

GIOVANA ARRIGHI FERRARI

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE DELTAMETRINA
EMPREGANDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

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*.

Orientadora: Renata Pereira Lopes Moreira

Coorientadores: André Fernando de Oliveira
Álvaro Vianna Novaes de Carvalho Teixeira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2019**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

F375d
2019
Ferrari, Giovana Arrighi, 1993-
Determinação espectrofotométrica de deltametrina
empregando nanopartículas de prata / Giovana Arrighi Ferrari. –
Viçosa, MG, 2019.
100f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Renata Pereira Lopes Moreira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.89-100.

1. Piretróides. 2. Cipermetrina. 3. Testes de ponto
(Química). 4. Ressonância plasmônica de superfície.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22 ed. 668.651

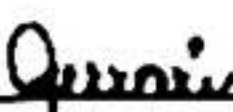
GIOVANA ARRIGHI FERRARI

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE DELTAMETRINA
EMPREGANDO NANOPARTÍCULAS DE PRTA**

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: 11 de dezembro de 2019

Assentimento:



Giovana Arrighi Ferrari
Autora



Renata Pereira Lopes Moreira
Orientadora

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Paulo e Ivana, por serem os grandes impulsionadores dos meus sonhos e por me incentivarem a ser uma pessoa melhor todos os dias da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha querida professora Renata que, além de orientadora, é uma pessoa incrível. Seu altruísmo, empatia e liderança são inspiradores. Obrigada por ter aceitado ser minha orientadora, por ter me dado a oportunidade de crescer profissionalmente no LANAQUA, pela paciência, e por todo conhecimento passado a mim da melhor forma possível.

Aos professores Álvaro Vianna e André Fernando, por terem me coorientado dando sempre novas e boas ideias para realização da pesquisa, pelo incentivo, por todo o suporte e ajuda na concretização desse trabalho.

Às professoras Maria Eliana e Andrea, por aceitarem participar da banca avaliadora e disponibilizarem uma parte do seu tempo para leitura e correção dessa dissertação.

Aos órgãos de fomento, CNPq, Capes e Fapemig. Em especial a Capes e ao CNPq, uma vez que o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), o qual foi responsável pelo auxílio financeiro.

Ao Departamento de Física e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, que possibilitaram a realização de algumas análises em seus equipamentos, em especial aos professores Luciano Moura, Álvaro Vianna e professora Nilda de Fátima.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química pela oportunidade de realização do trabalho, também a todos os docentes que contribuíram para o meu engrandecimento profissional.

Agradeço e dedico esse trabalho aos meus pais, Paulo e Ivana, pelo amor incondicional, por estarem sempre ao meu lado me apoiando e dando suporte, por me incentivarem a correr atrás de meus sonhos e ser uma pessoa melhor a cada dia. Vocês são meu maior exemplo de amor, caráter, força, humildade e determinação.

Ao meu amor, Murilo, por viver todos os dias nossos sonhos junto comigo e por encorajar constantemente a fazermos o melhor para a concretização deles. Por ser meu companheiro de vida, porto-seguro, pela paciência nos momentos difíceis, por toda a dedicação, motivação e companheirismo único em todos os momentos.

Ao meu irmão Gustavo por todos os conselhos, palavras de motivação, conversas boas e por ter me dado uma sobrinha linda, Larinha, que é a alegria da nossa casa.

À minha vózinha, Edith, por ser meu amor, por sempre vibrar com minhas conquistas e por todas as orações.

A todos os meus familiares, das famílias Arrighi, Ferrari e Fajardo, pelos pensamentos positivos direcionados a mim, orações e por serem a minha base.

Ao melhor grupo de pesquisa, LANAQUA, por todos os bons momentos em Viçosa, por toda ajuda que me deram e por todas tardes descontraídas regadas a pipoca, coca e cafézinho, em especial, as minhas amigas Anna Luisa, Marina e Mariane, que participaram e vibraram com cada conquista, foram suporte para os momentos difíceis e por todos os bons momentos que passamos. Agradeço também aos amigos do subgrupo “Lado A” por todos os momentos divertidos e os melhores rolês, vou levar sempre vocês no meu coração.

A minha primeira e querida estagiária, Esteffany, por toda a ajuda, empolgação e otimismo com experimentos e fazê-los com carinho e zelo.

À Equipe QUI 112, que me mostrou o verdadeiro significado de equipe e pela oportunidade e experiência de lecionar. Em especial para Luisa, que foi minha dupla desde o primeiro dia e se tornou uma grande amiga.

Aos amigos que Viçosa me deu, por fazerem com que a rotina fosse vivida de forma leve, divertida, feliz e, que independente do tempo que ficamos sem nos ver, devido a correria do dia-a-dia, a amizade sempre prevalece e se fortalece com o tempo. Além de sempre apoiar e ajudar um ao outro, em especial as amigas da química: Tássia, Carol, Ana Claudia e Kamylla e as da VET: Mariana e Paulinha.

Aos amigos de Ubá, que sempre se fizeram presentes em todos os momentos, superando distâncias físicas, por entenderem a minha ausência em alguns momentos e por terem apoiado e vibrado a cada vitória.

Por fim, agradeço a todos aqueles que contribuíram para o meu fortalecimento emocional e engrandecimento pessoal. Gratidão por ter vocês em minha vida. Muito obrigada.

EPÍGRAFE

*“Só se vê bem com o coração, o essencial é
invisível aos olhos.”*

Antoine de Saint - Exupéry

RESUMO

Ferrari, Giovana Arrighi, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2019. **Determinação espectrofotométrica de deltametrina empregando nanopartículas de prata.** Orientador: Renata Pereira Lopes Moreira. Coorientadores: André Fernando de Oliveira e Álvaro Vianna Novaes de Carvalho Teixeira.

Os piretróides são uma classe de pesticidas muito utilizada no mundo todo devido a sua baixa toxicidade aos seres humanos e mamíferos em geral. Todavia, o seu uso indiscriminado traz sérias consequências, uma vez que são altamente tóxicos aos organismos aquáticos e insetos polinizadores. Tendo em vista a contaminação de ecossistemas por piretróides, como reportado na literatura, o presente trabalho propõe um método colorimétrico, que pode ser usado *in situ*, para determinação de deltametrina em sistemas aquosos por suspensões de nanopartículas de prata (NPs Ag). As NPs Ag foram caracterizadas e tiveram a sua síntese otimizada. As NPs Ag foram caracterizadas por Espectroscopia de Absorção Molecular Ultravioleta e Visível, Espalhamento Dinâmico de Luz, Microscopia Eletrônica de Transmissão, Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier e Potencial Zeta. A banda de ressonância plasmônica de superfície em 400 nm, característica das suspensões de NPs Ag, foi identificada. O tamanho das NPs Ag foi de 11 ± 3 nm, as quais apresentaram carga superficial negativa variando de $-4,1 \pm 0,5$ mV (pH 2) a -48 ± 3 mV (pH 10). As NPs Ag sintetizadas na ausência de luz, com o borohidreto recém preparado e submetida a agitação constante por duas horas foram as que se fizeram reprodutíveis. O método de determinação de deltametrina foi validado, sendo a faixa linear de trabalho de 1,25-12,5 mg L⁻¹ ($R^2 > 0,9645$). O método apresentou uma boa veracidade, com recuperações entre 80–120% e repetitividade inferior a 20%, exceto no primeiro nível avaliado (2,5 mg L⁻¹). A precisão intermediária foi inferior a 20%. Os limites de detecção e quantificação foram, respectivamente, 0,17 e 0,51 mg L⁻¹. O método foi seletivo e aplicado em amostra autêntica de água tratada, que teve os limites de detecção e quantificação ligeiramente superiores (0,35 e 1,07 mg L⁻¹, respectivamente). Diante dos resultados obtidos, foi possível desenvolver um método colorimétrico empregando NPs Ag para detecção de deltametrina, que se destaca devido a possibilidade de fazer análises *in situ*.

Palavras-chave: Piretróides. Cipermetrina. *Spot test*. Ressonância plasmônica de superfície.

ABSTRACT

Ferrari, Giovana Arrighi, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2019. **Spectrophometric determination of deltamethrin using silver nanoparticles.** Adviser: Renata Pereira Lopes Moreira. Co-advisers: André Fernando de Oliveira and Álvaro Vianna Novaes de Carvalho Teixeira.

Pyrethroids are a widely used class of pesticides due to their low toxicity to mammals. However, their indiscriminate use has serious consequences as they are highly toxic to aquatic organisms and pollinating insects. Considering the contamination of ecosystems by pyrethroids, as reported in the literature, the present work proposes a colorimetric method, which can be used in situ, for determination of deltamethrin in aqueous systems by silver nanoparticle suspensions (Ag NPs). Ag NPs were characterized, and their synthesis optimized. Ag NPs were characterized by Visible Ultraviolet Molecular Absorption Spectroscopy, Dynamic Light Scattering, Transmission Electron Microscopy, Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Zeta Potential. The 400 nm surface plasmon resonance band, characteristic of Ag NPs suspensions, was identified. The size of Ag NPs was 11 ± 3 nm, which presented negative surface charge ranging from $-4,1 \pm 0,5$ mV (pH 2) to -48 ± 3 mV (pH 10). Ag NPs synthesized in the absence of light with freshly prepared borohydride and constantly stirred for two hours were reproducible. The deltamethrin determination method was validated, with a linear working range of 1.25-12.5 mg L⁻¹ ($R^2 > 0.9645$). The method was reliable, and the recoveries were between 80–120% and repeatability below 20%, except at the first level (2,5 mg L⁻¹). Intermediate accuracy was below 20%. The limits of detection and quantification were, respectively, 0.17 and 0.51 mg L⁻¹. The method was selective and applied to an authentic sample of treated water, which had slightly higher detection and quantification limits (0.35 and 1.07 mg L⁻¹, respectively). Given the results obtained, it was possible to develop a colorimetric method employing Ag NPs to detect deltamethrin, which stands out due to the possibility of doing in situ analysis.

Keywords: Pyrethroids. Cipermethrin. Spot test. Surface plasmon resonance

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Número total de agrotóxicos registrados no Brasil no período de 2005 a 2019, até o dia 16/09/2019. (Adaptado de Brasil⁵). _____ 22
- Figura 2. Espectro eletromagnético evidenciando a região do visível (Adaptado de Queiroz, 2001²⁵) 28
- Figura 3. Esquema de interação de luz eletromagnética com a superfície da NPs metálicas, ocorrendo o fenômeno ressonância plasmônica de superfície (Adaptado de Garcia et. al.⁵⁸). _____ 31
- Figura 4. Cálice de Licurgo exposto no museu britânico British Museum, localizado em Londres confeccionado com nanopartículas de ouro e prata dispersas. A) Coloração esverdeada do vidro decorrente da reflexão da luz. B) Coloração avermelhada do vidro decorrente da transmissão da luz (Adaptado de Martins et. al.⁴⁶). _____ 32
- Figura 5. Esquema de estabilização das NPs Ag a partir do redutor borohidreto de sódio (Adaptado de Solomon et. al.⁴⁵) _____ 33
- Figura 6. (A) Espectro de absorção UV/Vis para diferentes suspensões de NPs Ag, com diferentes estágios de agregação (B) Imagem das suspensões de NPs Ag com diferentes estágios de agregação, onde “a” é o menor tamanho de NPs Ag e “g” o maior (Adaptada de Murphy et. al.⁶²). _____ 33
- Figura 7. Espectro de absorção UV/Vis das suspensões de NPs Ag. (A) Suspensão estável, formato esférico, razão de concentração inicial $[NaBH_4]/[AgNO_3]$ igual a dois. (B) Suspensão em um estágio de agregação mais avançado. Inserto: (A) Suspensão de NPs Ag estável, bem como sua imagem de MET com NPs Ag no formato esférico; (B) Suspensão de NPs Ag agregada (Adaptado de Solomon et. al.⁴⁵) _____ 34
- Figura 8. Estabilização das NPs Ag com GSH proposto por Moraes et. al.³². _____ 37
- Figura 9. Esquema da síntese do conjugado EDTA-Triptofano (Adaptado Mondal et. al.⁶⁹). _____ 38
- Figura 10. (A) Banda de ressonância plasmônica das NPs Au em diferentes álcoois: Metanol, propan-1-ol e octan-1-ol. (B) Dependência do máximo de absorção da banda de ressonância plasmônica das NPs Au em função do tamanho da cadeia alcóolica (Adaptados de Ghosh et. al.⁵¹) _____ 40
- Figura 11. (A) Efeito dos solventes próticos e apróticos sobre o espectro de absorção molecular UV/vis das NPs Ag. (B) Efeito da constante dielétrica dos solventes no máximo da banda de ressonância plasmônica das NPs Ag. (Adaptado de Khan et. al.⁴⁴). _____ 40
- Figura 12. Modelo esquemático do Potencial Zeta. (Adaptado de Malvern⁸⁵) _____ 44

- Figura 13. Espectro de absorção das NPs Ag sintetizadas na metodologia A. Condições experimentais: $[AgNO_3]_0$: 1 mmol/L; $[NaBH_4]_0$ 2 mmol/L; tempo de reação: aproximadamente 20 minutos. Inseto: Suspensão de NPs Ag estáveis. _____ 58
- Figura 14. Imagem das suspensões de nanopartículas de prata obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão. A) NPs Ag dispersa; B) NPs Ag aglomeradas. _____ 59
- Figura 15. Espectro de infravermelho com transformada de Fourier das suspensões de NPAg (_____) e água (_____). _____ 60
- Figura 16. Medidas de Potencial Zeta para as NPs Ag. _____ 61
- Figura 17. Suspensões de NPs Ag. (A) Suspensão de NPs Ag estáveis. (B) Suspensão de NPs Ag agregadas. _____ 61
- Figura 18. Suspensão de nanopartículas de prata produzidas com diferentes estabilizantes. Condições experimentais: Concentração inicial de $AgNO_3$: 1 mmol/L; Concentração inicial de $NaBH_4$ 2 mmol/L; Concentração inicial dos estabilizantes: 0,3% m/v do PVP e os demais 1% m/v; tempo de reação: 20 minutos. _____ 62
- Figura 19. Espectro de absorção molecular UV/vis das suspensões de nanopartículas de prata produzidas com diferentes estabilizantes. As curvas são referentes às NPs Ag estabilizadas com: _____ citrato de sódio, _____ DSS, _____ sem estabilizante, _____ PVP, _____ GSH, _____ EDTA. _____ 63
- Figura 20. Espectro de absorção molecular UV/Vis de NPs Ag estabilizadas com DSS na presença de diferentes concentrações de deltametrina. Condições experimentais: concentração inicial do $AgNO_3$: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Concentrações finais de deltametrina: 5 a 70 mg L^{-1} . _____ 64
- Figura 21. (A) Espectro de absorção molecular UV/Vis em diferentes concentrações das NPs Ag. (B) Curva analítica da suspensão de NPAg no comprimento de onda de 400 nm. Condições experimentais: concentração NPs Ag 0,20 - 0,035 mmol/L. Coeficiente de determinação da curva (R^2): 0,9999; equação da reta obtida por regressão linear: $A = (0,788 \pm 1,28 \times 10^{-15}) \text{ L mol}^{-1} c + (0,0265 \pm 1,78 \times 10^{-15})$. _____ 65
- Figura 22. NPAg em diferentes razões de concentração de $NaBH_4$ e $AgNO_3$. Condições experimentais: Concentração inicial de nitrato de prata: 1 mmol/L; concentração inicial de borohidreto de sódio: 1,5, 1,8, 2,0, 2,2 e 2,5 mmol/L respectivamente; volume final da suspensão: 100mL. _____ 66
- Figura 23. (A) Gráfico obtido por espalhamento dinâmico de luz a fim de observar a distribuição de tamanho das NPsAg obtidas nas diferentes razões de concentração inicial de $[NaBH_4]/[AgNO_3]$. (B)

Distribuição de tamanho das duas populações de NPsAg encontradas nas suspensões das razões de concentração inicial de $[NaBH_4]/[AgNO_3]$. Condições experimentais: Concentração inicial de prata: 1 mmol/L; concentração inicial de Borohidreto de sódio: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5 mmol/L respectivamente; volume final da suspensão: 100 mL; $[NaBH_4]/[AgNO_3]$: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5. _____ 67

Figura 24. (A) Monitoramento por meio de análise condutimétrica das sínteses de NPsAg sem e com temperatura controlada (AC-NPAG-1 e AC-NPAG-2, respectivamente), o tracejado vermelho indica o término da injeção de $AgNO_3$ no sistema. (B) Análise condutimétrica da solução de borohidreto de sódio em função do tempo e a variação da temperatura do sistema em função do tempo. Condições experimentais: Concentração inicial de borohidreto de sódio: 2 mmol L⁻¹; Concentração inicial de nitrato de prata: 1 mmol L⁻¹; temperatura ambiente: 23 ± 2 °C. _____ 68

Figura 25. Monitoramento por análise condutimétrica da síntese de NPsAg com temperatura controlada (AC-NPAG-3). O tracejado vermelho indica o término da injeção de $AgNO_3$ no sistema. Condições experimentais: Concentração inicial de borohidreto de sódio: 2 mmol L⁻¹; Concentração inicial de nitrato de prata: 1 mmol L⁻¹; temperatura ambiente: 23 ± 2 °C. _____ 70

Figura 26. Suspensões de NPsAg sintetizadas com monitoramento por análise condutimétrica. (A) AC-NPAG-1 (sem controle de temperatura – dia 1); (B) AC-NPAG-2 (com controle de temperatura – dia 1); (C) AC-NPAG-3 (com controle de temperatura – dia 2). _____ 71

Figura 27. Suspensão de NPs Ag em diferentes estágios de agregação e diferentes razões de $[NaBH_4]/[AgNO_3]$, onde da esquerda para a direita são 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5. Condições experimentais: Concentração inicial de nitrato de prata: 1,0 mmol L⁻¹; Concentração inicial de borohidreto de sódio: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2, e 2,5 mmol L⁻¹. _____ 72

Figura 28. Espectro de absorção molecular UV/Vis das NPs Ag sintetizadas em diferentes razões de concentração $[NaBH_4]/[AgNO_3]$, em que — razão 1,5; — razão 1,8; — razão 2,0; — razão 2,2; — razão 2,5. Condições experimentais: Concentração inicial de nitrato de prata: 1,0 mmol L⁻¹; Concentração inicial de borohidreto de sódio: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5 1,0 mmol L⁻¹; Diluição NPAG: água (1:2 v/v) para leitura no espectrofotômetro. _____ 73

Figura 29. Ensaio dos co-solventes miscíveis nas suspensões de NPs Ag. (A) Solventes próticos: — NPs Ag Pura; — NPs Ag com etanol; — NPs Ag com metanol; — NPs Ag com propanol. (B) Solventes apróticos: : — NPs Ag Pura; — NPs Ag com ACN; — NPs Ag com acetona. Condição experimental: Concentração dos solventes: 25 % (v/v); Concentração da suspensão NPs Ag: 0,15 ± 0,05 mmol L⁻¹. _____ 74

Figura 30. Suspensão de NPs Ag utilizando diferentes solventes próticos e apróticos. (A) água; (B) metanol; (C) etanol; (D) propanol; (E) acetonitrila; (F) acetona. Condição experimental: Concentração dos solventes: 25 % (v/v); Concentração da suspensão NPs Ag: $0,15 \pm 0,05 \text{ mmol L}^{-1}$.

74

Figura 31. Estudo cinético das NPs Ag em contato com a ACN. (A) Espectro de absorção molecular monitorado de 0-20 minutos. (B) Monitoramento da banda de ressonância plasmônica em 400 nm. (C) Monitoramento da banda de meia altura do ponto isobéstico (ABS/2). Condições experimentais: Medida 1 (■), Medida 2 (■); Concentração inicial de NPs Ag: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; concentração de ACN: 50 % v/v. O inserto demonstra como foi medido o $\lambda_{\text{ABS/2}}$.

75

Figura 32. (A) Curva de correlação temporal obtido por espalhamento de luz a fim de observar a interação entre as NPs Ag e o co-solvente ACN monitorado por 20 horas. (B) Distribuições de tamanho encontrados ao analisar por DLS a interação entre as NPs Ag e o co-solvente ACN. Condições experimentais: Concentração inicial de NPs Ag: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Concentração de acetonitrila: 50 % (v/v); Temperatura ambiente: $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

76

Figura 33. Estudo cinético das NPs Ag em contato com a deltametrina. (A) Espectro de absorção molecular monitorado de 0-20 minutos. (B) Monitoramento da banda de ressonância plasmônica em 400 nm. (C) Monitoramento da banda de meia altura do ponto isobéstico (ABS/2). Condições experimentais: Medida 1 (■), Medida 2 (■); Concentração inicial de NPs Ag: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Concentração de deltametrina: 250 mg L^{-1} ($0,495 \text{ mmol L}^{-1}$); Temperatura ambiente: $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. O inserto de (A) demonstra como foi medido o $\lambda_{\text{ABS/2}}$.

77

Figura 34. Estudo cinético das NPs Ag em contato com a cipermetrina. (A) Espectro de absorção molecular monitorado de 0-20 minutos. (B) Monitoramento da banda de ressonância plasmônica em 400 nm. (C) Monitoramento da banda de meia altura do ponto isobéstico (ABS/2). Condições experimentais: Medida 1 (■) e Medida 2 (■); Concentração inicial de NPs Ag: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Concentração de cipermetrina: 250 mg L^{-1} ($0,495 \text{ mmol L}^{-1}$); Temperatura ambiente: $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. O inserto de (A) demonstra como foi medido o $\lambda_{\text{ABS/2}}$.

78

Figura 35. (A) Curva de correlação temporal obtido por espalhamento de luz a fim de observar a interação entre as NPs Ag e o deltametrina monitorado por 22 horas. (B) Distribuições de tamanho encontrados ao analisar por DLS a interação entre as NPs Ag e a deltametrina. Condições experimentais: Concentração inicial de NPs Ag: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Concentração da deltametrina: 250 mg L^{-1} ; Temperatura ambiente: $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

79

Figura 36. Espectro no infravermelho com transformada de Fourier, onde de cima para baixo, tem-se: — Suspensão de NPs Ag (Concentração teórica inicial $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$); — NPs Ag na

presença de cipermetrina (Concentração 250 mg L^{-1}); — NPs Ag na presença de deltametrina (Concentração 250 mg L^{-1}); — Suspensão de NPs Ag na presença do co-solvente ACN (50 % v/v); — Solução de cipermetrina (Concentração 250 mg L^{-1}); — Solução de deltametrina (Concentração 250 mg L^{-1}); — acetoneitrila. _____ 79

Figura 37. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão. (A) e (B) NPs Ag em contato com o co-solvente acetoneitrila; (C) e (D) NPs Ag com deltametrina; (E) e (F) NPs Ag com cipermetrina.

