

JUAN CARLOS QUINTÃO

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO EM NANOESTRUTURAS
MACROMOLECULARES E EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2014**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

Q7s
2014

Quintão, Juan Carlos, 1985-

Síntese de nanopartículas de ouro em nanoestruturas
macromoleculares e em sistemas aquosos bifásicos / Juan Carlos
Quintão. – Viçosa, MG, 2014.

xvii, 87f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Maria do Carmo Hespanhol da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Nanopartículas de ouro - Síntese. 2. Sistemas aquosos
bifásicos. 3. Nanotecnologia. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Química. Programa de Pós-graduação em
Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 620.1892

JUAN CARLOS QUINTÃO

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO EM NANOESTRUTURAS
MACROMOLECULARES E EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de fevereiro de 2014.



Sukarno Olavo Ferreira



Maximiliano Luis Munford



Maria do Carmo Hespanhol da Silva
(Orientadora)

*Ao meu amado sobrinho e afilhado
Henri, fonte inesgotável de inspiração.*

*Há quem diga que todas as noites são de sonhos.
Mas há também quem diga que nem todas, só as de verão.
Mas no fundo isso não tem muita importância.
O que interessa mesmo não são as noites em si, são os sonhos.
Sonhos que o homem sonha sempre.
Em todos os lugares, em todas as épocas do ano,
dormindo ou acordado.*

"Sonhos de Uma noite de Verão"

William Shakespeare

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela força que me conduziu até essa conquista; pela sua perfeição, me direcionando pelos melhores caminhos e por estar sempre presente em todos os momentos.

À minha mãe Nélia, por toda força, torcida e fé. Meu maior exemplo de pessoa batalhadora. Essa vitória também é sua!

Aos meus irmãos Juvana, Juarle e Júlie, pelo incentivo, apoio, companheirismo e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu grande amigo Hauster, que mesmo distante sempre me incentivou, torceu e junto comigo acreditou nesse sonho. Valeu “Tio H”!

Aos meus “treinadores”, Igor Boggione, Guilherme Dias, Gabriel Max e Guilherme Max. Pessoas que me acompanharam no laboratório e que sempre estavam dispostos a me ajudar. Muito obrigado, vocês também contribuíram muito para minha formação.

Ao Jeanderson, por contribuir com alguns resultados apresentados neste trabalho. Obrigado menino bom!

Ao Dario e a Anne pela amizade e companheirismo desde o começo do mestrado. Quantos apertos, mas também muitas risadas! Muito obrigado!

À Luciana, Rose, Pamela, Viviane, Paulo, Betânia, Alvaro, Juliana, Raquel, Jardel, Luis Felipe, Jeanderson, Igor Forattini, Beatriz, Leandro, Guilherme Max, Gabriel Max, Igor Boggione, Dario, Marcel, Anne e Andrés por todas as conversas, risadas e os momentos marcantes que vocês proporcionaram em minha vida. Foi muito bom conhecer vocês!

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química por todo suporte oferecido, possibilitando a realização deste trabalho.

Ao Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas, (INCTAA), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro. Ao INCTAA e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos meus orientadores Carminha e Luis Henrique por todo ensinamento, confiança, oportunidade e acima de tudo, pelo exemplo de profissionalismo. Obrigado

por terem despertado o meu interesse em “enxergar mais longe” e por me mostrarem esse novo caminho chamado Ciência!

Aos professores Sukarno e Maximiliano, do Departamento de Física da UFV, por gentilmente aceitarem fazer parte desta defesa.

BIOGRAFIA

Juan Carlos Quintão, filho de Reinaldo Moreira Quintão e Maria Nélia Pinto, nasceu em 28 de setembro de 1985, na cidade de Marliéria, Minas Gerais.

Em fevereiro de 2005 ingressou no curso Técnico de Química Industrial do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, CEFET-MG, diplomando-se como Técnico em fevereiro de 2007.

Em fevereiro de 2007 ingressou no curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Presidente Antônio Carlos, UNIPAC, diplomando-se com o título de Bacharel em julho de 2011.

Trabalhou em laboratórios de empresas, de materiais cerâmicos e siderurgia, no período compreendido entre agosto de 2006 e março de 2012.

Em março de 2012, iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-graduação em Agroquímica da Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2014.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES	xiv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii

Capítulo 1: Revisão de Literatura	1
1. Nanotecnologia.....	1
2. Síntese de Nanopartículas de Ouro.....	2
3. Sistemas Aquosos Bifásicos.....	11
4. Referências	16

Capítulo 2: Síntese de nanopartículas de ouro em nanoestruturas macromoleculares	24
---	-----------

Resumo.....	24
1. Introdução	25
2. Materiais e método	27
2.1. Materiais	27
2.2. Preparo das soluções de copolímero	27
2.3. Preparo das soluções de sal de ouro.....	27
2.4. Síntese das nanopartículas de ouro	28
2.5. Cinética de formação das nanopartículas de ouro.....	28
3. Resultados e Discussão	29
3.1. Análise espectral da mistura aquosa de L64 + $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	29
3.2. Evolução temporal dos espectros eletrônicos da mistura aquosa de L64 + $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	32
3.3. Mecanismo proposto para a síntese de nanopartículas de ouro	33
3.4. Cinética de formação das nanopartículas de ouro pelo copolímero tribloco L64 10 % (m/m) e o sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	36
3.5. Efeito da temperatura na síntese das nanopartículas.....	39
3.6. Cinética das Reações.....	42
3.7. Determinação da ordem das reações de formação das nanopartículas de ouro	43

3.8. Ajuste dos dados experimentais das curvas de cinética do processo de formação das nanopartículas de ouro ao modelo de reações de segunda ordem	48
3.9. Estudo da influência da concentração do sal de ouro e do copolímero L64 no processo de formação das nanopartículas	49
3.9.1. Estudo do processo de formação das AuNps em função da concentração do sal de ouro.....	49
3.9.2. Estudo do processo de formação das nanopartículas de ouro em função da concentração do copolímero L64	52
3.9.3. Estudo do processo de formação das nanopartículas de ouro em L64 3,00 % (m/m) variando a concentração do sal de ouro.....	53
3.9.4. Estudo do processo de formação das nanopartículas de ouro em L64 20,0 % (m/m) variando a concentração do sal de ouro.....	54
3.10. Estudo do efeito da adição de citrato de sódio 0,100 % (m/m) no processo de formação das AuNps.....	55
3.11. Síntese de nanopartículas de ouro em diferentes copolímeros	56
4. Conclusão.....	61
5. Referências.....	62
Capítulo 3: Nova síntese de nanopartículas de ouro em sistemas aquosos bifásicos e aplicação para detecção de melamina em leite.....	65
Resumo.....	65
1. Introdução	66
2. Materiais e Métodos	68
2.1. Materiais.....	68
2.2. Preparo das soluções do copolímero tribloco L64.....	68
2.3. Preparo das soluções dos diferentes sais formadores do SAB	68
2.4. Preparo das soluções de sal de ouro.....	69
2.5. Síntese de AuNps em SAB formado por L64, citrato de sódio e água.....	69
2.6. Síntese de AuNps em SAB formados por L64 e diferentes eletrólitos.....	69
2.7. Preparo dos Brancos.....	70
2.8. Espectro eletrônico das AuNps.....	70
2.9. Efeito do pH na cinética de formação das AuNps em fase superior do SAB formado por L64, citrato de sódio e água	70
2.10. Detecção de melamina em leite	71
3. Resultados e Discussão	72
3.1. Síntese de AuNps em SAB formado por L64, citrato de sódio e água.....	72

3.2. Efeito do pH na cinética de formação das AuNps sintetizadas em SAB formado por L64, citrato de sódio e água	73
3.3. Síntese de AuNps em SAB formados por L64, ZnSO ₄ , Li ₂ SO ₄ , MgSO ₄ , (NH ₄) ₂ SO ₄ , TartNa, KSCN e NaSCN.....	75
3.4. Interação das AuNps sintetizadas em SAB com melamina.....	77
4. Conclusão.....	83
5. Referências.....	84

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: Revisão de Literatura

- Figura 1.** AuNps estabilizadas através do efeito estérico por macromoléculas. 7
- Figura 2.** Representação dos copolímeros Dibloco (A) e Tribloco (B). 8
- Figura 3.** Estrutura química de copolímero tribloco formado por dois grupos EO (extremidades) e um grupo PO (centro). 9
- Figura 4.** Espectro UV-Vis de AuNps formadas pelo copolímero tribloco L64 e HAuCl_4 10
- Figura 5.** Suspensão coloidal de AuNps formadas pelo copolímero tribloco L64 e $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 11
- Figura 6.** Composições químicas para um ponto de mistura do SAB formado pelo copolímero tribloco L64+citrato de sódio+água na temperatura de 25 °C. 12
- Figura 7.** Diagrama de fase expresso em coordenadas retangulares de um SAB formado por um polímero e um sal. 13
- Figura 8.** Variação das propriedades termodinâmicas extensivas e conservação das intensivas em função das diferentes composições globais do SAB. 14

CAPÍTULO 2: Síntese de nanopartículas de ouro em nanoestruturas macromoleculares

- Figura 1.** Espectro eletrônico da mistura da solução 10% (m/m) do copolímero tribloco L64 com a solução $0,300 \text{ mmol kg}^{-1}$ do sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ à temperatura de 25 °C. 28
- Figura 2.** Espectros eletrônicos de solução $0,0500 \text{ mmol kg}^{-1}$ do sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em água à temperatura de 25 °C (190 a 900 nm). 29
- Figura 3.** Espectros eletrônicos de solução 10 % (m/m) do copolímero L64 em água à temperatura de 25°C (190 a 900 nm). 31
- Figura 4.** Espectros eletrônicos da solução resultante da mistura de L64 10% (m/m) e $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ $0,300 \text{ mmol kg}^{-1}$ a cada 2,5 minutos pelo período de 2 horas. 32
- Figura 5.** Representação da primeira etapa do processo de síntese das AuNps. 34

Figura 6. Representação da segunda etapa do processo de síntese das AuNps.....	34
Figura 7. Acompanhamento visual da formação de AuNps através da mistura de solução aquosa de L64 10 % (m/m) e solução aquosa de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,300 mmol kg^{-1} durante 2 horas.....	35
Figura 8. Curva do processo de redução do ânion AuCl_4^- em função do tempo.....	36
Figura 9. Curva do processo de formação das AuNps em função do tempo.	37
Figura 10. Comparação das curvas de formação das AuNps e de redução dos ânions AuCl_4^- na temperatura de 25 °C.....	38
Figura 11. Comparação das curvas de formação das AuNps e de redução dos ânions AuCl_4^- em diferentes temperaturas (A) 10°C; (B) 15°C; (C) 35°C; e (D) 45°C.	38
Figura 12. Comparação das curvas de formação de AuNps nas temperaturas 10, 15, 25, 35 e 45°C.	39
Figura 13. Comparação das curvas de redução do ânion AuCl_4^- nas temperaturas de 10, 15, 25, 35 e 45 °C.....	41
Figura 14. Curvas do processo de redução do ânion AuCl_4^- (220 nm) e de formação das AuNps (540 nm) ajustadas ao modelo de reações de primeira ordem nas temperaturas (A) 10, (B) 15, (C) 35 e (D) 45 °C.	46
Figura 15. Processo de formação das AuNps na temperatura de 45°C ajustado ao modelo de reações de segunda ordem.....	48
Figura 16. Curvas do processo de formação das AuNps em L64 10 % (m/m) e concentração de sal de ouro de 0,0500 a 0,300 mmol kg^{-1}	49
Figura 17. Curva de ajuste ao modelo de reações de primeira ordem do processo de formação das AuNps sendo a concentração de L64 10 % (m/m) e de sal de ouro 0,0500 mmol kg^{-1}	51
Figura 18. Curvas de influência da concentração de copolímero no processo de formação das AuNps.....	52
Figura 19. Cinética do processo de formação das AuNps em L64 3,00 % (m/m) e diferentes concentrações de sal de ouro em mmol kg^{-1}	54
Figura 20. Cinética do processo de formação das AuNps em L64 20,0 % (m/m) e diferentes concentrações de sal de ouro em mmol kg^{-1}	55

Figura 21. Cinética de formação das AuNps em L64 10% (m/m) e L64 10 % (m/m) + citrato de sódio 0,100 % (m/m). 56

Figura 22. Deslocamento espectral da banda de absorção das AuNps devido a presença de CitNa para maiores comprimentos de onda..... 56

Figura 23. Espectros eletrônicos do processo de formação das AuNps a partir dos copolímeros F68 (A), P123 (B) e 17R4 (C). 58

Figura 24. Contribuição dos blocos EO e PO e massa molar dos copolímeros no processo de formação das AuNps..... 59

CAPÍTULO 3: Nova síntese de nanopartículas de ouro em sistemas aquosos bifásicos e aplicação para determinação de melamina em leite

Figura 1. AuNps sintetizadas em SAB formado por L64 e citrato de sódio..... 72

Figura 2. Espectro eletrônico das AuNps sintetizadas em SAB formado por L64, citrato de sódio e água..... 73

Figura 3. Cinética de formação de AuNps em diferentes pHs em FS do SAB formado por L64, citrato de sódio e água..... 74

Figura 4. Espectros eletrônicos das AuNps em pH 6 e 12..... 75

Figura 5. Espectros da FS de diferentes SAB formados por L64 e diferentes eletrólitos. 76

Figura 6. Deslocamento da banda de ressonância plasmônica de superfície devido à interação das AuNps sintetizadas em SAB com melamina..... 78

Figura 7. Mecanismo proposto para mudança de cor das AuNps na presença de melamina. 79

Figura 8. Mudança de cor das AuNps em SAB na presença de diferentes concentrações melamina, (A) sem adição de melamina e (B) com adição de melamina. 80

Figura 9. Curva analítica de melamina em SAB formado por AuNps. 81

Figura 10. Amostras de melamina em leite em diferentes concentrações adicionadas em SAB formado por AuNps, (A) logo após a adição da amostra e (B) 21 horas após a adição da amostra..... 82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Constantes de velocidade de reação para o processo de redução do ânion AuCl_4^- em diferentes temperaturas.	47
Tabela 2. Massa molar (MM) e quantidade de grupamentos EO e PO dos copolímeros utilizados na síntese de AuNps.	57

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

AuNP: Nanopartícula de ouro
°C: Grau Celsius
PEO: Poli (óxido de etileno)
PPO: Poli (óxido de propileno)
CitNa: Citrato de Sódio
pH: Potencial de Hidrogênio iônico
TartNa: Tartarato de Sódio
SAB: Sistema Aquoso Bifásico
nm: Nanômetro
CMC: Concentração micelar crítica
DNA: Ácido desoxirribonucléico
EO: Óxido de etileno
PO: Óxido de propileno
UV-Vis: Ultravioleta visível
%: Porcentagem
FS: Fase superior
FI: Fase Inferior
CG: Composição global
CLA: Comprimento da linha de amarração
g: Grama
ABS: Absorbância
s: segundo
T: Temperatura
P: Pressão
V: Volume
t: Tempo
dm³: Decímetro cúbico
mmol: Milimol
kg: Quilograma
MM: Massa molar
Mel: Melamina
mg: miligrama

$\mathbf{j}$: Velocidade de conversão

$\mathbf{r}$: Velocidade de reação

$\mathbf{k}$: Constante de velocidade

$\ln$: Logaritmo neperiano

ε : Absortividade molar

$\mathbf{L}$: Comprimento do caminho óptico

$\mathbf{C}$: Concentração

C_p^S : Concentração de polímero na fase superior

C_p^I : Concentração de polímero na fase inferior

C_s^S : Concentração de sal na fase superior

C_s^I : Concentração de sal na fase inferior

RESUMO

QUINTÃO, Juan Carlos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2014. **Síntese de nanopartículas de ouro em nanoestruturas macromoleculares e em sistemas aquosos bifásicos.** Orientadora: Maria do Carmo Hespanhol da Silva. Coorientador: Luis Henrique Mendes da Silva.

A síntese de nanopartículas de ouro (AuNps) através de copolímeros tribloco e do sal de ouro $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ foi estudada. O estudo cinético da formação de AuNps através dos copolímeros L64, F68, P123, L35, L31, 10R5, 17R4 e Poly(PEO-PPO) e o sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, foi realizado. Foi avaliado o efeito da estrutura molecular desses copolímeros no processo de formação das AuNps, onde foi verificado que soluções aquosas de L64, F68, P123 e 17R4 misturadas, separadamente, com solução aquosa de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, formavam AuNps, enquanto que em soluções aquosas de L35, L31, 10R5 e Poly(PEO-PPO) misturadas, separadamente, com solução aquosa de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, não formavam AuNps. Para o copolímero tribloco L64, foram realizados estudos cinéticos nas temperaturas de 10, 15, 35 e 45°C. Aplicando os modelos de cinética de reações para o processo de redução do íon AuCl_4^- , e para o processo de formação das AuNps, foi verificado que o processo de redução do íon AuCl_4^- se ajusta ao modelo de reações de primeira ordem, enquanto que o processo de formação das AuNps não se ajusta a esse modelo e nem ao modelo de reações de segunda ordem. Além desse estudo de síntese de AuNps utilizando copolímeros, foi realizada, pela primeira vez, a síntese de AuNps em sistema aquoso bifásico (SAB). As AuNps foram sintetizadas primeiramente no SAB formado por L64+citrato de sódio+água. Um estudo cinético de formação das AuNps foi realizado com a fase superior (FS) desse SAB em diferentes pHs. Foi observado que à medida que o pH aumenta, mais AuNps são formadas. Posteriormente, a síntese foi realizada em outros SAB formados por L64 e diferentes eletrólitos. Foi observada a formação das AuNps nos SAB contendo citrato de sódio, tartarato de sódio, Li_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e MgSO_4 , enquanto que não ocorreu formação de AuNps nos SAB contendo NaSCN , KSCN e ZnSO_4 . Finalizando, foram realizados experimentos para detecção de melamina em amostra de leite utilizando o SAB formado por L64+Citrato de sódio+água. A mudança de coloração da FS contendo as AuNps, foi observada na presença de melamina, sendo possível sua detecção.

ABSTRACT

QUINTÃO, Juan Carlos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, february, 2014. **Synthesis of gold nanoparticles in macromolecular nanostructures and aqueous two phase system.** Adviser: Maria do Carmo Hespanhol da Silva. Co-Adviser: Luis Henrique Mendes da Silva.

The gold nanoparticles synthesis (AuNps) through triblock copolymers and the gold salt $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ was studied. The formation study kinetic of AuNps through copolymer L64, F68, P123, L35, L31, 10R5, 17R4 and Poly (PEO-PPO) and salt $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ was also performed. Was evaluated the molecular structure effect these copolymers in the nanoparticle formation process, where it was observed that aqueous solutions of L64, F68, P123 and 17R4, mixed separately with aqueous solutions $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, formed AuNps, while in aqueous solutions L35, L31, 10R5 and Poly (PEO-PPO) mixed, separately, with aqueous solution $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, no AuNps formation was observed. For the triblock copolymer L64, kinetic studies were carried out at temperatures of 10, 15, 35 and 45 °C. Applying models of reactions kinetics to reduction process of AuCl_4^- ion, and to formation process of AuNps was observed that the reduction process of AuCl_4^- ions fit reaction first order model, while the formation process AuNps, does not fit this model nor reaction second order model. Beyond this AuNps synthesis study through copolymers, was performed, for the first time, the AuNps synthesis in aqueous two phase system (ATPS). The AuNps were first synthesized in the ATPS formed by L64+sodium citrate+water. A kinetic study AuNps formation was performed with the top phase (TP) this ATPS at different pHs. Was observed that as the pH increases, more AuNps are formed. Subsequently, the synthesis was performed in other ATPS consisting of L64 and different electrolytes. Was observed the AuNps formation in the ATPS containing Sodium Citrate, Sodium Tartrate, Li_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and MgSO_4 , while there was not AuNps formation in ATPS containing NaSCN, KSCN and ZnSO_4 . Finally, experiments for the melamine detection in milk sample were performed using the system formed by L64+sodium citrate+water. The FS color change containing the AuNps was observed in the presence of melamine, it is possible to detect.

Capítulo 1

Revisão de Literatura

1. Nanotecnologia

Nos últimos anos a nanociência e a nanotecnologia vêm crescendo em vários campos da ciência. Com a nanociência e nanotecnologia cria-se uma expectativa de melhoria na qualidade de vida e na preservação do meio ambiente, com processos mais limpos e de maior eficiência energética.¹

Os primeiros fundamentos da nanotecnologia foram mencionados em 1959 por Richard Feynman, que descreveu a capacidade de manipular materiais na escala de átomos e moléculas individuais, sugerindo a construção e manipulação átomo a átomo de objetos em escala nanométrica.¹ Posteriormente esse termo foi usado somente em 1974 por Norio Taniguchi, o qual se referiu à capacidade de desenvolver materiais precisamente em níveis nanométricos.²

Devido à sua multidisciplinaridade, a nanotecnologia vem sendo alvo de pesquisa nas mais diversas áreas, proporcionando assim grande desenvolvimento aliado à evolução tecnológica. Dentre esses benefícios podemos citar avanços tecnológicos no desenvolvimento de medicamentos, descontaminação de água, comunicação e produção de materiais resistentes e leves.²

Embora o significado de nanotecnologia possa variar nos diferentes campos da ciência, esse termo pode ser definido como a compreensão, controle e reestruturação da matéria na ordem de nanômetros (nm), criando materiais com novas propriedades e funções,³ e distinguindo-se de outros materiais não somente pelo tamanho, mas sim pela manifestação dessas novas propriedades obtidas nessa escala de tamanho, uma vez que estas propriedades dos materiais são observadas na faixa de 1 a 100 nm.⁴

Em outras escalas de tamanho, como micro ou macroscópico, tais propriedades como a resistência a grandes variações de temperatura, a variedade de cores, as alterações da reatividade química e a condutividade elétrica não eram observadas.⁵ Nessa escala são construídos os blocos, nos quais as propriedades fundamentais são definidas e ajustadas em função do tamanho, forma e padrão do nanomaterial.¹

O modo na qual a matéria é organizada em estruturas maiores, também influencia em suas características e propriedades, buscando assim o controle em nível de nanoescala.¹ Reorganizar a matéria em nanoescala é um método para se obter funcionalidade, onde essa reorganização se dá por meio de interações fracas.¹ A funcionalidade dos nanomateriais, responsável pelas suas diversas aplicações pode ser definida como a capacidade de realizar funções específicas; já o termo funcionalização se refere à execução de algumas funções químicas ou biológicas através da manipulação desses materiais.¹

Materiais funcionalizados como nanocristais, nanopartículas, nanofios, nanofitas, nanotubos e nanocompósitos podem ser aplicados em catálise, síntese de colóides, processos fotoquímicos, desenvolvimento de sensores e dispositivos eletrônicos, aplicações médicas, obtenção de novos fármacos e controle ambiental.^{6,7}

Diante dos conceitos apresentados pode-se concluir que a nanotecnologia tem por objetivo focar no projeto, caracterização, produção e aplicação de sistemas e componentes em nanoescala.⁸ A mesma possui um vasto campo de aplicações, dentre os quais vale a pena ressaltar uma relevante área que é a medicina, buscando novos tratamentos médicos e diversas inovações e possibilidades de combate a enfermidades. Um potencial relevante da nanotecnologia nessa área seria o desenvolvimento de nanopartículas para liberação controlada de drogas e diagnóstico de genes.²

Investimentos em nanotecnologia são da ordem de bilhões de dólares por parte dos órgãos e agências de fomento em pesquisa e desenvolvimento em todo mundo, com destaque para as nanopartículas que movimentam recursos de bilhões anuais.¹ Pode-se citar os Estados Unidos, Japão, China e Coréia do Sul como os países que mais investem em programas e patentes em nanotecnologia.⁵

2. Síntese de Nanopartículas de Ouro

O ouro, desde a antiguidade, foi objeto de desejo dos homens devido às suas admiráveis características macroscópicas e ao seu alto valor agregado. Nos dias atuais, dentre os metais, o ouro ainda continua sendo desejado devido ao seu alto valor. Porém, para fins científicos e objeto de estudo, o ouro que vem se destacando e tem despertado o interesse de muitos pesquisadores é o ouro coloidal, devido às suas novas e diversas características apresentadas nessas dimensões.

Devido ao vasto campo de pesquisa e áreas de conhecimento nas quais pode atuar, o ouro em escala nanométrica vem sendo fonte de muitos estudos, desempenhando importante papel e contribuindo para o desenvolvimento da nanotecnologia. A estabilidade química elevada, associada ao simples processo de síntese e modificação da superfície das nanopartículas de ouro, contribuiu muito para a utilização das mesmas em diversas aplicações.⁹ Essas nanopartículas de ouro (AuNps) têm sido alvo de interesse devido às suas propriedades eletrônicas, ópticas, térmicas e catalíticas, com aplicação nos diferentes campos interdisciplinares da física, química, biologia, medicina e ciência dos materiais.¹⁰ A exploração dessas propriedades tem permitido a aplicação das AuNps na construção de biosensores, sistema de liberação gradativa de drogas, lubrificantes, células solares, catálise, dentre outros,¹¹ como, por exemplo, explorando a capacidade das nanopartículas de ouro de interagir com macromoléculas, que também tem sido usada em processos de encapsulação de materiais de interesse clínico.¹²

As AuNps podem ser preparadas por métodos físicos ou químicos.¹³ Técnicas físicas como deposição a vácuo e métodos de ablação a laser são usados para transformar ouro sólido maciço em nanopartículas,¹⁴ porém esses métodos físicos apresentam processos de preparação complexos e demorados além do alto custo dos equipamentos.¹³ Os métodos químicos, mais utilizados, apresentam vantagens como o fácil controle do tamanho e forma das AuNps, e na funcionalização da superfície das partículas por grupos funcionais, que são fundamentais para determinadas aplicações específicas como, por exemplo, na elaboração de sensores.¹⁵

Nos métodos químicos, compostos de ouro, como o ácido cloroáurico, são reduzidos e o crescimento das partículas é controlado.¹³ Devido à alta energia da superfície das AuNps, a maioria dos sistemas podem sofrer agregação caso a superfície esteja sem proteção ou passivação.¹⁶ Em decorrência disso, estabilizantes devem ser utilizados para alterarem as propriedades da superfície das AuNps, impedindo assim que as mesmas formem agregados.

