,2007.
- ²⁴ ARTEMYEV, M.; KISIEL, D.; ABMIOTKO, S.; ANTIPINA, M.N.; KHOMUTOV, G.B.; KISLOV, V.V.; RAKHNYANSKAYA, A. **J. Am. Chem. Soc.** v. 126, p. 10594, 2004.
- ²⁵ MURPHY, C.J.; JANA, N.R. Controlling the aspect ratio of inorganic nanorods and nanowires. **Adv. Mater.** v.14, p.80-82,2002.
- ²⁶ HERNÁNDEZ, R.M.; RICHTER, L.; SEMANCIK, S.; STRANICK, S.; MALLOUK, T.E. Template Fabrication of Protein-Functionalized Gold-Polypyrrole-Gold Segmented Nanowires. **Chem. Mater.** v.16, p. 3431-3438,2004.
- ²⁷ JIN, R.; CAO, Y.W.; MIRKIN, C.A.; KELLY, K.L.; SCHATZ, G.C.; ZHENG, J.G. Photoinduced Conversion of Silver Nanospheres to Nanoprisms. **Science**. v. 294. n. 5548, p. 1901 – 1903, 2001.
- ²⁸ MALIKOVA, N. et al. Layer-by-Layer Assembled Mixed Spherical and Planar Gold Nanoparticles: Control of Interparticle Interactions. **Langmuir**. v.18, n.9, p.3694- 3697,2002.
- ²⁹ PUBLICAÇÃO eletrônica. Disponível em < http://images.google.com.br/imgres?imgurl=http://liubin-nano.com/Documents/Picture2.jpg&imgrefurl=http://liubin-nano.com/&usq=sNTROLyPTKms_sXfzPDiFe8p2jY=&h=735&w=927&sz=49&hl=pt-BR&start=16&itbs=1&tbnid=ykE9FcagTkt-vM:&tbnh=117&tbnw=147&prev=/images%3Fq%3Dnanoprisms%26gbv%3D2%26hl%3Dpt-BR%26sa%3DX>. Acesso em: 14 dez. 2009.
- ³⁰ SANTOS, I.P.; LIZ-MARZÁN, L.M. Synthesis of Silver Nanoprisms in DMF. **Nano Letters**. v. 2 n.8, p. 903–905, 2002.
- ³¹ SHANKAR, S.; RAI, A.; ANKAMWAR, B.; SINGH, A.; AHMAD, A.; SASTRY, M. Biological synthesis of triangular gold nanoprisms. **Nature mat.** v. 3, p.482-488, 2004.
- ³² PUBLICAÇÃO eletrônica. Disponível em: <http://lqes.iqm.unicamp.br/canal_cientifico/lqes_news/lqes_news_cit/lqes_news_2006/lqes_news_novidades_769_fapesp_violaceina.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2009.
- ³³ MURUGADOSS, A.; CHATTOPADHYAY, A. A ‘green’ chitosan–silver nanoparticle composite as a heterogeneous as well as micro-heterogeneous catalyst. **Nanotechnology**. v.19, p.15603 - 15612, 2008.

-
- ³⁴ KNECHT, M.R.; MARTINEZ, J.C.G.; CROOKS, R.M. Synthesis, Characterization, and Magnetic Properties of Dendrimer-Encapsulated Nickel Nanoparticles Containing <150 Atoms. **Chem. Mater.** v.18, n.21, p.5039-5044, 2006.
- ³⁵ KNECHT, M.R.; CROOKS, R.M. Magnetic properties of dendrimer-encapsulated iron nanoparticles containing an average of 55 and 147 atoms. **New J. Chem.** v.31, p.1349–1353, 2007.
- ³⁶ KNECHT, M.R.; MARTINEZ, J.C.G.; CROOKS, R.M. Synthesis, Characterization, and Magnetic Properties of Dendrimer-Encapsulated Nickel Nanoparticles Containing <150 Atoms. **Chem. Mater.** v.18, n.21, p. 5039-5044, 2006.
- ³⁷ OH, S.K.; NIU, Y.; CROOKS, R.M. Size-Selective Catalytic Activity of Pd Nanoparticles Encapsulated within End-Group Functionalized Dendrimers. **Langmuir.** v.21, n. 22, p.10209-10213, 2005.