_____ 81

Figura 38. Curva analítica para a deltametrina em diferentes dias. (A) Dia 1. (B) Dia 2. (C) Dia 3. Condições experimentais: concentração de deltametrina: $1,25 - 12,5 \text{ mg L}^{-1}$. _____ 82

Figura 39. NPAg em contato com diferentes pesticidas, onde: (A) padrão de NPs Ag com água; (B) padrão de NPs Ag com ACN; (C) NPs Ag com Cipermetrina; (D) NPs Ag com Deltametrina; (E) NPs Ag com Atrozina; (F) NPs Ag com Endossulfam; (G) NPs Ag com clorpirifós; (H) NPs Ag com Tiametoxam; (I) NPs Ag com Paratiora. Condições experimentais: concentração do solvente ACN: 25% (v/v); Concentração dos pesticidas: 10 mg L^{-1} . _____ 83

Figura 40. Curva analítica com superposição de matriz (água tratada) para deltametrina feito em dias diferentes. (A) Dia 1; (B) Dia 2; (C) Dia 3. Condições experimentais: concentração de deltametrina: $1,25 - 12,5 \text{ mg L}^{-1}$. _____ 84

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1. Pesticidas piretróides mais comuns em suas principais aplicações, fórmula molecular, massa molar e estrutura.</i>	24
<i>Tabela 2. Características físico-químicas da deltametrina.</i>	26
<i>Tabela 3. Características físico-químicas da cipermetrina.</i>	27
<i>Tabela 4. Nanosensores de prata e ouro utilizados na identificação de diversos analitos em diferentes matrizes.</i>	30
<i>Tabela 5. Agente estabilizantes utilizados para a estabilização das suspensões de NPs Ag e NPs Au.</i>	35
<i>Tabela 6. Máximo de absorção das suspensões de NPs Au sintetizada em tolueno em solventes com diferentes índices de refração (Adaptado de Ghosh et. al.⁵¹).</i>	39
<i>Tabela 7. Estudos de caracterização de suspensões coloidais de prata e ouro.</i>	44
<i>Tabela 8. Reagentes utilizados nesse trabalho bem como sua marca e pureza.</i>	48
<i>Tabela 9. Instrumentação utilizada no presente trabalho.</i>	48
<i>Tabela 10. Principais semelhanças e diferenças entre as sínteses de NPs Ag (AC-NPAG-1, AC-NPAG-2 e AC-NPAG-3) controladas por análise condutimétrica.</i>	51
<i>Tabela 11. Tabela das razões de concentração inicial de NaBH₄ e AgNO₃ e as absorbâncias no ponto de máxima absorção da curva ($\lambda = 400$ nm).</i>	65
<i>Tabela 12. Valores das absorbâncias no ponto de máxima absorção da curva ($\lambda = 400$ nm) obtidos nas AC-NPAG-1, AC-NPAG-2 e AC-NPAG-3, sintetizadas monitorando a condutividade do sistema.</i>	70
<i>Tabela 13. Estabilidade das NPs Ag após a síntese. Condição de armazenamento: 4 °C. Condições experimentais: Concentração inicial de nitrato de prata: 1,0 mmol L⁻¹; Concentração inicial de borohidreto de sódio: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5 1,0 mmol L⁻¹.</i>	72
<i>Tabela 14. Parâmetros analíticos obtidos ao quantificar a deltametrina por NPs Ag em três dias distintos. Condições experimentais: concentração de deltametrina: 1,25 – 12,5 mg L⁻¹.</i>	82
<i>Tabela 15. Avaliação da veracidade, repetitividade e precisão intermediária para o método colorimétrico empregando NPs Ag na determinação de deltametrina.</i>	83
<i>Tabela 16. Parâmetros analíticos obtidos ao quantificar a deltametrina por NPs Ag em três dias distintos. Condições experimentais: concentração de deltametrina: 0 – 12,5 mg L⁻¹</i>	84

Tabela 17. Testes estatísticos realizados para avaliar se houve efeito de matriz. _____ 85

Tabela 18. Avaliação da veracidade, repetitividade e precisão intermediária para o método analítico empregando NPs Ag na determinação de deltametrina com superposição de matriz. _____ 85

Tabela 19. Comparação entre os parâmetros linearidade, limite de detecção e quantificação dos métodos analíticos convencionais para detecção de deltametrina e o método analítico proposto. __ 86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACN – Acetonitrila
- ALD – Agregação limitada por difusão
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CIP – Cipermetrina
- CM – Centro de microscopia
- DELT – Deltametrina
- DLS – Espalhamento dinâmico de luz
- DMF – Dimetilformamida
- DMSO – Dimetil sulfóxido
- DSS – Dodecil sulfato de sódio
- EAM-UV/Vis – Espectroscopia de Absorção Molecular Ultravioleta e Visível
- EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético
- ESF – Esfenvalerato
- FTIR – Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
- GSH – Glutationa
- LD – Limite de detecção
- LQ – Limite de quantificação
- MAPA – Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento
- NPs Ag – Nanopartículas de prata
- NPs Au – Nanopartículas de ouro
- MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
- MET – Microscopia Eletrônica de Transmissão
- PARA – Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxicos em Alimento
- PVA – Álcool Polivinílico
- PVP – Polivinilpirrolidona
- RGB – do inglês: *red, green, blue*
- RPS – Ressonância plasmônica de superfície / Ressonância de plasmons de superfície
- UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	20
1 <i>Introdução</i>	21
2 <i>Revisão Bibliográfica</i>	22
2.1 Uso de agrotóxicos no Brasil	22
2.1.1 Piretróides	23
2.1.1.1 Deltametrina	26
2.1.1.2 Cipermetrina	27
2.2 Colorimetria	28
2.2.1 Nanomateriais	29
2.2.2 Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS)	30
2.2.3 Nanosensores de prata	31
2.2.3.1 Estabilidades das suspensões de NPs Ag	35
2.2.3.2 Presença de co-solvente em suspensões de NPs	38
2.3 Técnicas de caracterização para suspensões coloidais	41
2.3.1 Espectroscopia de Absorção Molecular UV/Vis (EAM-UV/Vis)	41
2.3.2 Espalhamento Dinâmico de Luz	41
2.3.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão	42
2.3.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	42
2.3.5 Potencial Zeta	43
3 <i>Objetivos</i>	46
3.1 Objetivo geral	46
3.2 Objetivos específicos	46
CAPÍTULO 2	47
4 <i>Materiais e métodos</i>	48
4.1 Padrões e reagentes	48
4.2 Equipamentos	48
4.3 Preparo das soluções	49

4.4	Síntese das nanopartículas de prata	49
4.4.1	Metodologia A	49
4.4.2	Metodologia B – uso de agentes estabilizantes	49
4.4.3	Metodologia C - ausência de luz	50
4.4.4	Metodologia C – adaptada	50
4.5	Avaliação do término da reação de síntese das NPs Ag por análise condutimétrica	51
4.5.1	Sínteses de NPs Ag com monitoramento da reação por análise condutimétrica – AC-NPAg 1, 2 e 3	51
4.5.2	Monitoramento da estabilidade da solução de borohidreto de sódio	52
4.6	Caracterização das nanopartículas de prata	52
4.6.1	Espectrofotometria UV/Vis	52
4.6.2	Espalhamento Dinâmico de Luz	52
4.6.3	Microscopia Eletrônica de Transmissão	53
4.6.4	Potencial Zeta	53
4.6.5	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier	53
4.7	Estudo da estabilidade das NPs Ag através do uso de agente estabilizantes	54
4.8	Estudo do co-solvente em sistemas empregando NPs Ag	54
4.9	Estudo cinético das NPs Ag	54
4.10	Determinação de deltametrina em meio aquoso	54
4.11	Validação do método analítico com NPs Ag	55
4.12	Análises em amostra autêntica de água	55
CAPÍTULO 3		57
5	Resultados e discussão	58
5.1	Síntese e caracterização das nanopartículas de prata	58
5.1.1	Metodologia A	58
5.1.2	Metodologia B	61
5.1.3	Metodologia C	64

5.2	Avaliação do término da reação de síntese das NPs Ag por análise condutimétrica	67
5.2.1	Metodologia C -adaptada	71
5.3	Efeito do co-solvente	73
5.4	Estudo cinético de interação do co-solvente acetonitrila com as NPs Ag	74
5.5	Estudo cinético de interação da deltametrina e cipermetrina com as NPs Ag	76
5.6	Desenvolvimento e validação do método de determinação de deltametrina por NPs Ag	81
5.7	Aplicação do método para amostra autêntica de água de torneira	83
CAPÍTULO 4		88
6	Conclusão	89
7	Sugestão para futuros trabalhos	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		90

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO, REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E OBJETIVOS

1 Introdução

A intensificação do uso de pesticidas no Brasil ocorreu em meados do século XX durante a Revolução Verde e perdura até os dias atuais. O uso de tais substâncias é decorrente de sua elevada eficiência no combate a pragas agrícolas e urbanas. Além disso, do ponto de vista econômico, auxiliam na maior produtividade das plantações. Entretanto, o seu uso intenso pode causar sérios problemas ao meio ambiente.

Atualmente, os pesticidas classificados como piretróides estão entre os mais utilizados no Brasil devido a sua baixa toxicidade aos seres humanos e mamíferos em geral. Apesar disso, são altamente tóxicos aos insetos polinizadores e organismos aquáticos. Nesse sentido, com o intuito de detectar contaminações ambientais pelo uso de piretróides, faz-se necessária a utilização de técnicas de identificação desses compostos.

Dentro desse contexto, os métodos colorimétricos surgem como uma técnica promissora na identificação de piretróides em sistemas aquosos, sendo o sinal positivo para presença do analito assinalada pela mudança de coloração do sistema. Com a utilização desses métodos, as análises podem ser realizadas *in situ* de forma rápida e possuem um custo inferior àquelas que utilizam equipamentos mais sofisticados.

Os métodos colorimétricos empregando nanopartículas de metais nobres, como o ouro e a prata, têm ganhado destaque devido às seguintes características desses metais: resistência à corrosão e oxidação, alta reatividade e propriedades ópticas, como a ressonância plasmônica de superfície (RPS). Embora as nanopartículas de prata (NPs Ag) apresentem menor custo em relação às nanopartículas de ouro (NPs Au), a sua estabilidade e sua reprodutibilidade configuram um grande desafio.

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo desenvolver um método colorimétrico empregando NPs Ag para identificação de piretróides (deltametrina) em sistemas aquosos. Além disso, objetivou-se otimizar a síntese das NPs Ag e avaliar a sua estabilidade e reprodutibilidade, na presença e ausência de agentes estabilizantes e investigar a agregação das NPs Ag em contato com diferentes solventes próticos e apróticos.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Uso de agrotóxicos no Brasil

A utilização de compostos com o intuito de controlar pragas agrícolas ocorre há mais de 3000 anos¹. Entretanto, a intensificação e incentivo ao uso de agrotóxicos, especialmente em países emergentes como o Brasil, ocorreu após a Revolução Verde, em meados do século XX, consolidando um marco na agricultura do país²⁻⁴. Durante esse período houve um grande estímulo à modernização das práticas agrícolas, visando aumentar a produção por meio da utilização de maquinário, irrigação artificial, fertilizantes, agrotóxicos e produtos transgênicos²⁻⁴.

No contexto atual, o Brasil se destaca por ser um dos grandes consumidores mundiais de agrotóxicos. Desde 2005, houve um aumento significativo da quantidade de agrotóxicos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), como pode ser observado na Figura 1²⁻⁶. Além disso, são inúmeros os agrotóxicos que conseguem ser registrados e liberados para o agronegócio brasileiro cuja toxicidade varia de alta a extremamente alta, de acordo com a classificação da ANVISA (Agência Nacional da Vigilância Sanitária). Muitos desses agrotóxicos são proibidos em outros países, como Estados Unidos e membros da União Europeia⁷, devido aos impactos causados por esses produtos.

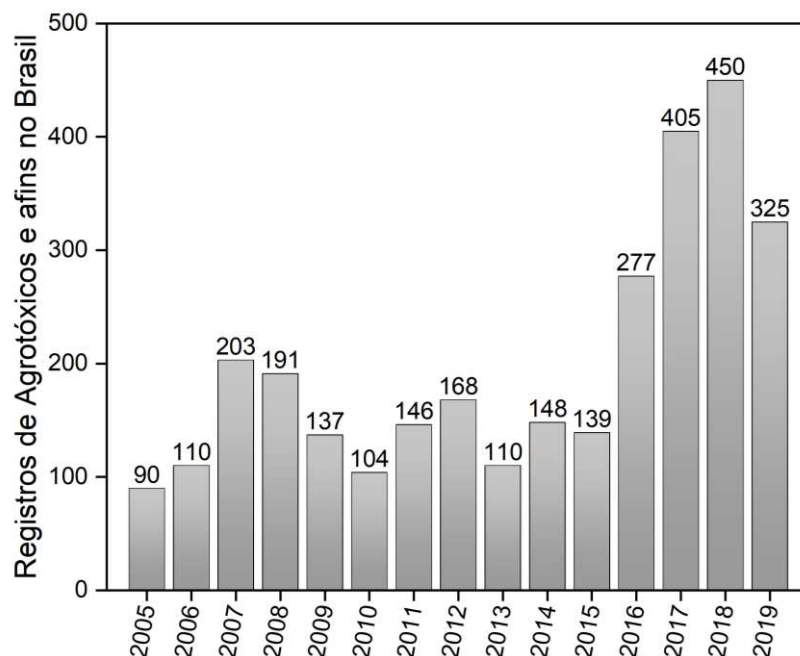


Figura 1. Número total de agrotóxicos registrados no Brasil no período de 2005 a 2019, até o dia 16/09/2019. (Adaptado de Brasil⁵).

Os agrotóxicos são muito eficazes para o aumento da produtividade e podem ser divididos em inseticidas, herbicidas, acaricidas, formicidas, fungicidas, dentre outras, combatendo, respectivamente, insetos, ervas daninhas, ácaros, formigas, fungos, além de doenças de plantações e outros parasitas^{4,7}. Todavia, o uso indiscriminado desses produtos está intimamente relacionado com uma série de impactos ambientais como, por exemplo, contaminação do solo, águas superficiais e subterrâneas, desequilíbrios nos ecossistemas, dizimação de polinizadores, contaminação dos alimentos^{2-4,8,9}.

O mecanismo de ação dos agrotóxicos pode ser dividido em sistêmicos e de contato. O primeiro é aquele que ao entrar em contato com a planta, é absorvido e circula pela seiva de modo a se distribuir uniformemente nos tecidos vegetais. O segundo é aquele que ao entrar em contato com a planta, permanece em sua superfície, de modo a entrar em contato direto com o alvo. Todavia, como o tecido vegetal é poroso, pode haver a absorção dos agrotóxicos de contato pelos tecidos da planta^{7,10}. Os principais grupos químicos de agrotóxicos são os organofosforados, piretróides, clorociclodienos, metilcarbamatos de oxima, benzimidazóis, carboximidas, dimetilditiocarbamatos e triazóis^{7,8}.

Segundo um relatório publicado pela ANVISA em conjunto com dados coletados pelo PARA (Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxicos em Alimento), os grupos químicos organofosforados e piretróides lideram o uso irregular de agrotóxicos. Segundo dados da ANVISA, tais compostos ultrapassaram a quantidade mínima permitida para o resíduo, além de causarem prejuízos ao meio ambiente ao redor das plantações¹⁰.

2.1.1 Piretróides

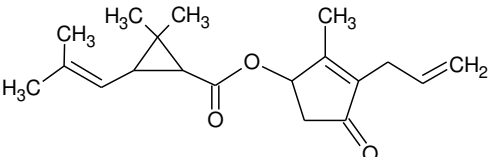
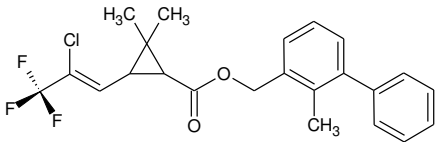
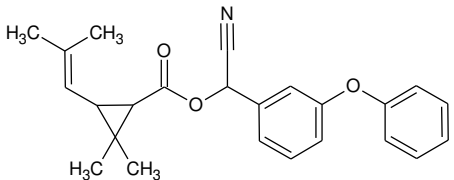
Os piretróides são inseticidas de origem vegetal, extraídos de flores do gênero *Chrysanthemum cinerariaefolium* e *Chrysanthemum cocineum*¹¹⁻¹³, sendo identificado pela primeira vez em 1949, com o composto denominado Aletrina¹¹. O campo de aplicação dos piretróides é bem amplo, podendo ser utilizado na agricultura, na medicina veterinária, em campanhas em prol da saúde pública, como no combate à dengue, no uso doméstico, dentre outras¹².

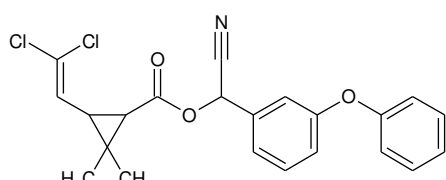
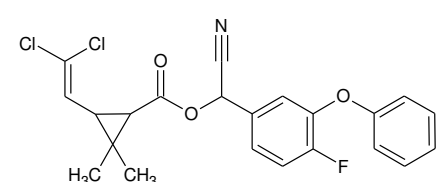
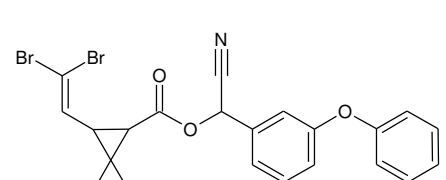
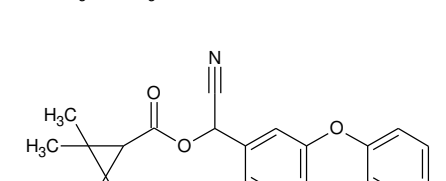
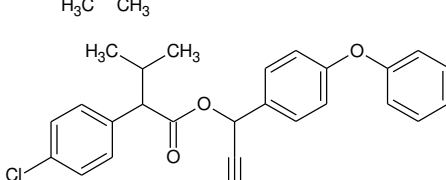
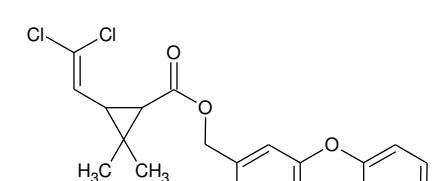
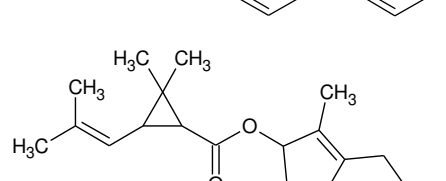
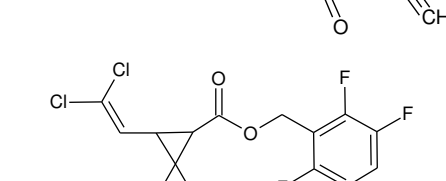
Esse amplo espectro de atividade está relacionado com a sua ação rápida, eficácia, baixa toxicidade quando em contato com mamíferos ou aves e quando comparados a outros agrotóxicos¹²⁻¹⁵. Devido a esses fatores, os piretróides tem substituído inseticidas com toxicidade mais elevada nas plantações agrícolas, como organofosforados, organoclorados (uso proibido ou restrito no Brasil) e carbamatos¹⁵.

Todavia, ainda que os piretróides apresentem essas vantagens em relação aos outros inseticidas, o seu uso tem intensificado os riscos de poluição no solo e nos ambientes aquáticos. Também podem aumentar o risco de intoxicação dos trabalhadores rurais expostos aos agrotóxicos^{12,14,15}. A exposição prolongada e excessiva aos piretróides, as quais podem ocorrer por absorção cutânea ou ingestão, podem desencadear nos humanos úlceras bucais, aumento de secreções, vômito, dores abdominais, tonturas, dores de cabeça e em casos mais graves, convulsões e coma^{11,12}. Além disso, os piretróides são altamente tóxicos para insetos polinizadores e organismos aquáticos, como os crustáceos e peixes, causando uma série de efeitos neurotóxicos nesses animais, podendo causar um desequilíbrio nesses ecossistemas^{11,12,14-16}.

Pode-se ver na Tabela 1 algumas informações dos piretróides mais comuns para o controle de insetos nas agriculturas, agropecuárias e ambiente doméstico atualmente. Dos piretróides amplamente utilizados, aqueles que se destacam devido ao seu uso intenso e por serem altamente tóxicos para os organismos aquáticos são a deltametrina e a cipermetrina¹².

Tabela 1. Pesticidas piretróides mais comuns em suas principais aplicações, fórmula molecular, massa molar e estrutura.

Composição	Principal aplicação	Fórmula molecular	Massa Molar g/mol	Estrutura
Aletrina	Pesticida doméstico	$C_{19}H_{26}O_3$	302,4	
Bifentrina	Pesticida agrícola	$C_{23}H_{22}ClF_3O_2$	422,9	
Cifenotrina	Pesticida agrícola	$C_{24}H_{25}NO_3$	375,5	

Composição	Principal aplicação	Fórmula molecular	Massa Molar g/mol	Estrutura
Cipermetrina	Pesticida agrícola e veterinário	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	416,3	
Cyflutrina	Pesticida doméstico	$C_{22}H_{18}Cl_2FNO_3$	434,3	
Deltametrina	Pesticida doméstico, agrícola e veterinário	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$	505,2	
Fenpropatrina	Pesticida agrícola e doméstico	$C_{22}H_{23}NO_3$	349,4	
Fenvalerato	Pesticida agrícola	$C_{25}H_{22}ClNO_3$	419,9	
Permetrina	Pesticida doméstico e veterinário	$C_{21}H_{20}Cl_2O_3$	391,3	
Praletrina	Pesticida doméstico	$C_{19}H_{24}O_3$	300,4	
Transflutrina	Pesticida agrícola	$C_{15}H_{12}Cl_2F_4O_2$	371,2	

2.1.1.1 Deltametrina

A deltametrina é um piretróide sintético, composto por oito estereoisômeros e classificado como um inseticida de contato nos alvos biológicos¹⁷. Este composto foi descoberto na década de 70 e é muito utilizado no Brasil nas culturas de abacaxi, algodão, alho, batata, arroz, soja, dentre outras e também no controle de ectoparasitas em uso doméstico e veterinário^{12,13,15,17,18}.

A grande utilização da deltametrina é destacada pela baixa toxicidade a mamíferos e aves, além da baixa persistência no meio ambiente. Porém, é altamente tóxica às abelhas e aos organismos aquáticos, o que a torna um poluidor em potencial aos ecossistemas contendo esses animais^{12,15,16,19}. Algumas informações relevantes sobre este composto são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Características físico-químicas da deltametrina.

Características físico-químicas da Deltametrina	
Fórmula molecular	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃
Massa molar	505,2 g mol ⁻¹
Ponto de fusão	98 °C
Ponto de ebulição	300 °C
Aparência	Sólido, pó branco cristalino, inodoro
Solubilidade	Baixa solubilidade em água (< 0,002 mg L ⁻¹ a 25 °C)
	Solúvel em acetonitrila, diclorometano, acetona, benzeno e isopropanol

A absorção da deltametrina por seres humanos pode ocorrer de forma cutânea, inalação ou por meio de ingestão. Essa absorção pode desencadear reações adversas como irritação cutânea, ocular, reações alérgicas, como por exemplo, alergia no trato respiratório. Além disso, o contato com a substância ativa na pele lesada, por feridas ou queimaduras, pode desencadear patologias gastrointestinais e neurotóxicas^{17,19}. Entretanto, de um modo geral, o composto é metabolizado rapidamente pelo organismo, sendo a maior parte excretada dentro de 24 horas.

2.1.1.2 Cipermetrina

A cipermetrina é um piretróide sintético, constituído por oito estereoisômeros, sendo que seu emprego alcançou notoriedade na década de 70. Seu modo de ação envolve o contato nos alvos biológicos nas produções de algodão, arroz, batata, café, tomate, dentre outros²⁰. Também pode ser utilizado no tratamento de piolhos aquáticos, lãs de ovelhas e no combate a ectoparasitas na medicina veterinária¹².

Sua intensa utilização é devida à baixa toxicidade quando em contato com mamíferos e aves. Porém, assim como a deltametrina, é altamente prejudicial aos organismos aquáticos e insetos polinizadores. Nesse sentido, faz-se necessário o controle de sua utilização a fim de evitar problemas a esses ecossistemas^{21,22}. Pode-se ver algumas informações relevantes sobre o composto na Tabela 3.

Tabela 3. Características físico-químicas da cipermetrina.

Características físico-químicas da cipermetrina	
Fórmula molecular	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$
Massa molar	416,3 g mol ⁻¹
Ponto de fusão	81,3 °C
Aparência	Semissólido viscoso, cristalino, inodoro
Solubilidade	Baixa solubilidade em água (< 0,004 mg L ⁻¹ a 20 °C) Solúvel em metanol, etanol, acetonitrila, acetona, clorofórmio, diclorometano e hexano

Quando ocorre o contato direto entre cipermetrina e os seres humanos, o princípio ativo é metabolizado rapidamente e, grande parte, excretado pelo organismo em 48 horas. A absorção pode ocorrer por meio da pele ou ingestão, sendo essa última mais prejudicial. As intoxicações são, em sua maioria, assintomáticas. Entretanto, indivíduos com problemas respiratórios crônicos e crianças, podem apresentar irritações no trato respiratório. Trabalhadores rurais, ou pessoas expostas a uma grande quantidade do produto, podem desenvolver irritações cutâneas e ocular, problemas respiratórios, problemas neurotóxicos e, em casos mais graves, coma²⁰.