Após Faraday obter a redução de um sal de ouro em 1857, a preparação de AuNps com tamanho e forma controladas obteve maior atenção a partir da segunda metade do século XX.¹⁷

As AuNps podem ser preparadas por abordagens “top down” ou “botton up”.¹⁷ Na abordagem “botton up” que significa “de baixo pra cima”, os materiais são construídos através de átomos ou moléculas individuais, enquanto que na abordagem

“top down” que significa “de cima para baixo”, ocorre uma quebra de uma quantidade do material em nanopartículas.¹⁸ O método “top down” apresenta algumas limitações em relação ao tamanho, forma e também à funcionalização das nanopartículas.¹⁹ Em contra partida, no método “botton up”, as nanopartículas se originam de moléculas individuais por meio de redução química ou biológica.²⁰ Essa abordagem tem proporcionado uma modelagem com formato menor e mais preciso que a abordagem top down.²¹ Este método de redução química envolve a nucleação e crescimento sucessivo; esses, quando concluídos no mesmo processo, são chamados de síntese *in situ* e caso contrário, são chamados de método de crescimento de sementes.¹⁷

Dentre as metodologias de síntese química utilizadas, podem-se citar os métodos redox, eletroquímico, fotoquímico, crescimento de semente, síntese modelo, síntese modelo de microemulsão, síntese por microondas, etc.⁷

O método Turkevich-Frens é o procedimento mais popularmente usado para a síntese de AuNps com tamanhos entre 10 e 60 nanômetros de diâmetro.¹³ AuNps com tamanhos numa faixa de 20 a 40 nm foram sintetizadas por este método variando-se o pH da solução.²²⁻²⁵ Nesse método o citrato de sódio funciona como agente redutor e também como estabilizante das AuNps, que são reduzidas a partir do ácido cloro áurico (HAuCl₄) e este processo ocorrendo na faixa de temperatura de ebulição da água.¹³ Em maiores concentrações de citrato, as AuNps se estabilizam mais rapidamente com tamanhos menores, enquanto que em baixas concentrações de citrato são formadas AuNps com tamanhos maiores.²⁶ Nesse processo de muitos passos, pode-se citar como passo inicial a oxidação do citrato produzindo acetona dicarboxi, seguido da redução do sal áurico a sal auroso e ouro zero, sendo que esses últimos se aglomeram para a formação das AuNps, e essas são estabilizadas pela acetona dicarboxi que é resultado da oxidação do citrato, não sendo, dessa forma, estabilizadas pelo próprio citrato.¹⁷

Mulvaney e Giersig foram os responsáveis sobre os primeiros relatos a respeito de AuNps estabilizadas com tiolatos.²⁷

O método Brust-Schiffrin foi o primeiro a preparar AuNps estabilizadas com tiolato por síntese *in situ*.²⁸ AuNps mais hidrofóbicas, com diâmetros na faixa de 1 a 8 nm, são preparadas por este método.¹³ Derivados de ouro são reduzidos com borohidreto de sódio em solvente orgânico e na presença de ligantes de tiol, usando um sistema líquido-líquido bifásico ou um solvente adequado.¹³ Essas AuNps são estabilizadas por ligações relativamente fortes de Au-S.¹⁷ Este método também vem sendo utilizado para sintetizar clusters,¹⁷ que são partículas menores que 1 nm e são precisamente definidas

sem polidispersividade, enquanto que, o termo nanopartículas é usado no caso em que ocorre dispersividade, como por exemplo na mistura de vários clusters.²⁹

No início dos anos 80, Schmid publicou sobre o cluster de Au₅₅ estabilizado com fosfina, o qual ficou conhecido como cluster de Schmid.³⁰ Esse cluster apresentava a seguinte fórmula molecular [Au₅₅(PPh₃)₁₂Cl₆], tendo sua estrutura cristalina bem caracterizada por raios – X.³¹

Outros ligantes que podem ser citados são aqueles que possuem grupos eletronegativos como amina, carboxila, carbonila e fenol.¹⁷ As aminas merecem destaque como ligantes de AuNps devido a sua presença em sistemas biológicos e ambientais.³²⁻³⁸

Os lipossomos, que são agregados supramoleculares anfifílicos de lipídios, também podem ser usados como micelas reversas para síntese de AuNps.¹⁷

A biossíntese e a síntese verde também são utilizadas na preparação de AuNps. Nesses métodos de síntese, microorganismos e biomoléculas atuam tanto como agente redutor como estabilizador.¹⁷

Devido à abundância e presença dos grupos carboxila, carbonila, hidroxila e fenol nos extratos de fonte natural, os íons de ouro são reduzidos e as AuNps estabilizadas. Este tipo de síntese é simples, pois mistura-se os extratos com solução aquosa de HAuCl₄ até a mudança de cor para vermelho ou roxo.³⁹

A quitosana, que é o segundo polímero natural mais abundante do mundo apresenta uma boa solubilidade em água e também biocompatibilidade; ela estabiliza as AuNps com seus grupos amina e o efeito estérico da sua própria estrutura.^{40,41} A quitosana também é utilizada como agente redutor e estabilizador, caracterizando assim uma síntese totalmente verde.⁴²

Pode-se destacar também a estabilização por microorganismos, que se refere a um notável modo de biossíntese de AuNps. Até agora alguns tipos de microorganismos como, por exemplo, bactérias, fungos, actinomicetos e leveduras têm sido usados para a síntese de AuNps.¹⁷ A abundância de grupos carboxila nos microorganismos são responsáveis pelo principal papel na redução dos íons de ouro,⁴³ enquanto que a abundância de grupos eletronegativos como amina, carboxila, tiol, disulfur contribuem para a estabilização das AuNps.¹⁷

O método de crescimento de sementes também é utilizado para a síntese de AuNps, que, comparado com a síntese *in situ*, aumenta as partículas passo a passo, sendo fácil o controle do tamanho e forma das AuNps.¹⁷ Esse método envolve dois

passos, sendo que primeiramente sementes de AuNps de pequenos tamanhos são preparadas e posteriormente essas sementes são adicionadas em soluções contendo HAuCl_4 juntamente com os agentes redutores e estabilizadores, e novamente o Au^0 reduzido cresce na superfície da semente para formar AuNps de tamanhos maiores.¹⁷ Os agentes redutores usados no segundo passo reduzem Au^{III} para Au^0 somente na presença de sementes de Au que atuam como catalisadores, e com isso os novos Au^0 reduzidos podem somente agregar na superfície das sementes de Au, não formando com isso novas partículas de nucleação na solução.¹⁷ Esse método é muito eficiente pra sintetizar precisamente AuNps mono dispersadas em tamanhos maiores de até 300 nm e com formas bem definidas.⁴⁴⁻⁴⁸

A utilização de pulso de radiação é um outro método bottom up que utiliza a irradiação de raios gama para a redução de Au^{III} , em vez da tradicional adição de agentes redutores químicos.⁴⁹

Os métodos top down são realizados a partir de uma quantidade de substrato de ouro, geralmente um filme, seguido por um procedimento em nanoescala padronizado, no qual a maior parte do filme de ouro é removido, produzindo AuNps com forma e tamanho predeterminados.⁵⁰ Um método top down bastante utilizado é a litografia com feixe de elétrons, que produz nanoestruturas de múltiplas formas, com controle de dimensão em escala de comprimento de dezenas de nanômetros.⁵¹ Um outro método top down que se pode citar é o ablação a laser.⁵²

Pode-se citar ainda a síntese de AuNps em suportes. Dentre esses suportes pode-se destacar os óxidos mesoporosos como TiO_2 , CeO_2 , SiO_2 , Fe_3O_4 , Al_2O_3 , ZrO_2 e algumas formas de carbono⁵³ como grafite, nanotubo de carbono, carbono ativado.⁵⁴ O procedimento mais usado para preparação de AuNps suportadas em óxidos sólidos insolúveis é o método de deposição precipitação.¹⁷ Esse método se inicia partindo de uma solução aquosa de HAuCl_4 , e com a adição de base, leva à precipitação de uma mistura de $\text{Au}(\text{OH})_4$ ou $\text{Au}(\text{OH})_x^- \text{Cl}_{4-x}^-$; os hidróxidos e óxidos de ouro relacionados que adsorvem no sólido são então reduzidos a ouro metálico por ebulição das espécies adsorvidas em metanol ou algum outro álcool.¹⁷ Após a adsorção na superfície sólida, ocorre a formação das AuNps por nucleação e crescimento.¹⁷ Já para os carbonos, o depósito das AuNps é realizado em duas etapas, sendo que na primeira é realizada a síntese das AuNps pelos métodos Turkevich ou Brust, usando estabilizadores como citrato, tiol ou polímero; já na segunda etapa é realizada a imobilização das AuNps na superfície dos carbonos.¹⁷

Outro modo de estabilização das AuNps, como mostrado na figura 1, é através de macromoléculas, por efeito estérico.

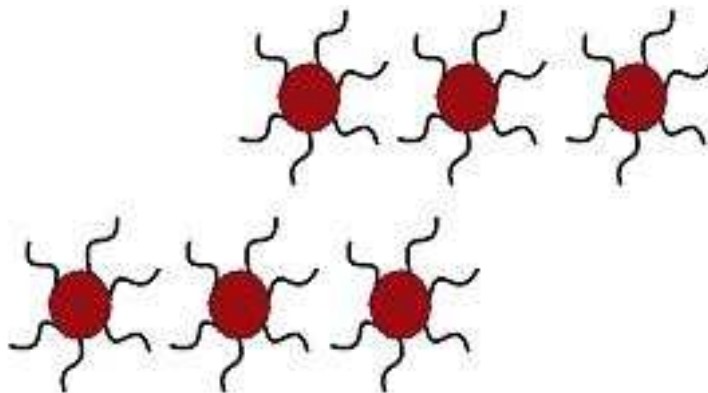


Figura 1. AuNps estabilizadas através do efeito estérico por macromoléculas.

Neste tipo de estabilização, as camadas de moléculas longas são adsorvidas na superfície das nanopartículas repelindo uns aos outros e impedindo dessa forma a agregação.⁵⁵ A adsorção se dá por interações dos heteroátomos ligantes (N, O, P e S) com a superfície das AuNps.⁵⁶

Dentre essas macromoléculas pode-se destacar os dendrímeros, que são macromoléculas sintéticas com composição, dimensão e estruturas bem definidas.^{57,58} Existem surfactantes, que estabilizam AuNps sem formação de micela reversa, neste caso as interações eletrostáticas entre a superfície do Au e a cabeça dos surfactantes,¹⁷ são as responsáveis pela estabilização. No caso dos surfactantes que estabilizam as AuNps com a formação de micelas reversas,⁵⁹ são caracterizadas por microemulsões água em óleo termodinamicamente estáveis. Estas microemulsões estão dispersas em uma fase contínua de óleo e estabilizadas por moléculas de surfactante na interface água/óleo.⁶⁰⁻⁶² A água é solubilizada no núcleo polar dessas micelas reversas que formam espécies de piscinas de água que servem como molde para a formação das AuNps, além de prevenir a agregação das mesmas.⁵⁹

Outro modo de estabilização de AuNps é através de polímeros. Os polímeros são usados não só para a estabilização, mas também para a síntese das AuNps. A utilização desses polímeros estabilizadores para a síntese de AuNps possui várias vantagens, das quais pode-se mencionar algumas, como por exemplo, o aumento da estabilidade das AuNps a longo prazo, maior solubilidade em diferentes meios, aumento da

anfifilicidade, compatibilidade e processabilidade.⁶³ Dentre as macromoléculas poliméricas para a síntese de AuNps, pode-se destacar a utilização dos copolímeros.

Os copolímeros são sintetizados pela polimerização simultânea de mais de um tipo de monômero, gerando como resultado dessa síntese os copolímeros em bloco, que possuem essa denominação se os monômeros individuais estiverem em blocos de diferentes comprimentos na molécula do copolímero.⁶⁴ Os diferentes tipos de bloco da macromolécula são geralmente incompatíveis, sendo uns mais hidrofílicos enquanto outros mais hidrofóbicos, apresentando assim caráter anfifílico. Os copolímeros combinam as propriedades de diferentes segmentos na construção de uma macromolécula.⁶⁵

O processo de formação das micelas de copolímeros é mais complexo do que a dos surfactantes,⁶⁵⁻⁶⁷ porém este processo apresenta vantagens como menor valor de concentração micelar crítica (CMC) e maior estabilidade cinética. O tamanho e forma das micelas é controlado pela variação da composição dos copolímeros, comprimento dos blocos e arquitetura.¹⁷ Estes copolímeros podem apresentar variedades nas suas arquiteturas moleculares, como por exemplo, na forma randômica, dibloco, tribloco, enxertado e estrela.⁶⁵ A figura 2 representa as duas formas de copolímeros estudadas nesse trabalho.



Figura 2. Representação dos copolímeros dibloco (A) e tribloco (B).

A figura 2 mostra um copolímero dibloco (A), sendo este formado por dois blocos, cada um constituído por segmentos diferentes, e um copolímero tribloco (B), onde os blocos das extremidades são constituídos pelo mesmo segmento e o bloco central por um segmento diferente.

Com a possibilidade de ajustar as propriedades de agregação, variando o tipo de monômero ou o tamanho e proporção dos blocos constituintes, esses agregados podem proporcionar uma ampla faixa de aplicações como a solubilização de drogas, entrega controlada de drogas, potencial transportador de DNA, dentre outros.⁶⁵

Os agregados micelares são consequência de uma auto-agregação exibida pelos copolímeros em bloco quando esses são dissolvidos em um solvente seletivo, que é solúvel para um dos blocos e pouco solúvel para o outro.⁶⁵

Para a síntese de AuNPs, vamos destacar nesse trabalho a utilização dos copolímeros tribloco.

Os copolímeros tribloco solúveis em água, formados por poli óxido de etileno (PEO) e poli óxido de propileno (PPO), são frequentemente representados por PEO-PPO-PEO ou ainda por uma fórmula geral $(EO)_{n1}(PO)_m(EO)_{n2}$.⁶⁴ A estrutura química dos copolímeros triblocos formados por poli óxido de etileno e poli óxido de propileno pode ser representada como mostrado na figura 3.

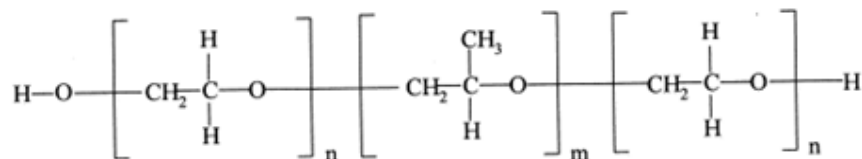


Figura 3. Estrutura química de copolímero tribloco formado por dois grupos EO (extremidades) e um grupo PO (centro).

A variação na composição dos copolímeros, como a razão PO/EO, e o peso molecular, sendo este relacionado com o comprimento dos blocos EO e PO, são importantes aspectos no processo de síntese, uma vez que levam à produção de macromoléculas com propriedades que atendam os requisitos específicos em várias áreas tecnológicas.⁶⁴ Os copolímeros formados por EO-PO-EO, estão entre os mais largamente usados para síntese de AuNps em micelas formadas por polímero.¹⁷ A figura 4 mostra o espectro de absorção molecular na região do ultravioleta-visível de AuNps sintetizadas através do copolímero tribloco L64 e o sal de ouro $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$.

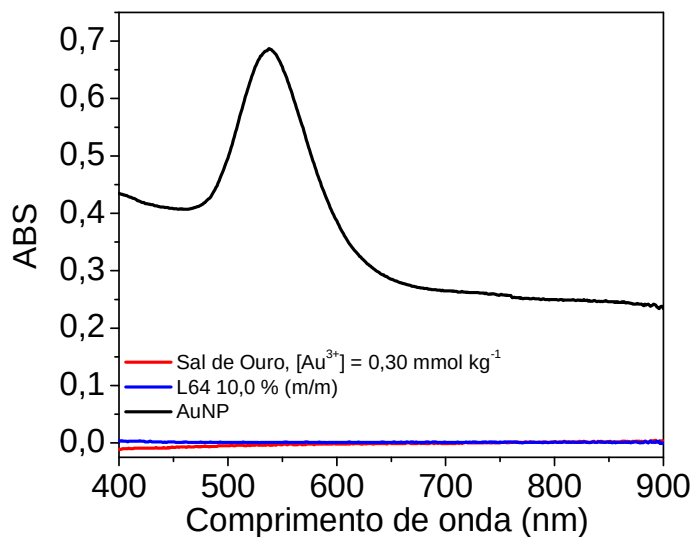


Figura 4. Espectro UV-Vis de AuNps formadas pelo copolímero tribloco L64 e $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

A partir desse espectro mostrado na figura 4, pode-se observar uma banda de absorção característica das AuNps na região de 540 nm.

As AuNps tem uma banda de absorção na região visível do espectro eletrônico e essas nanopartículas, como também outras, exibem propriedades espectroscópicas únicas como a Ressonância de Plasmon de Superfície. Esse fenômeno é a oscilação coletiva de elétrons livres da nanopartícula metálica, originando com isso uma densidade de carga na superfície da mesma, causando assim uma acentuada absorção de luz na região visível do espectro eletrônico.⁶⁸ A figura 5 mostra a suspensão coloidal de AuNps, com tamanho médio aproximado de 50 nm, estimado de acordo com Daniel e Astruc⁷, sintetizadas através do copolímero tribloco L64 e o sal de ouro $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.



Figura 5. Suspensão coloidal de AuNps formadas pelo copolímero tribloco L64 e $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

Como se pode observar, de acordo com a figura 5, a suspensão coloidal, sintetizada através do copolímero tribloco L64 e o sal de ouro $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, possui uma cor vermelha característica das AuNps que absorvem na região de 540 nm.

3. Sistemas Aquosos Bifásicos

Os SAB são formados espontaneamente quando ocorre a mistura de dois polímeros quimicamente diferentes e hidrossolúveis, ou dois sais, ou ainda um polímero e um sal em água, desde que determinadas condições termodinâmicas sejam obedecidas.⁶⁹

A formação dos SAB é conhecida desde o final do século XIX através dos trabalhos de Beijerinck,⁷⁰ porém apenas com os trabalhos de Albertsson,⁷¹ nos meados da década de 50, que foi consolidado o grande potencial de aplicação dos Sistemas Aquosos Bifásicos à partição/purificação de materiais biológicos,⁷² sendo esses usados com sucesso na extração de biopartículas (vírus, ácidos nucleicos e proteínas)⁷³⁻⁷⁵ e também compostos inorgânicos e orgânicos.^{76,77}

Somente no ano de 1984 surgiu o primeiro estudo no qual os sistemas aquosos bifásicos eram utilizados para extração de metais.^{76,78}

Como observado de acordo com a figura 6, em um SAB formado por um polímero e um sal, a partir de uma determinada composição global, observa-se que uma

das fases formadas será rica em polímero enquanto que a outra será rica em sal, sendo que em ambas predomina-se água.⁷⁹

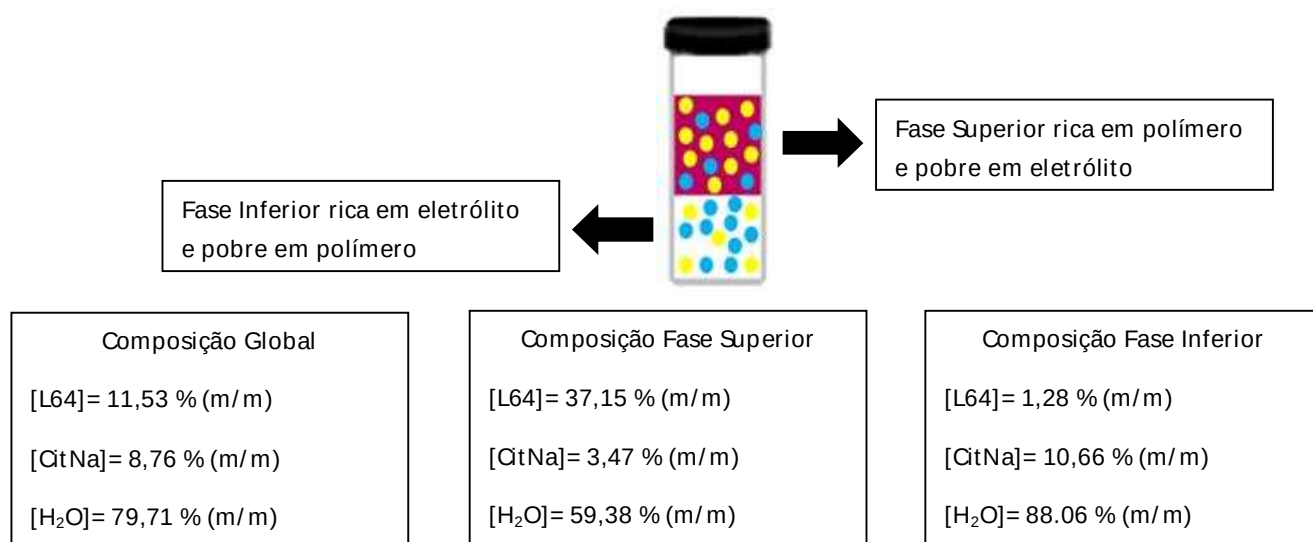


Figura 6. Composições químicas para um ponto de mistura do SAB formado pelo copolímero tribloco L64+citrato de sódio+água na temperatura de 25 °C.

A figura 6 mostra as composições da fase superior e da fase inferior, como também a composição global do sistema aquoso bifásico formado pelo copolímero tribloco L64 e o sal citrato de sódio.

Como já mencionado, esses sistemas aquosos que apresentam duas ou mais fases líquidas em equilíbrio termodinâmico são muito úteis para aplicação em processos de extração e/ou purificação de compostos.^{80,81} Além disso, desempenham um importante papel do ponto de vista ambiental, uma vez que, como dito anteriormente, as duas fases são compostas predominantemente por água, e também seus demais componentes são não inflamáveis e atóxicos, se enquadrando assim nos princípios da Química Verde.⁸²

A composição química das duas fases que estão em equilíbrio termodinâmico pode ser representada por um diagrama de fase retangular⁷⁹ como mostrado na figura 7. Nesse diagrama, no eixo das abscissas é expressa a concentração de sal (m/m), enquanto que no eixo das ordenadas é expressa a concentração de polímero (m/m) presente no sistema.⁷⁹ Esse diagrama é caracterizado por duas regiões, sendo que em uma delas o sistema se encontra monofásico, enquanto que na outra o sistema se encontra bifásico. Essas duas regiões são separadas pela linha binodal.⁷⁹ Um método bastante utilizado

para obtenção da Linha Binodal é a Titulação Turbidimétrica. A Linha Binodal é representada na figura 7 pelos pontos FS, P e FI.

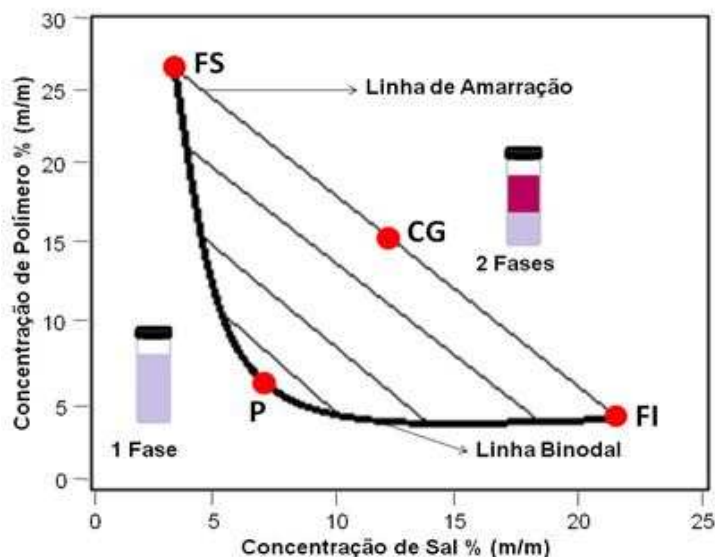


Figura 7. Diagrama de fase expresso em coordenadas retangulares de um SAB formado por um polímero e um sal.

Ainda nesse diagrama da figura 7, são também representadas as Linhas de Amarração, que são essas linhas paralelas que ligam os pontos que representam a composição da Fase Superior (FS) e Fase Inferior (FI) do sistema. Desse modo, para uma determinada composição global do sistema, como, por exemplo, o ponto (CG), temos a concentração dos solutos na Fase Superior (FS) e Fase Inferior (FI) do sistema.⁷⁹

As linhas de amarração possuem um papel importante, uma vez que diferentes composições globais pertencentes a uma mesma linha de amarração possuem as propriedades termodinâmicas intensivas (concentração, densidade) das fases idênticas, porém as propriedades termodinâmicas extensivas (volume, massa) das fases são diferentes. Pode-se observar isso através da figura 8, onde as diferentes composições globais representadas pelos pontos A, B e C possuem as mesmas composições da Fase Superior, representada no diagrama por (FS), e da Fase Inferior, representada no diagrama por (FI), ou seja, propriedades termodinâmicas intensivas idênticas, enquanto que os volumes de Fase Superior e de Fase Inferior nessas diferentes composições globais são diferentes, indicando assim que as propriedades termodinâmicas extensivas são diferentes.

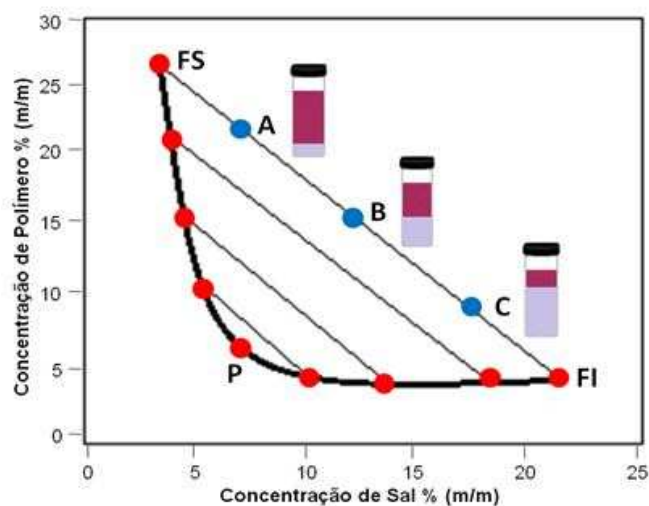


Figura 8. Variação das propriedades termodinâmicas extensivas e conservação das intensivas em função das diferentes composições globais do SAB.

Assim, o Comprimento da Linha de Amarração (CLA) é um parâmetro termodinâmico importante utilizado para medir a diferença das propriedades termodinâmicas intensivas entre as fases em equilíbrio.⁷⁹ O CLA pode ser calculado em função das diferenças nas concentrações dos componentes em cada fase, como mostrado pela equação 1.

$$CLA = [(C_P^S - C_P^I)^2 + (C_S^S - C_S^I)^2]^{1/2} \quad (1)$$

Neste caso, para esta equação temos um sistema formado por um polímero e um sal, em que C_P^S e C_P^I são as concentrações de polímero e C_S^S e C_S^I são as concentrações de sal em % (m/m) nas fases superior e inferior respectivamente.

Com o aumento do comprimento da linha de amarração fica maior a diferença das propriedades termodinâmicas intensivas entre as fases, melhorando assim a eficiência na extração e/ou partição de solutos de interesse.⁷⁹

O estudo relacionando os sistemas aquosos bifásicos é muito promissor devido às suas várias aplicações na extração e pré-concentração de diversos analitos, podendo assim serem utilizados em diferentes campos tecnológicos, além dos aspectos econômicos e ambientais envolvidos.