- ³⁸ KNECHT, M.R.; MARTINEZ, J.C.G.; CROOKS, R.M. Hydrophobic Dendrimers as Templates for Au Nanoparticles. **Langmuir.** v.21, n. 25, p. 11981-11986, 2005.
- ³⁹ SPINACÉ, E.V.; OLIVEIRA NETO, A.; FRANCO, E.G.; LINARDI, M.; GONZALEZ, E.R. Methods of preparation of metal nanoparticles supported on high surface area carbon as electrocatalysts in proton exchange membrane fuel cells. **Quím. Nova.** v.27, n. 4, 2004.
- ⁴⁰ WEI, G.T.; LIU, F.K.; WANG, C. R. C. Shape Separation of Nanometer Gold Particles by Size-Exclusion Chromatography. **Anal. Chem.** v.71, n.11, p. 2085-2091, 1999.
- ⁴¹ OKU, T.; SUGANUMA, K. Carbon Nanocage Structures Formed by One-Dimensional Self-Organization of Gold Nanoparticles. **Chem. Commun.** p. 2355-2356, 1999.
- ⁴² REUTER, T.; VIDONI, O.; TORMA, V.; SCHMID, G. Two-Dimensional Networks via Quasi One-Dimensional Arrangements of Gold Clusters. **Nano Lett.** v.2, n.7, p.709-711, 2002.
- ⁴³ BLONDER, R.; SHEENEY, L.; WILLNER, I. Three-Dimensional Redox- Active Layered Composites of Au-Au, Ag-Ag and Au-Ag Colloids. **Chem. Commun.** p.1393-1394, 1998.
- ⁴⁴ GUTIÉRREZ-WING, C.; SANTIAGO, P.; ASCENCIO, J. A.; CAMACHO, A.; JOSÉ-YACAMÁN, M. Self-Assembling of Gold Nanoparticles in One, Two, and Three Dimensions. **Appl. Phys. A.** v.71, n.3, p. 237-243, 2000.
- ⁴⁵ OH, S.-K.; KIM, Y.-G.; YE, H.; CROOKS, R. M. Synthesis, Characterization and Surface Immobilization of Metal Nanoparticles Encapsulated within Bifunctionalized Dendrimers. **Langmuir.** v.19, n.24, p.10420-10425, 2003.
- ⁴⁶ BRUST, M.; WALKER, M.; BETHELL, D.; SCHIFFRIN, D.J.; WHYMAN, R. Synthesis of Thiol-derivatized Gold Nanoparticles in a Two-phase Liquid-Liquid System. **Journal of Chemistry Society – Chem. Commun.** p. 801-802, 1994.
- ⁴⁷ MCGILVRAY, K.L.; DECAN, M.R.; WANG, D.; SCAIANO, J.C. Facile photochemical Synthesis of Unprotected Aqueous Gold Nanoparticles. **J. Am. Chem. Soc.** v.128, p.15980-15981, 2006.
- ⁴⁸ LINK, S.; WANG, Z.L.; EL-SAYED, M.A. Alloy Formation of Gold–Silver Nanoparticles and the Dependence of the Plasmon Absorption on Their Composition. **J. Phys. Chem. B.** v.103, n.18, p. 3529–3533, 1999.
- ⁴⁹ GITTINS, D.I.; CARUSO, F. Tailoring the Polyelectrolyte Coating of Metal Nanoparticles. **J. Phys. Chem. B.** v.105, n.29, p.6846-6852, 2001.

-
- ⁵⁰ CORBIERRE, M.K.; CAMERON, N.S.; SUTTON, M.; MOCHRIE, S.G.J.; LURIO, L.B.; RUHM, A.; LENNOX, R.B. Polymer-Stabilized Gold Nanoparticles and Their Incorporation into Polymer Matrices. **J. Am. Chem. Soc.** v.123, n.42, p.10411-10412, 2001.
- ⁵¹ SHUKLA, R. et al. Soybeans as a phytochemical reservoir for the production and stabilization of biocompatible gold nanoparticles. **Small.** v.4, n. 9, p.1425-1436, 2008.