Nesse sentido, a intensificação do uso de piretróides é muito prejudicial aos ecossistemas em que são inseridos, por serem altamente tóxicos aos organismos aquáticos e aos insetos polinizadores, dando origem a desequilíbrios ambientais. Ainda, podem acarretar o desenvolvimento de problemas de saúde aos seres humanos, especialmente àqueles que mantem contato direto com o produto. Assim, a sua detecção nos meios aquáticos é de suma importância

para evitar ou atenuar contaminações ambientais e, conseqüentemente, o desaparecimento de espécies de animais essenciais para seus ecossistemas.

Nessa perspectiva, os métodos colorimétricos empregando NPs Ag surgem como um método alternativo para a identificação desses compostos em sistemas aquosos. Além disso, sistemas empregando NPs Ag vêm ganhando destaque por se tratar de um método rápido, robusto, de baixo custo quando comparado a técnicas convencionais de análise, e podem ser utilizados para fazer análises *in situ*.

2.2 Colorimetria

As medidas que analisam a interação da radiação com a matéria são objeto de estudo da espectroscopia^{23,24}. Dentro desta, temos a colorimetria que é um método baseado na absorção de luz, no intervalo do espectro eletromagnético correspondente ao comprimento de onda de 400-700 nm, a região do visível²⁴. Pode-se ver na Figura 2 o espectro eletromagnético, com destaque para a região no visível.

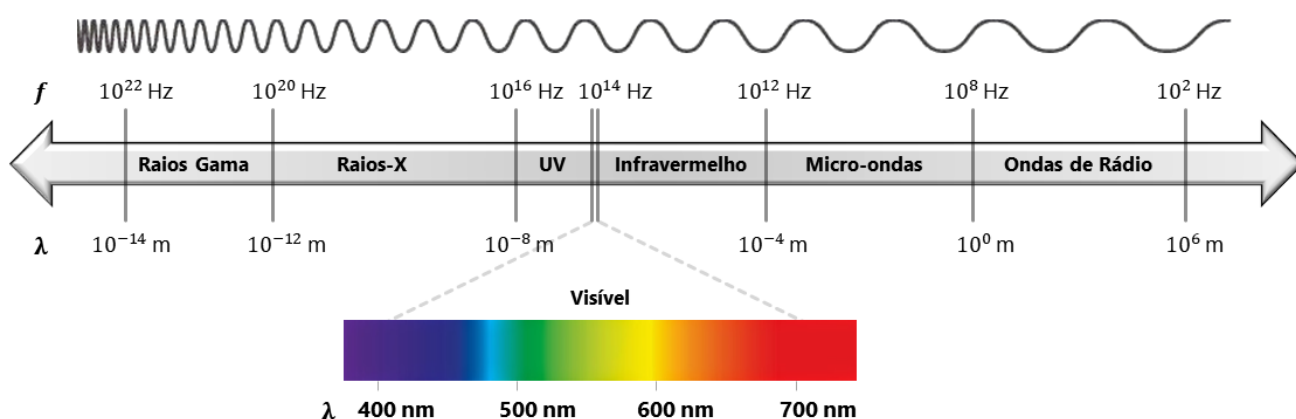


Figura 2. Espectro eletromagnético evidenciando a região do visível (Adaptado de Queiroz, 2001²⁵)

A técnica colorimétrica é fundamentada em medidas de cor ou radiação luminosa absorvida por um sistema²⁶. Por meio da interação da luz com a matéria, pode-se detectar a presença (método qualitativo) ou determinar a concentração (método quantitativo) de um analito em uma solução^{24,26}. Tendo em vista que um composto colorido absorve seletivamente os comprimentos de onda da região do visível, a cor resultante observada pelo olho humano é a chamada de cor complementar²⁷⁻²⁹.

As cores complementares são classificadas como pares de cores que, quando misturadas ou combinadas, correspondem a um estímulo acromático de cor, produzindo tons na escala de cinza²⁸⁻³⁰. De um modo geral, em um círculo cromático, considerando a teoria do modelo RGB

(do inglês – *red, green and blue*), as cores complementares são aquelas que se posicionam em direções praticamente opostas uma da outra²⁷⁻³⁰.

Técnicas empregando métodos colorimétricos são consideradas técnicas qualitativas de baixo custo quando comparados a análises instrumentais. Além disso, podem ser empregadas como técnicas preliminares, de simples execução, reprodutíveis, robustas, confiáveis e que, muitas vezes, podem ser utilizados para fazer análises *in situ* por meio de equipamentos portáteis³¹.

A técnica colorimétrica empregando a nanotecnologia surge como uma tecnologia promissora no campo da detecção de contaminantes emergentes em matrizes aquosas^{32,33}. Por exemplo, na detecção de drogas ilícitas, em matrizes complexas³⁴⁻³⁶, de pesticidas e antibióticos em matrizes aquosas, dentre outras^{32,33,37-40}. A detecção desses compostos pode ser feita por meio de nanosensores, que promovem a mudança de cor de uma solução ao detectar a presença de uma substância^{32,35,36,41,42}.

2.2.1 Nanomateriais

Os nanomateriais surgiram como uma tecnologia multidisciplinar no século XX e, desde então, vem ganhando enfoque nas pesquisas, promovendo avanços científicos e tecnológicos em todo o mundo⁴³⁻⁴⁵. São compostos que possuem pelo menos uma de suas dimensões na escala nanométrica (10^{-9} m)⁴⁶. Nos dias atuais a sua aplicação se enquadra em diferentes ramos tais como construção de nanosensores, nanochips, remediação ambiental, indústria farmacêutica, eletrônica, medicina, entre outras^{44,47,48}.

Eles possuem propriedades distintas das propriedades de seus macro e micromateriais correspondentes, como as propriedades elétricas, mecânicas, ópticas, magnéticas e a reatividade⁴⁹. Devido ao menor tamanho, sua área superficial por volume é maior, tornando-os mais reativos^{44-46,49,50}.

As nanopartículas de metais nobres, como prata e ouro, dispersas em sistemas coloidais, possuem propriedades ópticas interessantes devido aos elétrons livres encontrados em sua superfície. Tais elétrons promovem o fenômeno denominado ressonância dos plasmons de superfície (RPS), que gera oscilações dos elétrons de condução e promove efeitos visuais de mudanças de cor^{44,48,51}.

Essas suspensões coloidais de nanopartículas de prata e ouro, quando associadas com matrizes específicas, são chamadas de nanosensores e ao interagirem com o analito promovem interações específicas, com uma alta capacidade de reconhecimento molecular⁵². Os

nanosensores consistem em uma tecnologia alternativa que permitem análises rápidas, eficientes e de baixo custo, além de usar pequenas quantidades de amostras do material⁴⁹ e são úteis para a detecção de diversos analitos em sistemas aquosos, como antibióticos, mercúrio, pesticidas, drogas de abuso, dentre outros como mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Nanosensores de prata e ouro utilizados na identificação de diversos analitos em diferentes matrizes.

Nanosensores	Analito	Matriz	Referência
NPs Ag	Antibiótico – Fluoroquinolonas	Aquosa	Moraes <i>et. al.</i> ³²
NPs Ag	Hg ²⁺	Aquosa	Wang <i>et. al.</i> ³³
NPs Ag	Cr ⁶⁺	Aquosa	Ravindran <i>et. al.</i> ³⁷
NPs Ag	Pesticida – Optunal	Aquosa	Xiong <i>et. al.</i> ³⁸
NPs Ag	Pesticidas fosforados	Aquosa	Shrivastava <i>et. al.</i> ⁴⁰
NPs Ag	Cocaína	Saliva	Andreou <i>et. al.</i> ³⁶
NPs Au	Pesticida – Acetamiprido	Aquosa	Xu <i>et. al.</i> ³⁹
NPs Au	Cocaína	Impressão digital	Li <i>et. al.</i> ⁵³
NPs Au	Cocaína	Sangue	Abnous <i>et. al.</i> ⁵⁴
NPs Au	Opióides	Urina	Mohseni <i>et. al.</i> ⁵⁵
NPs AuAg	Cocaína e metanfetamina	Urina	Mao <i>et. al.</i> ⁵⁶

2.2.2 Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS)

Uma das mais importantes propriedades ópticas apresentadas pelas suspensões de nanopartículas sintetizadas a partir de materiais nobres é a chamada ressonância plasmônica de superfície (RPS)^{44,48,51,57,58}. O fenômeno consiste na absorção da radiação eletromagnética e oscilação dos elétrons de condução ou plasma⁴⁸. A definição de plasma consiste em partículas eletricamente carregadas por íons positivos e negativos, totalizando em carga nula. Devido às cargas presentes, o plasma é fortemente influenciado por campos elétricos e magnéticos³². Como compostos metálicos possuem elétrons livres em sua banda de condução, facilmente interagem com íons positivos, gerando o plasma de superfície³².

De um modo geral, a ressonância é um fenômeno físico que ocorre quando um sistema absorve energia por meio de uma excitação externa com frequência igual à sua frequência natural de vibração^{48,59-61}. Quanto mais energia o sistema absorve, mais aumenta a sua amplitude de vibração⁶¹. Além disso, a energia a ser absorvida deve ser contínua e periódica.

Como resposta à absorção de energia elétrica contínua, os elétrons de condução passam a vibrar mais intensamente, aumentando sua amplitude vibracional, no ritmo de sua frequência

natural de vibração e em ressonância com a luz incidente comportando-se, assim, como um oscilador harmônico⁴⁸. Consequentemente, há uma redistribuição de cargas, aumentando a densidade eletrônica em uma extremidade da banda de condução e diminuindo na extremidade oposta^{59,60}. Essa redistribuição cria um campo elétrico resultante dentro e fora da nanopartícula, na direção oposta ao campo elétrico incidente. Esse fenômeno é o chamado ressonância plasmônica de superfície^{59,60}. Pode-se ver na Figura 3 uma representação da ressonância plasmônica de superfície.

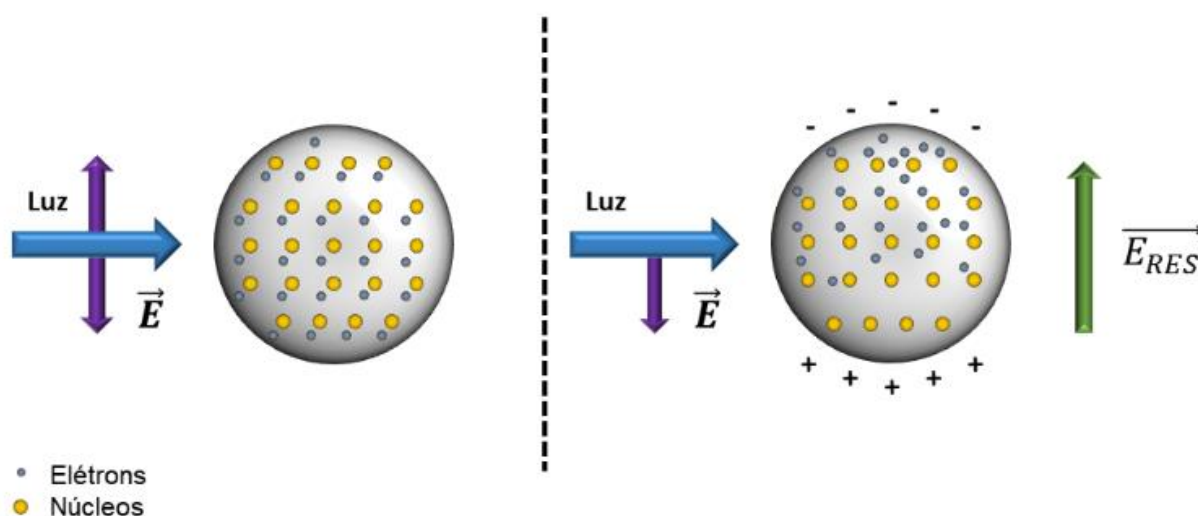


Figura 3. Esquema de interação de luz eletromagnética com a superfície da NPs metálicas, ocorrendo o fenômeno ressonância plasmônica de superfície (Adaptado de Garcia *et. al.*⁵⁸).

2.2.3 Nanosensores de prata

As suspensões coloidais de nanopartículas de metais nobres, como ouro e prata, tem atraído a atenção de pesquisadores no mundo todo, devido à resistência a corrosão e oxidação^{32,44,46,48,51,62,63}, também devido às suas propriedades ópticas, como a RPS, responsável pela banda de ressonância plasmônica no espectro UV/Vis, decorrente dos elétrons de condução, a qual proporciona propriedades de sensor as suspensões coloidais das NPs^{44,48}.

Segundo Martins *et. al.*⁴⁶ a utilização de nanopartículas de prata coloidal é datada desde período romano, século IV d.C., para fins decorativos, em que se tem o Cálice de Licurgo (Figura 4), que se encontra exposto no museu britânico (*British Museum*), localizado em Londres. O cálice possui como matriz um vidro, e a cor observada é dependente do ângulo de incidência da luz em sua superfície. Quando a luz incide sobre o cálice em condições normais de iluminação, ela sofre o fenômeno de reflexão pela superfície, e o cálice apresenta-se na cor verde. Quando a luz sofre o fenômeno de transmissão, ou seja, quando o cálice é iluminado a partir de seu interior, a cor resultante no vidro é vermelha. Esse fenômeno óptico ocorre devido

as nanopartículas de ouro e prata, na ordem de 50 nm, dispersas na matriz vítrea do cálice. Na Figura 4 são mostrados os dois estágios de iluminação do cálice.



Figura 4. Cálice de Licurgo exposto no museu britânico *British Museum*, localizado em Londres confeccionado com nanopartículas de ouro e prata dispersas. A) Coloração esverdeada do vidro decorrente da reflexão da luz. B) Coloração avermelhada do vidro decorrente da transmissão da luz (Adaptado de Martins *et. al.*⁴⁶).

Entretanto, devido ao maior custo para síntese das nanopartículas de ouro, as nanopartículas de prata (NPs Ag), também conhecidas como nanosensores de prata, vem ganhando cada vez mais espaço^{44,45,57,62,63}. As NPs Ag possuem algumas propriedades interessantes, como atividade antibacteriana^{63–66}, antiviral^{64,65}, antifúngica^{64,65}, boa condutividade⁶³, efeito catalítico⁶², propriedades de sensor^{32,44}, dentre outras. Além disso, a cor da sua suspensão coloidal, que é bem diferente da prata metálica, é dependente de sua morfologia bem como o fenômeno RPS. Nesse sentido, o controle de sua forma e tamanho é muito importante no momento da síntese das NPs Ag^{32,44,48,62}.

Há diversas estratégias para a síntese de NPs Ag, como redução química dos íons prata^{44,45,57,63}, formações fotoquímicas^{48,63}, radiolíticas^{48,63} e biogênicas^{48,63}. Entretanto, o método da redução química é o mais utilizado, sendo o borohidreto de sódio o redutor mais empregado^{44,45,57,63}. Os parâmetros determinantes para definir qual das técnicas é mais apropriada para a síntese das NPs Ag é dependente da reprodutibilidade requerida, assim como distribuição de tamanhos, morfologia, entre outros³².

Na síntese de NPs Ag, conta-se com um excesso do redutor borohidreto, de modo a estabilizar a suspensão coloidal de NPs Ag^{45,48}. Assim, o excesso dos ânions promove uma solvatação nas recém formadas nanopartículas de prata, tornando-as mais estáveis devido à estabilização eletrostática^{32,45}. Pode-se ver na Figura 5 um esquema da estabilização das NPs Ag pelos íons borohidreto.

Murphy *et. al.*⁶² sintetizaram NPs Ag via redução química com NaBH₄ e obtiveram suspensões com diferentes tamanhos de NPs Ag (Figura 6). Conseqüentemente, cada uma das suspensões apresentava colorações distintas, bem como a banda de ressonância plasmônica no espectro de absorção UV/Vis. Pode-se observar que o menor tamanho das NPs Ag apresentou uma coloração amarela clara (Figura 6B) com um pico da banda de RPS em 400 nm. O maior estágio de agregação (Figura 6B) apresentou uma coloração preta da suspensão e uma diminuição do pico da banda de RSP em 400 nm, bem como um deslocamento batocrômico, característico da agregação das NPs Ag.

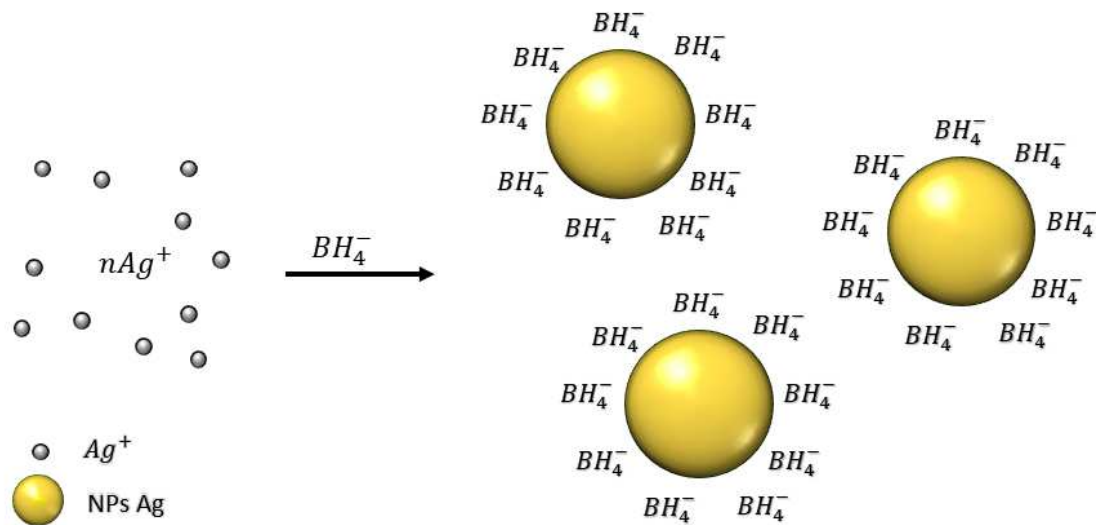


Figura 5. Esquema de estabilização das NPs Ag a partir do redutor borohidreto de sódio (Adaptado de Solomon *et. al.*⁴⁵)

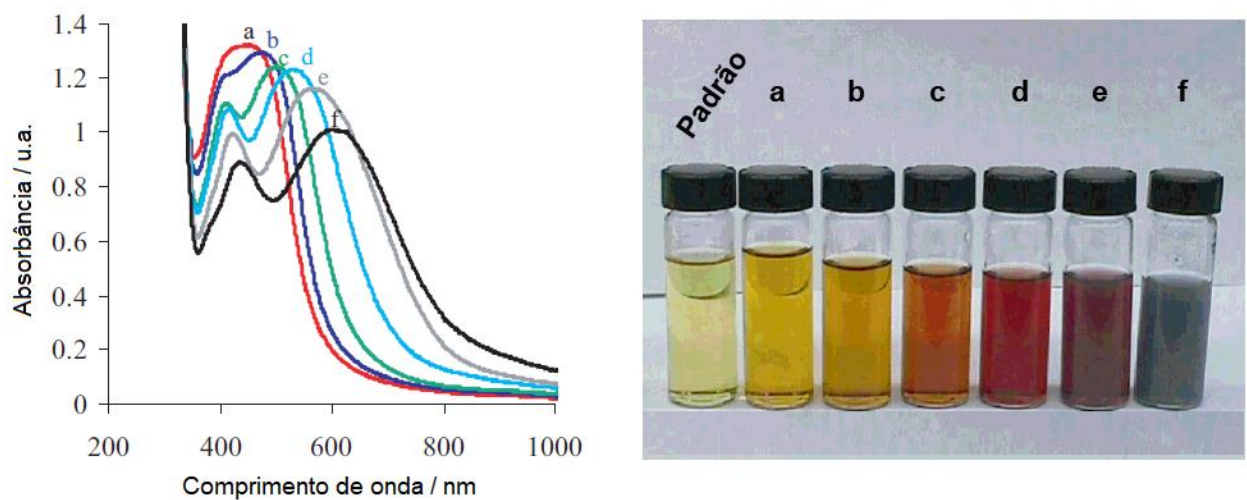


Figura 6. (A) Espectro de absorção UV/Vis para diferentes suspensões de NPs Ag, com diferentes estágios de agregação (B) Imagem das suspensões de NPs Ag com diferentes estágios

de agregação, onde “a” é o menor tamanho de NPs Ag e “g” o maior (Adaptada de Murphy *et. al.*⁶²).

Solomon *et. al.*⁴⁵ avaliaram a estabilidade das NPs Ag variando a razão de concentração inicial $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+$ ($[\text{NaBH}_4]/[\text{AgNO}_3] = 1,8; 1,9; 2,0; 2,1$). Eles obtiveram a prata coloidal em diferentes estágios de agregação, sendo que apenas a suspensão cuja razão $[\text{NaBH}_4]/[\text{AgNO}_3]=2$, permaneceu estável, com a coloração amarela e o comprimento de onda máximo da banda de RPS igual a 400 nm. A suspensão com estágio de agregação mais avançado, apresentou-se na coloração violeta, apresentando uma diminuição da banda de ressonância plasmônica em 400 nm, bem como um deslocamento batocrômico. Na Figura 7 são mostrados o espectro de absorção UV/Vis para a suspensão estável de NPs Ag (Figura 7A), bem como para a suspensão em um estágio mais avançado de agregação (Figura 7B). São mostrados também a imagem das suspensões do inserto, bem como a imagem obtida por MET da suspensão estável.

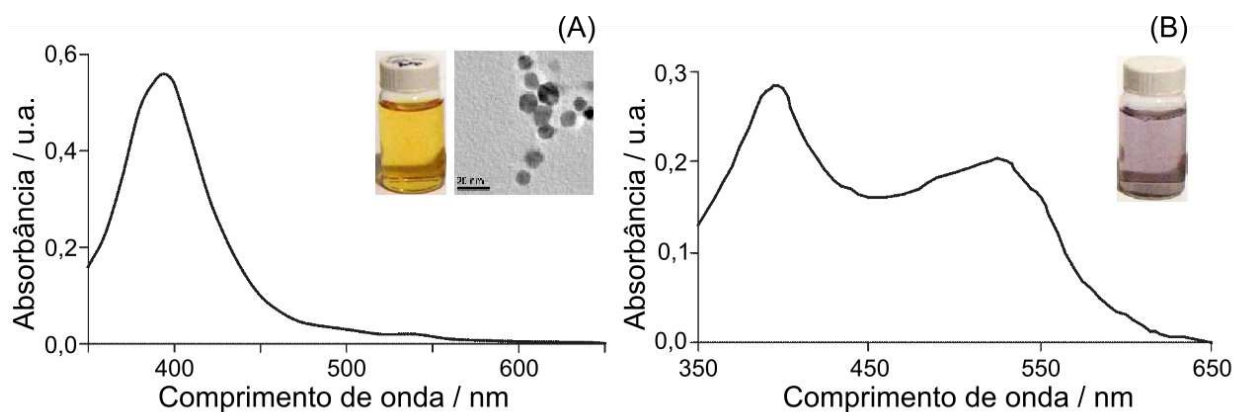


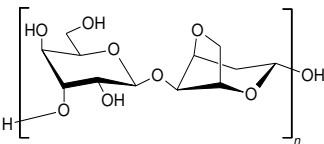
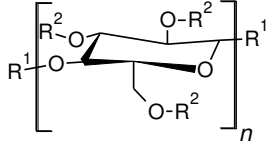
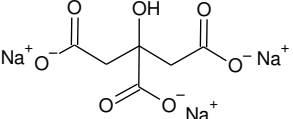
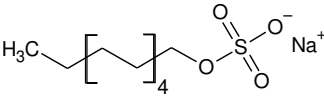
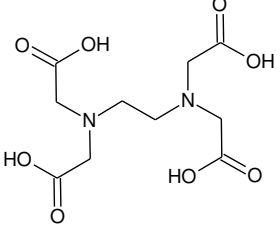
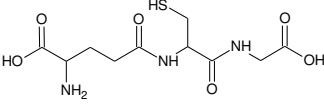
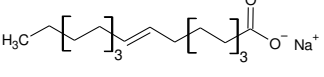
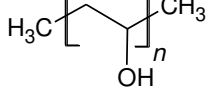
Figura 7. Espectro de absorção UV/Vis das suspensões de NPs Ag. (A) Suspensão estável, formato esférico, razão de concentração inicial $[\text{NaBH}_4]/[\text{AgNO}_3]$ igual a dois. (B) Suspensão em um estágio de agregação mais avançado. Inseto: (A) Suspensão de NPs Ag estável, bem como sua imagem de MET com NPs Ag no formato esférico; (B) Suspensão de NPs Ag agregada (Adaptado de Solomon *et. al.*⁴⁵)

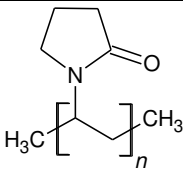
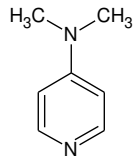
As NPs Ag sintetizadas pelo método da redução química, embora seja o método mais comum, apresentam uma limitação quanto à sua reprodutibilidade. Muitas vezes, quando sintetizadas na ausência de um agente estabilizante, elas facilmente se agregam, formando aglomerados de prata, inviabilizando a sua aplicação^{45,57,63}. De modo a tentar eliminar esse problema, muitos autores fazem uso de agentes estabilizantes no momento da síntese das NPs Ag^{44,45,57,63}.