Diante disso, o presente trabalho apresenta como objetivo sintetizar AuNps através da utilização de diferentes copolímeros, estudar a cinética de formação dessas nanopartículas, compreender e propor o mecanismo de formação das mesmas como também verificar as melhores condições para síntese, podendo assim entender detalhadamente todo o processo sintético e, além disso, propor uma nova metodologia de síntese de AuNPs em SAB, aliando desta forma as potencialidades de ambos para possíveis aplicações na extração e, ou partição de íons ou moléculas de interesse ambiental, alimentício ou de alguma outra relevância.

4. Referências

- (1) Ferreira H. S.; Rangel M. do C. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. *Quím. Nova*. **2009**, 32, 1860-1870.
- (2) Sahoo, S. K.; Parveen, S.; Panda, J. J. The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. **2007**, 3, 20-31.
- (3) NSTC, The National Nanotechnology Initiative – Strategic Plan, December 2007. Executive Office of the President of the United States; **2007**.
- (4) Kostoff, R. N.; Koytcheff, R. G.; Clifford G.Y.; Lau, S.K. Global nanotechnology research literature overview. *Technol. Forecast. Soc.* **2007**, 74, 1733-1747.
- (5) Galembeck, F.; Rippel, M. M.; Nanocompósitos poliméricos e nanofármacos: fatos, oportunidades e estratégias. *Revista Parcerias Estratégicas*. **2004**, 18, 41-61.
- (6) Tansil, N. C.; Gao, Z. Nanoparticles in biomolecular detection. *Nano Today*. **2006**, 1, 28-37.
- (7) Daniel, M.-C.; Astruc, D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chem. Rev.* **2004**, 104, 293-346.
- (8) Uskoković, V. Nanotechnologies: what we do not know. *Technology in Society*. **2007**, 29, 43-61.
- (9) Lin, Y.W.; Huang C.C.; Chang, H. T. Gold nanoparticle probes for the detection of mercury, lead and copper ions. *Analyst*. **2011**, 136, 863-871.
- (10) Rashid, M. H.; Bhattacharjee, R. R.; Kotal, A.; Mandal, T. K. Synthesis of Spongy Gold Nanocrystals with Pronounced Catalytic Activities. *Langmuir*. **2006**, 22, 7141-7143.
- (11) Page, K.; Proffen, T.; Terrones, H.; Terrones, M.; Lee, L.; Yang, Y.; Stemmer, S.; Seshadri, R.; Cheetham, A. K. Direct observation of the structure of gold nanoparticles by total scattering powder neutron diffraction. *Chem. Phys. Lett.* **2004**, 393, 385-388.
- (12) Pereira, F. C.; Zanoni, M. V. B.; Moretto, L. M.; Ugo, P. Características ópticas e morfológicas de nanoestruturas de ouro. *Quím. Nova*. **2007**, 30, 1550-1554.

- (13) Li-Na, M.; Dian-Jun L.; Zhen-Xin, W. Synthesis and Applications of Gold Nanoparticle Probes. *Chin. J. Anal. Chem.* **2010**, *38*, 1-7.
- (14) Sepúlveda, B.; Angelomé, P. C.; Lechuga L. M.; Liz-Marzán L. M. LSPR-based nanobiosensors. *Nano Today*. **2009**, *4*, 244-251.
- (15) Tokonami, S.; Yamamoto, Y.; Shiigi, H.; Nagaoka, T. Synthesis and bioanalytical applications of specific-shaped metallic nanostructures: A review. *Anal. Chim. Acta.* **2012**, *716*, 76-91.
- (16) Guo, S.; Wang, E. Synthesis and electrochemical applications of gold nanoparticles. *Anal. Chim. Acta.* **2007**, *598*, 181-192.
- (17) Zhao, P.; Li, N.; Astruc, D. State of the art in gold nanoparticle synthesis. *Coordination Chemistry Review.* **2013**, *257*, 638-665.
- (18) Mizuta, H.; Oda, S. Bottom-up approach to silicon nanoelectronics. *Microelectronics J.* **2008**, *39*, 171-176.
- (19) Nguyen, D. T.; Kim, D. J.; Kim, K. S. Controlled synthesis and biomolecular probe application of gold nanoparticles. *Micron.* **2011**, *42*, 207-227.
- (20) Parab, H.; Jung, C.; Woo, M. A. H.G. Park, H. G. An anisotropic snowflake-like structural assembly of polymer-capped gold nanoparticles. *J. Nanopart. Res.* **2011**, *13*, 2173-2180.
- (21) Stein, A.; Li, F.; Josephson, D. P. Colloidal Assembly: The Road from Particles to Colloidal Molecules and Crystals. *Angew Chem. Int.* **2011**, *50*, 360-388.
- (22) Li, C.; Li, D.; Wan, G.; Xu, J.; Hou, W. Facile synthesis of concentrated gold nanoparticles with low size-distribution in water: temperature and pH controls. *Nanoscale Res. Lett.* **2011**, *6*, 440-449.
- (23) Rahman, M. R.; Saleh, F. S.; Okajima, T.; Ohsaka, T. pH Dependence of the size and crystallographic orientation of the gold nanoparticles prepared by seed-mediated growth. *Langmuir.* **2011**, *27*, 5126-5135.
- (24) Xia, H.; Bai, S.; Hartmann, J.; Wang, D. Synthesis of monodisperse quasi-spherical gold nanoparticles in water via silver (I)-assisted citrate reduction. *Langmuir.* **2010**, *26*, 3585-3589.

- (25) Patungwasa, W.; Hodak, J. H. pH tunable morphology of the gold nanoparticles produced by citrate reduction. *Mater. Chem. Phys.* **2008**, *108*, 45-54.
- (26) Kimling, J.; Maier, M.; Okenve, B.; Kotaidis, V.; Ballot, H.; Plech, A. Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited. *J. Phys. Chem. B.* **2006**, *110*, 15700-15707.
- (27) Giersig, M.; Mulvaney, P. Preparation of ordered colloid monolayers by electrophoretic deposition. *Langmuir.* **1993**, *9*, 3408-3413.
- (28) Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R. J. Synthesis of Thiol Derivatized Gold Nanoparticles in a Two Phase Liquid/Liquid System. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 801-802.
- (29) Parker, J. F.; Fields-Zinna, C. A.; Murray, R. W. The story of a monodisperse gold nanoparticle: Au₂₅L₁₈. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1289-1296.
- (30) C. Louis, C.; Pluchery, O. (Eds.) Gold Nanoparticles for Physics, Chemistry, Biology. *Imperial College Press*. London, **2012**, chapter 5, 103-138.
- (31) Schmid, G.; Pfeil, R.; Boese, R.; Bandermann, F.; Meyer, S.; Calis, G. H. M.; Vandervelden, W. A. AU₅₅[P(C₆H₅)₃]₁₂CL₆ – A gold cluster of an exceptional size. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 3634-3642.
- (32) Xu, C. J.; Sun, L.; Kepley, L. J.; Crooks, R. M.; Ricco, A. J. Molecular-interactions between organized, surface-confined monolayers and vapor-phase probe molecules in-situ FTIR external reflectance spectroscopy of monolayer adsorption and reaction chemistry. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 2102-2107.
- (33) Kumar, A.; Mandal, S.; Selvakannan, P. R.; Paricha, R.; Mandale, A. B.; Sastry, M. Investigation into the Inter-action between Surface-Bound Alkylamines and Gold Nanoparticles. *Langmuir.* **2003**, *19*, 6277-6282.
- (34) Porta, F.; Krpetic, Z.; Prati, L.; Gaiassi, A.; Scari, G. Gold-ligand interaction studies of water-soluble aminoalcohol capped gold nanoparticles by NMR. *Langmuir.* **2008**, *24*, 7061-7064.
- (35) Wangoo, N.; Bhasin, K. K.; Boro, R.; Suri, C. R. Facile synthesis and functionalization of water-soluble gold nanoparticles for a bioprobe. *Anal. Chim. Acta.* **2008**, *610*, 142-148.

- (36) Wangoo, N.; Bhasin, K. K.; Mehta, S. K.; Suri, C. R. Synthesis and capping of water-dispersed gold nanoparticles by an amino acid: Bioconjugation and binding studies. *J. Colloid Interf. Sci.* **2008**, 323, 247-254.
- (37) Shomura, R.; Chung, K. J.; Iwai, H.; Higuchi, M. Gold Nanoparticles with Cyclic Phenylazomethines: One-Pot Synthesis and Metal Ion Sensing. *Langmuir*. **2011**, 27, 7972-7975.
- (38) Wangoo, N.; Kaushal, K. J.; Bhasin, K.; Mehta, S. K.; Suri, C. R. Zeta potential based colorimetric immunoassay for the direct detection of diabetic marker HbA1c using gold nanoprobles. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 5755-5757.
- (39) Shankar, S. S.; Rai, A.; Ankamwar, B.; Singh, A.; Ahmad, A.; Sastry, M. Biological synthesis of triangular gold nanoprisms. *Nat. Mater.* **2004**, 3, 482-488.
- (40) Mathew, M.; Sureshkumar, S.; Sandhyarani, N. Synthesis and characterization of gold-chitosan nanocomposite and application of resultant nanocomposite in sensors. *Colloid. Surf. B.* **2012**, 93, 143-147.
- (41) Esumi, K.; Takei, N.; Yoshimura, T. Antioxidant-potentiality of gold-chitosan nanocomposites. *Colloid. Surf. B.* **2003**, 32, 117-123.
- (42) H. Huang, H.; Yang, X. Synthesis of Chitosan-Stabilized Gold Nanoparticles in the Absence/Presence of Tripolyphosphate. *Biomacromolecules*. **2004**, 5, 2340-2346.
- (43) Beveridge, T. J.; Murray, R. G. E. Sites of metal-deposition in the cell-wall of *Bacillus-subtilis*. *J. Bacteriol.* **1980**, 141, 876-887.
- (44) Nikoobakht, B.; El-Sayed, M. A. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. *Chem. Mater.* **2003**, 15, 1957-1962.
- (45) Perez-Juste, J.; Liz-Marzan, L. M.; Carnie, S.; Chan, D. Y. C.; Mulvaney, P. Electric-field-directed growth of gold nanorods in aqueous surfactant solutions. *Adv. Funct. Mater.* **2004**, 14, 571-579.
- (46) Rodriguez-Fernandez, J.; Perez-Juste, J.; de Abajo F. J. G.; Liz-Marzan, L. M. Seeded growth of submicron Au colloids with quadrupole plasmon resonance modes. *Langmuir*. **2006**, 22, 7007-7010.

- (47) Perrault, S. D.; Chan, W. C. W. Synthesis and Surface Modification of Highly Monodispersed, Spherical Gold Nanoparticles of 50-200 nm. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17042.
- (48) Bastus, N. G.; Comenge, J.; Puentes, V. Kinetically Controlled Seeded Growth Synthesis of Citrate-Stabilized Gold Nanoparticles of up to 200 nm: Size Focusing versus Ostwald Ripening. *Langmuir*. **2011**, *27*, 11098-11105.
- (49) Belloni, J.; Mostafavi, M.; Remita, H.; Marignier, J. L.; Delcourt, M. O. Radiation-induced synthesis of mono- and multi-metallic clusters and nanocolloids. *New J. Chem.* **1998**, *22*, 1239-1255.
- (50) Huang, X. H.; Neretina, S.; El-Sayed, M. A. Gold Nanorods: From Synthesis and Properties to Biological and Biomedical Applications. *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 4880-4910.
- (51) Hu, M.; Ou, F. S.; Wu, W.; Naumov, I.; Li, X. M.; Bratkovsky, A. M.; Williams, R. S.; Li, Z. Y. Gold Nanofingers for Molecule Trapping and Detection. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12820-12822.
- (52) Huang, W. Y.; Qian, W.; El-Sayed, M. A. Gold Nanoparticles Propulsion from Surface Fueled by Absorption of Femtosecond Laser Pulse at Their Surface Plasmon Resonance. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13330.
- (53) Corma, A.; Garcia, H. Supported gold nanoparticles as catalysts for organic reactions. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 2096-2126.
- (54) Alves, L.; Ballesteros, B.; Boronat, M.; Cabrero-Antonino, J. R.; Concepcion, P.; Corma, A.; Correa-Duarte, M. A.; Mendoza, E. Synthesis and Stabilization of Subnanometric Gold Oxide Nanoparticles on Multiwalled Carbon Nanotubes and Their Catalytic Activity. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 10251-10261.
- (55) Marangoni, V. S. Estudo e desenvolvimento de nanocompósitos contendo nanopartículas de ouro conjugadas com biomoléculas: síntese e aplicações em nanomedicina. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, **2004**.
- (56) Thanh, N. T. K.; Green, L. A. W. Functionalisation of nanoparticles for biomedical applications. *Nano Today*. **2010**, *5*, 213-230.

- (57) Newkome, G. R.; C. Shreiner, C. Dendrimers Derived from 1 -> 3 Branching Motifs. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 6338-6442.
- (58) Caminade, A. M.; Turin, C. O.; Laurent, R.; Ouali, A.; Delavaux-Nicot, B. Dendrimers: Towards Catalytic, Material and Biomedical Uses. Wiley, Chichester, **2011**.
- (59) Murphy, C.J.; Sau, T. K.; Gole, A.; Orendorff, C. J. Surfactant-Directed Synthesis and Optical Properties of One-Dimensional Plasmonic Nanostructures. *MRS Bull.* **2005**, *30*, 349-355.
- (60) Luisi, P. L.; Giomini, M.; Pileni, M. P.; Robinson, B. H. Reverse Micelles as hosts for proteins and small molecules. *Biochem. Biophys. Acta.* **1988**, *947*, 209-246.
- (61) Pileni, M. P. Reverse micelles as microreactors. *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 6961-6973.
- (62) Wu, M. L.; Chen, D.; Huang, T. Synthesis of Au/Pd Bimetallic Nanoparticles in Reverse Micelles. *Langmuir.* **2001**, *17*, 3877-3883.
- (63) Shan, J.; Tenhu, H. Recent advances in polymer protected gold nanoparticles: synthesis, properties and applications. *Chem. Commun.* **2007**, *44*, 4580-4598.
- (64) Alexandridis, P.; Hatton, T. A. Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymer surfactants in aqueous solutions and at interfaces-thermodynamics, structure, dynamics and modeling. *Colloid. Surf. A.* **1995**, *96*, 1-46.
- (65). Loh, W. Block Copolymer Micelles. Encyclopedia of Surface and Colloid Science. Campinas, Brasil. **2002**. p. 802-813.
- (66) Hunter, R. J. *Foundations of Colloid Science*, Vol. 1. Oxford University Press, New York, **1987**.
- (67) Goddard, E. D.; Hoeve, C. A. J.; Benson, G. C. Heats of micelle formation of paraffin chain salts in water. *J. Phys. Chem.* **1957**, *61*, 593-598.
- (68) Pereira, M. K. Ressonância de Plasmon de Superfície Localizado e Espalhamento Raman em soluções coloidais de ouro. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, **2009**.
- (69) da Silva, L. H. M.; Loh, W., *Quím. Nova*, 2005, *prelo*.

- (70) Beijerinck, M. W. Ueber eine eigentümlichkeit der iöslichen starke. *Zbl. Bakt. II Natur.* **1896**, 627, 697-699.
- (71) Albertsson, P. Å. *Partition of Cell Particles and Macromolecules*, 2th ed., Wiley-Interscience: New York, **1971**.
- (72) da Silva, L. H. M.; Loh, W. Sistemas aquosos bifásicos: fundamentos e aplicações para partição/purificação de proteínas. *Quím. Nova.* **2006**, 29, 1345-1351.
- (73) Albertsson; P.-Å. *Partition of Cell Particles and Macromolecules*, 3rd ed., Wiley, New York, **1986**.
- (74) Zaslavsky, B. Y. Bioanalytical applications of partitioning in aqueous polymer two-phase systems. *Anal. Chem.* **1992**, 64, 765 A-773A.
- (75) Zaslavsky, B. Y.; *Aqueous Two Phase Partitioning: Physical Chemistry and Bioanalytical Applications*, Marcel Dekker: New York, **1995**.
- (76) Zvarova, T. I.; Shkinev; V. M.; Vorobeva; G. A.; Spivakov, B. Y.; Zolotov, Y. A. Liquid-liquid-extraction in the absence of usual organic-solvents-application of 2-phase aqueous systems based on a water-soluble polymer. *Mikrochim. Acta.* **1984**, 3, 449-458.
- (77) Rogers, R. D.; Willauer, H. D.; Griffin, S. T.; Huddleston, J. G. Partitioning of small organic molecules in aqueous biphasic systems. *J. Chromatogr. B.* **1998**, 711, 255-263.
- (78) Rogers, R. D.; Bond, A. H.; Bauer, C. B. Aqueous Biphasic Systems for Liquid/Liquid Extraction of f-Elements Utilizing Polyethylene Glycols. *Sep. Sci. Technol.* **1993**, 28, 139-153.
- (79) da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J.; Coimbra, J. S. R.; Minin, L. A. Sistema Aquoso Bifásico: Uma alternativa eficiente para extração de íons. *Quím. Nova.* **2006**, 29, 1332-1339.
- (80) Nameroff, T. J.; Garant, R. J.; Albert, M. B. Adoption of green chemistry: an analysis based on US patents. *Res. Policy.* **2004**, 33, 959-97.
- (81) Pedersen-Bjergaard, S.; Rasmussen, K. E.; Halvorsen, T. G. Liquid-liquid extraction procedures for sample enrichment in capillary zone electrophoresis. *J. Chromatogr. A.* **2000**, 902, 91-105.

(82) Lenardão, E. J.; Freitag, R. A.; Dabdoub, M. J.; Batista, A. C. F.; Silveira, C. C. Green Chemistry – Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. *Quím. Nova* **2003**, 26, 123-129

Capítulo 2

Síntese de nanopartículas de ouro em nanoestruturas macromoleculares

Resumo

A síntese de nanopartículas de ouro (AuNps) através de copolímeros tribloco e do sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ foi estudada. O estudo cinético da formação de AuNps através dos copolímeros L64, F68, P123, L35, L31, 10R5, 17R4 e Poly(PEO-PPO) e o sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, foi realizado. As diferentes estruturas moleculares desses copolímeros influenciam o processo de formação das AuNps. Soluções aquosas de L64, F68, P123 e 17R4 misturadas, separadamente, com solução aquosa de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, formam AuNps, enquanto que em soluções aquosas de L35, L31, 10R5 e Poly(PEO-PPO) misturadas, separadamente, com solução aquosa de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, não formam AuNps. Para o copolímero tribloco L64, foram realizados estudos cinéticos nas temperaturas de 10, 15, 35 e 45°C. Aplicando modelos de cinética de reações para o processo de redução do íon AuCl_4^- , e para o processo de formação das AuNps, foi verificado que o processo de redução do íon AuCl_4^- se ajusta ao modelo de reações de primeira ordem, enquanto que o processo de formação das AuNps não se ajusta a esse modelo e nem ao modelo de reações de segunda ordem.

1. Introdução

As AuNps vêm se destacando dentre os nanomateriais devido às suas novas propriedades exibidas nessas dimensões, tornando-se assim, objeto de interesse e estudo de muitos pesquisadores em todo o mundo. O pequeno número de átomos, uma superfície elevada em relação ao volume e a forma desses materiais são os principais aspectos responsáveis por essas novas propriedades.¹

Devido ao grande interesse de pesquisadores por esses nanomateriais, vários métodos de síntese de AuNps vêm sendo desenvolvidos. Alguns métodos químicos usados para a síntese de AuNps utilizam reagentes tóxicos, podendo ainda necessitar, às vezes, no processo de síntese, de um agente redutor e um estabilizador para impedir a agregação das nanopartículas.^{2,3} A utilização de produtos químicos não tóxicos, solventes ambientalmente seguros e materiais renováveis são questões emergentes que merecem importante consideração em uma estratégia sintética.⁴ Levando em consideração essa questão, a utilização de compostos macromoleculares no processo sintético desses nanomateriais vêm se tornando muito interessante. O uso de matrizes poliméricas para formação de nanopartículas metálicas tem sido investigado devido a uma melhor estabilização e controle morfológico no crescimento das nanopartículas.⁵

Macromoléculas têm sido aplicadas no controle do processo de redução na síntese de nanomateriais, modulando as formas e os tamanhos das partículas resultantes.⁴ Dentre esses, os copolímeros em bloco^{6,7} vêm sendo utilizados no desenvolvimento de métodos simples e versáteis para a preparação de AuNps. A partir dessa organização entre agregados de copolímeros e nanopartículas, temos como resultado a formação de nanomateriais híbridos com novas propriedades.⁸

Os copolímeros tribloco⁷ formados por poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno), também representados por EO-PO-EO, podem agir simultaneamente como redutores e estabilizadores no processo de síntese e estabilização de AuNps, em solução aquosa, à temperatura ambiente, sem a adição de qualquer outro reagente ou entrada de energia no processo.^{9,10} Essa síntese é rápida, com menos de duas horas de duração, além de ser ambientalmente segura e economicamente viável, uma vez que envolve apenas água, reagentes não tóxicos, polímeros disponíveis comercialmente e, além disso, essa dispersão coloidal de AuNps pode permanecer estável durante vários anos.⁸ Podemos dizer que essa metodologia oferece algumas vantagens como a realização em condições ambiente, a rápida conclusão, pequeno

número de reagentes envolvidos, sendo um produto para pronto uso, com vantagem em aplicações biomédicas⁸.

Essas AuNps são biocompatíveis,¹¹ se ligando facilmente a uma ampla variedade de biomoléculas como, por exemplo, proteínas/enzimas,^{12,13} DNA¹⁴ e aminoácidos.^{15,16} Além disso, devido à sua alta estabilidade química e o simples procedimento de síntese e modificação da superfície dessas nanopartículas, existe a possibilidade de expansão do uso dessas AuNps em uma ampla faixa de aplicações como coloração citológica, sensores e eletrônica.¹⁷ Essas AuNps são muito úteis em ciência dos materiais com várias aplicações em diversas áreas como catálise, medicina, ciência ambiental, ótica e fotovoltaica.¹⁸⁻²⁰

No presente trabalho foi estudada a síntese de AuNps em passo único, à temperatura ambiente utilizando diferentes copolímeros tribloco e o sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; também foi estudada a síntese de AuNps nas temperaturas de 10, 15, 35 e 45°C utilizando o copolímero tribloco L64 e o sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Foi estudada a cinética de formação dessas nanopartículas e os mecanismos envolvidos nesse processo, visando esclarecer detalhadamente todas as etapas que levam à formação das AuNps utilizando copolímeros em bloco e $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

2. Materiais e método

2.1. Materiais

Os reagentes utilizados nesse trabalho foram os copolímeros tribloco L64, $(EO)_{13}(PO)_{30}(EO)_{13}$, F68, $(EO)_{76}(PO)_{30}(EO)_{76}$, L61, $(EO)_2(PO)_{31}(EO)_2$, P123, $(EO)_{19}(PO)_{70}(EO)_{19}$, L35, $(EO)_{11}(PO)_{17}(EO)_{11}$ e L31, $(EO)_1(PO)_{18}(EO)_1$, com massa molar média 2900, 8400, 2000, 5800, 1900 e 1100 $g.mol^{-1}$, respectivamente; os copolímeros triblocos 10R5, $(PO)_8(EO)_{22}(PO)_8$ e 17R4, $(PO)_{14}(EO)_{24}(PO)_{14}$, com massa molar média 2000 e 2700 $g.mol^{-1}$, respectivamente; e o copolímero dibloco poly(EO-PO), $(PO)_n(EO)_m$, com massa molar média 2500 $g.mol^{-1}$. Estes reagentes foram obtidos junto à Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, USA). O sal utilizado foi o $HAuCl_4.3H_2O$ (95,98%), sendo este obtido junto à Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). No preparo de todas as soluções foi utilizada água deionizada em sistema Milli-Q Millipore (Bedford, MA).

2.2. Preparo das soluções de copolímero

As soluções estoque de copolímero 1,00 a 30,0 % (m/m) foram obtidas pesando-se uma quantidade adequada do copolímero de interesse e adicionando-se água deionizada até atingir uma massa final de solução com a concentração desejada. Esta solução foi mantida em repouso por 24 horas em temperatura ambiente para a completa relaxação do copolímero.

2.3. Preparo das soluções de sal de ouro

As soluções estoque de 5,00e 15,0 mmol kg^{-1} de $HAuCl_4.3H_2O$ foram obtidas pesando-se aproximadamente 0,0100g deste sal e adicionando-se água deionizada de modo a se obter as concentrações desejadas. As soluções de sal de ouro foram sempre preparadas alguns minutos antes da síntese das nanopartículas de ouro.

2.4. Síntese das nanopartículas de ouro

As nanopartículas de ouro foram preparadas pela mistura da solução estoque de ouro 5,0 ou 15,0 mmol kg⁻¹ com a solução aquosa do copolímero. A concentração do íon AuCl₄⁻ no meio reacional variou de 0,0500 a 0,300 mmol kg⁻¹. Após realizar a mistura da solução de ouro com a de copolímero, o recipiente foi deixado em repouso à (25±1) °C por aproximadamente 2 horas.

2.5. Cinética de formação das nanopartículas de ouro

A cinética de formação das AuNps utilizando diferentes copolímeros foi monitorada pela técnica de espectrometria de absorção molecular na região do UV-Vis. Após a mistura da solução de copolímero e de ouro, a mesma foi imediatamente transferida para uma cubeta de quartzo, com caminho óptico de 1,0 cm, a qual foi adaptada ao espectrômetro de absorção molecular, Shimadzu modelo UV-2550, à temperatura desejada (10, 15, 35 e 45°C). O acompanhamento da formação das nanopartículas foi realizado ao longo do tempo até que o sinal analítico não mais variasse nos comprimentos de onda de 220^{21,22} e 540^{23,24} nm, indicando assim o término da reação.

3. Resultados e Discussão

3.1. Análise espectral da mistura aquosa de L64 + $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

O espectro eletrônico obtido instantaneamente, resultante da mistura da solução 10% (m/m) do copolímero tribloco L64 com a solução $0,30 \text{ mmol kg}^{-1}$ do sal de ouro $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, medido na temperatura de 25°C , é mostrado na figura 1. Podemos observar três diferentes bandas de absorção, sendo a primeira localizada em 220 nm, muito intensa, a segunda em 340 nm e o início de formação de uma terceira banda em 540 nm.

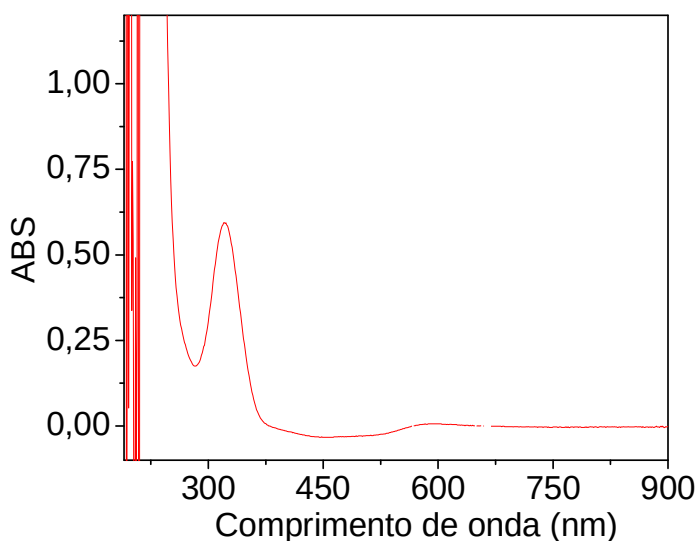


Figura 1. Espectro eletrônico da mistura da solução 10% (m/m) do copolímero tribloco L64 com a solução $0,300 \text{ mmol kg}^{-1}$ do sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ à temperatura de 25°C .