- ⁵² JI, X.; SONG, X.; LI, J.; BAI, Y.; YANG, W.; PENG, X. Size Control of Gold Nanocrystals in Citrate Reduction: The Third Role of Citrate. **J. Am. Chem. Soc.** v. 129, n.45, p.13939-13948, 2007.
- ⁵³ PRADEEP, T.; ANSHUP, A. Noble metal nanoparticles for water purification: A critical review. **Thin solid films.** v.517, n.24, p. 6441-6478, 2009.
- ⁵⁴ KHANNA, P.K.; GOKHALE, R.; SUBBARAO, V.V.V.S.; VISHWANATH, A.K.; DAS, B.K.; SATYANARAYANA, C.V.V. PVA stabilized gold nanoparticles by use of unexplored albeit conventional reducing agent. **Materials Chemistry and Physics.** v. 92, n.1, p.229-233, 2005.
- ⁵⁵ PUBLICAÇÃO eletrônica. Disponível em: < http://pt.wikipedia.org/wiki/Borohidreto_de_s%C3%B3dio>. Acesso em: 21 nov. 2009.
- ⁵⁶ CRESPILO, F. N.; GHICA, M. E.; FLORESCU, M.; NART, F. C.; OLIVEIRA JUNIOR, O. N.; BRETT, C. M. A. A strategy for enzyme immobilization on Layer- by-Layer dendrimer-gold nanoparticle electrocatalytic membrane incorporating redox mediator. **Electrochemistry Communications.** v. 8, n.10, p. 1665-1670, 2006.
- ⁵⁷ GILBERTSON, J.D.; VIJAYARAGHAVAN, G.; STEVENSON, K.J.; CHANDLER, B.D. Air and Water Free Solid-Phase Synthesis of Thiol Stabilized Au Nanoparticles with Anchored, Recyclable Dendrimer Templates. **Langmuir.** v.23, n.22, p.11239-11245, 2007.
- ⁵⁸ WEARE, W. W.; REED, S. M.; WARNER, M. G.; HUTCHISON, J. E. Improved Synthesis of Small (*d*CORE _ 1.5 nm) Phosphine- Stabilized Gold Nanoparticles. **J. Am. Chem. Soc.** v.122, n.51, p.12890-12891, 2000.
- ⁵⁹ VILAIN, C.; GOETTMANN, F.; MOORES, A.; LE FLOCH, P.; SANCHEZ, C. Study of metal nanoparticles stabilised by mixed ligand shell: a striking blue shift of the surface-plasmon band evidencing the formation of Janus nanoparticles. **J. Mater. Chem.** v.17, p. 3509-3514, 2007.
- ⁶⁰ HEATH, J. R.; BRANDT, L.; LEFF, D. V. Synthesis and Characterization of Hydrophobic, Organically-Soluble Gold Nanocrystals Functionalized with Primary Amines. **Langmuir.** v.12, n.20, p.4723-4730, 1996.
- ⁶¹ MULVANEY, P.; GIERSIG, M.; HENGLEIN, A. Electrochemistry of multilayer colloids: preparation and absorption spectrum of gold-coated silver particles. **J. Phys. Chem.** v. 97, n. 27, p. 7061- 7064, 1993.
- ⁶² BRUST, M.; WALKER, M.; BETHELL, D.; SCHIFFRIN, D. J.; WHYMAN, R. J. Synthesis of Thiol-Derivatized Gold Nanoparticles in a Twophase Liquid-Liquid System. **J. Chem. Soc - Chem. Commun.** .p. 801-802, 1994.
- ⁶³ Técnicas de caracterização de nanopartículas metálicas funcionalizadas. Monografia. Larissa Otubo. UNICAMP, 1999, 92 p.
- ⁶⁴ CORBIERRE, M.K.; CAMERON, N.S.; SUTTON, M.; MOCHRIE, S.G.J.; LURIO, L.B.; RÜHM, A.; LENNOX, B.R. Polymer-stabilized gold nanoparticles and their incorporation into polymer matrices. **J. Am. Chem. Soc.** v.123, n.42, p. 10411-10412, 2001.
- ⁶⁵ SOCRATES, G. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies Tables and Charts. New York: John Wiley & Sons, 2001. 347p.