2.2.3.1 Estabilidades das suspensões de NPs Ag

Agentes estabilizantes de suspensões de NPs Ag são compostos que dão origem à uma camada protetora nas NPs Ag, impedindo a sua aglomeração e crescimento⁶³. Os estabilizantes podem ser aplicados a matrizes aquosas, solventes orgânicos, filmes finos e podem ter origem diversas. Entretanto, os que são comumente utilizados para proteger as NPs Ag são os polímeros, surfactantes, carboidratos, aminas, tióis, dentre outros^{33,59,63,67-69}. Na Tabela 5 são mostrados alguns exemplos dos estabilizantes comumente utilizados.

Tabela 5. Agente estabilizantes utilizados para a estabilização das suspensões de NPs Ag e NPs Au.

NPs*	Nome	Classe	Estrutura	Ref.
Ag	Agarose	Carboidrato		Verkhovskii <i>et. al.</i> ⁶⁷
Ag	Carboximetilcelulose	Carboidrato		Verkhovskii <i>et. al.</i> ⁶⁷
Ag	Citrato de Sódio	Sal		Pinto <i>et. al.</i> ⁵⁷
Ag	Dodecil Sulfato de Sódio (DSS)	Surfactante aniônico		Song <i>et. al.</i> ⁶³
Ag	Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)	Agente quelante		Mondal <i>et. al.</i> ⁶⁹
Ag	Glutationa (GSH)	Tripeptídeo		Wang <i>et. al.</i> ³³
Ag	Oleato de sódio	Sal		Verkhovskii <i>et. al.</i> ⁶⁷
Ag	Álcool polivinílico (PVA)	Polímero		Melo Junior <i>et. al.</i> ⁴⁸

NPs*	Nome	Classe	Estrutura	Ref.
Ag	Polivinilpirrolidona (PVP)	Polímero		Yu <i>et. al.</i> ⁷⁰
Au	Dimetilaminopiridina	Amina		Gandubert <i>et. al.</i> ⁷¹
Au	Derivados do tiol (Fulerenotiol, dodecanotiol, dentre outros)	Tiol	R—SH	Thomas <i>et. al.</i> ⁷²

*NPs – Nanopartículas.

Em 2005, Song *et. al.*⁶³ estudaram a estabilidade das NPs Ag sintetizadas em diversas razões de concentração inicial de NaBH₄/AgNO₃ e DSS/AgNO₃. Em ambos os ensaios, a concentração inicial do AgNO₃ foi mantida constante em 1 mmol L⁻¹. Para o estudo do efeito da razão DSS/AgNO₃, as razões estudadas foram 0,5, 2, 5 e 20. Os autores observaram que à medida que a razão aumentava, a suspensão mudava a coloração de marrom para amarelo. Além disso, para as razões DSS/AgNO₃ iguais a 5 e 20, o máximo da banda de ressonância plasmônica em 400 nm foi observado, confirmando a formação da suspensão de NPs Ag. Em outras razões como 0,5 e 2, foi observado uma diminuição da banda de ressonância plasmônica, acompanhada de um deslocamento batocrômico, evidenciando a agregação das nanopartículas.

Os autores Wang *et. al.*³³ estabilizaram as NPs Ag com GSH. Segundo os autores, a suspensão obtida foi seletiva na identificação de Hg²⁺ em água, mesmo na presença de outros cátions, como Cd²⁺, Zn²⁺, Fe³⁺ e Pb²⁺. O método também apresentou alta sensibilidade, detectando baixas concentrações de Hg²⁺ no meio (0,02 ppb). Moraes *et. al.*³² sintetizaram NPs Ag, as quais foram estabilizadas com GSH para a detecção de antibióticos da classe das fluoroquinolonas, como a ciprofloxacina, enrofloxacina e norfloxacina, em sistemas aquosos, obtendo-se limites de detecção de 132, 139 e 143 ng/mL e os limites de quantificação de 399, 423 e 433 ng/mL, respectivamente,. Além disso, nesse estudo, os autores propuseram um esquema de interação do GSH com as NPs Ag, como pode ser observado na Figura 8.

Em 2010, Pinto *et. al.*⁵⁷ sintetizaram NPs Ag, via redução com NaBH₄ e estabilizando-as com citrato, obtendo nanopartículas esféricas na ordem de 5 nm. As suspensões obtidas por essa síntese permaneceram estáveis por um ano. Eles avaliaram a razão dos íons BH₄⁻/Ag⁺, e

não conseguiram observar nenhuma influência significativa após a síntese. Entretanto, ao avaliar a condição de armazenamento dessas suspensões, eles observaram que após um ano, aquelas mantidas a temperatura ambiente, com excesso de prata em relação ao borohidreto, sofreram uma mudança drástica em sua morfologia, forma e tamanho. Enquanto aquelas com razões maiores de $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+$, sofreram pequenas mudanças em sua morfologia. As suspensões armazenadas a 4 °C (geladeira) mantiveram-se estáveis, mesmo após um ano, não alterando sua morfologia, forma e tamanho.

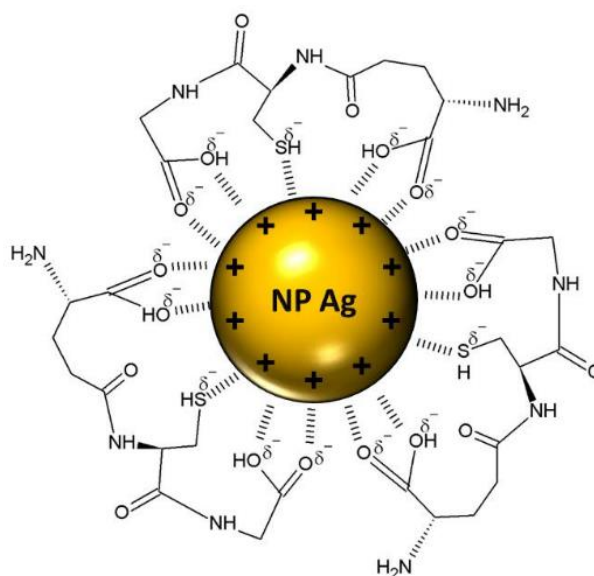


Figura 8. Estabilização das NPs Ag com GSH proposto por Moraes *et. al.*³².

O EDTA foi estudado por Mondal *et. al.*⁶⁹. Em sua síntese, ao invés do redutor convencional (NaBH_4), eles utilizaram o EDTA incorporado com triptofano, formando um conjugado de EDTA, sendo assim o triptofano atuou como agente redutor. O triptofano é um aminoácido aromático hidrofóbico, nesse sentido, ao incorporá-lo ao EDTA, que é solúvel em água, aumenta a solubilidade do conjugado, auxiliando a síntese de NPs Ag em meio aquoso e evitando a adição de co-solventes para solubilizar o agente redutor. As NPs Ag obtidas por essa síntese foram estáveis e possuíam o formato esférico, com diâmetro de aproximadamente 20 nm e uma banda de ressonância plasmônica em 400 nm. Eles aplicaram essa suspensão na detecção de baixas concentrações biomoléculas, como adenina. Na Figura 9 tem-se o conjugado EDTA-Triptofano.

Yu *et. al.*⁷⁰ sintetizaram NPs Ag estabilizadas com PVP e obtiveram nanopartículas na ordem de 25,6 nm. Nesse trabalho, eles avaliaram os fatores naturais que afetavam a estabilidade e validade das NPs Ag, como luz solar, matéria orgânica dissolvida, pH, presença

de íons (Cl^- , S^{2-} , Ca^{2+} , Mg^{2+}). Como resultado, eles observaram que a luz solar afeta a estabilidade das NPs Ag, promovendo a sua agregação. Na presença de matéria orgânica dissolvida elas se mantiveram estáveis. A variação do pH, bem como na presença dos íons, não alteraram o sistema. Também avaliaram a toxicidade das NPs Ag no meio ambiente, onde eles reforçaram a necessidade de controlar e monitorar o descarte das NPs Ag, uma vez que elas podem apresentar toxicidade para muitos organismos aquáticos. Entretanto, vale ressaltar que no estudo, a concentração de NPs Ag em meio aquoso ($1,02 \text{ mg L}^{-1}$) foi superior ao encontrado nos rios ($30 - 320 \text{ ng L}^{-1}$).

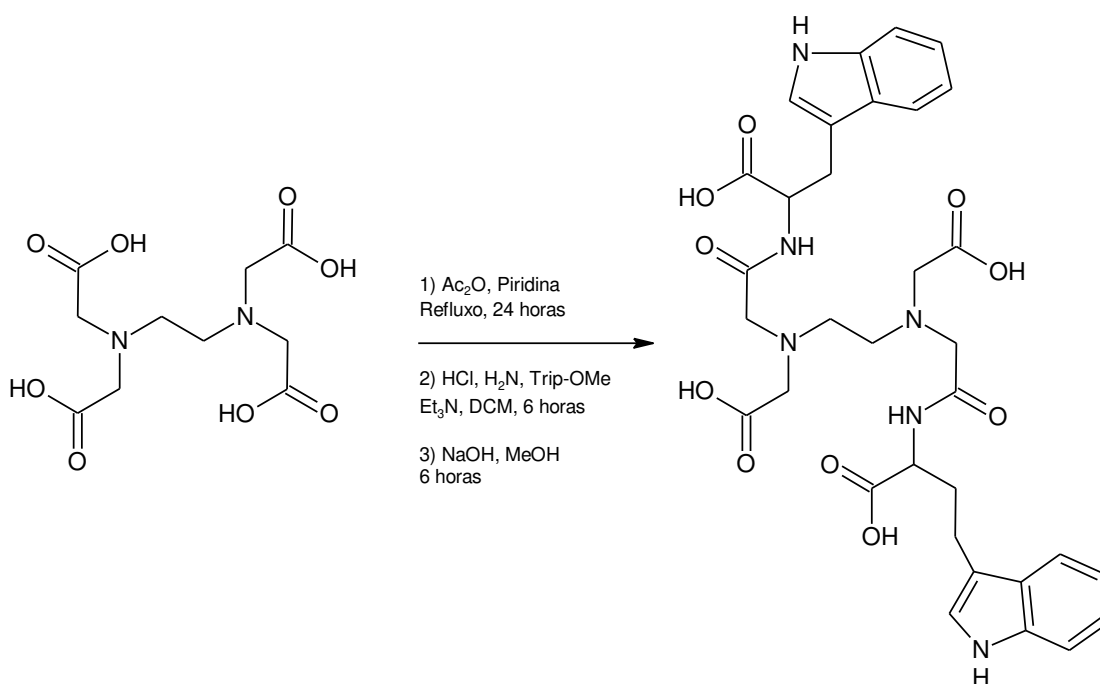


Figura 9. Esquema da síntese do conjugado EDTA-Triptofano (Adaptado Mondal *et. al.*⁶⁹).

Nesse sentido, a utilização de estabilizantes durante ou após a síntese das suspensões coloidais de nanopartículas podem aumentar a sua vida útil, devido a estabilidade proporcionada.

2.2.3.2 Presença de co-solvente em suspensões de NPs

O efeito das nanopartículas de prata em contato com solventes diferentes da água tem atraído bastante o interesse dos pesquisadores devido as propriedades de sensor das NPs Ag quando em contato com o analito, ocasionados pelo fenômeno do RPS^{44,51}. Isso ocorre porque muitos analitos são solúveis em solventes próticos (como metanol e etanol) ou apróticos (como acetonitrila e acetona) e insolúveis ou parcialmente solúveis em água, como fármacos, pesticidas, drogas de abuso. Nesse sentido, a utilização dos co-solventes acarreta uma melhora

na solubilidade desses compostos, auxiliando na sua identificação frente aos nanosensores. Entretanto, devido a interação entre as NPs e os co-solventes, pode-se ocasionar em um deslocamento da banda RPS⁴⁴.

Além da mistura das suspensões de NPs Ag com os co-solventes, muitos autores têm optado pela síntese dos nanosensores com solventes orgânicos. Entretanto, essa síntese produz nanosensores limitados a solubilidade do solvente^{44,51}.

Ghosh *et. al.*⁵¹ avaliaram o comportamento da banda ressonância plasmônica de uma suspensão de nanopartículas de ouro sintetizadas em solvente não polar (tolueno) e estabilizadas com cloreto de piridínio na presença de diversos solventes próticos e apróticos, como metanol, propano-1-ol, octan-1-ol, ciclohexano, 1,4-dioxano, entre outros. Os autores observaram que o máximo de absorção da banda de ressonância plasmônica para as NPs Au é fortemente influenciada pelo solvente e variaram de 520 a 550 nm, dependendo do índice de refração do solvente. Na Tabela 6 e na Figura 10 evidenciam-se os resultados obtidos pelos autores.

Khan *et. al.*⁴⁴ avaliaram o efeito de solventes próticos (metanol e etanol) e apróticos (acetonitrila, DMSO, DMF, 1,4-dioxano) sobre a banda de ressonância plasmônica e tamanho das NPs Ag estabilizadas com surfactantes. Os resultados foram interpretados em termos da constante dielétrica, ponto de ebulição, ligações de hidrogênio, solubilização e densidade eletrônica das NPs Ag com os solventes. Assim, foi possível observar que à medida que se aumentava a constante dielétrica da mistura, aumentava-se a absorbância da região de ressonância plasmônica observada no espectro UV/Vis. Eles também observaram uma diminuição do tamanho das nanopartículas à medida que diminuía o caráter hidrofóbico dos solventes próticos (etanol e metanol). As NPs Ag na ausência dos solventes apresentavam um tamanho de 79 nm e na presença de 58 e 39 nm, respectivamente, para o etanol e metanol. Nesse estudo, eles perceberam que o caráter hidrofóbico, bem como a constante dielétrica dos solventes influenciam na banda de ressonância plasmônica das NPs Ag. Na Figura 11 são mostrados os resultados obtidos pelos autores.

Tabela 6. Máximo de absorção das suspensões de NPs Au sintetizada em tolueno em solventes com diferentes índices de refração (Adaptado de Ghosh *et. al.*⁵¹).

Solvente	Índice de refração	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)
Ciclohexano	1,4262	519,5
Clorofórmio	1,4486	521,5
Tetra-hidrofurano	1,4072	526,0
Tetracloroeto de carbono	1,4600	526,0

Solvente	Índice de refração	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)
Tolueno	1,4969	530,0
o-Xileno	1,5054	532,0
Sulfóxido de dimetilo	1,4790	542,0
1,4-Dioxano	1,4224	542,5
Acetonitrila	1,3441	545,5
Dimetilformamida	1,4282	549,0

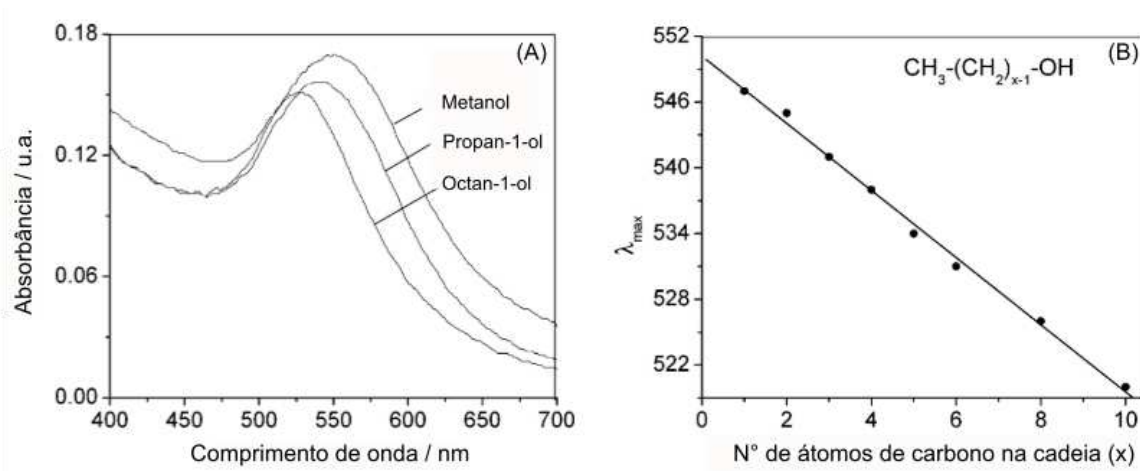


Figura 10. (A) Banda de ressonância plasmônica das NPs Au em diferentes álcoois: Metanol, propan-1-ol e octan-1-ol. (B) Dependência do máximo de absorção da banda de ressonância plasmônica das NPs Au em função do tamanho da cadeia alcóolica (Adaptados de Ghosh *et. al.*⁵¹)

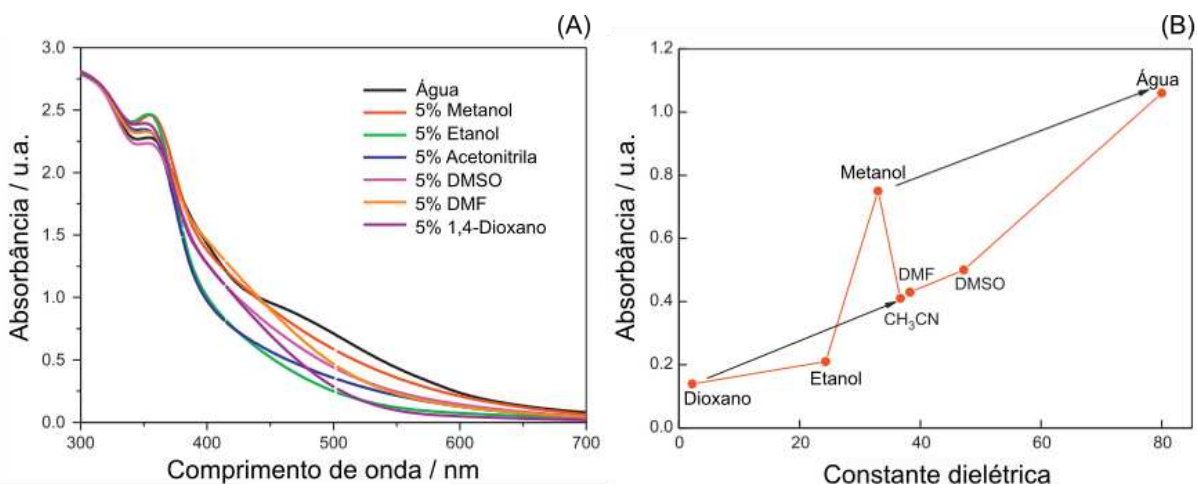


Figura 11. (A) Efeito dos solventes próticos e apróticos sobre o espectro de absorção molecular UV/vis das NPs Ag. (B) Efeito da constante dielétrica dos solventes no máximo da banda de ressonância plasmônica das NPs Ag. (Adaptado de Khan *et. al.*⁴⁴).

2.3 Técnicas de caracterização para suspensões coloidais

As técnicas utilizadas para a caracterização de suspensões coloidais, como as de prata e ouro são a Espectroscopia de Absorção Molecular UV/vis (EAM-UV/Vis), Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS – do inglês: *dynamic light scattering*), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR – do inglês: *Fourier-transform infrared spectroscopy*), Espectroscopia Raman e Potencial Zeta (ζ). Dentre essas, destacam-se as três primeiras devido às suas amplas utilizações.

2.3.1 Espectroscopia de Absorção Molecular UV/Vis (EAM-UV/Vis)

A EAM-UV/Vis é fundamentada pela lei de Beer-Lambert e, de um modo geral, baseia-se em medida de absorção da radiação eletromagnética na região do espectro do ultravioleta e da luz visível ($\lambda = 200$ a 750 nm) pela matéria (Figura 4). Durante a exposição de uma solução à radiação, como por exemplo através da incidência de um feixe de luz monocromático, parte dessa luz é absorvida pelas moléculas e parte é transmitida. Essa relação entre a luz absorvida e transmitida pelo analito está diretamente ligada a sua concentração, sendo possível determiná-la através da Equação 1^{23,24}.

$$A = \epsilon bc \quad \text{Equação 1}$$

Em que A é a absorvância, ϵ é a absorvidade molar ou coeficiente de extinção molar, que é uma grandeza característica do analito absorvente da radiação, c é a concentração da espécie absorvente e b é o caminho óptico percorrido pelo feixe.

2.3.2 Espalhamento Dinâmico de Luz

O DLS é uma técnica que permite estimar o tamanho das partículas por meio da interação entre a luz incidente e a matéria, medindo a intensidade da luz espalhada pela matéria em função do tempo e do ângulo de espalhamento. Por meio de um programa calcula-se a correlação de intensidade da luz espalhada pelo movimento browniano das partículas, obtendo-se informações como distribuição de tamanhos, difusão, raio hidrodinâmico e dimensão das partículas⁷³⁻⁷⁵. É uma técnica não invasiva, o que dispensa etapas de preparo da amostra, tais como secagem e recobrimento além de fazer análises em um curto intervalo de tempo⁷³.

2.3.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

O MET segue os mesmos princípios básicos que o microscópio de luz convencional, no entanto, utiliza um feixe de elétrons ao invés de uma fonte de luz⁷⁶. O comprimento de onda dos elétrons (na ordem de 0,05 nm) é inferior ao da luz visível (400 a 750 nm), fazendo com que a resolução obtida via microscopia eletrônica seja superior à obtida por microscopia ótica. Conseqüentemente, a magnificação alcançada, ou seja, o grau de aumento da imagem, é superior^{76,77}.

Assim, no MET o feixe de elétrons é gerado, passa por uma coluna de vácuo e através das lentes presentes no microscópio, é direcionado para a amostra, interagindo com ela por meio de transmissão⁷⁶. As amostras podem ser eletrodensas, quando contém elementos de maior número atômico, sendo identificadas pela formação de imagens em tons mais escuros⁷⁷. As amostras compostas de materiais menos eletrodensos, formam imagens mais claras, o que pode comprometer a visualização de determinadas estruturas. Nesses casos, normalmente é necessário a utilização de contraste negativo com reagentes como o tetróxido de ósmio⁷⁷.

No que concerne ao preparo das amostras, além do conhecimento da composição do material, a fim de verificar se o uso de contraste será ou não necessário, é fundamental que a amostra seja pequena (na ordem de nanômetro ou micrometro). Existem várias técnicas de preparo, a depender do tipo de amostra e a montagem é sobre uma grid (pequena tela de metal) sobre a qual a amostra é colocada^{77,78}.

2.3.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

O FTIR é a técnica que se baseia no fato de que os átomos que constituem uma molécula apresentam diferentes modos vibracionais, translacionais e rotacionais. Assim, ao incidir uma radiação eletromagnética sobre uma molécula, as radiações UV/vis causam transições entre dois níveis de energia, enquanto a radiação infravermelha, devido ao seu menor conteúdo energético, sua interação com a amostra é capaz de alterar os modos vibracionais e rotacionais das moléculas⁷⁹⁻⁸¹.

A absorção de energia dos diferentes modos vibracionais na região do infravermelho pelas moléculas ocorre quando há alteração do momento dipolo dela e podem ter diferentes intensidades, o que a depende do tipo de vibração^{79,80,82}.

O espectro obtido informa a transmitância (ou absorbância) pelo número de onda (cm^{-1}), apresentando as bandas de absorção características dos grupos funcionais presentes no

composto^{80,81}. Além disso, no espectro eletromagnético, a região do infravermelho compreende o intervalo de 780 nm a 1000 μm (14.290 cm^{-1} a 200 cm^{-1}) e pode ser dividido em infravermelho próximo, médio e distante^{80,81}. Entretanto, nessa técnica a região de interesse é o infravermelho médio, que corresponde a faixa de 2,5 a 50 μm ($4.000 - 400\text{ cm}^{-1}$)^{80,81}.