A banda com o máximo de absorção em 220 nm foi atribuída ao ânion AuCl_4^- que é resultante da dissociação do sal de ouro em água. Esta atribuição é confirmada pelo espectro eletrônico de uma solução aquosa do sal de ouro conforme mostrado na figura 2. Esta figura representa vinte e cinco espectros eletrônicos obtidos ao longo de uma hora, mostrando que a única banda existente é em 220 nm.

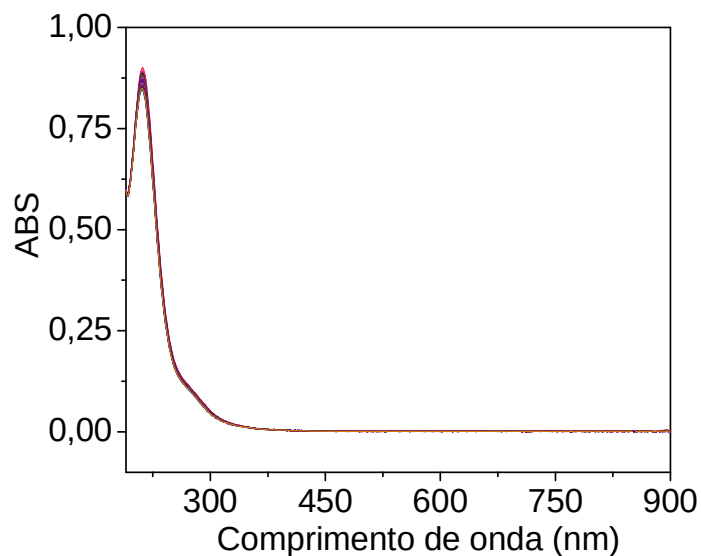


Figura 2. Espectros eletrônicos de solução $0,0500 \text{ mmol kg}^{-1}$ do sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em água à temperatura de 25°C (190 a 900 nm).

Em relação à segunda banda observada na figura 1, com pico máximo no comprimento de onda de 340 nm, atribuiu-se a mesma ao complexo formado devido à interação entre os ânions AuCl_4^- e as macromoléculas do copolímero L64. Soluções aquosas do copolímero L64 não apresentam absorção molecular de radiação na região UV-vis, como pode ser observado na figura 3, na qual é mostrada uma sequência de varreduras espectrais, no intervalo de 190 a 900 nm, realizadas com uma solução aquosa da macromolécula do copolímero L64 na concentração 10% (m/m) ao longo de uma hora.

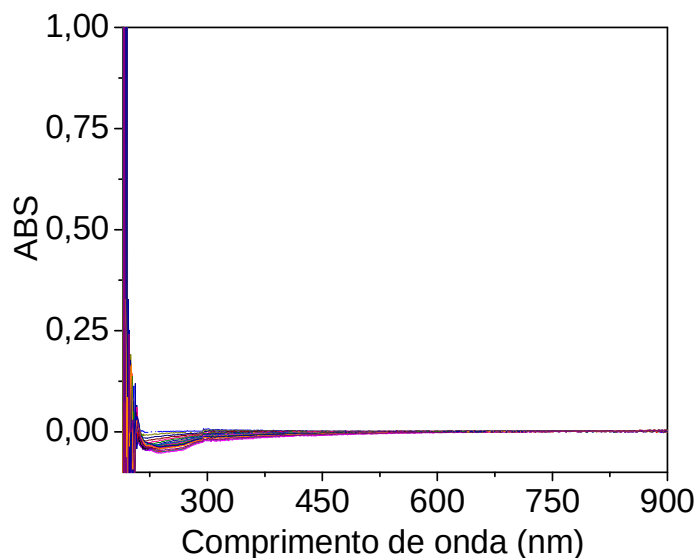


Figura 3. Espectros eletrônicos de solução 10 % (m/m) do copolímero L64 em água à temperatura de 25°C (190 a 900 nm).

De acordo com os resultados mostrados na figura 3, foi verificado que não existe nenhuma banda de absorção, com comprimento máximo de onda em 340 nm proveniente da macromolécula. Percebe-se também, baseando-se na figura 2, que a solução aquosa do sal de ouro não possui banda de absorção nessa região. Baseado nessas evidências, pode-se então afirmar que a banda em 340 nm seria um produto intermediário da reação ocorrida pela mistura do sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ com o copolímero tribloco L64, sendo esse intermediário, um complexo formado pelos ânions AuCl_4^- e as macromoléculas do copolímero. Nos trabalhos de Sakai e Alexandridis²⁸ é mencionado, no processo de formação de AuNps, essa interação entre o ânion AuCl_4^- e o copolímero tribloco, onde, segundo os autores, esses copolímeros formam cavidades com os íons AuCl_4^- , em que $(\text{AuCl}_4^-)\text{-(EO-PO-EO)}_n$ representa os íons AuCl_4^- ligados às cavidades, que são formadas por EO e PO enrolados.

Já a terceira banda, com máximo comprimento de onda de 540 nm, deve-se à formação das AuNps. Essas nanoestruturas, quando esféricas, apresentam uma banda de absorção em comprimentos de onda numa faixa compreendida entre 500 e 600 nm, aproximadamente. Essa absorção ocorre devido à ressonância plasmônica de superfície^{23,24} dessas nanopartículas. Na figura 1, observamos uma banda pouco intensa pelo fato da medida ter sido realizada instantaneamente após a mistura de sal de ouro e copolímero.

3.2. Evolução temporal dos espectros eletrônicos da mistura aquosa de L64 +HAuCl₄.3H₂O

Baseado nas informações espectrais obtidas a partir da mistura de solução 10% (m/m) do copolímero tribloco L64 com a solução 0,300 mmol kg⁻¹ do sal de ouro HAuCl₄.3H₂O, lido instantaneamente após a mistura, surgiu a necessidade de monitorarmos a formação das AuNps para verificarmos as alterações espectrais ao longo do tempo. A figura 4 mostra os espectros da solução resultante dessa mistura lidos consecutivamente, por aproximadamente 2 horas em intervalos de aproximadamente 2,5 minutos até alcançar a estabilização do sinal analítico, isto é, absorbância constante.

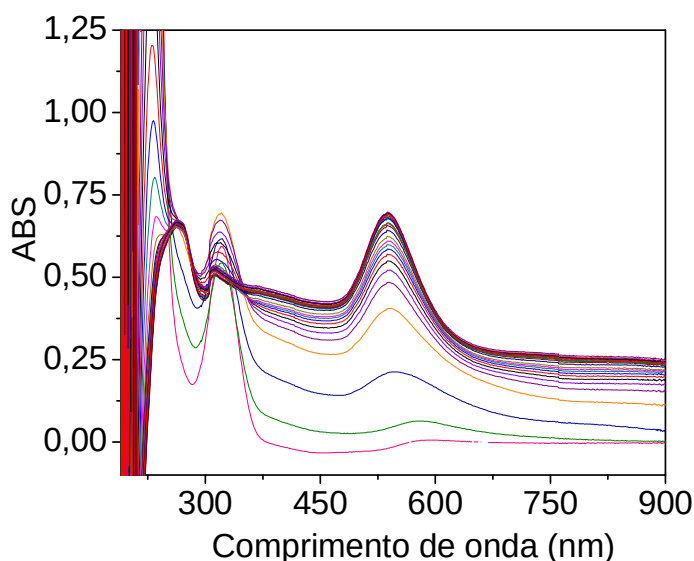


Figura 4. Espectros eletrônicos da solução resultante da mistura de L64 10% (m/m) e HAuCl₄.3H₂O 0,300 mmol kg⁻¹ a cada 2,5 minutos pelo período de 2 horas.

Observa-se que na região com comprimento de onda máximo igual a 540 nm ocorre um aumento na intensidade da banda, indicando assim, um aumento na quantidade de AuNps formadas. Percebe-se também nesse processo de evolução que inicialmente o tamanho das partículas é maior, com bandas mais largas deslocadas para comprimentos de onda maiores. Entretanto, nas regiões de comprimento de onda máximo igual a 340 nm (banda correspondente ao complexo) e de comprimento de onda máximo igual a 220 nm (banda correspondente ao ânion AuCl₄⁻), ocorre uma

diminuição das intensidades dessas bandas, indicando assim que, tanto o ânion AuCl_4^- quanto o complexo $\text{AuCl}_4\text{-L64}$, estão sendo consumidos para a formação das AuNps.

3.3. Mecanismo proposto para a síntese de nanopartículas de ouro

Diante de todas as informações espectroscópicas a respeito do processo de formação das AuNps obtidas pelos espectros eletrônicos, foi proposto um mecanismo de síntese dessas AuNps. Segundo este mecanismo, através de uma mistura de solução aquosa de sal de ouro com uma solução aquosa de copolímero tribloco, obtêm-se uma espécie intermediária, que seria o complexo formado pelos íons do sal de ouro com as macromoléculas de copolímero. Devido às reações de oxi-redução entre os íons do sal de ouro adsorvidos na cadeia do L64 e os segmentos EO ou PO do copolímero, ocorre a redução do ânion AuCl_4^- formando clusters de ouro que servem como núcleos para o crescimento e formação das AuNps. Pode-se descrever esse processo sintético de acordo com as equações 1 e 2.



Para melhor entendimento da síntese das AuNps, esse processo será apresentado através de duas etapas de acordo com as figuras 5 e 6. A figura 5 representa a primeira etapa do mecanismo de síntese das AuNps.

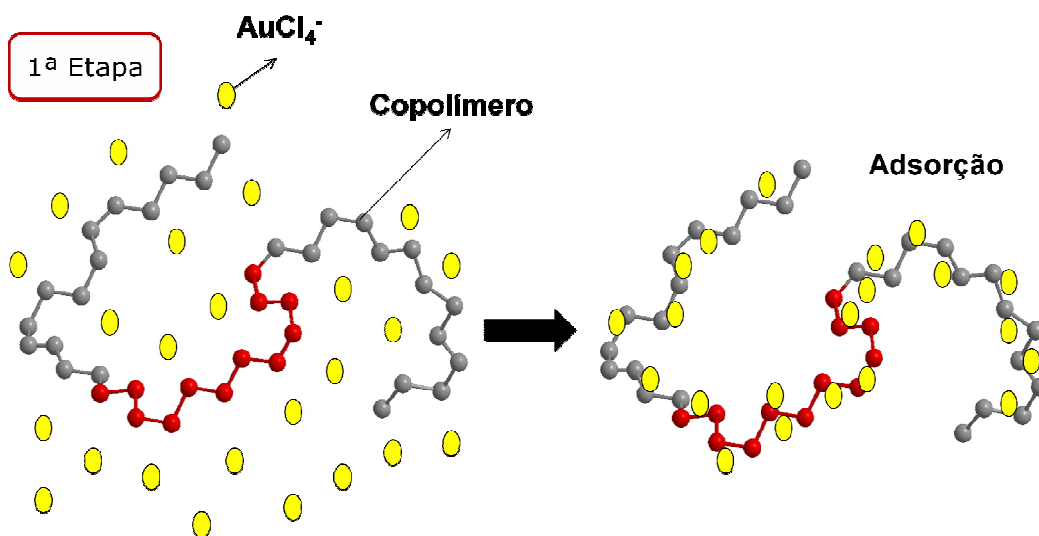


Figura 5. Representação da primeira etapa do processo de síntese das AuNps.

Como mostrado na figura 5, na primeira etapa temos os ânions AuCl_4^- juntamente com as macromoléculas de copolímero em solução aquosa. Com o passar do tempo esses ânions adsorvem ao longo das macromoléculas de copolímero, interagindo com os elétrons livres dos oxigênios dos grupamentos EO e PO da macromolécula.

Dando sequência ao processo de síntese, temos a realização da segunda etapa. A figura 6 representa a segunda etapa do mecanismo de síntese das AuNps.

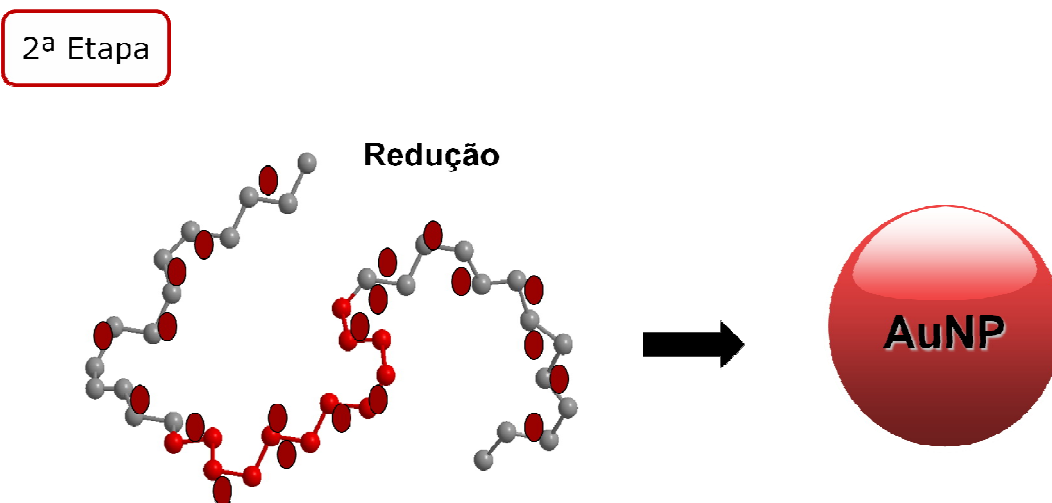


Figura 6. Representação da segunda etapa do processo de síntese das AuNps.

De acordo com o mostrado na figura 6, temos as reações de oxi-redução envolvendo os ânions do sal de ouro e os oxigênios presentes nos segmentos EO e PO

da macromolécula, na qual esses ânions são reduzidos a Au^0 . Pequenos grupos de átomos de Au^0 resultante das reações de oxi-redução formam clusters, sendo que estes servem de suportes para os demais átomos de ouro resultantes do processo de redução, proporcionando assim a agregação dos mesmos com posterior crescimento e formação das nanopartículas.

Quando esse processo de síntese foi acompanhado, visualmente, ao longo do tempo, percebeu-se claramente a mudança de cor da solução resultante. Com aproximadamente duas horas de reação as nanopartículas são completamente formadas. A figura 7 mostra um acompanhamento visual da formação das AuNps através da mistura de solução aquosa do copolímero tribloco L64 10% (m/m) e solução aquosa do sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ $0,300 \text{ mmol kg}^{-1}$.

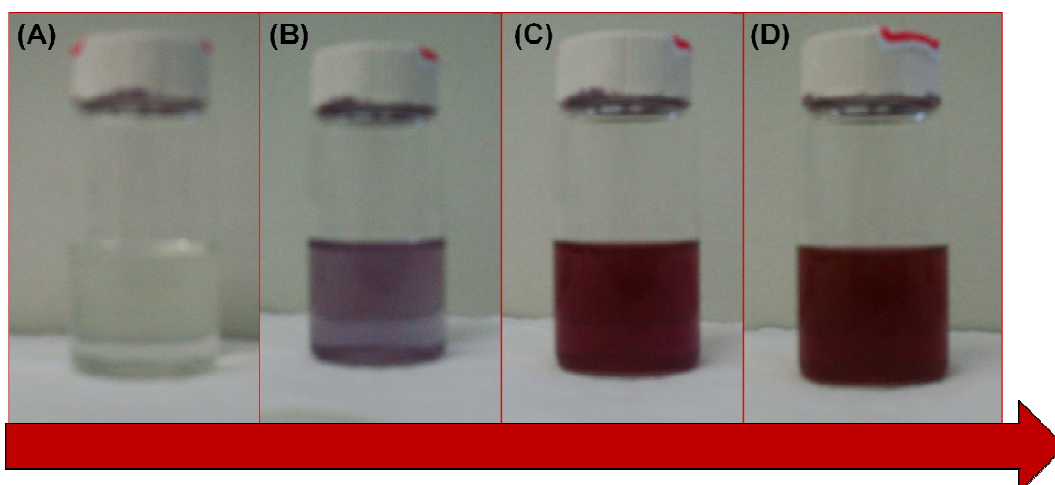


Figura 7. Acompanhamento visual da formação de AuNps através da mistura de solução aquosa de L64 10% (m/m) e solução aquosa de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ $0,300 \text{ mmol kg}^{-1}$ durante 2 horas.

Como mostrado na figura 7 pode-se acompanhar nitidamente a mudança de cor da solução resultante da mistura de solução aquosa de L64 10% (m/m) e solução aquosa de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ $0,300 \text{ mmol kg}^{-1}$. Inicialmente observa-se no tempo zero, ou seja, no momento em que as soluções foram misturadas (figura 7A), que a solução resultante se encontrava incolor, sem nenhum indício de formação de nanopartículas. Com cerca de 5 minutos (figura 7B) percebe-se uma mudança de coloração para um tom roxo claro, indicando o início de formação das AuNps. Com 10 minutos já nota-se uma mudança de cor para coloração vermelha (figura 7C), indicando o aumento da quantidade de nanopartículas formadas. Com 2 horas de reação (figura 7D), verifica-se uma coloração vermelha intensa característica de uma suspensão coloidal de AuNps.

3.4. Cinética de formação das nanopartículas de ouro pelo copolímero tribloco L64 10% (m/m) e o sal $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

Diante da necessidade de entendermos melhor o mecanismo de formação das AuNps, foi obtida primeiramente a absorbância em função do tempo para o processo de redução do ânion AuCl_4^- . Foi monitorado o decaimento da absorbância no comprimento de onda de 220 nm. A figura 8 mostra uma curva de decaimento de absorbância em função do tempo, que representa o processo de redução do ânion AuCl_4^- .

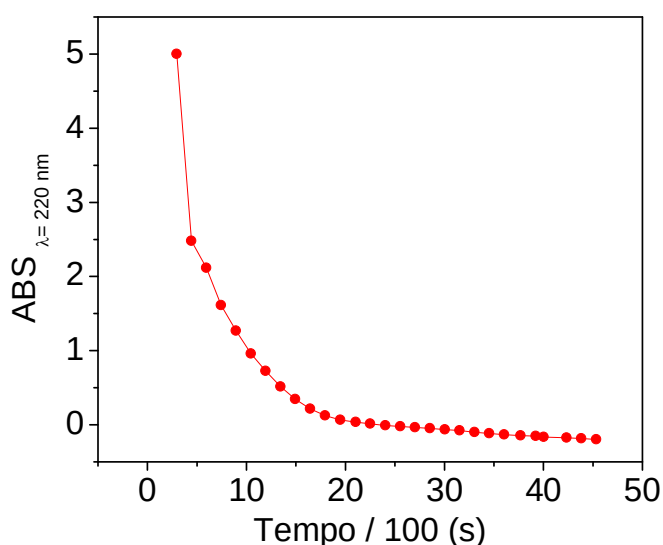


Figura 8. Curva do processo de redução do ânion AuCl_4^- em função do tempo.

De acordo com o observado na figura 8 percebe-se que a velocidade inicial de redução do ânion AuCl_4^- é alta, mostrando uma brusca diminuição da absorbância. Porém com o decorrer do tempo, percebe-se que essa velocidade diminui e com cerca de uma hora de reação (3600 segundos), a curva praticamente estabiliza com a absorbância próximo de zero, indicando dessa forma, que nesse ponto, o ânion AuCl_4^- já foi quase totalmente consumido na reação.

Como o objetivo desse trabalho é estudar a síntese de AuNps, juntamente com o processo de redução do ânion AuCl_4^- , o processo de formação dessas nanopartículas também foi observado. A formação das AuNps foi monitorada pelo aumento de absorbância no comprimento de onda de 540 nm, que pode ser observada na figura 9.

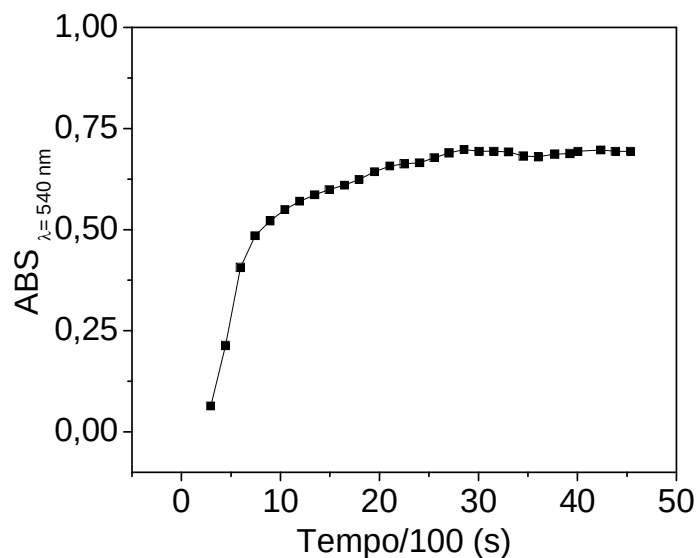


Figura 9. Curva do processo de formação das AuNps em função do tempo.

De acordo com o mostrado na figura 9 percebemos inicialmente uma alta velocidade no processo de formação das nanopartículas, porém rapidamente percebemos que essa velocidade vai diminuindo até atingir certo patamar de estabilização por volta de 2500 segundos, indicando com isso que a quantidade máxima de nanopartículas foi formada.

Quando foram comparadas essas duas curvas em um mesmo gráfico, percebemos algumas diferenças de comportamento nos perfis das curvas de redução do ânion AuCl_4^- e de formação das AuNps, como pode ser observado na figura 10.

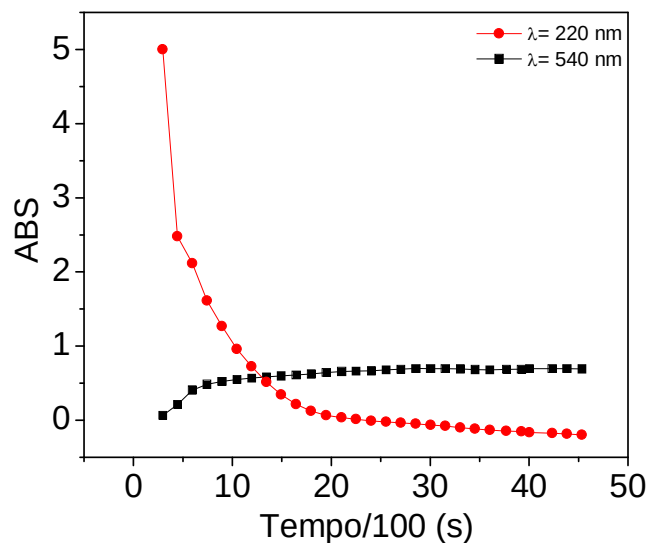


Figura 10. Comparação das curvas de formação das AuNps e de redução ânions AuCl_4^- na temperatura de 25 °C.

Observa-se que a velocidade inicial de redução do ânion AuCl_4^- é bem maior que a velocidade inicial de formação das AuNps. Percebe-se ainda que mesmo após o ânion AuCl_4^- ser totalmente consumido ainda se formavam AuNps. Esse estudo comparativo entre as curvas de redução e formação foi realizado em diferentes temperaturas, e percebemos que o comportamento foi parecido em todas as temperaturas estudadas, como pode ser observado na figura 11. A figura 11 mostra a comparação entre os comportamentos das curvas de redução do ânion AuCl_4^- e formação de AuNps nas temperaturas de 10, 15, 35 e 45°C.

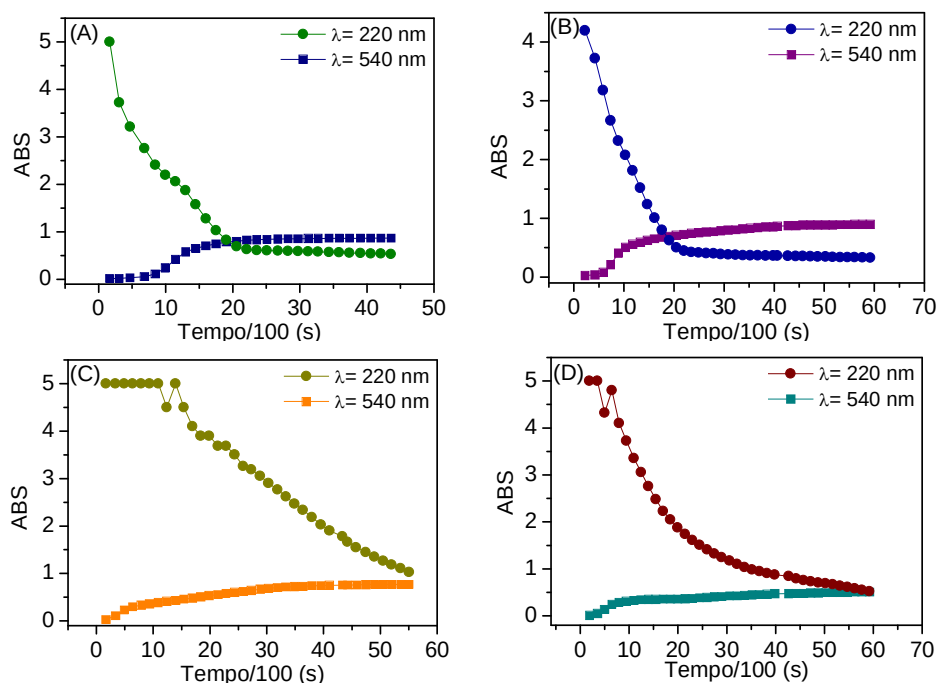


Figura 11. Comparação das curvas de formação das AuNps e de redução dos ânions AuCl_4^- em diferentes temperaturas (A) 10 °C; (B) 15 °C; (C) 35 °C; e (D) 45 °C.

Baseando nos resultados da figura 11 pode-se afirmar que em todas as curvas, inicialmente a velocidade de redução do ânion AuCl_4^- foi maior que a velocidade de formação das AuNps, sugerindo assim a existência de uma etapa intermediária na síntese de nanopartículas.

3.5. Efeito da temperatura na síntese das nanopartículas

Para analisar melhor a tendência das curvas Absorbância x Tempo no processo de formação das AuNps, em diferentes temperaturas, essas curvas foram comparadas em um mesmo gráfico, como pode ser observado na figura 12.

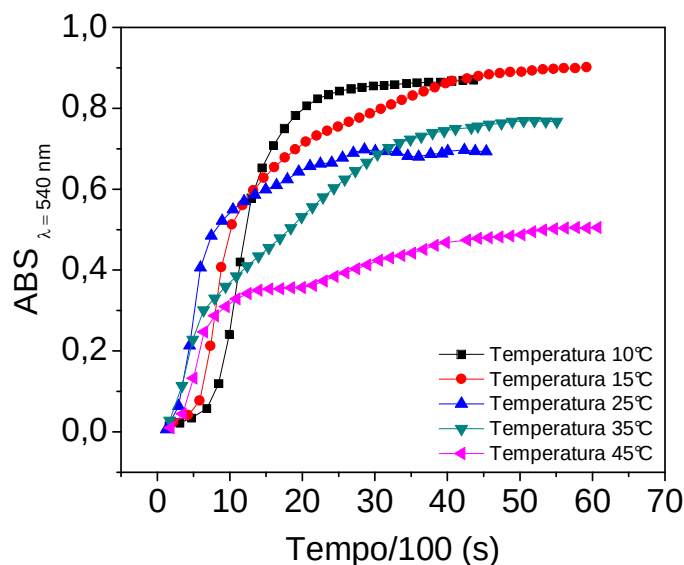


Figura 12. Comparação das curvas de formação de AuNps nas temperaturas 10, 15, 25, 35 e 45°C.

De acordo com o observado na figura 12, em todas as temperaturas as velocidades iniciais de formação das AuNps são altas, como pode-se observar através da inclinação das curvas nos minutos iniciais da síntese. O rendimento da síntese diminui com o aumento da temperatura, nos mostrando que o processo de formação dessas nanopartículas é exotérmico uma vez que fornecemos energia na forma de calor para o sistema e isso contribui negativamente para a formação das nanopartículas. O aumento da temperatura entre 10 e 25°C fez com que a velocidade inicial do processo de síntese aumentasse e para temperaturas superiores a 25°C esta velocidade diminuiu. Este resultado sugere que a conformação da macromolécula tem um efeito sobre a velocidade inicial de síntese das nanopartículas. Quanto maior a temperatura, maior a interação L64-L64 e menor a interação L64-AuCl₄⁻. Mas em termos de velocidade global, observamos que o aumento da temperatura causou uma diminuição na velocidade de síntese. Geralmente o aumento da temperatura na maioria dos processos cinéticos contribui para um aumento na velocidade de reação, sendo esse processo de síntese de AuNps uma das poucas exceções desse comportamento. Entretanto o perfil geral das curvas nos faz inferir que o mecanismo de reação seria o mesmo no processo de formação das AuNps nessas diferentes temperaturas.

Da mesma forma que para as curvas de formação das AuNps, foi comparado também, em um mesmo gráfico, as curvas de redução do ânion AuCl_4^- nas diferentes temperaturas, como pode ser observado através da figura 13.

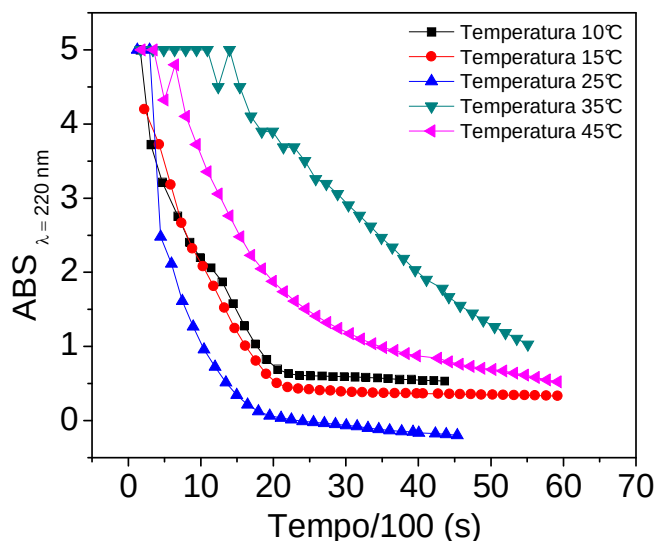


Figura 13. Comparação das curvas de redução do ânion AuCl_4^- nas temperaturas de 10, 15, 25, 35 e 45 °C.

De acordo com o observado na figura 13, quando se compara as curvas em diferentes temperaturas para o processo de redução do ânion AuCl_4^- , percebe-se que ao elevarmos a temperatura entre 10 e 25°C, ocorre um aumento na velocidade de redução do ânion AuCl_4^- . Já em 35°C essa velocidade de redução diminui bastante em relação às velocidades nas temperaturas de 10, 15 e 25°C. Em 45°C a velocidade de redução aumenta em relação à velocidade na temperatura de 35°C, porém é menor em relação às velocidades nas temperaturas de 10, 15 e 25°C. Uma vez que as curvas de formação das AuNps mostraram um efeito de temperatura diferente das curvas de redução do ânion AuCl_4^- , pode-se considerar que existem dois mecanismos diferentes envolvidos no processo de síntese das AuNps, exigindo com isso um estudo mais detalhado e criterioso a respeito desses mecanismos. Em virtude disso, para adquirir maior conhecimento sobre esse processo de síntese das AuNps, será realizado um estudo mais detalhadamente a respeito de cada um desses mecanismos.

3.6. Cinética das Reações

A cinética química, também conhecida como cinética das reações, pode ser definida como o estudo das velocidades e mecanismos das reações químicas.²⁵

Para uma reação homogênea, ou seja, que ocorre completamente em uma única fase, como exemplificado na equação 3,



a, b, e, f, são os coeficientes estequiométricos na equação química balanceada e A, B, E, F são as espécies químicas em estudo, sendo que a velocidade com que esses reagentes são consumidos é proporcional ao seu coeficiente estequiométrico na reação,²⁵ como mostra a equação 4,

$$\frac{1}{a} \frac{dn_A}{dt} = \frac{1}{b} \frac{dn_B}{dt} \quad (4)$$

onde t é o tempo e n é o número de mols do componente A ou B presente no tempo t. A velocidade de conversão J é definida de acordo com a equação 5.

$$J \equiv -\frac{1}{a} \frac{dn_A}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{dn_B}{dt} = \dots = \frac{1}{e} \frac{dn_E}{dt} = \frac{1}{f} \frac{dn_F}{dt} = \dots \quad (5)$$

A velocidade de conversão J é uma grandeza extensiva, porém a velocidade de conversão por unidade de volume (V), denominada velocidade de reação r, é uma grandeza intensiva e depende da T, P e das concentrações no sistema.²⁵ A velocidade de reação é mostrada de acordo com a equação 6.

$$r \equiv \frac{J}{V} = \frac{1}{V} \left(\frac{1}{a} \frac{dn_A}{dt} \right) \quad (6)$$

Uma vez que na maioria dos sistemas o volume é constante, ou sua variação é praticamente desprezível, pode-se relacionar número de mols sobre volume com concentração molar,²⁵ como mostrado pela equação 7.

$$r = -\frac{1}{a} \frac{[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{[B]}{dt} = \dots \frac{1}{e} \frac{[E]}{dt} = \frac{1}{f} \frac{[F]}{dt} = \dots V \text{ constante} \quad (7)$$

Para muitas reações temos que a velocidade r , no tempo t , está experimentalmente relacionada com as concentrações das espécies presentes no tempo t ,²⁵ como mostra a equação 8,

$$r = k[A]^\alpha [B]^\beta \dots [L]^\gamma \quad (8)$$

onde os expoentes são geralmente números inteiros ou semi-inteiros e k é a constante de velocidade.²⁵ Esses expoentes são denominados ordens parciais enquanto a soma dos mesmos é chamada de ordem global ou ordem da reação.²⁵

A expressão de r em função das concentrações em uma temperatura constante é denominada lei de velocidade de reação.²⁵ Essa lei de velocidade que governa a reação é uma equação diferencial que dá as velocidades de variação das concentrações das espécies que reagem.²⁵

Para medir a velocidade de reação r é necessário determinar a concentração de um reagente ou de um produto como uma função do tempo, sendo que, a partir de dados experimentais, pode-se obter concentrações das espécies em vários tempos ao longo de uma reação.²⁵ Dessa forma, a lei da velocidade é então determinada a partir de dados experimentais de concentração contra o tempo, e geralmente determina-se primeiro a ordem das reações para posteriormente determinar a constante de velocidade.²⁵

3.7. Determinação da ordem das reações de formação das nanopartículas de ouro

Para melhor compreensão dos mecanismos existentes na síntese de AuNps, tomou-se por base os estudos cinéticos das reações envolvidas no processo de formação das AuNps e também no de redução do ânion AuCl_4^- , e ajustou-se esses dados experimentais obtidos das curvas de cinética, ao modelo de reações de primeira ordem.²⁵ Para esse modelo admitiu-se que a reação $aA \rightarrow \text{produtos}$ é de primeira ordem com $r = k[A]$. Esse modelo de reações de primeira ordem pode ser descrito conforme a equação 9.

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = k[A] \quad (9)$$

De acordo com essa equação têm-se que a velocidade de reação é proporcional ao coeficiente estequiométrico na reação. Verifica-se para esse modelo que o gráfico do logaritmo neperiano da razão da concentração inicial de A, $([A]_0)$, dividido pela concentração final de A, $([A])$, como mostra a equação 10, em função do tempo, daria uma reta onde o coeficiente angular é a constante de velocidade da reação.

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]} \quad (10)$$

De acordo com a equação 10, são usados dados de concentração do reagente A para plotar um gráfico em função do tempo, onde o coeficiente angular da reta obtida seria a constante de velocidade da reação. Uma vez que era possível estimar a concentração do ânion AuCl_4^- , mas não tínhamos em mãos dados para estimar a concentração de AuNps, utilizou-se na equação 10 a absorbância do reagente A e não a concentração do reagente A, uma vez que a absorbância foi obtida por espectrometria de absorção molecular na região do ultravioleta-visível. Essa substituição não implica em erros uma vez que existe uma relação entre concentração e absorbância, sendo que essa relação depende somente do caminho óptico e da absortividade molar da espécie em estudo, como é demonstrado pelas equações de 11 a 15, onde *ABS* é a absorbância, ϵ é a absortividade molar da espécie em estudo, *L* é o comprimento do caminho óptico e *C* é a concentração.

$$ABS = \epsilon LC \quad (11)$$

$$C = \frac{ABS}{\epsilon L} \quad (12)$$

$$\frac{dc}{dt} = d\left(\frac{ABS}{\epsilon L}\right) \quad (13)$$

$$\frac{dc}{dt} = \left(\frac{dABS}{dt} \varepsilon L - \frac{d(\varepsilon L)}{dt} ABS \right) \div \varepsilon^2 L^2 \quad (14)$$

$$\frac{dc}{dt} = \frac{1}{\varepsilon L} \frac{dABS}{dt} \quad (15)$$

Baseado nisso, foi realizado o tratamento dos dados nas diferentes temperaturas para o processo de redução do ânion AuCl_4^- e também para o processo de formação das AuNps. As curvas obtidas através do tratamento dos dados de cinética podem ser observadas de acordo com a figura 14. A figura 14 mostra as curvas de ajuste do processo de redução do ânion AuCl_4^- e de formação das AuNps ao modelo de reações de primeira ordem nas temperaturas de 10, 15, 35 e 45°C.

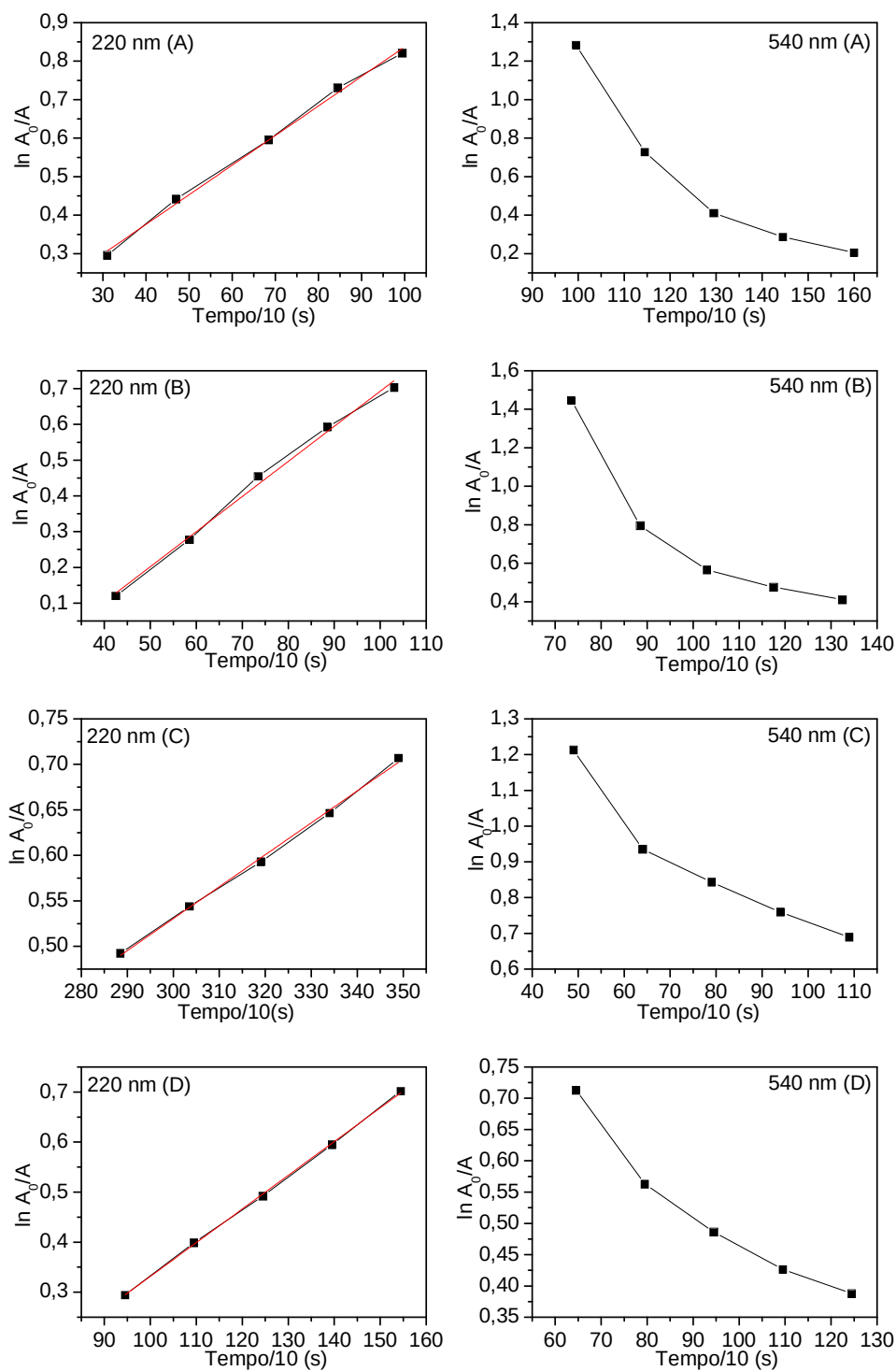


Figura 14. Curvas do processo de redução do ânion AuCl_4^- (220 nm) e de formação das AuNps (540 nm) ajustadas ao modelo de reações de primeira ordem nas temperaturas (A) 10, (B) 15, (C) 35 e (D) 45 °C.

De acordo com o observado na figura 14, com a realização do tratamento de dados nas diferentes temperaturas, para o processo de redução do ânion AuCl_4^- e para o processo de formação das AuNps, foi verificado, de acordo com as curvas obtidas, que o modelo de reações de primeira ordem se ajusta bem para o processo de redução do ânion AuCl_4^- , uma vez que foram obtidas curvas lineares a partir do tratamento de dados. Já para o processo de formação das AuNps verificou-se que as curvas obtidas não foram lineares, não se ajustando, desta forma, ao modelo de reações de primeira ordem.

Uma vez que o processo de redução do ânion AuCl_4^- se ajustou ao modelo, as constantes de velocidade de reação nesse processo foram obtidas através das curvas de cinética ajustadas ao modelo, onde essas constantes eram os coeficientes angulares de cada curva nas diferentes temperaturas estudadas. As constantes obtidas nas temperaturas de 10, 15, 35 e 45°C são mostradas na tabela 1.

Tabela 1. Constantes de velocidade de reação para o processo de redução do ânion AuCl_4^- em diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	$K(\text{dm}^3/\text{mol})^{n-1} \text{ s}^{-1}$
10	7,6864
15	9,8190
35	3,5101
45	6,7360

Como se pode observar, de acordo com a tabela 1, com o aumento da temperatura, os correspondentes valores das constantes não obedecem a uma tendência. Normalmente com o aumento da temperatura os valores das constantes também aumentam.

Com a variação da temperatura ocorrem mudanças conformacionais na cadeia do copolímero, mudando assim a interação L64- AuCl_4^- e consequentemente alterando a constante de velocidade de redução do ânion AuCl_4^- .

3.8. Ajuste dos dados experimentais das curvas de cinética do processo de formação das nanopartículas de ouro ao modelo de reações de segunda ordem

Uma vez que o processo de formação das AuNps não se ajustou ao modelo de reações de primeira ordem, foi realizada a tentativa de ajustar esse processo ao modelo de reações de segunda ordem. As formas mais comumente utilizadas da lei de velocidade de segunda ordem são $r = k[A]^2$ e $r = k[A][B]$, onde A e B são os dois reagentes. Admitindo que a reação $aA \rightarrow produtos$ é de segunda ordem, com $r = k[A]^2$, pode-se descrever este processo com a equação 16.

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = k[A]^2 \quad (16)$$

Admitindo que a reação seja $aA + bB \rightarrow produtos$ com a lei de velocidade $r = k[A][B]$, o modelo de reações de segunda ordem pode ser descrito de acordo com a equação 17.

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = k[A][B] \quad (17)$$

Para o modelo de reações de segunda ordem, obedecendo a forma descrita na equação 16, o gráfico do logaritmo neperiano de 1 sobre a concentração de A, como mostra a equação 18, em função do tempo, daria uma reta onde o coeficiente angular é a constante de velocidade da reação.

$$\ln \frac{1}{[A]} \quad (18)$$

Nesse estudo também foram utilizados dados de absorbância e não de concentração, como explicado anteriormente no item 3.7.

A curva obtida através do ajuste dos dados cinéticos do processo de formação das AuNps ao modelo de reações de segunda ordem pode ser observada de acordo com a figura 15.

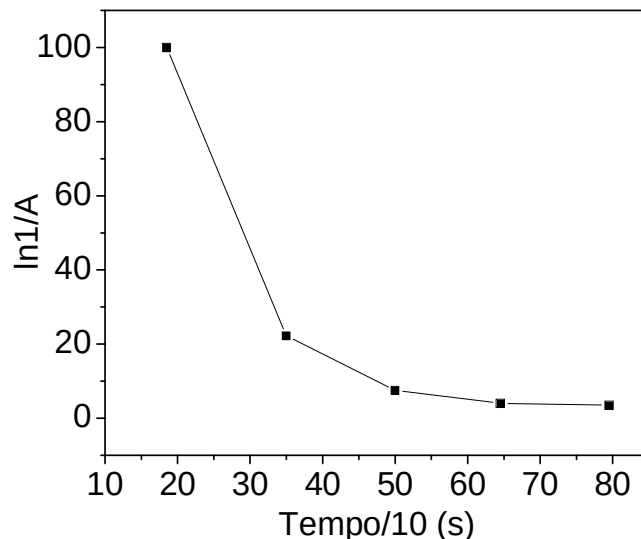


Figura 15. Processo de formação das AuNps na temperatura de 45°C ajustado ao modelo de reações de segunda ordem.

Verificou-se que o processo de formação das AuNps também não se ajusta ao modelo de reações de segunda ordem, uma vez que não obteve-se uma curva linear com o tratamento dos dados.

Poucos modelos cinéticos a respeito da formação das AuNps são relatados. A respeito desse assunto, pode-se mencionar um estudo de cinética de formação das AuNps realizado por Zhou e colaboradores,²⁶ onde, nesse estudo, as investigações foram realizadas por espectroscopia dinâmica de absorção molecular na região do UV-vis *in situ* e um modelo redox de cristalização foi estabelecido para análise quantitativa dos dados cinéticos obtidos.

3.9. Estudo da influência da concentração do sal de ouro e do copolímero L64 no processo de formação das nanopartículas

3.9.1. Estudo do processo de formação das AuNps em função da concentração do sal de ouro

Uma vez que a velocidade de reação r , depende da temperatura, pressão e das concentrações das espécies no sistema²⁵, foi realizado um estudo para o processo de formação das AuNps mantendo a concentração do copolímero L64, a temperatura (25°C) e a pressão (ambiente) constantes, e variando a concentração do sal de ouro.

Dessa forma, a variável que estaria sendo estudada no processo de formação das AuNps seria a concentração de sal de ouro. Caso os dados das curvas de cinética se ajustassem ao modelo de reações de primeira ordem obtendo uma reta, seria possível afirmar que o processo de formação das AuNps era dependente somente da concentração de sal de ouro.

Para estes estudos foram obtidas curvas de formação de AuNps como mostrado na figura 16, que representam o processo de formação das AuNps variando a concentração do sal de ouro.

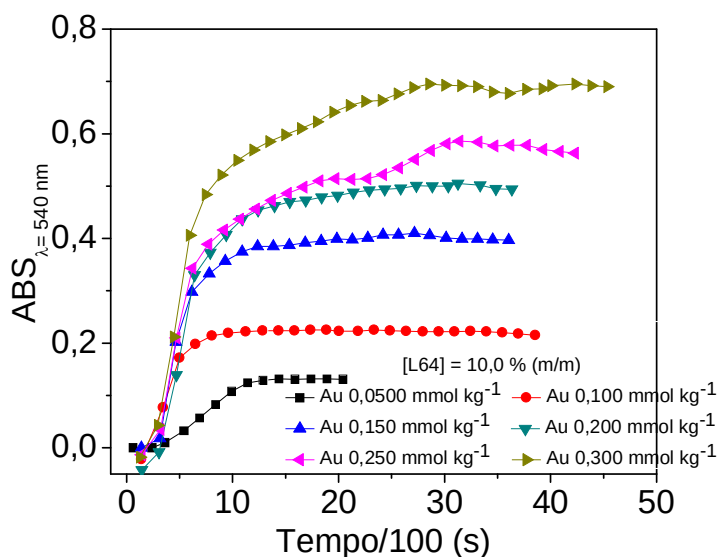


Figura 16. Curvas do processo de formação das AuNps em L64 10 % (m/m) e concentração de sal de ouro de 0,0500 a 0,300 mmol kg⁻¹.

De acordo com a figura 16, percebe-se que à medida que a concentração do sal de ouro aumenta, aumenta-se a velocidade do processo de formação das nanopartículas e a quantidade de nanopartículas formadas, mostrando que a concentração do sal de ouro influencia o processo de formação das AuNps.

A partir dos dados da figura 16, foi feito o ajuste ao modelo de reações de primeira ordem. Para o ajuste, a curva utilizada foi a de concentração do sal de ouro de 0,0500 mmol kg⁻¹ e do copolímero L64 de 10% (m/m), sendo esse ajuste mostrado na figura 17.

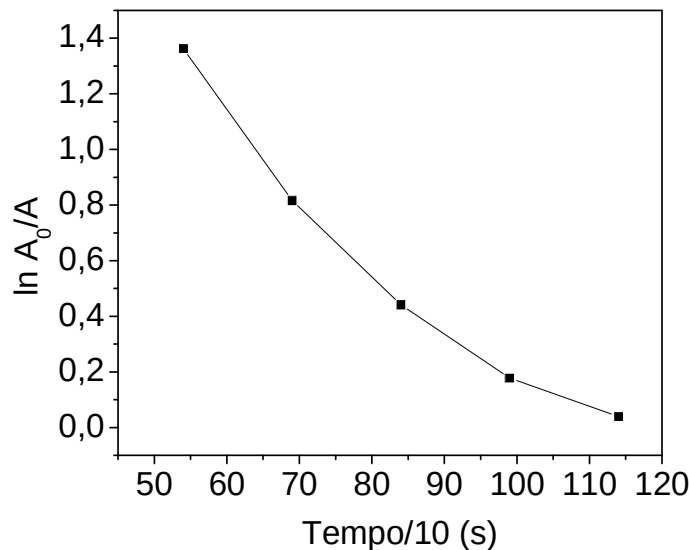


Figura 17. Curva de ajuste ao modelo de reações de primeira ordem do processo de formação das AuNps sendo a concentração de L64 10 % (m/m) e de sal de ouro 0,0500 mmol kg⁻¹.

Como se pode observar de acordo com a figura 17, com o ajuste do processo de formação das AuNps ao modelo de reações de primeira ordem, variando a concentração do sal de ouro e mantendo constante a concentração do copolímero, temperatura e pressão, não foi obtida uma reta, comprovando que esse processo de formação não se ajusta ao modelo de reações de primeira ordem e nos indicando com isso. Pode-se então inferir que esse processo não é dependente apenas da concentração do sal de ouro, mas também dependente da concentração de copolímero.

Para todas as curvas mostradas na figura 16, realizou-se um estudo para verificar a influência da concentração do copolímero L64 e dos grupos EO na síntese de AuNps onde foi calculada a razão $[\text{Au}]/[\text{L64}]$, obtendo os respectivos valores de $1,45 \times 10^{-3}$, $2,90 \times 10^{-3}$, $4,35 \times 10^{-3}$, $5,80 \times 10^{-3}$, $7,25 \times 10^{-3}$ e $8,70 \times 10^{-3}$ de acordo com a ordem crescente de concentração do sal de ouro. Foi calculada também a razão $[\text{Au}]/[\text{EO}]$, onde obteve-se os respectivos valores de $3,62 \times 10^{-3}$, $7,25 \times 10^{-3}$, $8,70 \times 10^{-3}$, 0,011, 0,014, 0,018 e 0,022.

Comparando os valores da razão $[\text{Au}]/[\text{EO}]$ e $[\text{Au}]/[\text{L64}]$, com as curvas mostradas anteriormente na figura 16, percebe-se que na fase inicial do processo de formação das AuNps os grupamentos EO contribuem mais, pois os valores para a razão $[\text{Au}]/[\text{EO}]$ são maiores, indicando assim maior consumo de EO. Já para a razão $[\text{Au}]/[\text{L64}]$, foi verificada a existência de valores menores, indicando assim a menor contribuição dos blocos PO do copolímero L64 na fase inicial do processo.

3.9.2. Estudo do processo de formação das nanopartículas de ouro em função da concentração do copolímero L64

Para confirmar que o processo de formação das AuNps depende também da concentração de copolímero, foi realizado o estudo do efeito da concentração de copolímero no processo de formação das AuNps, como pode ser observado na figura 18.