2.3.5 Potencial Zeta

O Potencial Zeta é representado pela letra grega ζ e baseia-se na ideia de que as suspensões coloidais possuem uma carga elétrica presente em sua superfície⁸³⁻⁸⁵. A origem dessa carga está associada a dissociação ou ionização de compostos em solução, adsorção de íons na superfície da partícula ou através da síntese do material⁸³⁻⁸⁵. Além disso, essa carga superficial, afeta diretamente na dispersão dos íons presentes na suspensão, acarretando no aumento dos contra íons junto à superfície, dando origem a uma dupla camada elétrica na interface da suspensão com as partículas presentes⁸³⁻⁸⁵.

Essa dupla camada se divide em duas regiões: interna e externa⁸⁵. Na primeira, região interna (*Stern*), os íons presentes estão fortemente atraídos pela superfície da partícula. Na segunda, região externa (difusa), a atração dos íons é menos intensa e a sua distribuição é determinada pelo equilíbrio entre as forças eletrostáticas, que é um limitante⁸³⁻⁸⁵. O potencial nesse limite, denominado de superfície de cisalhamento, é o Potencial Zeta⁸³⁻⁸⁵. Na Figura 12 representa é apresentado o modelo da dupla camada do Potencial Zeta.

Dentro desse contexto, o Potencial Zeta avalia a magnitude da repulsão ou atração eletrostática ou das cargas presentes em suspensão. Esse fator está associado a estabilidade da suspensão, quanto maior o valor em módulo da carga superficial, maior a sua estabilidade^{83,84}.

Não é possível fazer uma medida direta do potencial Zeta e sim de parâmetros indiretos e proporcionais ao potencial, como velocidade das partículas, através da relação entre eles^{83,84}. De um modo geral, incide-se um campo elétrico ao sistema e as partículas em suspensão, carregadas eletricamente, irão migrar para o eletrodo com carga oposta^{83,84}. A velocidade de migração é diretamente proporcional à magnitude de sua carga e é chamada de mobilidade eletroforética (U_E). Por meio desta, é possível calcular o Potencial Zeta e a sua distribuição de potencial. Todavia, o programa do equipamento, fornece diretamente o valor do potencial Zeta^{83,84}.

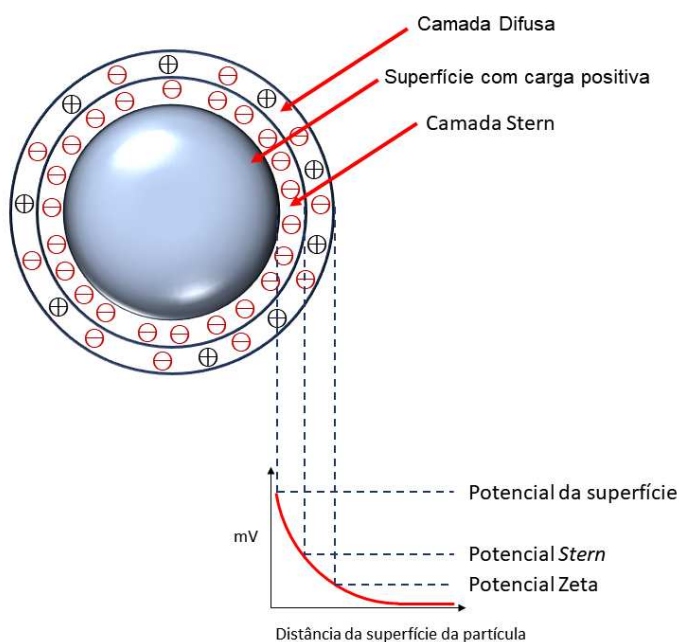


Figura 12. Modelo esquemático do Potencial Zeta. (Adaptado de Malvern⁸⁵)

Na Tabela 7 são mostrados alguns estudos utilizando as técnicas supracitadas para a caracterização de suspensões coloidais de prata ou ouro.

Tabela 7. Estudos de caracterização de suspensões coloidais de prata e ouro.

Nanopartículas	Técnica de caracterização	Resultado	Referência
NPs Ag	EAM-UV/Vis	$\lambda = 391 \pm 2$ nm	Fernando <i>et. al.</i> ⁸⁶
	MET	$26,0 \pm 1,2$ nm (MET)	
	DLS	$36,8 \pm 5,2$ nm (DLS)	
	Potencial Zeta	$-29,0 \pm 1,9$ mV (ζ)	
NPs Ag	EAM-UV/Vis	$\lambda \sim 400$ nm	Gallón <i>et. al.</i> ⁸⁷
	MET	$13,8 \pm 5,3$ nm (MET)	
	FTIR	$-51,81 \pm 3,01$ mV (ζ)	
	Potencial Zeta	$-51,81 \pm 3,01$ mV (ζ)	
NPs Au	EAM-UV/Vis	$\lambda = 520$ a 550 nm	Ghosh <i>et. al.</i> ⁵¹
	MET	$6,0 \pm 0,2$ nm (MET)	
NPs Ag	EAM-UV/Vis	$\lambda = 420$ nm	Michna <i>et. al.</i> ⁸⁸
	MET	$62,4 \pm 9,5$ nm (MET)	
	DLS	56 ± 2 nm (DLS)	
	Potencial Zeta	-75 a -42 mV (ζ)	
NPs Ag	EAM-UV/Vis	$\lambda \sim 400$ nm	Mondal <i>et. al.</i> ⁶⁹
	MET	20 nm	
	MEV DLS		

Nanopartículas	Técnica de caracterização	Resultado	Referência
	FTIR Raman		
NPs Ag	EAM-UV/Vis DLS	$\lambda \sim 400$ nm 38 nm	Moraes <i>et. al.</i> ³²
NPs Ag	EAM-UV/Vis MET MEV DLS Potencial Zeta	$\lambda \sim 400$ nm 10 a 15 nm (MET) 59,1 nm (DLS) -30.61 mV (ζ)	Ravindran <i>et. al.</i> ³⁷
NPs Ag estabilizadas com diferentes polímeros	EAM-UV/Vis MET MEV Potencial Zeta	$\lambda = 390$ a 420 nm 20 a 45 nm 17 \pm 3 mV (ζ)	Verkhovskii <i>et. al.</i> ⁶⁷
NPs Ag	EAM-UV/Vis MET FTIR	$\lambda \sim 600$ nm 2 nm (MET)	Wang <i>et. al.</i> ³³
NPs Ag	EAM-UV/Vis MET FTIR	$\lambda \sim 400$ nm 4 a 8 nm (MET)	Xiong <i>et. al.</i> ³⁸
NPs Ag	EAM-UV/Vis MET DLS Potencial Zeta	$\lambda \sim 400$ nm 25,6 \pm 0,4 nm (MET) 26,4 nm (DLS) -33.0 mV (ζ)	Yu <i>et. al.</i> ⁷⁰
NPs Ag	MET MEV DLS Potencial Zeta	20,5 \pm 7,4 nm (MET) 20,47 nm (DLS) -25,7 mV (ζ)	Yusuf <i>et. al.</i> ⁶⁶

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

Desenvolver um método colorimétrico empregando nanopartículas de prata (NPs Ag) para determinar de deltametrina em sistemas aquosos.

3.2 Objetivos específicos

Sintetizar as nanopartículas de prata e caracterizá-las por meio de Espectroscopia de Absorção Molecular UV/Vis, Espalhamento Dinâmico de Luz, Microscopia Eletrônica de Transmissão, Potencial Zeta e Espectroscopia no Infravermelho;

Otimizar o processo de síntese de NPs Ag e avaliar a sua estabilidade;

Avaliar o uso de diferentes agentes estabilizantes na estabilidade da suspensão de NPs Ag;

Avaliar o efeito de agregação de NPs Ag em diferentes solventes, próticos e apróticos.

Validar o método analítico: Limites de detecção e quantificação, seletividade, faixa linear de trabalho, exatidão, repetitividade e precisão intermediária.

Avaliar a seletividade do método.

CAPÍTULO 2

MATERIAIS E MÉTODOS

4 Materiais e métodos

4.1 Padrões e reagentes

Os reagentes e padrões utilizados para a realização deste trabalho estão listados na Tabela 8. As soluções foram manipuladas com água Tipo 1, obtida por um sistema de purificação Tipo 1 (Millipore).

Tabela 8. Reagentes utilizados nesse trabalho bem como sua marca e pureza.

Reagente	Marca	Pureza (%)
Nitrato de prata	Neon	99,8
Borohidreto de sódio	Neon	98,0
Acetonitrila	Sigma-Aldrich	99,8
Deltametrina*	Sigma-Aldrich	99,0
Polivinilpirrolidona (PVP)	Sigma-Aldrich	99,0
Ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA)	Dinâmica	99,0
Glutationa	Sigma-Aldrich	98,0
Citrato de sódio	Sigma-Aldrich	99,0
Dodecil sulfato de sódio	Sigma-Aldrich	99,0
Metanol	Alphatec	99,8
Etanol	LS Chemicals	99,7
Propanol	Nuclear	99,9
Acetona	Neon	99,6

*Preparada com o solvente acetonitrila ao invés de água Tipo 1.

4.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados para análises e caracterização das suspensões no presente trabalho foram listados na Tabela 9.

Tabela 9. Instrumentação utilizada no presente trabalho.

Equipamento	Marca	Modelo
Agitador Magnético	SoLab	SL 91
Balança Analítica	Shimadzu	ATX224
Bomba de seringa	Harvard Apparatus	PHD 22/2000
Condutivímetro	Digimed	DM-32
Espalhamento Dinâmico de luz	Brookhaven Co.	Sistema BI-200SM e correlacionador TurboCorr
Espectrofotômetro de Absorção Molecular UV/vis	Thermo Scientific	Evolution Array
Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier	Varian	660-FTIR

Equipamento	Marca	Modelo
Espectroscopia Raman	Renishaw	inVia Raman microscope
Microscópio eletrônico de transmissão	Tecnai G2-12	FEI SpiritBiotwin 120kV
pHmetro	Lab1000	mPA-210
Zetasizer NanoZS	Malvern Instruments	Zen 3600

4.3 Preparo das soluções

As soluções de nitrato de prata (1 mmol L^{-1}) e borohidreto de sódio (1,5, 1,8, 2,0, 2,2, 2,5 mmol L^{-1}) foram preparadas utilizando água Tipo 1 no dia das análises. As soluções estoque de deltametrina e cipermetrina (500 mg L^{-1}) foram preparadas com o solvente acetonitrila e armazenadas no refrigerador a $-4 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. A solução de cipermetrina foi preparada a partir de uma solução estoque mais concentrada (10000 mg L^{-1}).

4.4 Síntese das nanopartículas de prata

Todas as vidrarias utilizadas na síntese de NPs Ag foram previamente lavadas com água corrente e após foram lavadas com uma solução alcóolica de hidróxido de sódio $1,32 \text{ mol L}^{-1}$, enxaguadas em abundância com água Tipo 1 e deixadas secar à temperatura ambiente em um local reservado.

4.4.1 Metodologia A

A síntese das NPs Ag foi baseada na metodologia proposta por Melo Junior *et. al.*⁴⁸, com algumas adaptações. Em um erlenmeyer de 250 mL foi adicionado 75 mL de uma solução de borohidreto de sódio de concentração $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Essa solução foi colocada em banho de gelo por aproximadamente 15 minutos. Em seguida, o sistema foi colocado sob agitação magnética (2 rpm), sendo adicionados 25 mL de uma solução recém preparada de nitrato de prata ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$). Essa solução foi adicionada lentamente, $0,05 - 0,10 \text{ mL s}^{-1}$, com o auxílio de uma bureta. A solução resultante foi analisada por Espectrofotometria de Absorção Molecular UV/Vis para identificação do pico característico da suspensão de NPs Ag (400 nm). A suspensão de NPs Ag foi armazenada em frasco âmbar e mantidas em geladeira a $4 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.4.2 Metodologia B – uso de agentes estabilizantes

A síntese de NPs Ag foi feita a partir de adaptações da metodologia proposta por Melo Junior *et. al.*⁴⁸ e Song *et. al.*⁶³. Uma alíquota de 30 mL de uma solução de NaBH_4 $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foi adicionada em erlenmeyer de 250 mL. Esse procedimento foi realizado em cinco diferentes

erlenmeyers. Essas soluções foram colocadas em banho de gelo por aproximadamente 15 minutos. Passado esse tempo, foram submetidos a agitação constante (2 rpm) por 5 minutos. Em seguida, 2 mL de uma solução de estabilizante foi adicionada em cada frasco. Os estabilizantes foram dodecil sulfato de sódio (DSS)^{51,63,67,89}, glutationa (GSH)^{32,33}, citrato de sódio^{37,57,65,67}, ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA)⁶⁹, polivinilpirrolidona (PVP)^{45,48,64,70,90}. As soluções dos estabilizantes estavam em uma concentração de 1% m/v, exceto para PVP, cuja concentração era 0,3% m/v. Em cada frasco, foram adicionados 30 mL de nitrato de prata (1,0 mmol L⁻¹). Um experimento controle foi realizado, isto é, o mesmo procedimento foi realizado, porém sem adição de estabilizante. As suspensões de NPs Ag obtidas foram armazenadas em frasco âmbar e mantidas em geladeira a 4 ± 2 °C.

4.4.3 Metodologia C - ausência de luz

A síntese de NPs Ag foi baseada na metodologia proposta por Solomon *et. al.*⁴⁵. Preparou-se uma solução estoque de NaBH₄ na concentração de 2,5 mmol L⁻¹. A partir dessa solução, foram preparadas outras 4 soluções de NaBH₄ nas concentrações de: 2,2, 2,0, 1,8, 1,5 mmol L⁻¹, com o intuito de se obter diferentes razões de concentração em relação à prata. Feito isso, transferiu-se 75 mL de cada uma dessas 5 soluções para 5 diferentes erlenmeyers, devidamente identificados, os quais foram colocados em banho de gelo por aproximadamente 15 minutos. Passado esse tempo, 25 mL de nitrato de prata (1 mmol L⁻¹) foi gotejado lentamente (0,05 - 0,10 mL/s) com o auxílio de uma bureta e agitação constante (2 rpm) sobre cada uma das soluções de NaBH₄. Todo esse procedimento foi feito em ambiente ao abrigo de luz. As suspensões de NPs Ag obtidas foram armazenadas em frasco âmbar e mantidas em geladeira a 4 ± 2 °C.

4.4.4 Metodologia C – adaptada

Nessa síntese de NPs Ag, baseada na metodologia proposto por Solomon *et. al.*⁴⁵, seguiu-se praticamente todo o procedimento descrito no item 4.4.3. Entretanto, o preparo das soluções de borohidreto de sódio foi feito exatamente antes de cada síntese das NPs Ag. Assim, preparou-se a suspensão de borohidreto de sódio, nas concentrações de 2,5, 2,2, 2,0, 1,8, 1,5 mmol L⁻¹, com o intuito de obter diferentes razões de concentração em relação a prata. Transferiu-se 75 mL da solução de borohidreto para um erlenmeyer de 250 mL e o sistema foi deixado em banho de gelo por 15 minutos. Passado esse tempo, foi gotejado lentamente (0,05 - 0,10 mL/s) com o auxílio de uma bureta 25 mL do nitrato de prata (1 mmol L⁻¹). Todo o

procedimento foi realizado na ausência de luz fluorescente. As suspensões de NPs Ag obtidas foram armazenadas em frasco âmbar e mantidas em geladeira a 4 ± 2 °C.

4.5 Avaliação do término da reação de síntese das NPs Ag por análise condutimétrica

Para avaliação do término da reação de síntese de NPs Ag, as sínteses foram realizadas empregando uma bomba de seringa Harvard PHD 22/2000, contendo duas seringas de 25 mL, programadas para injetar a suspensão com um fluxo de $0,625 \text{ mL min}^{-1}$ por 20 minutos, um condutivímetro Digimed DM-32 e célula condutividade Digimed DMC-010M, com eletrodo de platina e constante da célula (K) é 1 cm^{-1} .

4.5.1 Sínteses de NPs Ag com monitoramento da reação por análise condutimétrica – AC-NPAg 1, 2 e 3

As sínteses de NPs Ag realizadas foram feitas seguindo o procedimento adaptado descrito no item 4.4.1. De forma geral, preparou-se uma solução de borohidreto a 2 mmol L^{-1} , entretanto, para cada uma das sínteses (AC-NPAg-1, AC-NPAg-2 e AC-NPAg-3, Tabela 10) houve um intervalo entre o preparo da solução até o início da síntese. A solução de borohidreto de sódio foi deixada em banho de gelo por 15 minutos e após esse tempo, deu-se início a síntese. Para a reação AC-NPAg-1, o banho de gelo foi removido no início a síntese. Para as reações AC-NPAg-2 e AC-NPAg-3, o banho de gelo foi mantido durante a síntese. Após os 15 minutos, começou-se a injeção da solução de AgNO_3 (1 mmol L^{-1}) por meio de uma bomba de seringa com capacidade para duas seringas, programada para injetar $0,625 \text{ mL min}^{-1}$ por 20 minutos. O monitoramento pelo condutivímetro Digimed DM-32 foi iniciado instantes antes da síntese começar (tempo zero). Os dados do condutivímetro foram coletados por um programa que faz o uso da linguagem *LabView*. Na Tabela 10, são ressaltadas as diferenças entre as sínteses 1, 2 e 3.

Tabela 10. Principais semelhanças e diferenças entre as sínteses de NPs Ag (AC-NPAg-1, AC-NPAg-2 e AC-NPAg-3) controladas por análise condutimétricas.

Parâmetros	AC-NPAg-1	AC-NPAg-2	AC-NPAg-3
Intervalo de preparo da solução de NaBH_4 até o início da síntese	2 horas	6 horas	0 horas
Banho de gelo durante a síntese	Não	Sim	Sim
Concentração inicial do NaBH_4		2 mmol L^{-1}	
Concentração inicial do AgNO_3		1 mmol L^{-1}	
Banho de gelo do NaBH_4 pré-síntese		15 minutos	

Parâmetros	AC-NPAg-1	AC-NPAg-2	AC-NPAg-3
Tempo de síntese	20 minutos		

4.5.2 Monitoramento da estabilidade da solução de borohidreto de sódio

Uma solução de borohidreto de sódio a 2 mmol L⁻¹ foi preparada e sua condutividade foi monitorada pelo condutivímetro Digma DM-32 a partir do instante em que foi preparada até 3 horas depois. A solução foi preparada com água Tipo 1 e mantida em banho de gelo ao longo de toda a análise.

4.6 Caracterização das nanopartículas de prata

4.6.1 Espectrofotometria UV/Vis

Para caracterizar as NPs Ag e fazer os monitoramentos da banda de ressonância plasmônica, quando necessário, utilizou-se o espectrofotômetro de absorção molecular UV/vis, que se encontra no Departamento de Química da UFV, da marca Thermo Scientific, modelo Evolution Array com detector de arranjos fotodiodos. A cubeta utilizada para os procedimentos foi uma cubeta de quartzo, cujo caminho ótico é 1 cm e a varredura do espectro foi feita no intervalo de comprimento de onda de 190 a 1100 nm. O tratamento dos dados foi feito pelo programa Origin® 2018 (versão 9,5).

4.6.2 Espalhamento Dinâmico de Luz

A caracterização das NPs Ag também foi feita por medidas de Espalhamento de Luz, pelo DLS, utilizando o equipamento Brookhaven Co. com o sistema BI-200SM e correlacionador TurboCorr de 522 canais e tempos de correlação de até 100 ns, que se encontra no Departamento de Física da UFV. O equipamento conta com uma fonte de luz um laser de HeNe, com o comprimento de onda de 632,8 nm e com a potência de 75 mW. Assim, para as medidas de autocorrelação da luz espalhada das NPs Ag, filtrou-se lentamente cinco vezes as amostras de NPs Ag, com filtros de membrana PES ou Nylon com porosidade de 0,22 µm. O ângulo de espalhamento foi fixado em 20° e as medidas foram realizadas em temperatura ambiente 23 ± 2 °C.

Os ajustes das funções de correlação temporal normalizada foram feitos por duas exponenciais, onde cada uma delas corresponde a um modo difusivo. O modo lento foi obtido pela equação empírica de Williams-Watts, que é uma exponencial alongada (Equação 2).

$$\frac{g^{(2)}(t)-1}{\beta} = [A_1 e^{-\Gamma_1 t} + A_2 e^{-(\Gamma_2 t)^\nu}]^2 \quad \text{Equação 2}$$

Em que $g^{(2)}(t)$ é a função de correlação da intensidade espalhada normalizada, β é o fator de número de áreas de coerência, A_i é a amplitude do i -ésimo decaimento, Γ_i a taxa de decaimento do i -ésimo modo e ν o expoente da exponencial alongada.

4.6.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

A caracterização das amostras por Microscopia Eletrônica de Transmissão foi realizada no Centro de Microscopia (CM), localizado na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). O microscópio utilizado foi o Microscópio Eletrônico de Transmissão, da marca Tecnai G2-12 e modelo SpiritBiotwin FEI - 120 kV. O preparo das amostras foi realizado no dia que antecedeu a análise no CM e, por se tratar de uma amostra líquida, precisou-se secar a temperatura ambiente 23 ± 2 °C. Foi utilizada uma *grid* de cobre de malha 200, revestida por uma película de carbono. As amostras foram medidas pelo programa *ImageJ*.

4.6.4 Potencial Zeta

As análises da carga superficial das amostras de NPs Ag por Potencial Zeta foram realizadas no Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. O equipamento utilizado foi Zetasizer NanoZS, modelo Zen 3600 da marca Malvern *Instruments*. As medições foram realizadas em triplicada após a adição de 1000 μL de amostra na cubeta DTS1070, com tempo de estabilização de 1 minuto. O preparo das amostras foi realizado no dia que antecedeu a análise. Foram preparadas 9 amostras, sendo que cada uma possuía um pH, no intervalo de 2 a 10. O ajuste do pH foi realizado com uma solução recém preparada de ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹ e hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ e medidos pelo pHmetro Lab1000, modelo mPA-210.

4.6.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

A caracterização das amostras por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) com reflectância total atenuada (ATR – do inglês: *attenuated total reflection*) foi realizada por um espectrômetro que se encontra no Departamento de Química da UFV, da marca Varian e modelo 660-FTIR. As medidas foram realizadas com resolução de 4 cm⁻¹ e varredura de 16 scans (indica a média de quantas vezes a radiação infravermelha incide sobre a amostra) no intervalo de 400 a 4000 cm⁻¹. As amostras foram preparadas algumas horas antes

(~ 3 horas) da leitura no equipamento. O tratamento dos dados foi feito pelo programa Origin® 2018 (versão 9,5).

4.7 Estudo da estabilidade das NPs Ag através do uso de agente estabilizantes

O uso das NPs Ag estabilizadas foi avaliado mediante a adição de diferentes volumes de uma solução estoque de deltametrina à suspensão de NPs Ag estabilizadas com PVP ou DSS (teor teórico de $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), para obter concentrações finais de deltametrina entre 5,0 a 70,0 mg L^{-1} . Cada solução preparada era rapidamente homogeneizada e analisada por EAM-UV/Vis. As condições instrumentais foram descritas no item 4.6.1

4.8 Estudo do co-solvente em sistemas empregando NPs Ag

O estudo dos solventes próticos (metanol, etanol, propanol) e apróticos (acetonitrila e acetona) foi realizado mediante a adição dos solventes (25% v/v) à suspensão das NPs Ag (teor teórico de $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na proporção 1:4 v/v. Após a adição, o sistema foi rapidamente homogeneizado e o monitorado por EAM-UV/Vis, nas mesmas condições descritas no item 4.6.1.