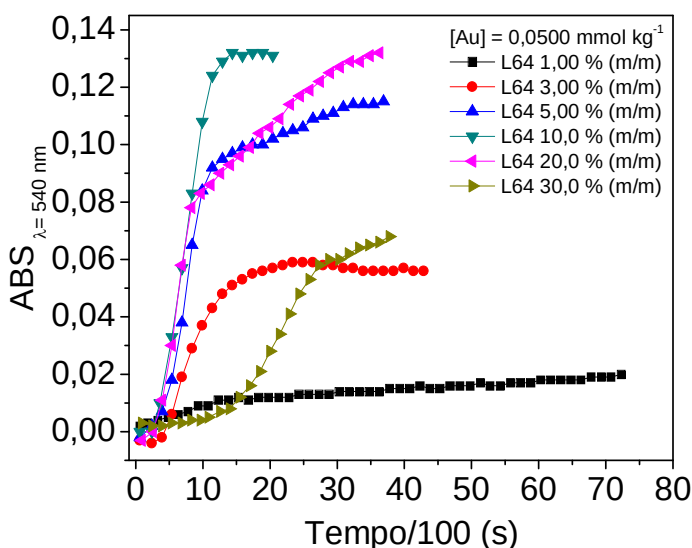


Figura 18. Curvas de influência da concentração de copolímero no processo de formação das AuNps.

Fica claro que a concentração de copolímero influencia no processo de formação das AuNps, sendo esse processo de formação dependente tanto da concentração do sal de ouro, como também da concentração da macromolécula de copolímero.

Estas diferentes concentrações da macromolécula estão relacionadas aos seus diferentes estados de agregação. O L64 forma estruturas lamelares quando se utiliza menores quantidades de água como solvente.²⁷ Porém, à medida que a quantidade de solvente é aumentada, diferentes microestruturas baseadas em forma cilíndrica ou micelas esféricas podem ser observadas.²⁷ Nas concentrações de 1,00 a 5,00 % (m/m) as macromoléculas de copolímero estariam na forma de unímero, uma vez que a cmc do copolímero L64 na temperatura de 25°C é 26 mM,⁸ que corresponde a 7,54% (m/m). Para as concentrações de 1,00 e 3,00% (m/m) observa-se um menor favorecimento para a formação de AuNps, uma vez que, estando na forma de unímero, as macromoléculas

estão mais dispersas, tendo assim contato com menor quantidade dos íons AuCl_4^- , diminuindo o rendimento do processo de redução e consequentemente o crescimento e formação das nanopartículas. Para a concentração de 5,00 % (m/m) observa-se um grande aumento na velocidade e quantidade de nanopartículas formadas, uma vez que essa concentração está próxima à cmc e assim as moléculas de copolímeros estariam começando a se organizar para formar micelas, aumentando com isso a produção de nanopartículas. Para a concentração de 10,0 % (m/m), as macromoléculas estariam estruturadas na forma de micelas, favorecendo assim o processo de redução, crescimento e estabilização na formação das AuNps, uma vez que com este estado de agregação, cavidades²⁸ são formadas através dessas micelas favorecendo maior interação entre os íons e as macromoléculas. Nas concentrações de 20,0 e 30,0 % (m/m), também foi observado um menor favorecimento à formação das AuNps, uma vez que nessas concentrações as macromoléculas poliméricas se encontram em estruturas lamelares, estando dessa forma com os grupamentos EO e PO das macromoléculas menos disponíveis para realização de reações de oxidação-redução.

3.9.3. Estudo do processo de formação das nanopartículas de ouro em L64 3,00 % (m/m) variando a concentração do sal de ouro

Nesse estudo foi fixada a concentração do copolímero tribloco L64 em 3,00 % (m/m) e variou-se a concentração do sal de ouro de 0,0500 até 0,600 mmol kg⁻¹, como pode ser observado na figura 19.

De acordo com a figura 19 pode-se observar que à medida que se aumenta a concentração do sal de ouro, maior quantidade de nanopartículas é formada, exceto na concentração de sal de ouro 0,600 mmol kg⁻¹, que apresenta os menores valores de absorbância. A pouca formação de AuNps na concentração de 0,600 mmol kg⁻¹ se deve à baixa concentração de copolímero, que é o agente redutor no meio reacional, e o excesso de sal de ouro, fazendo com que grande parte do ânion AuCl_4^- não seja reduzida. O máximo de absorbância obtido para a formação de AuNps nesse experimento foi menor quando comparado a experimentos utilizando L64 na concentração de 10,0 % (m/m), mostrando mais uma vez a influência da concentração de copolímero no processo de formação das AuNps.

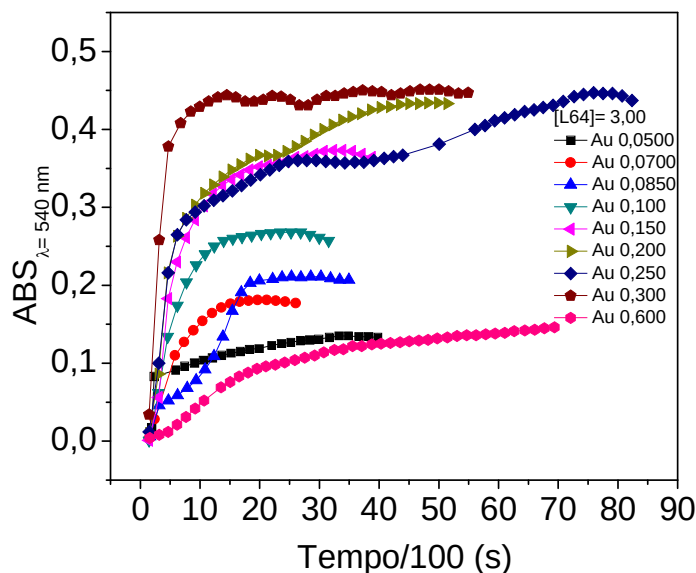


Figura 19. Cinética do processo de formação das AuNps em L64 3,00 % (m/m) e diferentes concentrações de sal de ouro em mmol kg⁻¹.

3.9.4. Estudo do processo de formação das nanopartículas de ouro em L64 20,0 % (m/m) variando a concentração do sal de ouro

Esse estudo segue os mesmos passos do item anterior, porém aqui foi fixada a concentração do copolímero tribloco L64 em 20,0 % (m/m) e da mesma forma variou-se a concentração do sal de ouro de 0,0500 até 0,600 mmol kg⁻¹. A figura 20 mostra o processo de formação das AuNps utilizando o copolímero tribloco L64 na concentração de 20,0 % (m/m).

De acordo com a figura 20 pode-se observar que a partir da concentração de sal de ouro 0,200 mmol kg⁻¹, a velocidade de formação das nanopartículas começou a diminuir, seguindo essa tendência até a concentração de 0,300 mmol kg⁻¹. Já para a concentração de ouro em 0,600 mmol kg⁻¹, o processo de formação das nanopartículas foi muito rápido além de formar grande quantidade. Com excessão dessa concentração, a quantidade de nanopartículas formadas nas demais foi menor quando comparado com a utilização de copolímero tribloco na concentração de 10,0 % (m/m). Essa menor formação de nanopartículas pode ser justificada pelo estado de agregação do copolímero que se encontra na estrutura de lamelas na concentração de 20,0 % (m/m), estando desta maneira com os grupamentos EO e PO menos disponíveis para o processo de oxidação-redução.

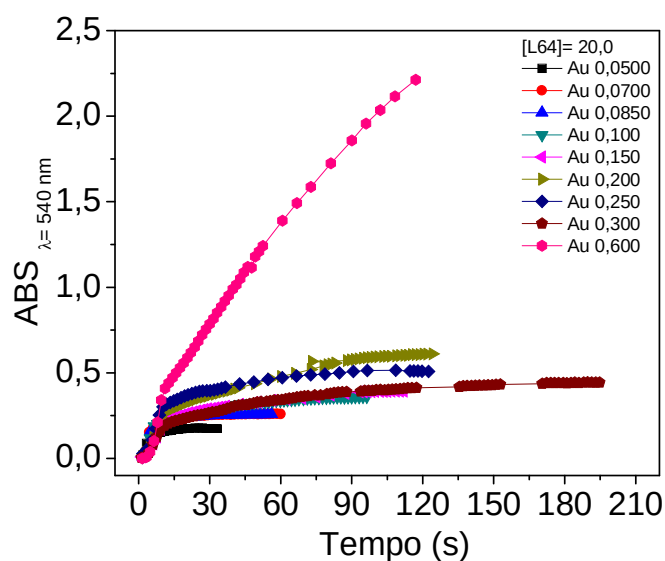


Figura 20. Cinética do processo de formação das AuNps em L64 20,0 % (m/m) e diferentes concentrações de sal de ouro em mmol kg^{-1} .

3.10. Estudo do efeito da adição de citrato de sódio 0,100 % (m/m) no processo de formação das AuNps

As AuNps foram sintetizadas pela mistura de solução do sal de ouro na concentração de $0,300 \text{ mmol kg}^{-1}$ com solução de L64 10,0 % (m/m) e citrato de sódio 0,100 % (m/m). Para comparar o processo de formação das AuNps, utilizou-se uma mistura de soluções de sal de ouro e L64 nas mesmas concentrações, porém sem a adição de citrato de sódio. A figura 21 mostra a influência da adição de citrato de sódio no processo de formação das AuNps.

De acordo com a figura 21, pode-se observar a influência da presença de citrato de sódio na formação das AuNps. Percebe-se que na presença de citrato de sódio, ocorre formação de maior quantidade de nanopartículas. Atribui-se essa maior quantidade de AuNps formada ao fato do citrato de sódio ser um agente redutor, assim como o copolímero. Dessa forma, ambos atuam no processo de redução, favorecendo assim o processo de formação das nanopartículas. A solução resultante de AuNps apresentou a banda espectral, tipicamente lida em 540 nm, um pouco deslocada para maiores comprimentos de onda próximo a 600 nm, como mostrado na figura 22, indicando que esteja formando nanopartículas de tamanhos maiores. Essa solução resultante apresentou coloração violeta.

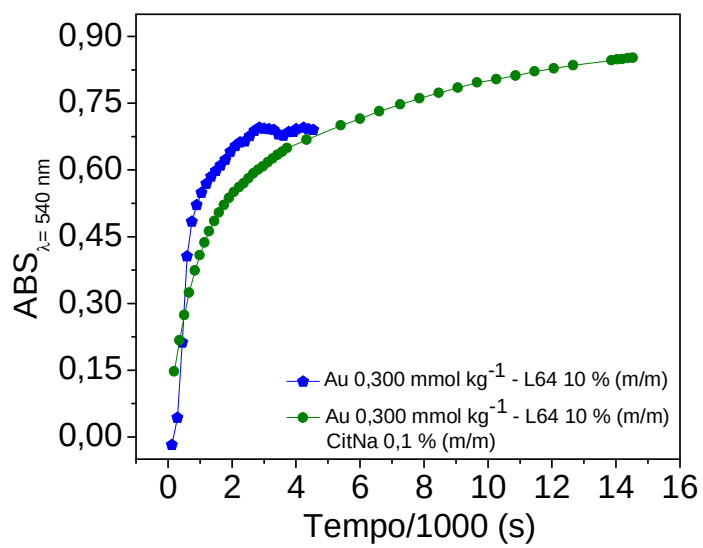


Figura 21. Cinética de formação das AuNps em L64 10,0 % (m/m) e L64 10,0 % (m/m) + citrato de sódio 0,100 % (m/m).

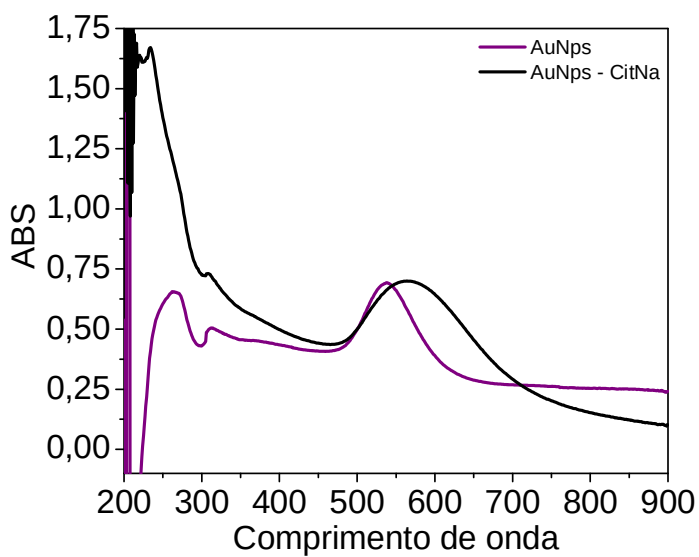


Figura 22. Deslocamento espectral da banda de absorção das AuNps devido a presença de CitNa para maiores comprimentos de onda.

3.11. Síntese de nanopartículas de ouro em diferentes copolímeros

Para dar continuidade aos trabalhos relacionados com a síntese de AuNps, realizou-se outros estudos com diferentes copolímeros para a verificação do efeito da estrutura molecular dos mesmos na cinética de formação das nanopartículas. Os copolímeros estudados foram os triblocos F68, P123, L35, L31, os tribloco “invertidos” 10R5 e 17R4 e o dibloco poly(EO-PO). Algumas características relacionadas a esses copolímeros, como a massa molar e a quantidade de monômeros nos grupamentos EO e PO, são mostradas na tabela 2.

Tabela 2. Massa molar (MM) e quantidade de grupamentos EO e PO dos copolímeros utilizados na síntese de AuNps.

Copolímero	EO	PO	MM (g mol^{-1})
F68	2x76	30	8400
P123	2x19	70	5800
L35	2x11	17	1900
L31	2x1	18	1100
10R5	22	2x8	2000
17R4	24	2x14	2700
poly(EO-PO)	1x	1x	2500

Pode-se observar, de acordo com a tabela 2, que os copolímeros tribloco F68, P123, L35 e L31 possuem um grupamento PO no centro e dois grupamentos EO nas extremidades, sendo mostrada a quantidade de monômeros presentes nesses grupamentos. Baseado nisso verifica-se que o copolímero F68 possui dois grupamentos de 76 monômeros EO em cada extremidade da macromolécula e um grupamento PO no centro. Essa mesma analogia se faz para os demais copolímeros tribloco. Para os copolímeros tribloco invertidos 10R5 e 17R4, têm-se dois grupamentos PO nas extremidades da macromolécula e um grupamento EO no centro, enquanto que para o copolímero dibloco poly(EO-PO) têm-se somente dois grupamentos, sendo um de EO e o outro de PO.

Para a síntese das AuNps utilizando esses diferentes copolímeros foram adotamos os mesmos passos utilizados na síntese com L64, porém esse estudo só foi realizado na temperatura de 25°C e a concentração final de sal de ouro foi igual a 0,300

mmol kg⁻¹. As concentrações em % (m/m) de cada copolímero, usados na síntese das AuNps foram equivalentes à concentração de L64 10,0 % (m/m) em mol kg⁻¹, que corresponde à 0,0345 mol kg⁻¹, mantendo dessa maneira o mesmo número de mols para todos os copolímeros no processo de síntese.

Dentre os copolímeros estudados, conseguiu-se sintetizar AuNps com os copolímeros tribloco F68 e P123, e com o copolímero tribloco “invertido” 17R4, como mostrado na figura 23. Nesta figura são mostrados os espectros da cinética de formação de AuNps utilizando esses copolímeros.

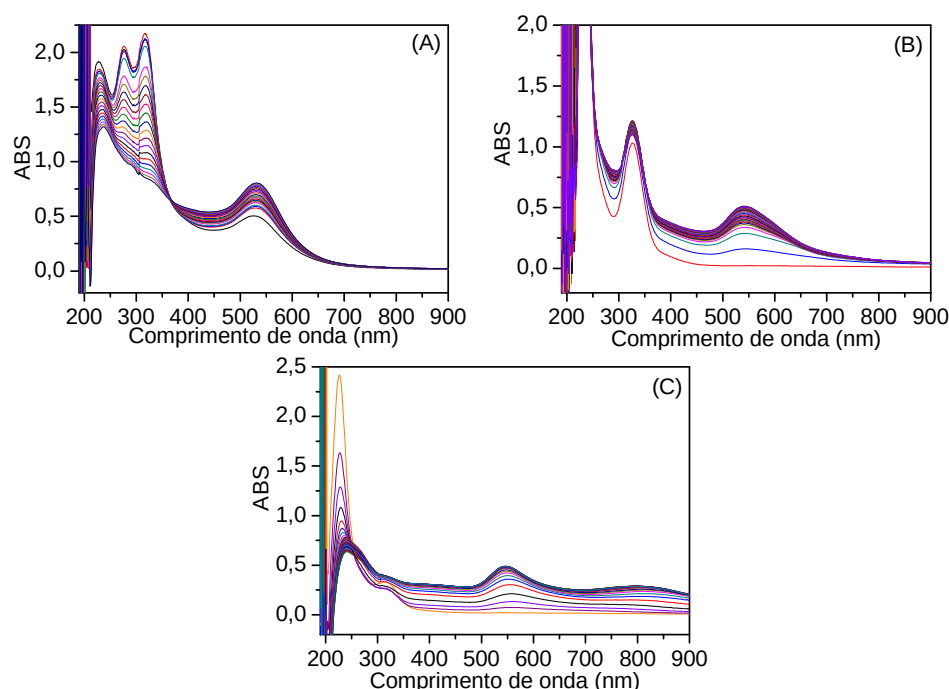


Figura 23. Espectros eletrônicos do processo de formação das AuNps a partir dos copolímeros F68 (A), P123 (B) e 17R4 (C).

Como observado na figura 23, percebe-se que os espectros para os três copolímeros são bastante distintos, sendo que essa diferença se dá pelos diferentes comprimentos dos blocos formadores das macromoléculas e também pela posição dos blocos no caso do copolímero “invertido”. Porém percebemos que, mesmo diante dessas diferenças, conseguiu-se obter a formação de AuNps com esses copolímeros, que é bem evidente, uma vez que as bandas são bastante nítidas na região de 540 nm, característica dessas nanopartículas.

De acordo com estudos realizados por Sakai e Alexandridis,²⁸ a massa molar da macromolécula e o comprimento dos blocos EO e PO controlam a atividade de reação dos copolímeros com os íons AuCl_4^- . Têm-se um aumento na atividade de reação com o aumento da massa molar e do comprimento dos blocos EO e dos blocos PO. Porém tem sido relatado que devido à imiscibilidade do homopolímero PO em soluções aquosas, o mesmo pode não contribuir diretamente para a redução dos íons metálicos, mas pode ajudar a aumentar a reatividade dos blocos EO com os íons metálicos.²⁹ Segundo Sakai e Alexandridis,²⁸ acredita-se que existe hidratação suficiente dos segmentos PO nos copolímeros em bloco EO-PO-EO para permitir uma interação direta entre os íons metálicos e esses segmentos PO. Posteriormente Sakai e Alexandridis¹⁰ comprovaram que o principal contribuinte para a redução dos íons AuCl_4^- e formação das AuNps são os blocos EO, uma vez que os blocos PO contribuem no estágio final da reação, como mencionado no item 3.9.1. Percebe-se que tanto o aumento do comprimento dos blocos EO, dos blocos PO e da massa molar do copolímero contribuem para o processo de redução dos íons AuCl_4^- e formação das AuNps. Baseado nisso, acompanhou-se a cinética de formação das AuNps utilizando os copolímeros F68, P123 e 17R4 conforme mostrado na figura 24. A figura 24 mostra a influência dos grupamentos EO e PO e da massa molar no processo de formação das AuNps.

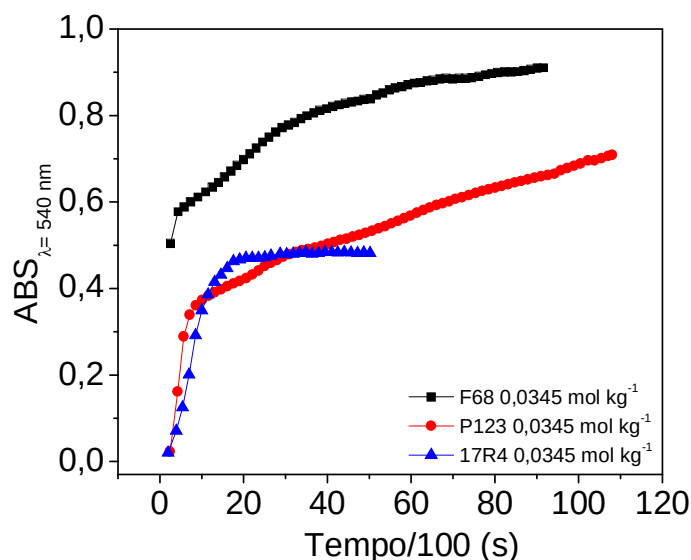


Figura 24. Contribuição dos blocos EO e PO e massa molar dos copolímeros no processo de formação das AuNps.

Para o copolímero tribloco F68, que apresenta uma estrutura $\text{EO}_{(76)}\text{PO}_{(30)}\text{EO}_{(76)}$, percebe-se que os comprimentos dos blocos laterais de EO são bem extensos, além de possuir uma elevada massa molar de 8400 g. mol^{-1} , sendo que ambas as características contribuem para a formação das nanopartículas, o que é condizente com a maior formação de nanopartículas. O copolímero tribloco P123, com a estrutura $\text{EO}_{(19)}\text{PO}_{(70)}\text{EO}_{(19)}$ possui o bloco central PO bem extenso. Porém, inicialmente a contribuição desse bloco é menor em relação aos blocos EO. Mas essa molécula também possui uma massa molar elevada de 5800 g. mol^{-1} , contribuindo assim para a formação das nanopartículas. Já o copolímero tribloco invertido 17R4 com a estrutura $\text{PO}_{(14)}\text{EO}_{(24)}\text{PO}_{(14)}$ não possui grandes comprimentos dos blocos e tem uma massa molar baixa comparado aos outros dois copolímeros, formando por isso, menor quantidade de nanopartículas.

Os copolímeros L31, L35, 10R5 e poly(EO-PO) não formaram AuNps. O copolímero L31 tem a estrutura $\text{EO}_{(1)}\text{PO}_{(18)}\text{EO}_{(1)}$ que, como podemos ver possui somente um grupamento EO em cada extremidade da macromolécula. Além disso, ele apresenta uma baixa massa molar de 1100 g mol^{-1} , justificando assim a não formação das nanopartículas. O copolímero L35 possui a estrutura $\text{EO}_{(11)}\text{PO}_{(17)}\text{EO}_{(11)}$, apresentando também poucos grupamentos EO e um baixo peso molecular de 1900 g mol^{-1} . O copolímero tribloco invertido 10R5 tem a estrutura $\text{PO}_{(8)}\text{EO}_{(22)}\text{PO}_{(8)}$, sendo que a parte central não se diferencia muito do copolímero invertido 17R4, mas apresenta seis grupamentos PO a menos em cada extremidade da macromolécula, tendo assim uma massa molar de 2000 g mol^{-1} , que é menor em relação à massa molar do copolímero 17R4. Já para o copolímero dibloco poly(EO-PO) a síntese de AuNps não ocorreu provavelmente pela diferença na estrutura desse copolímero em relação aos copolímeros triblocos.

4. Conclusão

A metodologia de síntese de AuNps utilizada nesse trabalho mostrou ser simples e rápida, sendo realizada à temperatura ambiente e produzindo nanopartículas estáveis por período de tempo superior a um ano. Além de apresentar baixos custos, uma vez que os copolímeros possuem preços acessíveis, a quantidade de sal de ouro utilizada é mínima e, além disso, o copolímero atua simultaneamente como agente redutor e estabilizador, diminuindo o custo com reagentes adicionais e fontes energéticas. De acordo com os resultados obtidos no estudo de temperatura, na síntese de AuNps utilizando o copolímero L64, percebemos que existem mecanismos diferentes no processo de formação das nanopartículas, sendo que, o processo de redução do sal de ouro se ajusta ao modelo de reações de primeira ordem, enquanto que o processo de formação das AuNps não se ajusta aos modelos de reação de primeira e segunda ordem. Foi evidenciado ainda que, tanto a concentração do sal de ouro, quanto a concentração do copolímero influenciam no processo de formação das nanopartículas. Para o estudo de formação das AuNps, utilizando os diferentes copolímeros, verificamos a influência da massa molar e do comprimento dos blocos EO e PO, onde foi observado que, à medida que esses aumentam mais nanopartículas são formadas. Verificamos ainda que o tipo de copolímero pode influenciar na síntese, uma vez que com o copolímero dibloco não ocorreu a formação das nanopartículas. As características dos copolímeros são fundamentais para assegurar bons resultados no processo de formação das AuNps.

5. Referências

- (1) Angelescu, D. G.; Vasilescu, M.; Anastasescu, M.; Baratoiu, R.; Donescu, D.; Teodorescu, V. S. Synthesis and association of Ag (0) nanoparticles in aqueous Pluronic F127 triblock copolymer solutions. *Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects*. **2012**, 394, 57-66.
- (2) Kalishwaralal, K.; Gopalram, S.; Vaidyanathan, R.; Deepak, V.; Pandian, S. R. K.; Gurunathan, S. Optimization of α -amylase production for the green synthesis of gold nanoparticles. *Colloids Sur., B: Biointerfaces*. **2010**, 77, 174-180.
- (3) Singh A.; Jain D.; Upadhyay M.K.; Khandelwal N.; Verma, H. N. Green synthesis of silver nanoparticles using Argemonemexicana leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Dig. J. Nanomater. Biostruct*. **2010**, 5, 483-489.
- (4) Raveendran, P.; Fu, J.; Wallen, S. L. Completely green synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 13940-13941.
- (5) Thomas, V.; Namdeo M.; Mohan Y. M.; Bajpai, S. K.; Bajpai M.; Review on Polymer, Hydrogel and Microgel Metal Nanocomposites: A Facile Nanotechnological Approach. *J. Macromol. Sci. Part A. Pure Appl. Chem.* **2008**, 45, 107-119.
- (6) Alexandridis, P.; Hatton, T. A. Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymer surfactants in aqueous solutions and at interfaces: thermodynamics, structure, dynamics, and modeling. *Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects*. **1995**, 96, 1-46.
- (7) Loh, W. Block Copolymer Micelles. Encyclopedia of Surface and Colloid Science. Campinas, Brasil. **2002**, 802-813.
- (8) Alexandridis, P.; Tsianou, M. Block copolymer-directed metal nanoparticle morphogenesis and organization. *Eur. Polym. J.* **2011**, 47, 569-583.
- (9) Sakai, T.; Alexandridis, P. Single-step synthesis and stabilization of metal nanoparticles in aqueous pluronic block copolymer solutions at ambient temperature. *Langmuir*. **2004**, 20, 8426-8430.
- (10) Alexandridis P.; Sakai T. Preparation of metallic nanoparticles. U. S. Patent 7718,094, May 10, **2010**.

- (11) Horisberger, M.; Rosset, J. Colloidal gold, a useful marker for transmission and scanning electron microscopy. *J. Histochem. Cytochem.* **1977**, *25*, 295-305.
- (12) Niemeyer, C. M.; Ceyhan, B. A. DNA-Directed Functionalization of Colloidal Gold with Proteins. *Chem. Int.* **2001**, *40*, 3685-3688.
- (13) Keating, C. D.; Kovaleski K. M.; Natan, M. J. Colloid conjugates for surface enhanced Raman scattering: Stability and control of protein orientation. *Phys. Chem. B.* **1998**, *102*, 9404-9413.
- (14) Alivisatos, A. P.; Peng, X.; Wilson, T. E.; Loweth, C. L.; M. P. Bruchez Jr., M. P.; Schultz, P. G. Organization of nanocrystal molecules using DNA. *Nature.* **1996**, *382*, 609-611.
- (15) P.R. Selvakannan, P. R.; Mandal, S.; Phadtare, S.; Gole, A.; Pasricha, R.; Adyanthaya, S.; Sastry. M. J. Water-Dis- persible Tryptophan-Protected Gold Nanoparticles Pre-pared by the Spontaneous Reduction of Aqueous Chloro-aurate Ions by the Amino Acid. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *269*, 97–102.
- (16) P. R. Selvakannan, P. R.; Mandal, S.; Phadtare, S.; Pasricha, R.; Sastry, M. Capping of gold nanoparticles by the amino acid lysine renders them water-dispersible. *Langmuir.* **2003**, *19*, 3545–3549.
- (17) Lin, Y. W.; Huang, C. C.; Chang, H. T. Gold nanoparticle probes for the detection of mercury, lead and copper ions. *Analyst.* **2011**, *136*, 863-871.
- (18) Narayanan, R.; El-Sayed, M. A. Catalysis with Transition Metal Nanoparticles in Colloidal Solution: Nanoparticle Shape Dependence and Stability. *J. Phys. Chem. B.* **2005**, *109*, 12663-12676.
- (19) Nash, M. A., Waitumbi, J., Yager, P., Hoffman, A. S., and Stayton, P. S. Multiplexed Enrichment and Detection of Malarial Biomarkers using a Stimuli-Responsive Iron Oxide and Gold Nanoparticle Reagent System. *ACS Nano.* **2012**, *6*, 6776–6785.
- (20) Bedford, E. E.; Spadavecchia, J.; Pradier, C. M.; Gu, FX. Surface plasmon resonance biosensors incorporating gold nanoparticles. *Macromol Biosci.* **2012**, *12*, 724-739.

- (21) Toshio, S.; Alexandridis, P. Mechanism of gold metal ion reduction, nanoparticle growth and size control in aqueous amphiphilic block copolymer solutions at ambient conditions. *J. Phys. Chem. B.* **2005**, *109*, 7767-7777.
- (22) Caruso, R. A.; Ashokkumar, M.; Grieser, F. Sonochemical Formation of Gold Sols. *Langmuir.* **2002**, *18*, 7831-7836.
- (23) Link, S.; El-Sayed, M. A. Spectral Properties and Relaxation Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver Nanodots and Nanorods. *J. Phys. Chem. B.* **1999**, *103*, 8410-8426.
- (24) Link, S.; El-Sayed, M. A. Optical Properties and Ultrafast Dynamics of Metallic Nanocrystals. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2003**, *54*, 331-366.
- (25) Levine, Ira N. Físico-Química. Tradução e revisão Edilson Clemente da Silva, Oswaldo Esteves Barcia. Rio de Janeiro, LTC, **2012**; pp 430.
- (26) Y. Zhou, Y.; Wang, H.; Lin, W.; Lin, L.; Gao, Y.; Yang, F.; Du, M.; Fang, W.; Huang, J.; Sun, D.; Li, Q. Quantitative nucleation and growth kinetics of gold nanoparticles via model-assisted dynamic spectroscopic approach. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *407*, 8–16.
- (27) Alexandridis P.; Olsson, U.; Linse, P.; Lindman, B. Structural Polymorphism of Amphiphilic Block Copolymers in Mixtures with Water and Oil: Comparison with Solvent-Free Block Copolymers and Surfactant Systems. In *Amphiphilic Block Copolymers. Self-Assembly and Applications*. Alexandridis P.; Lindman, B., Eds.; First edition, Elsevier Science B. V.: Amsterdam, 2000; pp. 169-190.
- (28) Sakai, T.; Alexandridis, P. Single-step synthesis and stabilization of metal nanoparticles in aqueous Pluronic block copolymer solutions at ambient temperature. *Langmuir.* **2004**, *20*, 8426-8430.
- (29) Kim, J.-U.; Cha, S.-H.; Shin, K.; Jho, J. Y.; Lee, J.-C. Preparation of Gold Nanowires and Nanosheets in Bulk Block Copolymer Phases under Mild Conditions. *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 459-464.

Capítulo 3

Nova síntese de nanopartículas de ouro em sistemas aquosos bifásicos e aplicação para detecção de melamina em leite

Resumo

Foi realizada, pela primeira vez, a síntese de nanopartículas de ouro (AuNPs) em sistema aquoso bifásico (SAB). As AuNPs foram sintetizadas primeiramente no SAB formado por L64+citrato de sódio+água. Um estudo cinético de formação das AuNPs, foi realizado com a fase superior (FS) desse SAB em diferentes pHs. Foi observado que à medida que o pH aumenta, mais AuNPs são formadas. Posteriormente, a síntese foi realizada em outros SAB formados por L64 e diferentes eletrólitos. Foi observada a formação das AuNPs nos SAB contendo citrato de sódio, tartarato de sódio, Li_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e MgSO_4 , enquanto que não ocorreu formação de AuNPs nos SAB contendo NaSCN , KSCN e ZnSO_4 . Foi desenvolvido um método de detecção de melamina em amostra de leite utilizando o sistema formado por L64+Citrato de sódio+água. A mudança de coloração da FS contendo as AuNPs, foi observada na presença de melamina.

1. Introdução

Diante da grande importância que a nanotecnologia vem alcançando nos últimos anos, tanto no meio científico como industrial, nos deparamos com uma crescente busca para o desenvolvimento de novos métodos de síntese que sejam economicamente viáveis e simples. O desenvolvimento e a aplicação de materiais nanoestruturados, como por exemplo, as nanopartículas, vêm criando interesse em várias áreas de estudo. Essas nanoestruturas são na maioria das vezes sintetizadas usando métodos químicos e possuem uma variedade de aplicações como as eletrônicas, magnéticas, ambientais, farmacêuticas, catalíticas e em materiais.¹⁻³ Além dessas aplicações, as nanopartículas têm sido largamente estudadas como marcadores para detecção de doenças e produção de sensores biomédicos.⁴

Devido à sua alta estabilidade química, ao simples procedimento de síntese e a modificação da sua superfície,⁵ suas propriedades ópticas, eletrônicas, térmicas e catalíticas,⁶ as nanopartículas de ouro (AuNps) apresentam grande potencial para diversas aplicações, dentre as quais podemos destacar na área biológica.⁷⁻¹¹

Existem alguns métodos de síntese de AuNps que merecem destaque, como, por exemplo, o método Turkevich-Frens,^{12,13} o método Brust-Schiffrin,^{14,15} a síntese através de extratos de fontes naturais,¹⁶ síntese por microorganismos,¹⁷ síntese por copolímeros,¹⁸⁻²⁰ dentre outras. A síntese de AuNps utilizando copolímeros vem se destacando uma vez que os copolímeros em bloco, como por exemplo, os poli (óxido de etileno) poli (óxido de propileno) poli (óxido de etileno) (EO-PO-EO), podem atuar simultaneamente como agentes redutores e estabilizadores sem a necessidade de adição de outros reagentes e, ou fonte de energia no processo,^{21,22} além de ser uma síntese rápida que utiliza reagentes não tóxicos, sendo assim um método ambientalmente seguro.

Uma alternativa atraente para a síntese e aplicação de AuNps é sintetizá-las em sistemas aquosos bifásicos (SAB),²³ sendo que esses são constituídos majoritariamente por água e seus demais componentes formadores são polímeros e sais. Esses sistemas possuem uma gama de aplicações e vem sendo usados na extração de biopartículas,²⁴⁻²⁶ de compostos orgânicos e inorgânicos^{27,28} e também na extração de metais.²⁷ Considerando que um dos constituintes formadores dos SAB é polímero ou copolímero, nesse trabalho foi proposto um novo método de síntese de AuNps em SAB. As AuNps são sintetizadas no SAB e se concentram na fase rica em copolímero.

Aliando o potencial de interação das AuNps com diferentes compostos, ao potencial de partição e, ou extração do SAB, buscou-se desenvolver um método para detecção de melamina.

Uma vez que a melamina contém 66% de nitrogênio em massa, a mesma vem sendo utilizada para aumentar o conteúdo aparente de proteínas²⁹ tanto em produtos alimentícios lácteos como em ração animal. A utilização de melamina é ilegal, pois a adição indiscriminada desse composto em produtos alimentícios resulta na formação de cristais insolúveis nos rins³⁰ causando cálculos renais e, em casos mais graves, falência renal seguida de morte.²⁹

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

Os reagentes utilizados nesse trabalho foram o copolímero tribloco L64,(EO)₁₃(PO)₃₀(EO)₁₃, com massa molar média de 2900 g.mol⁻¹, obtido junto à Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, USA). O sal utilizado para a síntese das AuNps foi o HAuCl₄.3H₂O (95,98%), sendo este obtido junto à Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Os demais sais, utilizados para a formação dos SAB foram NaSCN (98%), KSCN (99%), ZnSO₄.7H₂O (100%), citrato de sódio C₂H₅Na₃O₇.2H₂O, (99%), Li₂SO₄.H₂O (99%), MgSO₄.7H₂O (100%), (NH₄)₂SO₄ (99%) e tartarato de sódio C₄H₄Na₂O₆.2H₂O, (99,5%), sendo que o NaSCN foi adquirido junto à Sigma Aldrich e os demais sais junto à Vetec. Para o preparo de todas as soluções, foi utilizada água deionizada (Milli-Q Millipore, Bedford, MA).

2.2. Preparo das soluções do copolímero tribloco L64

As diferentes concentrações em % (m/m) das soluções do copolímero tribloco L64 foram preparadas obedecendo às composições globais dos SAB obtidas da literatura^{31,32}.

As soluções estoque de copolímero, variando de 26,0 a 45,0 % (m/m), foram obtidas pesando-se uma quantidade adequada do L64 e adicionando-se água deionizada até atingir uma massa final de solução com a concentração desejada. Esta solução foi mantida em repouso por 24 horas em temperatura ambiente para a completa relaxação do copolímero.

2.3. Preparo das soluções dos diferentes sais formadores do SAB

As diferentes concentrações variando de 22,9 a 48,9 % (m/m), das soluções dos sais NaSCN, KSCN, ZnSO₄.7H₂O, C₂H₅Na₃O₇.2H₂O, Li₂SO₄.H₂O, MgSO₄.7H₂O, (NH₄)₂SO₄ e C₄H₄Na₂O₆.2H₂O, utilizados nesse trabalho, foram preparadas obedecendo às composições globais dos SAB de interesse obtidas da literatura.^{29,30} Essas soluções foram obtidas pesando-se determinada quantidade da massa do sal de interesse, e adicionando a essa massa, água deionizada, até atingir uma massa final e alcançar a

concentração desejada. Em seguida foi realizada a agitação por meio de um agitador magnético até completa solubilização.

2.4. Preparo das soluções de sal de ouro

A solução de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, foi obtida pesando-se aproximadamente 0,0100 g desse sal e adicionando água deionizada até obter uma solução com concentração de $15,0 \text{ mmol kg}^{-1}$. A partir dessa solução, foram obtidas as soluções de trabalho necessárias para a síntese de AuNps em SAB. As concentrações dessas soluções de trabalho foram preparadas de acordo com a quantidade de massa total do sistema, uma vez que essa quantidade influencia na massa e na concentração da solução de sal de ouro adicionada no sistema. A solução estoque e as soluções de trabalho eram sempre preparadas alguns minutos antes da montagem do SAB e síntese das AuNps.

2.5. Síntese de AuNps em SAB formado por L64, citrato de sódio e água

A síntese das AuNps foi realizada no SAB formado por L64, citrato de sódio e água no comprimento de linha de amarração (CLA) = 36,6 %. Para a formação do SAB foram misturadas em um tubo de ensaio soluções estoque do copolímero e do sal (itens 2.3 e 2.4), de modo a obter a composição global necessária para a separação de fases. Certa quantidade de solução do sal de ouro $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ foi adicionada juntamente com as soluções estoque de L64 e de citrato de sódio, de modo a se obter uma concentração final de sal de ouro no SAB de $0,15 \text{ mmol kg}^{-1}$. O tubo de ensaio contendo o SAB foi agitado vagarosamente para homogeneização. Esse tubo foi transferido para um banho termostatizado à temperatura de 25°C , permanecendo em repouso por cinco dias até a completa separação de fases e formação das AuNps.

2.6. Síntese de AuNps em SAB formados por L64 e diferentes eletrólitos

Para a realização da síntese de AuNps nos SAB L64 + NaSCN + H_2O , L64 + KSCN + H_2O , L64 + $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + H_2O , L64 + $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ + H_2O , L64 + $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + H_2O , L64 + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + H_2O e L64 + $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + H_2O , seguiu-se os mesmos passos do item 2.5 para a formação de cada SAB.

2.7. Preparo dos Brancos

Foram preparados SAB (Branco) idênticos aos utilizados para a síntese de AuNps. Para a formação dos SAB (Branco) foram misturadas em um tubo de ensaio soluções estoque do copolímero L64 e do sal de interesse (itens 2.2 e 2.3), de modo a obter a composição global necessária para a separação de fases. Uma massa de água deionizada, igual à de solução do sal de ouro $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, que é adicionada ao sistema para a síntese de AuNps, foi adicionada juntamente com as soluções estoque de L64 e do sal formador do SAB de interesse, proporcionando assim a mesma alteração na composição das fases causada pela adição do sal de ouro. O branco foi submetido às mesmas condições experimentais que o SAB contendo as AuNps.

2.8. Espectro eletrônico das AuNps

As AuNps sintetizadas nos SAB foram recolhidas e transferidas para uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. O espectro eletrônico foi obtido através de um espectrômetro de absorção molecular na região do ultravioleta-visível, Shimadzu modelo UV-2550.

2.9. Efeito do pH na cinética de formação das AuNps em fase superior do SAB formado por L64, citrato de sódio e água

Foram preparadas soluções de ácido sulfúrico ou hidróxido de sódio nos pHs 1, 3, 6 e 12 com o auxílio de um peagâmetro digital, Metrohm modelo 827, usando água deionizada como solvente. Cada solução no pH desejado foi utilizada como solvente para preparar uma solução de L64 ou citrato de sódio, cujas concentrações eram iguais às presentes na FS do SAB CLA = 36,6 % (m/m). Adicionou-se sal de ouro a esta solução de tal forma que a concentração final de ouro fosse igual a $0,15 \text{ mmol kg}^{-1}$. A cinética de formação foi monitorada em função do tempo através da obtenção do espectro eletrônico.

2.10. Detecção de melamina em leite

Sintetizou-se as AuNps em um SAB composto por L64, citrato de sódio e água de acordo com o item 2.5. O SAB foi preparado de tal forma que a massa total fosse igual a 52,0 g. As fases superior e inferior foram separadas e armazenadas. Em tubos de ensaio de 10 mL foram adicionados 2,00 g de FI e 0,01 g de solução de melamina na concentração desejada (1,00 a 10,0 mg kg⁻¹) em seguida os tubos foram agitados. Adicionou-se 1,00 g de FS contendo as AuNps. Os tubos foram sonicados por 30 minutos. Logo após, os tubos foram levados ao congelador por 5 minutos e posteriormente para um banho termostatizado a 25°C por 25 minutos. Após esse tempo a FS foi recolhida para obtenção do espectro eletrônico.

3. Resultados e Discussão

3.1. Síntese de AuNps em SAB formado por L64, citrato de sódio e água

As AuNps foram sintetizadas no SAB L64 + CitNa + H₂O à 25 °C e após 5 dias o sistema apresentou-se como mostrado na figura 1.



Figura 1. AuNps sintetizadas em SAB formado por L64 e citrato de sódio.

Percebe-se que as AuNps se concentram preferencialmente na fase rica em copolímero, mas também existe uma pequena fração destas nanopartículas na fase inferior rica em sal.

Foram obtidos os espectros eletrônicos da fase superior do SAB contendo as nanopartículas e da fase superior do SAB sem as AuNps (Branco), (figura 2).

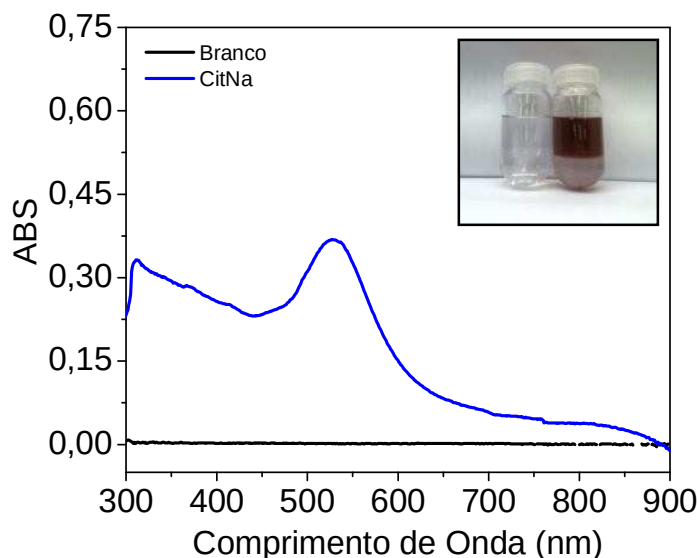


Figura 2. Espectro eletrônico das AuNps sintetizadas em SAB formado por L64, citrato de sódio e água.

O espectro eletrônico da AuNp mostra um comprimento máximo de absorção na região de 540 nm, isso indica que as AuNps formadas no SAB apresentam tamanho médio aproximado de 50 nm, de acordo com estudos realizados por Daniel e Astruc.³³ A quantidade de AuNps formadas foi menor em comparação à síntese em L64 10,0 % (m/m), uma vez que o pico máximo da banda não alcançou 0,5 de absorbância. Isso era esperado pois a concentração de L64 na FS é 37,15 % (m/m).

3.2. Efeito do pH na cinética de formação das AuNps sintetizadas em SAB formado por L64, citrato de sódio e água

O efeito do pH foi estudado na cinética de formação das AuNps no SAB formado por L64 + citrato de sódio + água. Esse estudo cinético foi realizado utilizando a fase superior do SAB, em diferentes pHs (1, 3, 6 e 12), como mostrado na figura 3.

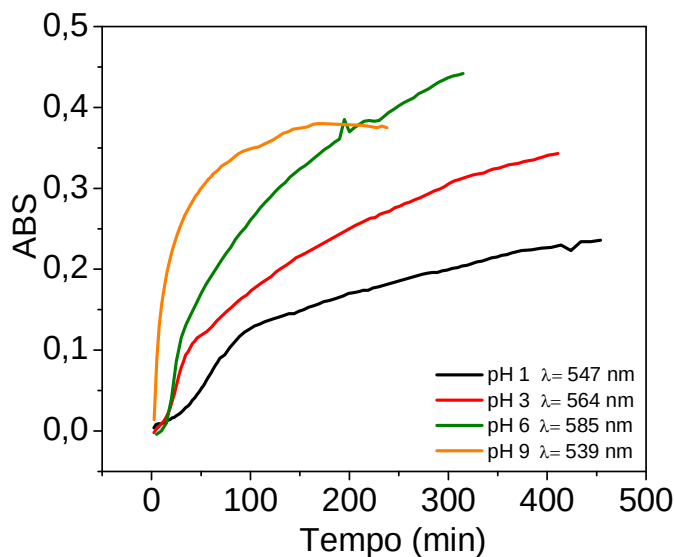


Figura 3. Cinética de formação de AuNps em diferentes pHs de FS do SAB formado por L64, citrato de sódio e água com absorção em diferentes comprimentos de onda.

A velocidade e o rendimento de formação das AuNps aumenta com a elevação do pH. De acordo com estudos realizados por Yang e colaboradores,³⁴ que verificaram a formação de micelas do copolímero tribloco P123 em soluções aquosas, podemos basear nesse estudo para explicar o aumento da cinética de formação das nanopartículas de ouro através da elevação do pH. Yang e colaboradores³⁴ descobriram que através da adição de ácidos, os prótons fornecidos reforçam a ligação de hidrogênio entre as moléculas de copolímero pluronic e água, sendo que os blocos EO ficam carregados positivamente quando as moléculas de água protonadas se aproximam desses blocos. Quando as AuNps são produzidas em soluções aquosas ácidas de copolímero pluronic, os íons H^+ prejudicam as interações dos íons metálicos com os grupos EO, comprometendo assim o processo de redução dos íons metálicos³⁴ e diminuindo a quantidade de AuNps formadas. Além disso, em pH ácido, o equilíbrio mostrado na equação 1,



é deslocado no sentido de manter o sal de ouro protonado, dificultando sua interação com os segmentos EO da macromolécula, produzindo assim menos AuNps.

O aumento do pH aumenta a cinética de reação e a quantidade de AuNps. Isto ocorre porque o equilíbrio da equação 1 agora é deslocado no sentido de produção do

ânion AuCl_4^- e além disso, a ligação de hidrogênio entre copolímero plurônico e água não é mais favorecida permitindo que ocorra a redução do ouro mais facilmente.

Uma outra explicação para essa maior velocidade de formação das AuNps seria que, o aumento do pH acelera o processo de formação provavelmente devido a redução do potencial do par redox $\text{Au}^0/\text{Au}^{+1}$.

Além da influência na cinética de formação das AuNps, a variação do pH também causa alterações espectrais na banda de absorção dessas nanopartículas, como pode ser observado de acordo com a figura 4, que mostra a mudança do pH do meio de 6 para 12. Esta figura mostra que com o aumento do pH são produzidas AuNps com tamanho maior.³⁵

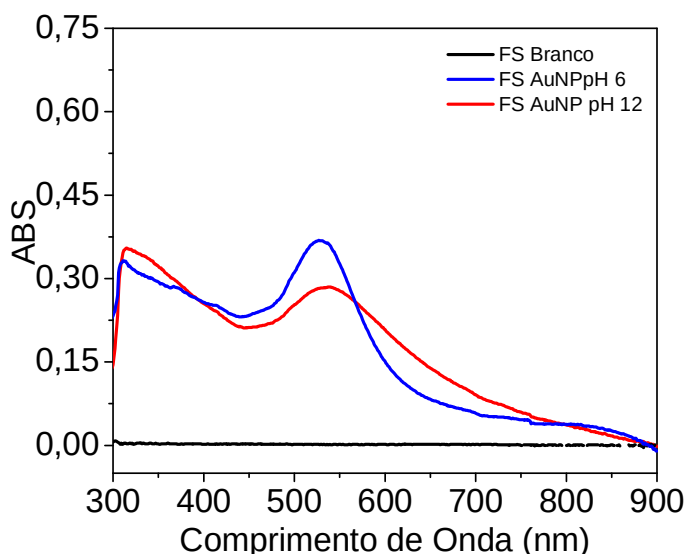


Figura 4. Espectros eletrônicos das AuNps em pH 6 e 12.

3.3. Síntese de AuNps em SAB formados por L64, ZnSO_4 , Li_2SO_4 , MgSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, TartNa, KSCN e NaSCN

Uma vez que a síntese de AuNps no SAB formado pelo copolímero tribloco L64, citrato de sódio e água foi realizada com sucesso, foram feitos outros estudos de síntese de AuNps em outros SAB. Para esse estudo, buscou-se na literatura SAB formados por L64 e outros eletrólitos. Dessa forma, manteve-se o copolímero L64 como um dos componentes formadores de todos os SAB e, conseqüentemente, variou-se os eletrólitos, sendo esses ZnSO_4 , Li_2SO_4 , MgSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, TartNa, KSCN e NaSCN.

O CLA desses diferentes SAB foi 36,1 % (m/m). Após a separação das fases e a formação de AuNps, alcançada somente para alguns SAB, FS de cada SAB foi recolhida para obtenção do espectro eletrônico. Dessa maneira, avaliou-se a influência do eletrólito formador do SAB na síntese de AuNps (figura 5).

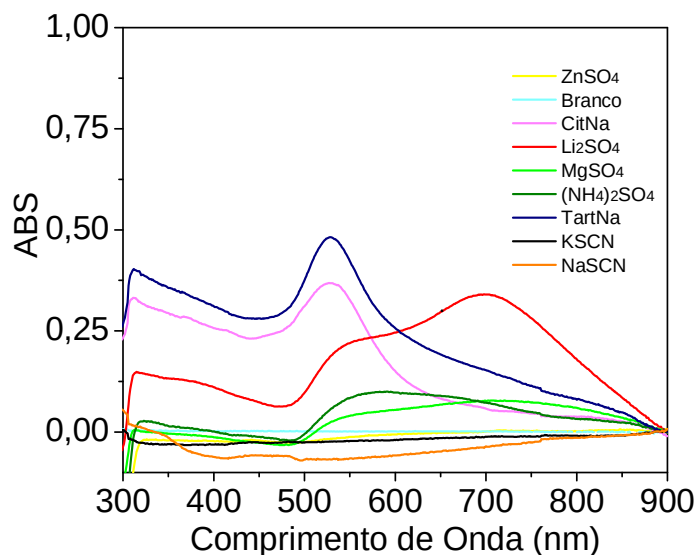


Figura 5. Espectros da FS de diferentes SAB formados por L64 e diferentes eletrólitos.

A posição do pico da banda de ressonância plasmônica de superfície depende de vários parâmetros, como o tamanho das partículas, forma das partículas, agentes de revestimento da superfície e também das propriedades dielétricas do meio.^{35,36}

A espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta visível é frequentemente utilizada para estimar o tamanho, forma e a distribuição das soluções coloidais das nanopartículas de metal, uma vez que as mesmas apresentam uma banda específica de absorção correspondente à ressonância plasmônica de superfície.^{33,37} Em dimensões nanométricas, a nuvem de elétrons pode oscilar na superfície das partículas e absorver a radiação eletromagnética a uma determinada energia, sendo este fenômeno conhecido como ressonância plasmônica de superfície.³⁸

Com base nos estudos realizados por He e colaboradores,³⁹ os picos de absorção das nanopartículas de ouro deslocam para o vermelho com o aumento do diâmetro, e as cores mudam de laranja-vermelho para vermelho e de vermelho para roxo. E ainda, de acordo com os estudos realizados por Philip,³⁸ para AuNps com tamanhos maiores que 25 nm, temos o aumento da largura da banda de ressonância plasmônica de superfície

com o aumento do tamanho da partícula. Porém, para nanopartículas de ouro menores que 25 nm, a largura da banda de ressonância plasmônica de superfície aumenta com a diminuição do tamanho de partícula.⁴⁰

De acordo com Daniel e Astruc,³³ a banda plasmônica de superfície está ausente para AuNps com tamanho menor que 2 nm, como também para o ouro em massa, e para AuNps com tamanhos de 9, 15, 22, 48, e 99 nm, os comprimentos de onda máximo da bandas plasmon de superfície foram observados a 517, 520, 521, 533, e 575 nm, respectivamente, em meio aquoso.