4.9 Estudo cinético das NPs Ag

Foram realizados estudos da cinética de aglomeração das NPs Ag na presença de ACN, deltametrina e cipermetrina. A cinética para o co-solvente foi avaliada mediante a adição de ACN à suspensão de NPs Ag (teor teórico de $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), na proporção 1:4 v/v. Para os inseticidas, a solução estoque de deltametrina ou cipermetrina foi adicionada à suspensão de NPs Ag, obtendo-se a concentração final de 2,5 mg L^{-1} e $9,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, para o agrotóxico e NPs Ag, respectivamente. Posteriormente, os sistemas foram rapidamente homogeneizados e o monitoramento foi feito por meio do EAM-UV/Vis, em que se monitorou a banda de ressonância plasmônica em 400 nm, bem como o deslocamento da banda de meia altura, por 20 minutos.

4.10 Determinação de deltametrina em meio aquoso

Para determinação de deltametrina em meio aquoso através das NPs Ag foi avaliado a variação colorimétrica e espectrofotométrica das NPs Ag na presença de deltametrina com

concentrações entre a faixa de 1,25 a 12,5 mg L⁻¹. A análise foi monitorada visualmente e através do EAM-UV/Vis.

4.11 Validação do método analítico com NPs Ag

O método de determinação de deltametrina por NPs Ag foi validado. Foram construídas curvas analíticas na faixa de concentração entre 1,25 a 12,5 mg L⁻¹, as quais foram preparadas no momento da análise. As leituras do sistema foram realizadas no espectrofotômetro EAM-UV/Vis 15 segundos (cronometrados) após a mistura de NPs Ag (teor final de 9,4 x 10⁻⁵ mol L⁻¹) e deltametrina.

Para validar o método foram avaliados Faixa Linear de Trabalho, Limite de Detecção (LD), Limite de Quantificação (LQ), veracidade (n=3), repetitividade (n=3), precisão intermediária (n=9) e seletividade. A veracidade e repetitividade foram avaliadas em dois níveis de concentração (2,5 e 7,5 mg L⁻¹) pelo método de recuperação, com três repetições em cada nível. A precisão intermediária foi avaliada em três dias distintos, nas mesmas condições de trabalho. Os Limites de Detecção e Quantificação foram determinados pelas Equações 3 e 4.

$$LD = \frac{3,3s_{\text{branco}}}{b} \quad \text{Equação 3}$$

$$LQ = \frac{10s_{\text{branco}}}{b} \quad \text{Equação 4}$$

Onde “s_{branco}” (n=10) é o desvio padrão do branco e b é o coeficiente angular da curva.

O estudo de seletividade das NPs Ag foi realizado empregando-se os agrotóxicos deltametrina, cipermetrina, atrozina, endossulfam, difeconazol, clorpirifós, tiametoxam e paratiora (todos na mesma concentração de 2,5 mg L⁻¹). A mudança de cor do sistema, assim como o monitoramento da banda de ressonância plasmônica das NPs Ag em 400 nm por EAM-UV/Vis foram avaliados.

4.12 Análises em amostra autêntica de água

O método desenvolvido para determinação de deltametrina foi aplicado em uma amostra autêntica de água de torneira tratada, obtida pelo sistema de abastecimento municipal de Viçosa/MG, proveniente do Ribeirão São Bartolomeu.

Ambas as amostras de água, água Tipo 1 e amostra autêntica, tiveram a condutividade e pH analisados. As análises foram realizadas em triplicata utilizando-se um Condutivímetro

Digmed DM-32, com eletrodo de platina, e pHmetro Lab100, modelo Mpa-210, respectivamente.

Foram construídas curvas analíticas por superposição de matriz. Assim, a água tratada foi fortificada com as concentrações de deltametrina desejadas (1,25 - 12,5 mg L⁻¹). Foram avaliados a Faixa Linear de Trabalho, Limite de Detecção e Quantificação, veracidade (n=3) repetitividade (n=3) e precisão intermediária (n=9). A veracidade e repetitividade foram avaliadas em dois níveis de concentração (2,5 e 7,5 mg L⁻¹ de deltametrina) pelo método de recuperação, com três repetições em cada nível. Os coeficientes de variação (CV) e as recuperações (R) foram calculados com base nas Equações 5 e 6.

$$R = \frac{C_{experimental}}{C_{esperada}} \quad \text{Equação 5}$$

$$CV = \frac{\bar{R}}{S} \quad \text{Equação 6}$$

Onde, C é a concentração, \bar{R} é a média das recuperações e S é o desvio padrão das recuperações.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 Resultados e discussão

5.1 Síntese e caracterização das nanopartículas de prata

5.1.1 Metodologia A

O primeiro lote da suspensão de nanopartículas de prata foi feito seguindo a metodologia proposta por Melo Junior *et. al.*⁴⁸ descrito no item 4.4.1. Pode-se ver na Figura 13 o espectro de absorção molecular UV/Vis da suspensão de NPs Ag e uma foto no inserto. A suspensão apresenta uma coloração amarela intensa, sendo possível observar a banda de ressonância plasmônica entre 395 - 400 nm, característica dessas das NPs Ag.

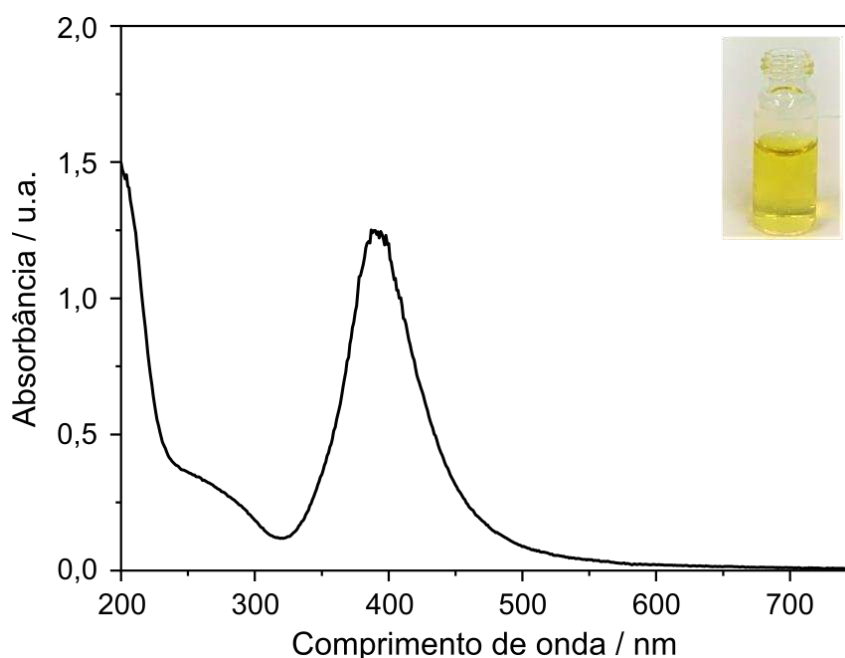


Figura 13. Espectro de absorção das NPs Ag sintetizadas na metodologia A. Condições experimentais: $[AgNO_3]_0$: 1 mmol/L; $[NaBH_4]_0$ 2 mmol/L; tempo de reação: aproximadamente 20 minutos. Inseto: Suspensão de NPs Ag estáveis.

Para obter a morfologia das partículas foram feitas análises por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), sendo as imagens dispostas na Figura 14. Pode-se observar que as NPs Ag se apresentam dispersas e que possuem formato esférico (Figura 14A), com tamanho de $11,4 \pm 3,4$ nm. Também é possível perceber a sua tendência de formar aglomerados (Figura 14B).

Outros autores também apresentaram resultados semelhantes, como Melo Junior *et. al.*⁴⁸, que na síntese de NPs Ag obtiveram espectros com bandas de ressonância plasmônica com o comprimento de onda máximo em 396 ± 5 nm e por Microscopia Eletrônica de

Transmissão (MET) nanopartículas na ordem de 20 ± 5 nm. Enquanto, Solomon *et. al.*⁴⁵ obtiveram o comprimento de onda máximo em 400 nm e o tamanho estimado por MET de 12 ± 3 nm. Ainda, Fernando *et. at.*⁸⁶ obtiveram o comprimento de onda máximo para as NPs Ag em 391 ± 2 nm, por MET o tamanho obtido foi de 26 ± 1 nm. Esses pesquisadores fizeram também análise por DLS, obtendo a distribuição de tamanhos na ordem de 37 ± 5 nm.

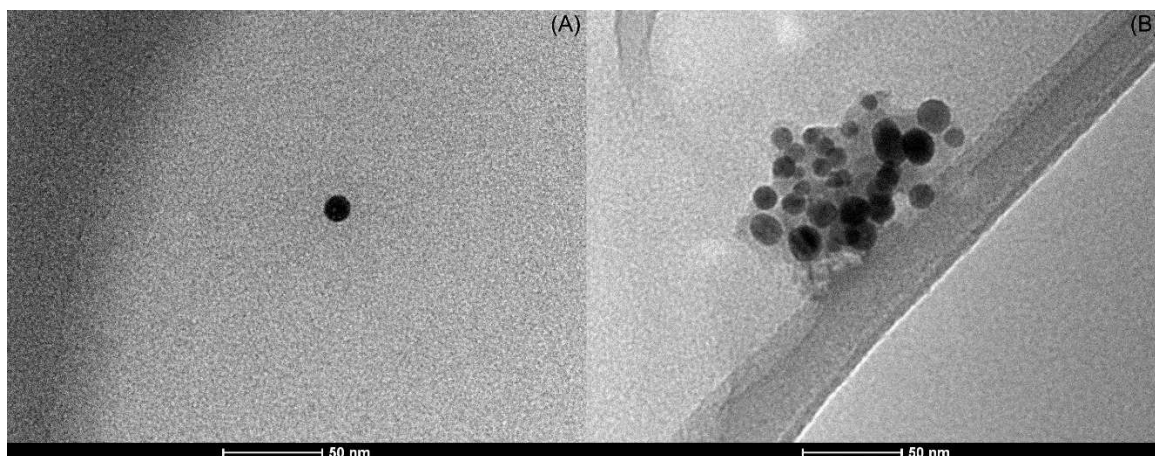


Figura 14. Imagem das suspensões de nanopartículas de prata obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão. A) NPs Ag dispersa; B) NPs Ag aglomeradas.

Além do MET, para caracterizar as NPsAg foram feitos estudos de Potencial Zeta, Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Raman. O espectro obtido por Espectroscopia Raman não apresentou informações relevantes, uma vez que a lente necessária para a realização da análise, por se tratar de uma amostra líquida, estava contaminada com um interferente que influenciava na obtenção dos espectros.

O espectro de infravermelho, mostrado na Figura 15, também não apresentou informações relevantes acerca das suspensões de NPs Ag. Esse resultado possivelmente se deve ao fato de que as NPs Ag se encontram bastante diluídas, com concentração na ordem de 10^{-4} mol L⁻¹, fazendo com que haja evidências apenas das bandas características das moléculas de água, uma forte e ampla banda na região de $3700 - 3100$ cm⁻¹, que corresponde ao estiramento do v OH⁻ presente na molécula de água⁹¹. A banda estreita na região de 1600 cm⁻¹, atribuída às vibrações de tesoura da água (δ HOH) e uma banda forte e larga iniciando em $1000 - 500$ cm⁻¹, presente nos espectros infravermelho da água⁹¹.

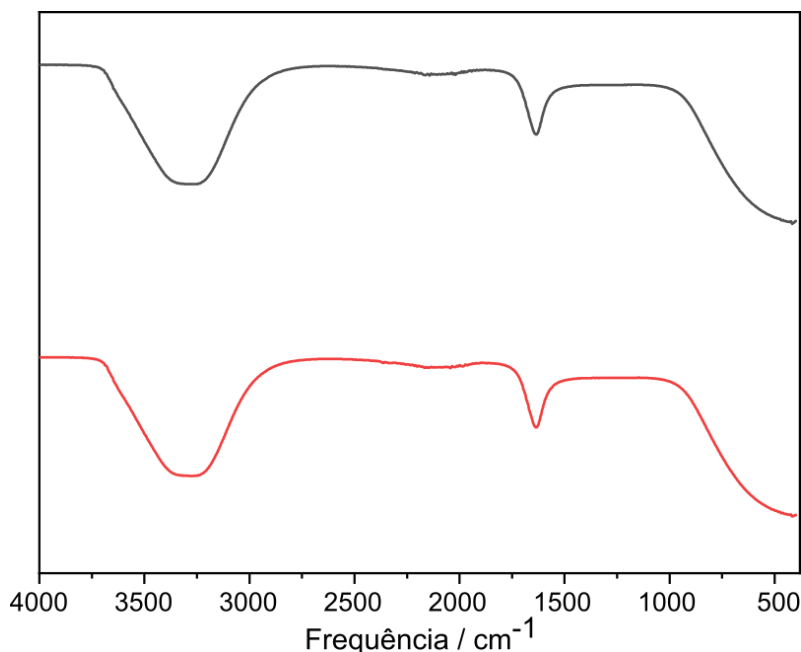


Figura 15. Espectro de infravermelho com transformada de Fourier das suspensões de NPAg (—) e água (—).

As medidas do potencial Zeta foram feitas para medir a carga da superfície das NPs Ag e foi observado que nos valores de pH analisados os potenciais medidos se apresentavam negativos, variando de $-4,1 \pm 0,5$ mV, em pH 2, até -48 ± 3 mV, em pH 10 (Figura 16). Tais resultados indicam que as NPs Ag estão envoltas com uma superfície aniônica, possivelmente devido ao excesso de íons borohidreto, os quais estão interligados por meio de interações eletrostáticas e promovem a estabilização das NPs Ag.

Resultados semelhantes foram obtidos por Fernando *et. al.*⁸⁶, em que o menor Potencial Zeta encontrado pelos autores para as NPs Ag, também sintetizadas com NaBH_4 , foi de -29 ± 2 mV em pH 8. No estudo de Ravindran *et. al.*³⁷ o menor valor foi de $-30,61$ mV. No estudo de Gallón *et. al.*⁸⁷ a carga superficial das NPs Ag reduzidas e estabilizadas por duas microalgas *Botryococcus braunii* (EPBb) e *Chlorella pyrenoidosa* (EPCp), os valores de potencial Zeta foram, respectivamente, -52 ± 3 mV e -12 ± 2 mV, indicando que a NPs Ag estavam encobertas por uma carga aniônica, a qual promovia estabilização das NPs por meio da interação eletrostática e protegendo-a de agregação.

Embora se tenha obtido uma suspensão estável, ela não foi reproduzível. Isso porque novos lotes de NPs Ag foram feitos seguindo a mesma metodologia (Metodologia A - descrito no item 4.4.1). Porém, a agregação da prata era evidente, devido à mudança de cor do sistema de amarelo para preto (Figura 17). Esse fenômeno era observado logo após a síntese ou no dia seguinte à mesma.

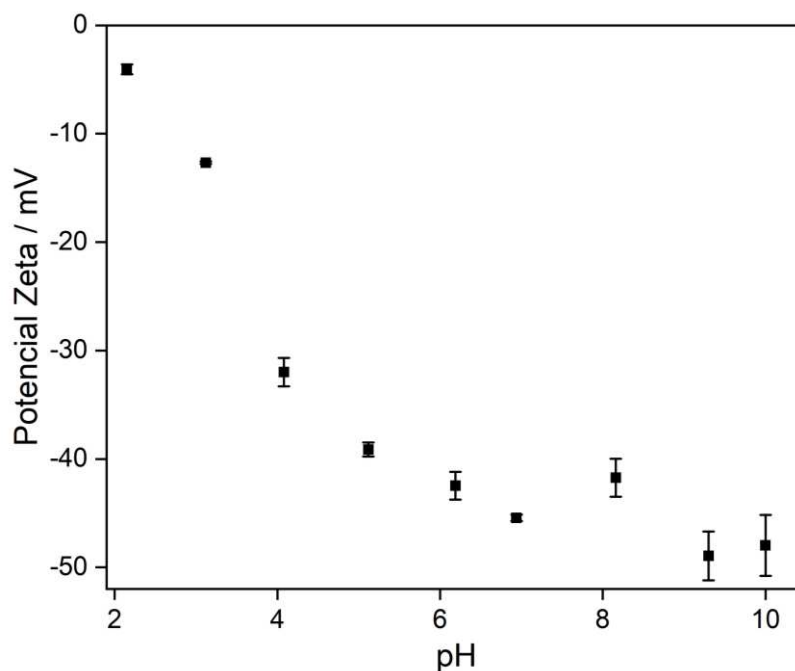


Figura 16. Medidas de Potencial Zeta para as NPs Ag.



Figura 17. Suspensões de NPs Ag. (A) Suspensão de NPs Ag estáveis. (B) Suspensão de NPs Ag agregadas.

Nesse sentido, com o intuito de estabilizar as NPs de prata para tornar a síntese reprodutível, foram feitas diferentes sínteses utilizando estabilizantes distintos a serem discutidos seguidamente no item 5.1.2.

5.1.2 Metodologia B

Os estabilizantes selecionados para estabilização das suspensões de NPs Ag foram: dodecil sulfato de sódio, GSH, citrato de sódio, EDTA e PVP. A seleção desses estabilizantes foi feita de acordo com a literatura, uma vez que diversos autores utilizaram esses compostos com o intuito de estabilizar as NPs Ag. Na revisão de literatura, item 2.2.3.1. são descritos alguns desses trabalhos.

As suspensões obtidas são mostradas na Figura 18. Pode-se observar que não foi possível obter NPs Ag quando a prata foi adicionada ao sistema contendo EDTA. Isso ocorreu pelo fato de que o EDTA é um ligante hexadentado, que forma complexos com praticamente todos os metais (constante de complexação $\log K_1 := 7,32$)⁹². Pode-se sugerir, portanto, que a prata adicionada ao sistema foi complexada pelo EDTA, fazendo com que não houvesse a formação de NPs Ag.

As suspensões obtidas ao se adicionar GSH e citrato apresentaram um certo estágio de agregação, evidenciada pela cor amarronzada e, no caso do GSH, um deslocamento batocrômico na região de ressonância plasmônica ($\lambda = 480$ nm), evidenciado por uma seta na Figura 19. A suspensão na presença do citrato apresentou material particulado em suspensão, evidenciado pelo espalhamento de luz, como observado no espectro.

Na presença de dodecil, a solução também apresentou em uma tonalidade mais escura que o esperado. Entretanto, segundo Song *et al.*⁶³ essa coloração é característica das NPs Ag quando estabilizadas com dodecil sulfato de sódio. Também é característico dessa suspensão um pequeno deslocamento batocrômico na região de ressonância plasmônica. As suspensões sem estabilizante e na presença de PVP apresentaram uma coloração muito próxima e não formaram agregados, como mostrado na Figura 18 e evidenciado pelo espectro de absorção molecular na Figura 19. Assim, dentre os cinco estabilizantes utilizados, os que tiveram sucesso na estabilização das NPs Ag foram o DSS e o PVP.



Figura 18. Suspensão de nanopartículas de prata produzidas com diferentes estabilizantes. Condições experimentais: Concentração inicial de AgNO_3 : 1 mmol/L; Concentração inicial de NaBH_4 2 mmol/L; Concentração inicial dos estabilizantes: 0,3% m/v do PVP e os demais 1% m/v; tempo de reação: 20 minutos.

Nesse sentido, o uso como nanosensores das suspensões de NPs Ag funcionalizadas com os estabilizantes DSS e PVP, que se apresentaram estáveis, foi avaliado na presença do composto deltametrina.

Como observado no espectro da Figura 19, a suspensão contendo o PVP apresentou uma concentração teórica muito baixa, em que sua absorbância máxima se encontra próximo a 0,500 u.a. Na presença de deltametrina, não houve mudança de cor do sistema, inviabilizando o seu uso como nanosensor de deltametrina.

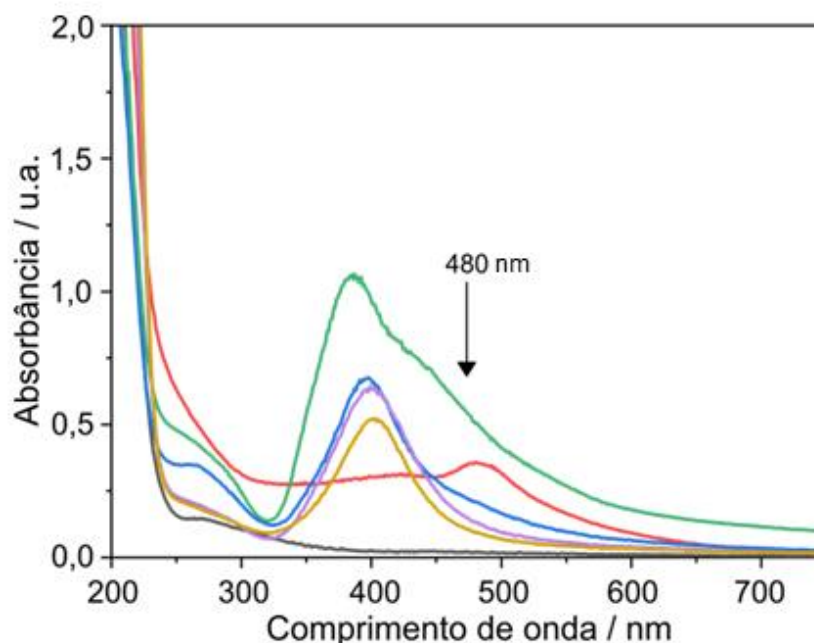


Figura 19. Espectro de absorção molecular UV/vis das suspensões de nanopartículas de prata produzidas com diferentes estabilizantes. As curvas são referentes às NPs Ag estabilizadas com: — citrato de sódio, — DSS, — sem estabilizante, — PVP, — GSH, — EDTA.

Quanto à suspensão contendo DSS, a estabilidade apresentada foi além do previsto, como pode ser observado na Figura 20. Além disso, não houve mudanças no espectro da suspensão na presença de deltametrina a partir de 300 nm, ou seja, não há um deslocamento batocrômico característico evidente no espectro, confirmando a elevada estabilidade da NPs Ag estabilizadas com DSS.

Por esses motivos, pode-se concluir que ambas suspensões, contendo PVP e DSS, não apresentaram comportamento nanossensorial para deltametrina. Tendo em vista a elevada estabilização constatada nas suspensões NPs Ag estabilizadas com PVP e DSS, optou-se por um estudo de otimização da síntese convencional (sem estabilizantes), a ser descrita no item 5.1.3, pela metodologia C.

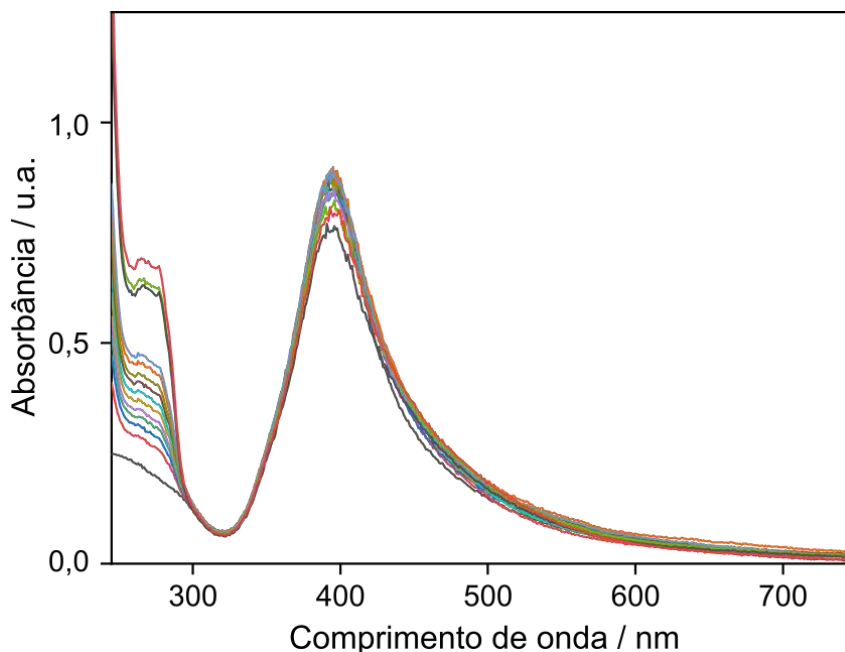


Figura 20. Espectro de absorção molecular UV/Vis de NPs Ag estabilizadas com DSS na presença de diferentes concentrações de deltametrina. Condições experimentais: concentração inicial do AgNO_3 : $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Concentrações finais de deltametrina: 5 a 70 mg L^{-1} .