Com relação aos espectros mostrados na figura 5, podemos observar a influência dos eletrólitos na formação das AuNps. Na presença de citrato de sódio e tartarato de sódio foram observadas bandas com intensidades diferentes na mesma região do espectro (540 nm), indicando que as nanoestruturas formadas nestes dois SAB possuem o mesmo tamanho médio de partículas. Para o Li_2SO_4 , observou-se o deslocamento da banda para a região de 700 nm. Para $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e MgSO_4 , foram observadas bandas mais largas, indicando a formação de AuNps com tamanhos maiores e mais dispersas. Já para os sais NaSCN , KSCN e ZnSO_4 , não foi observada a formação de AuNps.

3.4. Interação das AuNps sintetizadas em SAB com melamina

Com o desenvolvimento da nanotecnologia, novos métodos de ensaios colorimétricos estão surgindo.²⁹ Como sabemos, as nanopartículas de ouro dispersas em solução tem a coloração vermelha, porém quando as mesmas se agregam, surge umacoloração azul ou roxa,²⁹ devido à mudança da banda de ressonância plasmônica de superfície para comprimentos de onda maiores.^{41,42} Esse deslocamento espectral da banda de ressonância plasmônica de superfície devido à agregação das AuNps, ocasionado pela interação com melamina, pode ser observado na figura 6.

De acordo com a figura 6, pode-se observar o deslocamento da banda de ressonância plasmônica de superfície das AuNps devido à interação com melamina. Percebe-se que a banda na região de 540 nm, referente às AuNps diminui, enquanto que uma outra banda se forma na região de 700 nm, referente à interação de AuNps com melamina. Porém observa-se que as intensidades das bandas não são proporcionais às concentrações.

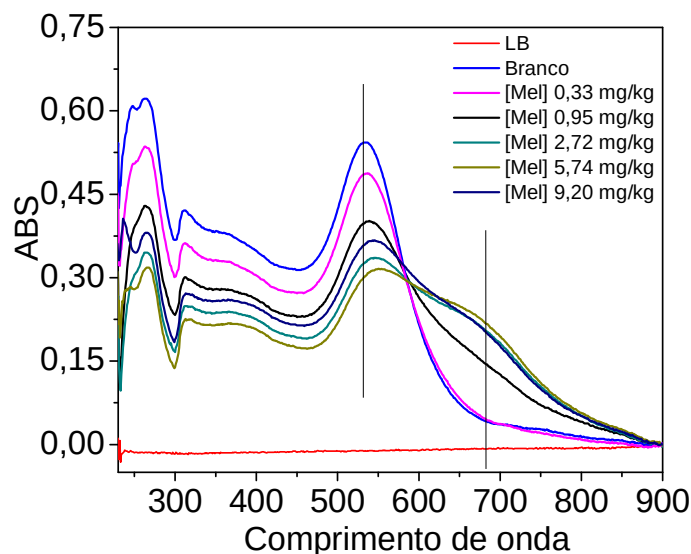


Figura 6. Deslocamento da banda de ressonância plasmônica de superfície devido à interação das AuNps sintetizadas em SAB com melamina.

O mecanismo colorimétrico de interação melamina-AuNps pode ser explicado, uma vez que a solução de AuNps, apresenta uma cor particular devido as oscilações coletivas dos elétrons superficiais, que são induzidas por luz visível de um comprimento de onda específico, que é altamente dependente da distância interparticular.⁴³ Essas AuNps interagem facilmente com os grupos funcionais amina.⁴⁴ A molécula de melamina possui 3 grupos funcionais amina que podem se ligar facilmente à superfície das AuNps. Segundo Li e colaboradores,²⁹ as moléculas de melamina que interagem com as AuNps e que são vizinhas uma da outra, podem interagir entre si por meio de ligações de hidrogênio, induzindo, dessa maneira, a agregação das nanopartículas e consequente mudança de cor. Esse fenômeno pode ser observado no esquema proposto por Li e colaboradores²⁹ (figura 7).

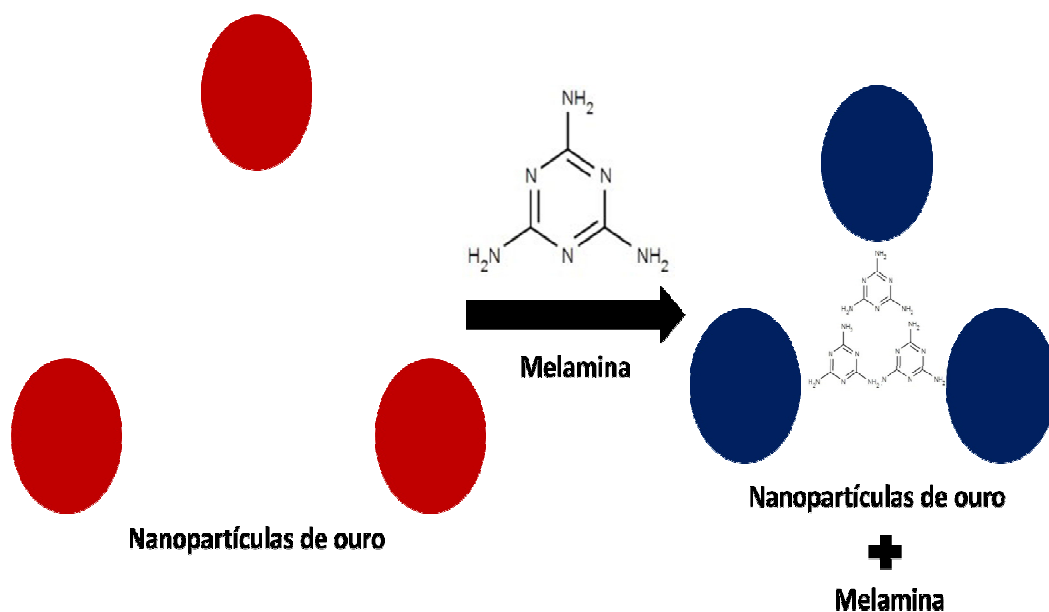


Figura 7. Mecanismo proposto para mudança de cor das AuNps na presença de melamina.

De acordo com nossos estudos, a mudança de coloração das AuNps em SAB, pela presença de melamina, pode ser visualizada de acordo com a figura 8.

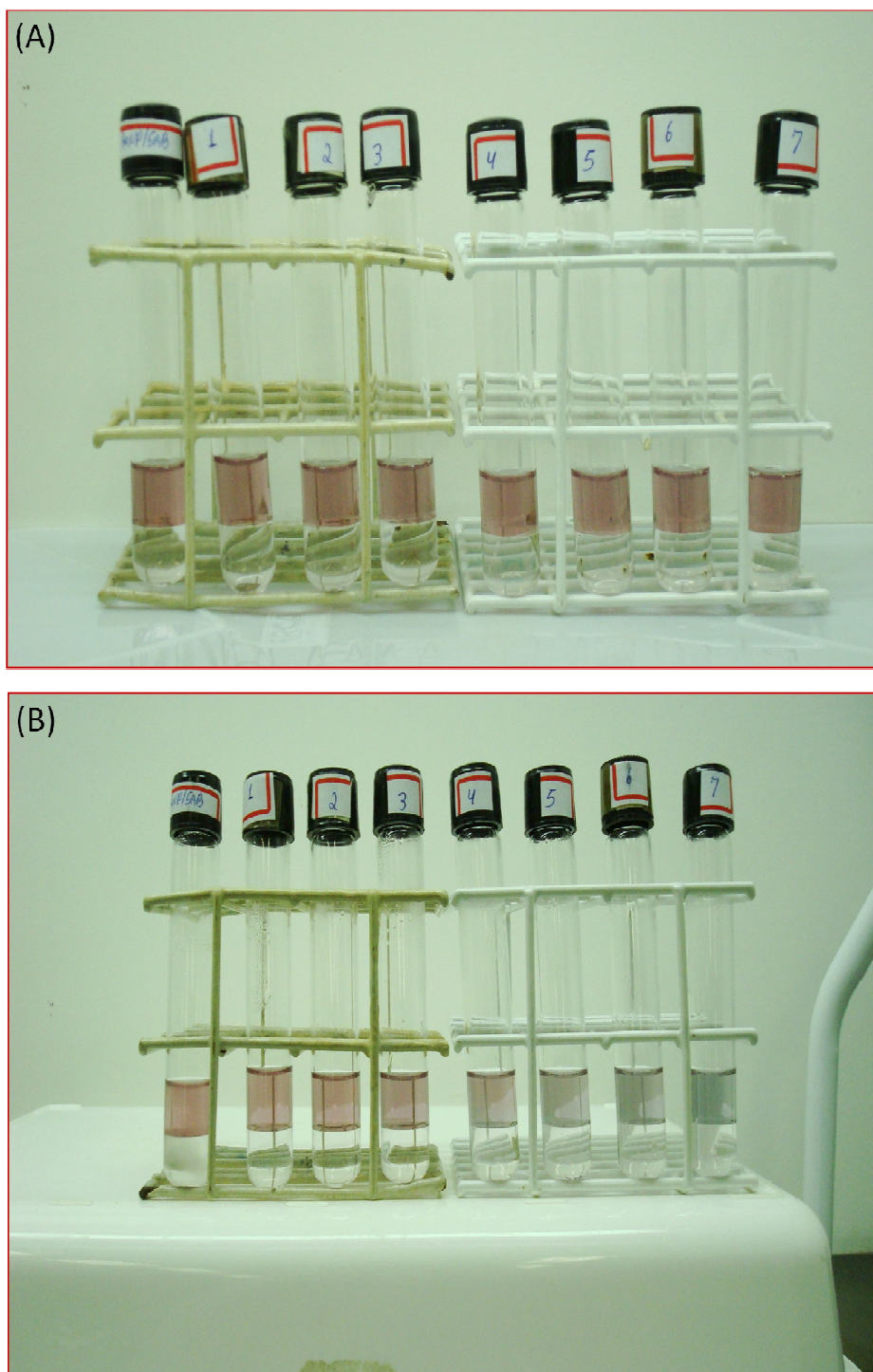


Figura 8. Mudança de cor das AuNps em SAB na presença de diferentes concentrações de melamina, (A) sem adição de melamina e (B) com adição de melamina.

Percebe-se na figura 8, uma mudança mais intensa de coloração das AuNps na FS do SAB, à medida em que a concentração de melamina foi aumentada. A concentração foi aumentada no sentido da esquerda para a direita.

Baseado nessa mudança de coloração e na partição da melamina para a fase superior do SAB, foi desenvolvido um método para quantificar melamina utilizando o SAB composto por L64 + citrato de sódio + água, pH = 6, cuja FI tinha 2,00 g e a FS 1,00 g. Foi levantada uma curva analítica recolhendo a FS do SAB com adição prévia de melamina como é mostrado na figura 9.

Como o SAB tinha 2,00 g de FI e 1,00 g de FS, foi considerado que se a melamina fosse totalmente transferida para a FS ela seria pré-concentrada 2 vezes. A curva analítica apresentou um coeficiente de correlação igual a 0,988.

O controle da cinética de reação entre melamina e AuNps deve ser mais explorado afim de melhorar a precisão e exatidão das medidas.

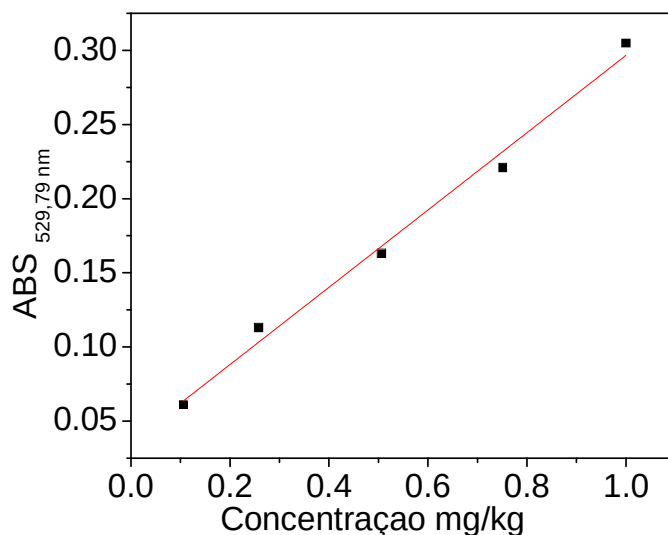


Figura 9. Curva analítica de melamina em SAB formado por AuNps.

Uma vez que uma das intenções desse trabalho foi desenvolver um método para a detecção de melamina em leite, para testes, foram adicionadas alíquotas de uma amostra de leite contaminado com melamina na fase inferior do SAB contendo as AuNps. Aguardou-se a partição da melamina por 21 horas. No dia seguinte foi verificado que o leite adicionado se concentrou na interface e a fase superior apresentava ligeira mudança de coloração, como pode-se observar, de acordo com a figura 10.

Os resultados mostram que é possível detectar melamina utilizando o SAB contendo AuNps. Isso é muito interessante pois o leite é uma matriz complexa e muitas

vezes há necessidade do tratamento da amostra para posterior detecção da melamina. Neste caso não há necessidade de tratar a amostra.

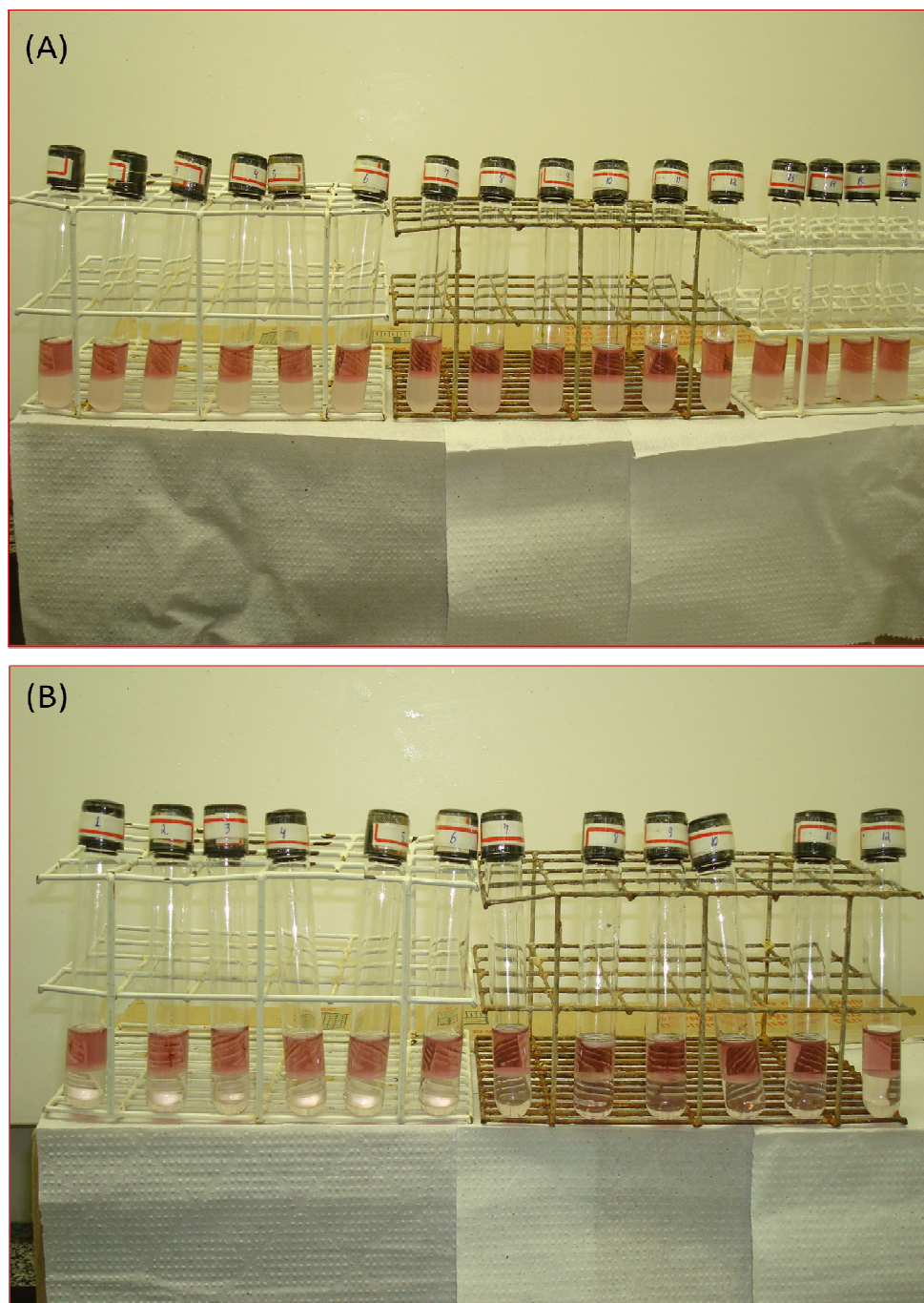


Figura 10. Amostras de melamina em leite em diferentes concentrações adicionadas em SAB formado por AuNps, (A) logo após a adição da amostra e (B) 21 horas após a adição da amostra.

4. Conclusão

Nanopartículas de ouro foram sintetizadas em diferentes SAB, variando o eletrólito formador do sistema, mostrando assim a influência do eletrólito no processo sintético. Foi observada a influência do aumento do pH na velocidade e no rendimento de formação das AuNps, como também na distribuição de tamanho das mesmas, observado através de deslocamento da banda de absorção. A nova metodologia de síntese de AuNps em SAB foi uma grande conquista, levando em consideração o grande potencial de aplicação, tanto dos SAB, quanto das AuNps. Finalizando, o SAB formado por L64, citrato de sódio e água, juntamente com as nanopartículas de ouro, foi utilizado para detectar melamina em leite sem prévio tratamento da amostra.

5. Referências

- (1) Auffan, M.; Rose, J.; Bottero, J. Y.; Lowry, G. V.; Jolivet, J. P.; Wiesner, M. R. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 634-641.
- (2) Wang, L.; Ma, W.; Xu, L.; Chen, W.; Chen, W.; Zhu, Y.; Xu, C.; Kotov, N. A. Nanoparticle-based environmental sensors. *Mater. Sci. Eng., R.* **2010**, *R70*, 265-274.
- (3) Mayer, K. M.; J. H. Hafner, J. H. Localized surface plasmon resonance sensors. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 3828-3857.
- (4) Cheon, J.; J. H. Lee, J. H. Synergistically Integrated Nanoparticles as Multimodal Probes for Nanobiotechnology. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1630-1640.
- (5) Lin, Y. W.; Huang, C. C.; Chang, H. T. Gold nanoparticle probes for the detection of mercury, lead and copper ions. *Analyst.* **2011**, *136*, 863-871.
- (6) Rashid, M. H.; Bhattacharjee, R. R.; Kotal, A.; Mandal, T. K. Synthesis of spongy gold nanocrystals with pronounced catalytic activities. *Langmuir.* **2006**, *22*, 7141-7143.
- (7) Jain, P.K.; Huang, X.; El-Sayed, I.H.; El-Sayed, M. A. Review of some interesting surface plasmon resonance-enhanced properties of noble metal nanoparticles and their applications to biosystems plasmonics. *Nano Today.* **2007**, *2*, 107-118.
- (8) Sperling, R. A.; Rivera-Gil, P.; Zhang, F.; Zanella, M.; W. J. Parak, W. J. Biological applications of gold nanoparticles. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1896-1908.
- (9) El-Sayed, M. A. Small is different: shape-, size-, and composition-dependent properties of some colloidal semiconductor nanocrystals. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 326-333.
- (10) Schroeder, A.; Heller, D. A.; Winslow, M. M.; Dahlman, J. E.; Pratt, G. W.; Langer, R.; Jacks, T.; Anderson, D. G. Treating metastatic cancer with nanotechnology. *Nat. Rev. Cancer.* **2012**, *12*, 39-50.
- (11) Saha, K.; Agasti, S. S.; Kim, C.; Li, X. N.; Rotello, V. M. Gold Nanoparticles in Chemical and Biological Sensing. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 2739-2779.
- (12) Turkevich, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Faraday Soc.* **1951**, *11*, 55-74.

- (13) Frens, G. Controlled nucleation for regulation of particle-size in monodisperse gold suspensions. *Nature*. **1973**, *241*, 20-22.
- (14) Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R. J. Synthesis of Thiol Derivatized Gold Nanoparticles in a Two Phase Liquid/Liquid System. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 801-802.
- (15) Brust, M.; Fink, J.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Kiely, C. Synthesis and reactions of functionalized gold nanoparticles. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, *16*, 1655–1656.
- (16) Shankar, S. S.; Rai, A.; Ankamwar, B.; Singh, A.; Ahmad, A.; Sastry, M. Biological synthesis of triangular gold nanoprisms. *Nat. Mater.* **2004**, *3*, 482-488.
- (17) Beveridge, T. J.; Murray, R. G. E. Sites of metal-deposition in the cell-wall of *Bacillus-subtilis*. *J. Bacteriol.* **1980**, *141*, 876-887.
- (18) Bronstein, L. M.; Chernyshov, D. M.; Timofeeva, G. I.; Dubrovina, L. V.; Valetsky, P. M.; Obolonkova, E. S.; *et al.* Interaction of polystyreneblock-poly(ethylene oxide) micelles with cationic surfactant in aqueous solutions. Metal colloid formation in hybrid systems. *Langmuir*. **2000**, *16*, 3626-3632.
- (19) Liu, S. Y.; Weaver, J. V. M.; Save, M.; Armes, S. P. Synthesis of pH-responsive shell cross-linked micelles and their use as nanoreactors for the preparation of gold nanoparticles. *Langmuir*. **2002**, *18*, 8350-8357.
- (20) Simon, P. F. W.; Ulrich, R.; Spiess, H. W.; Wiesner, U. Block copolymer-ceramic hybrid materials from organically modified ceramic precursors. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3464-3486.
- (21) Sakai, T.; Alexandridis, P. Single-step synthesis and stabilization of metal nanoparticles in aqueous pluronic block copolymer solutions at ambient temperature. *Langmuir*. **2004**, *20*, 8426–8430.
- (22) Alexandridis P.; Sakai T. Preparation of metallic nanoparticles. U. S. Patent 7718, 094, May 10, **2010**.
- (23) da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J.; Coimbra, J. S. R.; Minin, L. A. Sistema Aquoso Bifásico: Uma alternativa eficiente para extração de íons. *Quím. Nova*. **2006**, *29*, 1332-1339.

- (24) Albertsson; P.-Å. *Partition of Cell Particles and Macromolecules*, 3rd ed., Wiley, New York, **1986**.
- (25) Zaslavsky, B. Y. Bioanalytical applications of partitioning in aqueous polymer two-phase systems. *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 765 A-773A.
- (26) Zaslavsky, B. Y.; *Aqueous Two Phase Partitioning: Physical Chemistry and Bioanalytical Applications*, Marcel Dekker: New York, **1995**.
- (27) Zvarova, T. I.; Shkinev; V. M.; Vorobeva; G. A.; Spivakov, B. Y.; Zolotov, Y. A. Liquid-liquid-extraction in the absence of usual organic-solvents-application of 2-phase aqueous systems based on a water-soluble polymer. *Mikrochim. Acta.* **1984**, *3*, 449-458.
- (28) Rogers, R. D.; Willauer, H. D.; Griffin, S. T.; Huddleston, J. G. Partitioning of small organic molecules in aqueous biphasic systems. *J. Chromatogr. B.* **1998**, *711*, 255-263.
- (29) Li, L.; Li, B. X.; Cheng, D.; Mao, L. H. Visual detection of melamine in raw milk using gold nanoparticles as colorimetric probe. *Food Chem.* **2010**, *122*, 895-900.
- (30) Brown, C. A.; Jeong, K. S.; Poppenga, R. H.; Puschner, B.; Miller, D. M.; Ellis, A. E.; *et al.* Outbreaks of renal failure associated with melamine and cyanuric acid in dogs and cats in 2004 and 2007. *J. Vet. Diagn Invest.* **2007**, *19*, 525–531.
- (31) de Andrade, V. M.; Rodrigues, G. D.; de Carvalho, R. M. M.; da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H. Aqueous two-phase systems of copolymer L64 + organic salt + water: Enthalpic L64–salt interaction and Othmer–Tobias, NRTL and UNIFAC thermodynamic modeling. *Chem. Eng. J.* **2011**, *171*, 9-15.
- (32) Rodrigues, G. D.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Teixeira, L. S.; de Andrade, V. M. Liquid-Liquid Phase Equilibrium of Triblock Copolymer L64, Poly(ethylene oxide-*b*-propylene oxide-*b*-ethylene oxide), with Sulfate Salts from (278.15 to 298.15) K. *J. Chem. Eng.* **2009**, *54*, 1894–1898.
- (33) Daniel, M. C.; Astruc, D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 293–346.
- (34) B. Yang, B.; Guo, C.; Chen, S.; Ma, J.; Wang, J.; Liang, X.; Zheng, L.; Liu, H. Effect of acid on the aggregation of poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymers. *J. Phys. Chem. B.* **2006**, *110*, 23068-23074.

- (35) Noguez, C. Surface Plasmons on Metal Nanoparticles: The Influence of Shape and Physical Environment. *J. Phys. Chem. C*. **2007**, *111*, 3806-3819.
- (36) Mulvaney, P. Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles. *Langmuir*. **1996**, *12*, 788-800.
- (37) Amendola, V.; Bakr, O. M.; Stellacci, F. A. Study of the surface plasmon resonance of silver nanoparticles by the discrete dipole approximation method: effect of shape, size, structure, and assembly. *Plasmonics*. **2010**, *5*, 85–97.
- (38) Philip, D. Synthesis and Spectroscopic Characterization of Gold Nanoparticles. *SpectrochimActa, Part A*. **2008**, *71*, 80-85.
- (39) He, Y. Q.; Liu, S. P.; Kong, L.; Liu, Z. F. A study on the sizes and concentrations of gold nanoparticles by spectra of absorption, resonance Rayleigh scattering and resonance non-linear scattering. *Spectrochim. Acta, Part A*. **2005**, *61*, 2861-2866.
- (40) Link, S.; El-Sayed, M. A. Size and Temperature Dependence of the Plasmon Absorption of Colloidal Gold Nanoparticles. *J. Phys. Chem. B*. **1999**, *103*, 4212-4217.
- (41) Liu, J. Lu, Y. Accelerated color change gold nanoparticles assembled by dnazymes for simple and fast colorimetric Pb^{2+} detection. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12298–12305.
- (42) Lee, J. S.; Lytton-Jean, A. K. R.; Hurst, S. J.; Mirkin, C. A. Silver nanoparticle-oligonucleotide conjugates based on DNA with triple cyclic disulfide moieties. *Nano Lett.* **2007**, *7*, 2112–2115.
- (43) Kreibig, U.; Genzel, L. Optical absorption of small metallic particles. *Surf. Sci.* **1985**, *156*, 678–700.
- (44) Zhong, Z.; Patskovskyy, S.; Bouvrette, P.; Luong, J. H. T.; Gedanken, A. The surface chemistry of Au colloids and their interactions with functional amino acids. *J. Phys. Chem. B*. **2004**, *108*, 4046–4052.