5.1.3 Metodologia C

Com a finalidade de compreender o porquê da síntese de NPs Ag na ausência de estabilizantes não ser reprodutível testou-se diferentes razões da concentração inicial do redutor borohidreto de sódio em relação ao nitrato de prata. Esse ensaio foi planejado com base no estudo de Solomon *et. al.*⁴⁵ e de Song *et. al.*⁶³, os quais sugeriram que a estabilidade das NPs Ag estava relacionada com a razão de concentração inicial destes compostos. As razões de concentrações, assim como as absorbâncias em 400 nm são mostrados na Tabela 11.

Pode-se observar na Tabela 11 que diferentes razões apresentaram diferentes absorbâncias em 400 nm. Diante disso, para cada suspensão foi calculado um teor de NPs Ag a partir de uma curva analítica. Essa curva foi preparada a partir da suspensão teoricamente mais concentrada de NPs Ag. O espectro de absorção molecular UV/Vis é apresentado na Figura 21A e a curva analítica na Figura 21B. A qualidade do ajuste linear foi comprovada pelo coeficiente de determinação (R^2), o qual foi igual a 0,9999 e pelo gráfico de resíduos com os resíduos (gráfico não mostrado) distribuídos aleatoriamente ao redor do zero, não indicando tendência.

Vale ressaltar que as sínteses foram realizadas em ambiente ao abrigo de luz, tendo em vista que o AgNO_3 e, conseqüentemente, as NPs Ag são fotossensíveis^{37,57,69,93}. De acordo com

Pinto *et. al.*⁵⁷ a síntese das NPs Ag foi realizada no escuro em ambiente climatizado, com temperatura em 23 ± 2 °C.

Tabela 11. Tabela das razões de concentração inicial de NaBH₄ e AgNO₃ e as absorvâncias no ponto de máxima absorção da curva ($\lambda = 400$ nm).

[NaBH ₄]/[AgNO ₃]	Média absorvância (400 nm)
1,5	1,31 ± 0,01
1,8	1,71 ± 0,03
2,0	1,55 ± 0,03
2,2	1,72 ± 0,01
2,5	1,49 ± 0,00

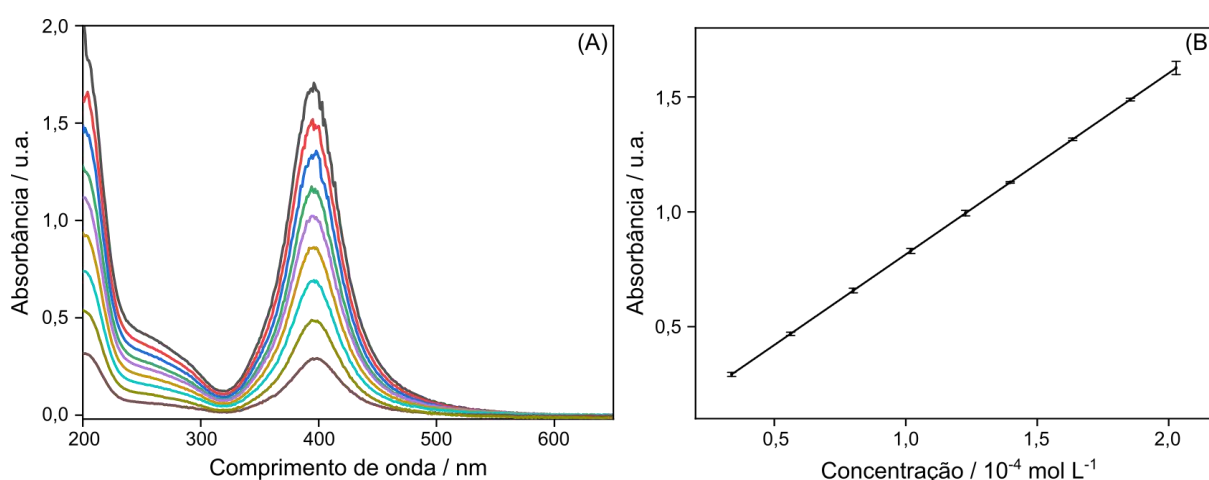


Figura 21. (A) Espectro de absorção molecular UV/Vis em diferentes concentrações das NPs Ag. (B) Curva analítica da suspensão de NPAg no comprimento de onda de 400 nm. Condições experimentais: concentração NPs Ag 0,20 - 0,035 mmol/L. Coeficiente de determinação da curva (R^2): 0,9999; equação da reta obtida por regressão linear: $A = (0,788 \pm 1,28 \times 10^{-15}) \text{ Lmol}^{-1} c + (0,0265 \pm 1,78 \times 10^{-15})$.

Diferentemente do esperado, todas as suspensões foram estáveis (Figura 22). De acordo com Solomon *et. al.*⁴⁵, apenas a suspensão com razão [NaBH₄]/[AgNO₃] igual a 2 ficaria estável. Song *et. al.*⁶³ também obtiveram resultados distintos do constatado nesse trabalho, uma vez que os autores obtiveram diferentes estágios de agregação das NPs Ag à medida que alteraram a razão [NaBH₄]/[AgNO₃].

Também se pode observar na Tabela 11 que, independentemente da razão [NaBH₄]/[AgNO₃] utilizada, os teores das suspensões são distintos. Como cada uma das suspensões de NPs Ag possuíam uma concentração de NaBH₄, era esperado que as absorvâncias no ponto máximo de absorção da região plasmônica (400 nm), e, portanto, o teor, fossem distintas para cada uma delas.

Em seu trabalho, Pinto *et. al.*⁵⁷ avaliaram a razão molar de $n(\text{BH}_4^-)/n(\text{Ag}^+)$ na síntese de NPs Ag e observaram que a medida que aumentava essa razão, isto é, a quantidade NaBH₄,

havia um crescimento da banda de ressonância plasmônica em 400 nm. Assim, esperava-se uma relação entre a razão de concentração inicial $[\text{NaBH}_4]/[\text{AgNO}_3]$ e absorvância, o que não foi observado nesse estudo.

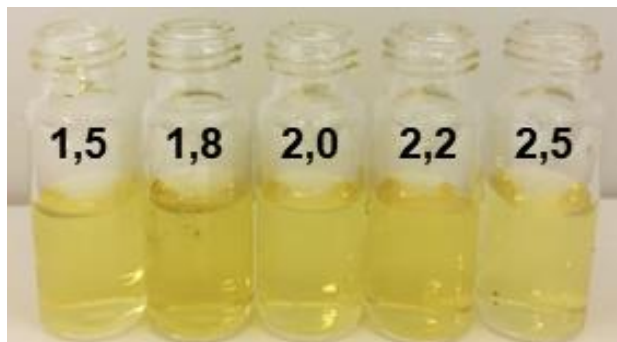


Figura 22. NPAg em diferentes razões de concentração de NaBH_4 e AgNO_3 . Condições experimentais: Concentração inicial de nitrato de prata: 1 mmol/L; concentração inicial de borohidreto de sódio: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5 mmol/L respectivamente; volume final da suspensão: 100mL.

Diante disso, para investigar a distribuição de tamanho das nanopartículas em cada uma das cinco suspensões de prata, foram feitas medidas de espalhamento dinâmico de luz. O gráfico de correlação temporal é mostrado na Figura 23A, podendo-se perceber que as suspensões apresentaram distribuições de duas populações de tamanho, devido ao formato da curva que apresenta dois decaimentos em função do tempo. Esse formato foi observado em todas as suspensões. A distribuição de tamanho para cada uma das populações, para as diferentes razões $[\text{NaBH}_4]/[\text{AgNO}_3]$ é mostrada na Figura 23B em que é possível observar que uma das populações possui um tamanho que varia de 0,1-0,2 nm e outra na ordem de 35-45 nm. Nesse sentido, todas as cinco suspensões obtidas pela metodologia C, embora possuam diferentes teores de NPs Ag, elas apresentam duas populações de tamanhos com aproximadamente a mesma distribuição.

Os tamanhos encontrados no DLS divergem daqueles encontrados por MET, possivelmente, referem-se a aglomerados de NPsAg. Fernando *et. al.*⁸⁶ obtiveram resultados semelhantes ao obtido neste trabalho, uma vez que o tamanho médio por MET foi de 26 ± 1 e por DLS o tamanho médio obtido foi de 37 ± 5 nm. Ainda, o autor Yusuf *et. al.*⁶⁶ caracterizou as NPs Ag sintetizadas através do DLS, obtendo nanopartículas com tamanho médio de 20 ± 7 nm e, eles analisaram ainda por Microscopia Eletrônica de Transmissão de Varredura (METV) e por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) onde puderam perceber o formato esférico das NPs Ag.

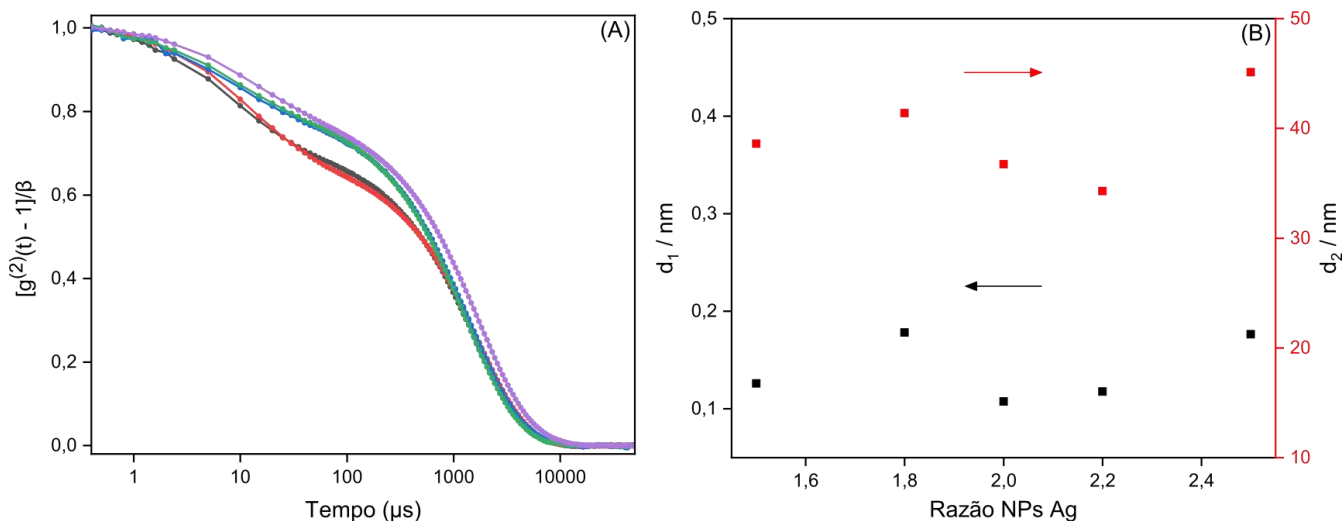


Figura 23. (A) Gráfico obtido por espalhamento dinâmico de luz a fim de observar a distribuição de tamanho das NPsAg obtidas nas diferentes razões de concentração inicial de $[\text{NaBH}_4]/[\text{AgNO}_3]$. (B) Distribuição de tamanho das duas populações de NPsAg encontradas nas suspensões das razões de concentração inicial de $[\text{NaBH}_4]/[\text{AgNO}_3]$. Condições experimentais: Concentração inicial de prata: 1 mmol/L; concentração inicial de Borohidreto de sódio: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5 mmol/L respectivamente; volume final da suspensão: 100 mL; $[\text{NaBH}_4]/[\text{AgNO}_3]$: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5.

Para compreender os resultados obtidos anteriormente, investigou-se o término das reações de síntese por análise condutimétrica. A finalidade do estudo foi esclarecer o porquê de todas as suspensões ficarem estáveis na metodologia C, além de apresentarem uma concentração teórica muito próxima, enquanto na metodologia A, a síntese não foi reproduzível e a agregação das NPs Ag era imediata.

5.2 Avaliação do término da reação de síntese das NPs Ag por análise condutimétrica

O término da reação de síntese de NPs Ag foi avaliado por análise condutimétrica. Para isso, a variação da condutividade foi medida desde o tempo zero da reação, em que não havia começado o gotejamento de AgNO_3 em NaBH_4 , até algumas horas após o término do gotejamento. Nesse momento, percebia-se que o sistema havia atingido o equilíbrio e estava estável.

Como mostrado na Figura 24A, na primeira reação (AC-NPAG-1), na qual a solução de borohidreto foi preparada aproximadamente duas horas antes da síntese, a condutividade diminui de $95,88 \mu\text{S}/\text{cm}$ a um mínimo $81,85 \mu\text{S}/\text{cm}$, que ocorre antes do fim do gotejamento. A partir desse ponto, a condutividade começa a aumentar e, esse aumento se mantém após o término do gotejamento até atingir um valor $89,16 \mu\text{S}/\text{cm}$ (0,5 horas), acompanhando a variação de temperatura.

Na segunda reação (AC-NPAg-2), na qual a solução de borohidreto utilizada foi previamente preparada no dia da reação, porém desde o seu preparo até o início da reação houve um intervalo de aproximadamente seis horas antes da síntese, a condutividade diminuiu de 71,36 para 62,13 $\mu\text{S}/\text{cm}$ nos primeiros minutos. A partir de oito minutos a condutividade aumenta para 65,12 $\mu\text{S}/\text{cm}$, antes do término do gotejamento de AgNO_3 . Em 22 minutos, a condutividade começa a diminuir novamente até 63,30 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (0,5 horas), acompanhando a variação de temperatura (Figura 24A).

Ambas as suspensões apresentaram a coloração amarelada, característica das NPs Ag, porém a suspensão proveniente da AC-NPAg-1 ficou com a coloração mais acentuada que a AC-NPAg-2, conforme pode ser observado na Figura 24A.

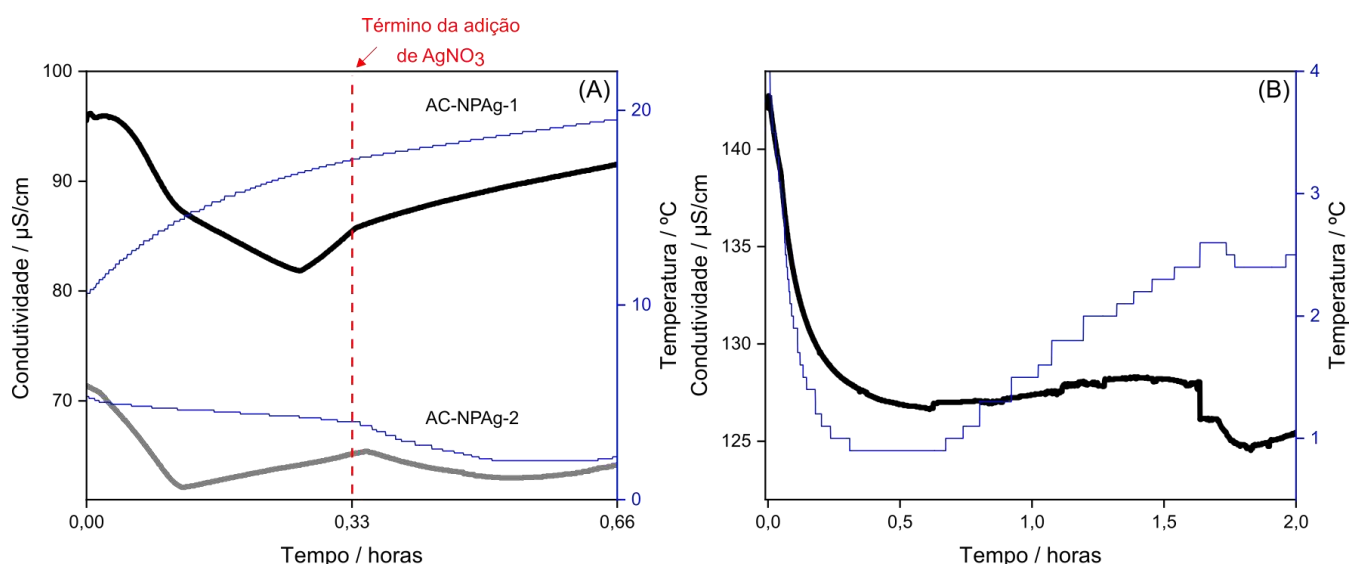
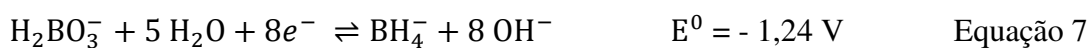


Figura 24. (A) Monitoramento por meio de análise condutimétrica das sínteses de NPs Ag sem e com temperatura controlada (AC-NPAg-1 e AC-NPAg-2, respectivamente), o tracejado vermelho indica o término da injeção de AgNO_3 no sistema. (B) Análise condutimétrica da solução de borohidreto de sódio em função do tempo e a variação da temperatura do sistema em função do tempo. Condições experimentais: Concentração inicial de borohidreto de sódio: 2 mmol L^{-1} ; Concentração inicial de nitrato de prata: 1 mmol L^{-1} ; temperatura ambiente: 23 ± 2 $^{\circ}\text{C}$.

O comportamento das duas curvas mostradas na Figura 24A foi distinto entre si. Tais resultados podem estar associados à estabilidade da solução de borohidreto⁹⁴⁻⁹⁸. Alguns autores, como Liu *et. al.*⁹⁸ afirmam que o NaBH_4 sofre um processo de oxirredução, formando o íon borato, como mostrado nas Equações 7 e 8.⁹⁹



Assim, as espécies de borato produzidas são facilmente adsorvidas pelas nanopartículas de prata com o intuito de reduzir a densidade eletrônica da superfície, acarretando a agregação da prata. Ainda, segundo Minkina *et. al.*⁹⁴, esse processo é dependente do tempo e a taxa de formação do gás hidrogênio, a 25 °C, é de 0,14%/hora. Segundo esses autores, a estabilidade da solução de NaBH₄ está associada ao pH e temperatura do sistema. Esse conjunto de fatores, faz com que o redutor perca sua eficiência.

Para compreender a estabilidade do redutor borohidreto de sódio, preparou-se uma nova solução de 2 mmol L⁻¹, a qual foi imediatamente submetida a banho de gelo e a sua condutividade começou a ser monitorada (Figura 24B). Pode-se observar uma queda da condutividade, acompanhando a variação da temperatura, o que era esperado, tendo em vista que a condutividade é proporcional à temperatura, partindo de 142,29 μS/cm e chegando a um mínimo de 126,83 μS/cm após aproximadamente 40 minutos. A partir daí, a condutividade começou a aumentar, similarmente a variação da temperatura, atingindo um máximo de 128,00 μS/cm. Entretanto, após aproximadamente 1 hora a temperatura continuou aumentando, enquanto a condutividade prosseguiu diminuindo, alcançando um mínimo de 124,56 μS/cm (Figura 24B).

Nesse sentido, comprovou-se que a solução de borohidreto de sódio é muito instável. Dessa forma, para garantir a melhor eficiência do redutor, é recomendável o preparo da solução imediatamente antes de sua utilização.

Diante dos resultados, fez-se uma terceira síntese (AC-NPAg-3), em que a solução de borohidreto foi preparada imediatamente antes do início da reação. Além disso, como a síntese foi realizada em banho de gelo, esperou-se homogeneizar e estabilizar a temperatura do sistema, o que ocorreu em aproximadamente 2 °C, para enfim, dar-se início à síntese.

Como é possível observar na Figura 25, enquanto houve gotejamento da solução de AgNO₃, houve uma diminuição na condutividade do sistema de 129,07 μS/cm para 94,62 μS/cm, o que é observado até o término do gotejamento, durando um tempo total de 20 minutos. Passado esse tempo, a condutividade continuou caindo, passando a aumentar após 1,2 horas de reação de 84,08 μS/cm para 95,58 μS/cm, valor o qual foi obtido em 2,0 horas de reação, consequência do aumento da temperatura do sistema.

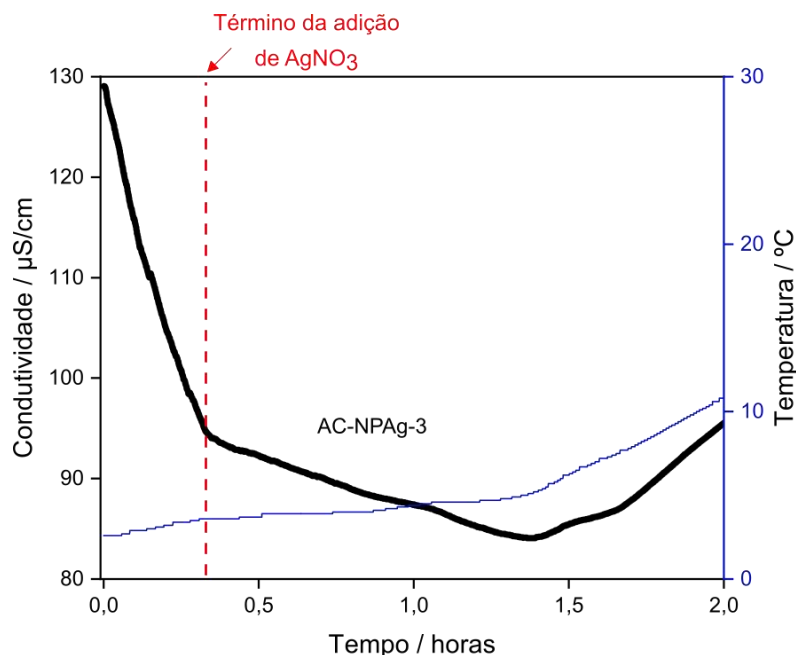


Figura 25. Monitoramento por análise condutimétrica da síntese de NPsAg com temperatura controlada (AC-NPAg-3). O tracejado vermelho indica o término da injeção de AgNO_3 no sistema. Condições experimentais: Concentração inicial de borohidreto de sódio: 2 mmol L^{-1} ; Concentração inicial de nitrato de prata: 1 mmol L^{-1} ; temperatura ambiente: $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Diante dos resultados obtidos, pela análise condutimétrica não é possível afirmar se a reação foi finalizada, uma vez que ao terminar o gotejamento de AgNO_3 a condutividade continuou diminuindo até 1,2 horas, enquanto a temperatura aumentava de forma branda. Todavia, é possível concluir que o preparo da solução de borohidreto de sódio deve ser feito exatamente antes do início da reação para garantir a eficiência do redutor.

Tabela 12. Valores das absorvâncias no ponto de máxima absorção da curva ($\lambda = 400 \text{ nm}$) obtidos nas AC-NPAg-1, AC-NPAg-2 e AC-NPAg-3, sintetizadas monitorando a condutividade do sistema .

Suspensão	Absorvância ($\lambda = 400 \text{ nm}$)
AC-NPAg-1	2,4730
AC-NPAg-2	0,8455
AC-NPAg-3	2,6803

As imagens das suspensões das NPs Ag estão dispostas na Figura 26, sendo possível observar que a coloração da suspensão obtida na AC-NPAg-1 tem tonalidade similar à da AC-NPAg-3, que é um amarelo mais escuro, enquanto a da AC-NPAg-2 tem coloração amarela mais clara. Esses resultados são mais bem visualizados nos espectros UV/Vis obtidos para essas suspensões (Tabela 12).



Figura 26. Suspensões de NPsAg sintetizadas com monitoramento por análise condutimétrica. (A) AC-NPAg-1 (sem controle de temperatura – dia 1); (B) AC-NPAg-2 (com controle de temperatura – dia 1); (C) AC-NPAg-3 (com controle de temperatura – dia 2).

Além disso, ao analisar os gráficos da condutividade para a AC-NPAg-1 e AC-NPAg-3 (Figuras 24A e 25), ambas as suspensões têm um comportamento semelhante. Possivelmente, esse comportamento é decorrente do fato de que a solução de borohidreto não perdeu a validade até o momento da síntese. Ainda, na Tabela 12 tem-se o valor das absorvâncias em 400 nm na região de ressonância plasmônica, bem como o teor teórico das suspensões de NPs Ag, o que comprova que as sínteses das AC-NPAg-1 e AC-NPAg-3 apresentam teores relativos próximos, aproximadamente $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Confirmando o fato de que é fundamental o preparo da solução do redutor imediatamente antes da síntese.

5.2.1 Metodologia C -adaptada

Diante dos resultados obtidos pelas medidas condutimétricas, descritas no item 5.2, repetiu-se a Metodologia C variando-se a razão de concentração inicial $[\text{NaBH}_4]/[\text{AgNO}_3]$, conforme no item 5.1.3. As razões estudadas foram novamente 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5, as condições foram cuidadosamente controladas e as soluções de borohidreto utilizadas foram preparadas quinze minutos antes da síntese ter início, uma vez que elas eram deixadas em banho de gelo nesse intervalo.

As respostas obtidas por essas sínteses foram semelhantes às aquelas obtidas no estudo de Solomon *et. al.*⁴⁵, em que a suspensão na razão de 2,0 ficou estável enquanto que as demais possuíram diferentes estágios de agregação. Na Tabela 13 são mostradas as razões das concentrações e o tempo em que cada uma das suspensões permaneceu estável. Nas Figuras 27 e 28, tem-se, respectivamente a imagem das suspensões obtidas e os espectros de absorção molecular UV/Vis.

Tabela 13. Estabilidade das NPs Ag após a síntese. Condição de armazenamento: 4 °C. Condições experimentais: Concentração inicial de nitrato de prata: 1,0 mmol L⁻¹; Concentração inicial de borohidreto de sódio: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5 1,0 mmol L⁻¹.

[NaBH ₄]/[AgNO ₃]	Tempo em que as NPs Ag ficaram estáveis após a síntese (minutos)
1,5	~ 5 min
1,8	~ 20 min
2,0	Estável
2,2	~ 40 min
2,5	~ 40 min

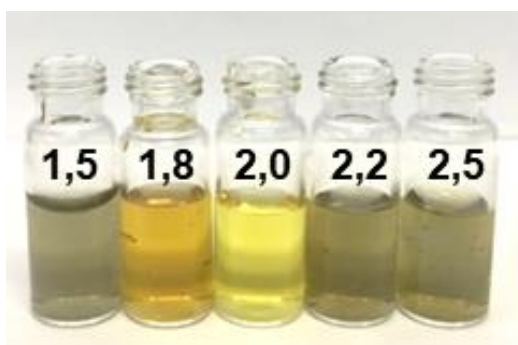


Figura 27. Suspensão de NPs Ag em diferentes estágios de agregação e diferentes razões de [NaBH₄]/[AgNO₃], onde da esquerda para a direita são 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5. Condições experimentais: Concentração inicial de nitrato de prata: 1,0 mmol L⁻¹; Concentração inicial de borohidreto de sódio: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2, e 2,5 mmol L⁻¹.

No espectro da Figura 28 é possível observar que à medida que as suspensões formam os aglomerados de prata, há uma diminuição da banda de ressonância plasmônica acompanhada de um deslocamento batocrômico, como na razão 1,8. Os espectros das razões 1,5; 2,2 e 2,5 apresentaram o fenômeno de espalhamento de luz, em que é possível observar um levantamento da linha de base. Além disso, ambas as bandas apresentaram um leve deslocamento hipsocrômico e seus máximos de absorvância se encontram em 390, 384, 395 respectivamente. Nessas quatro razões, há indícios de que as suspensões se encontram aglomeradas, devido às características das bandas. Em contrapartida, a suspensão estável de razão 2,0, tem-se apenas a banda de ressonância plasmônica em 396 nm, sem indícios de deslocamentos, o que confirma a estabilidade da suspensão de NPs Ag.

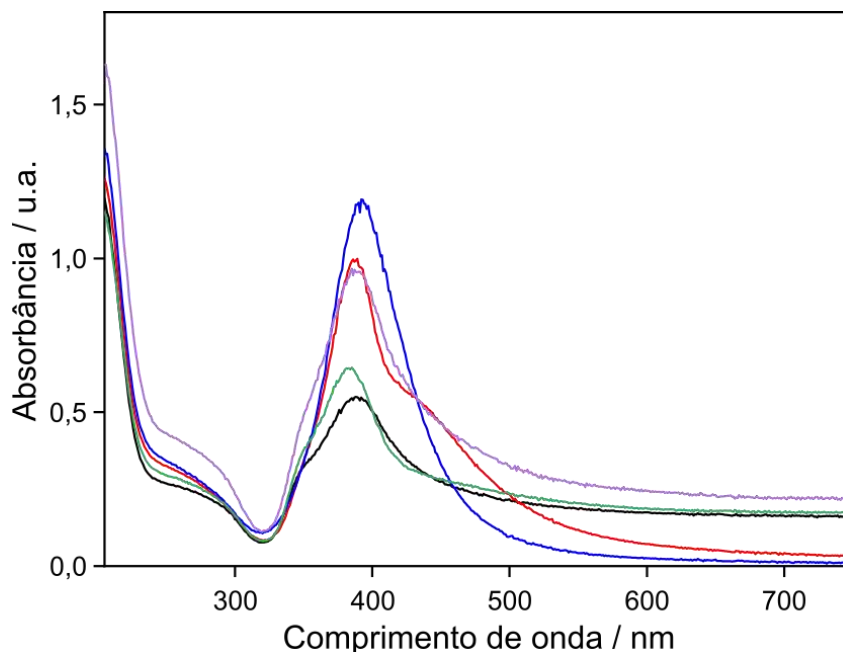


Figura 28. Espectro de absorção molecular UV/Vis das NPs Ag sintetizadas em diferentes razões de concentração $[\text{NaBH}_4]/[\text{AgNO}_3]$, em que — razão 1,5; — razão 1,8; — razão 2,0; — razão 2,2; — razão 2,5. Condições experimentais: Concentração inicial de nitrato de prata: $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$; Concentração inicial de borohidreto de sódio: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2 e 2,5 $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$; Diluição NPAg:água (1:2 v/v) para leitura no espectrofotômetro.

5.3 Efeito do co-solvente

Devido ao objetivo apresentado nesse trabalho, de usar as suspensões de NPs Ag como nanosensores de piretróides em sistemas aquosos, teve-se que fazer um estudo do co-solvente no sistema. Isso porque a deltametrina apresenta baixa solubilidade em água e o co-solvente é utilizado para solubilização destes compostos. Dessa forma, a presença dos co-solventes próticos, como o metanol, etanol e propanol, e solventes apróticos, como acetonitrila e acetona foram investigados. Os resultados são mostrados na Figura 29.

Para o metanol e propanol (Figura 29A) foi possível observar um leve deslocamento batocrômico da banda de ressonância plasmônica, acompanhado da diminuição da absorbância no comprimento de onda 400 nm. Para o etanol, o efeito foi ainda mais pronunciado.

Para os solventes apróticos, como acetonitrila e acetona (Figura 29B) é possível observar uma diminuição da absorbância em 400 nm para ambos os solventes. A acetona, também apresentou um deslocamento da banda de ressonância plasmônica. Na Figura 30 tem-se as imagens das suspensões de NPs Ag utilizando os solventes próticos e apróticos.

Para os estudos posteriores foi selecionado o co-solvente ACN, pois apresentou uma diminuição da banda de ressonância plasmônica, entretanto não apresentou deslocamento da

batocromico na banda RPS em 400 nm no espectro UV/Vis e nem visualmente (Figura 29B e 30, respectivamente).

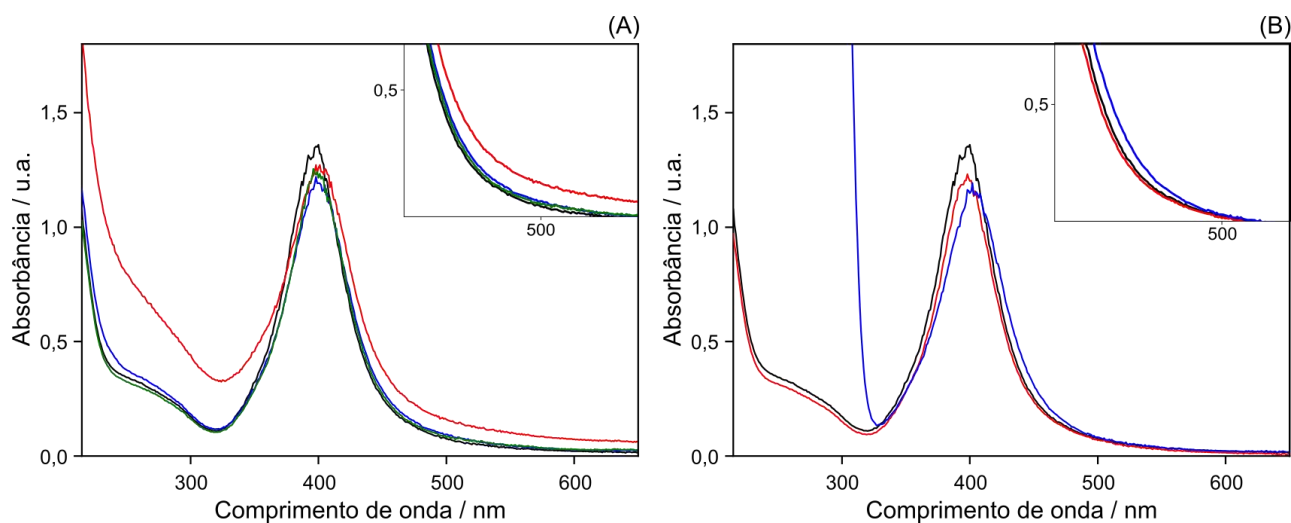


Figura 29. Ensaio dos co-solventes miscíveis nas suspensões de NPs Ag. (A) Solventes próticos: — NPs Ag Pura; — NPs Ag com etanol; — NPs Ag com metanol; — NPs Ag com propanol. (B) Solventes apróticos: — NPs Ag Pura; — NPs Ag com ACN; — NPs Ag com acetona. Condição experimental: Concentração dos solventes: 25 % (v/v); Concentração da suspensão NPs Ag: $0,15 \pm 0,05 \text{ mmol L}^{-1}$.

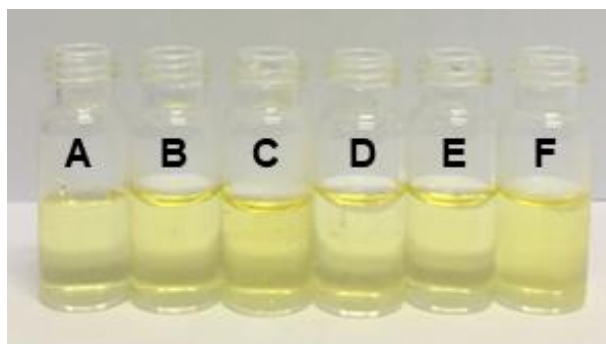


Figura 30. Suspensão de NPs Ag utilizando diferentes solventes próticos e apróticos. (A) água; (B) metanol; (C) etanol; (D) propanol; (E) acetonitrila; (F) acetona. Condição experimental: Concentração dos solventes: 25 % (v/v); Concentração da suspensão NPs Ag: $0,15 \pm 0,05 \text{ mmol L}^{-1}$.

5.4 Estudo cinético de interação do co-solvente acetonitrila com as NPs Ag

A interação do co-solvente escolhido (ACN) com as NPs Ag em função do tempo foi avaliada como mostrado na Figura 31. Pode-se perceber que a suspensão apresenta um deslocamento batocromico sutil dependente do tempo, acompanhado da diminuição da absorvância da banda de ressonância plasmônica em 400 nm (Figura 31A). Pode-se observar

na Figura 31B o perfil de decaimento da absorbância em função do tempo, assim como o deslocamento de meia altura do ponto isosbético.

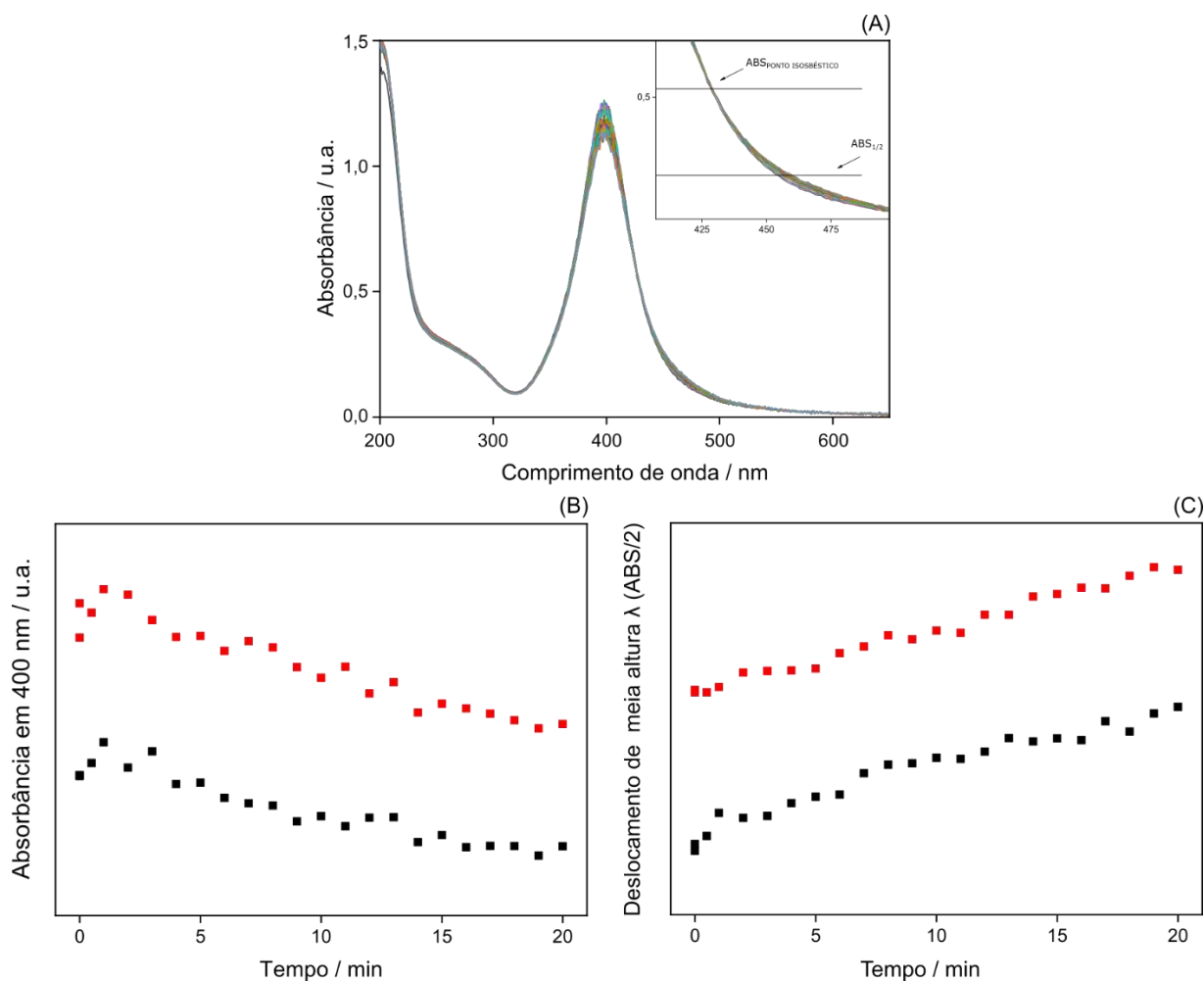


Figura 31. Estudo cinético das NPs Ag em contato com a ACN. (A) Espectro de absorção molecular monitorado de 0-20 minutos. (B) Monitoramento da banda de ressonância plasmônica em 400 nm. (C) Monitoramento da banda de meia altura do ponto isosbético ($ABS_{1/2}$). Condições experimentais: Medida 1 (■), Medida 2 (■); Concentração inicial de NPs Ag: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; concentração de ACN: 50 % v/v. O inserto demonstra como foi medido o $\lambda_{ABS/2}$.

Também foram realizadas medidas de espalhamento de luz por meio do DLS para avaliar a agregação das NPs Ag quando combinadas ao co-solvente (ACN) por 20 horas, monitorando a sua distribuição de tamanhos. Na Figura 32A é possível perceber inicialmente, há dois decaimentos na curva, indicando que há duas distribuições de tamanhos na suspensão. Todavia, com o passar do tempo, a curva passa a ter apenas um decaimento em função do tempo, indicando apenas uma distribuição de tamanho. Possivelmente, isso se deve a agregação das NPs Ag, que passa a ser mais evidente.

Na Figura 32B tem-se a distribuição das duas populações de tamanho em função do tempo. Pode-se observar que inicialmente há duas distribuições de tamanho entre 0,2 e 0,4 nm e 40 nm e, ao final de 20 horas, temos o tamanho de 0,4 nm e 80 nm.

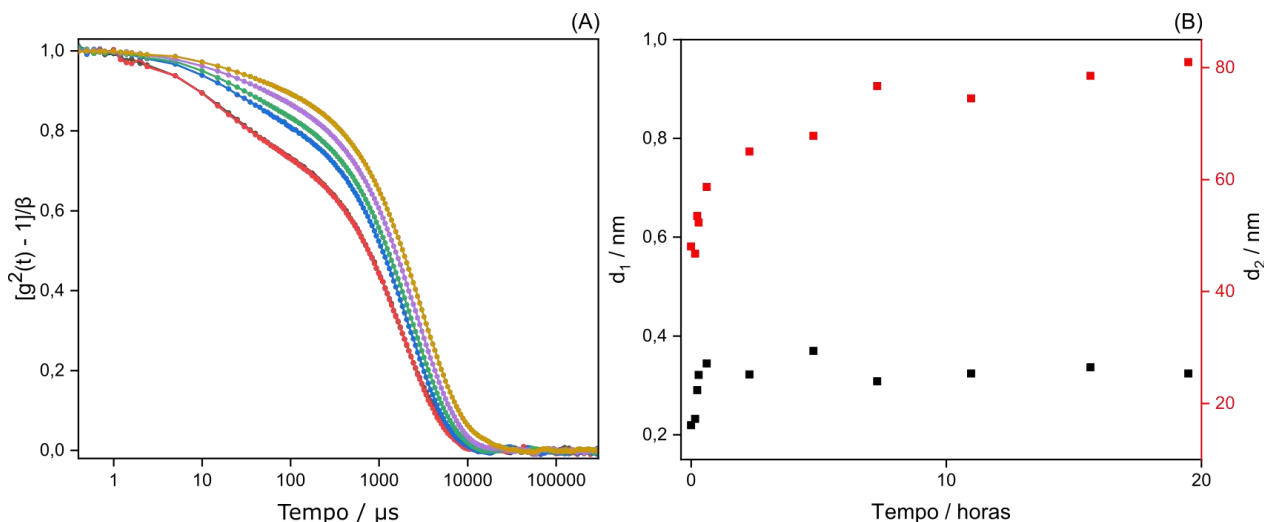


Figura 32. (A) Curva de correlação temporal obtido por espalhamento de luz a fim de observar a interação entre as NPs Ag e o co-solvente ACN monitorado por 20 horas. (B) Distribuições de tamanho encontrados ao analisar por DLS a interação entre as NPs Ag e o co-solvente ACN. Condições experimentais: Concentração inicial de NPs Ag: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Concentração de acetonitrila: 50 % (v/v); Temperatura ambiente: $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.5 Estudo cinético de interação da deltametrina e cipermetrina com as NPs Ag

O mesmo estudo cinético envolvendo NPs Ag e co-solvente (ACN) foi realizado, porém na presença de deltametrina e cipermetrina. Os resultados são mostrados nas Figuras 33A e 34A, respectivamente. Assim como observado nos resultados do item 5.5, é possível observar que quando o nanosensor de prata interage com a deltametrina há um deslocamento batocrômico da banda de ressonância plasmônica dependente do tempo, acompanhada da diminuição da absorvância em 400 nm. Porém, esse deslocamento apresenta um comportamento mais proeminente do que aquele observado na Figura 31. Na Figura 33B e 33C evidencia-se a cinética de aglomeração da deltametrina em contato com a NP Ag com duas repetições.

Ainda, para a cipermetrina quando em contato com o nanosensor, nota-se um comportamento semelhante aquele observado para o co-solvente, a diminuição do pico da banda de ressonância plasmônica em 400 nm e um sutil deslocamento batocrômico dependente do tempo (Figura 34A). Na Figura 34B e 34C evidencia a cinética de aglomeração da cipermetrina em contato com o nanosensor em duas repetições.

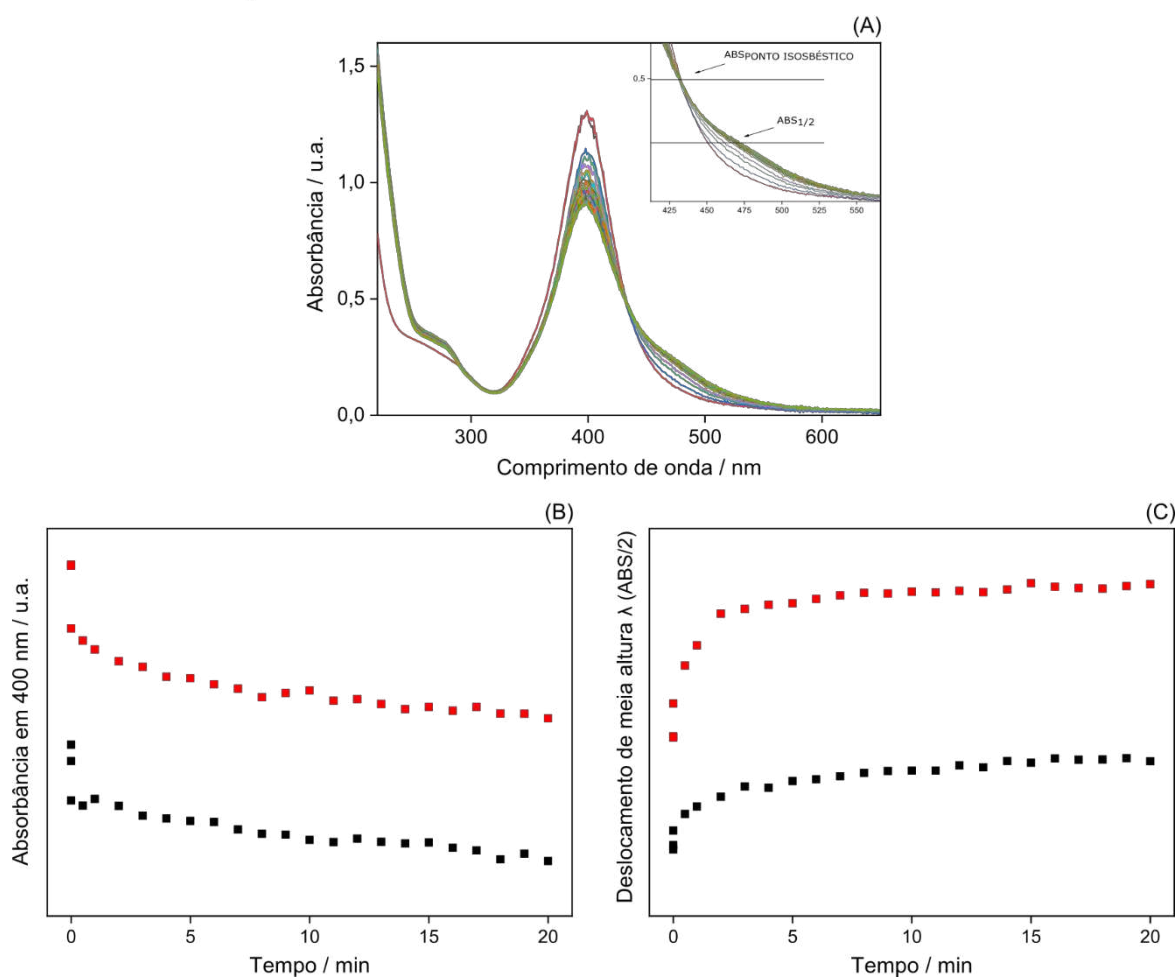


Figura 33. Estudo cinético das NPs Ag em contato com a deltametrina. (A) Espectro de absorção molecular monitorado de 0-20 minutos. (B) Monitoramento da banda de ressonância plasmônica em 400 nm. (C) Monitoramento da banda de meia altura do ponto isobéptico (ABS/2). Condições experimentais: Medida 1 (■), Medida 2 (■); Concentração inicial de NPs Ag: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Concentração de deltametrina: 250 mg L^{-1} ($0,495 \text{ mmol L}^{-1}$); Temperatura ambiente: $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. O inserto de (A) demonstra como foi medido o $\lambda_{\text{ABS}/2}$.

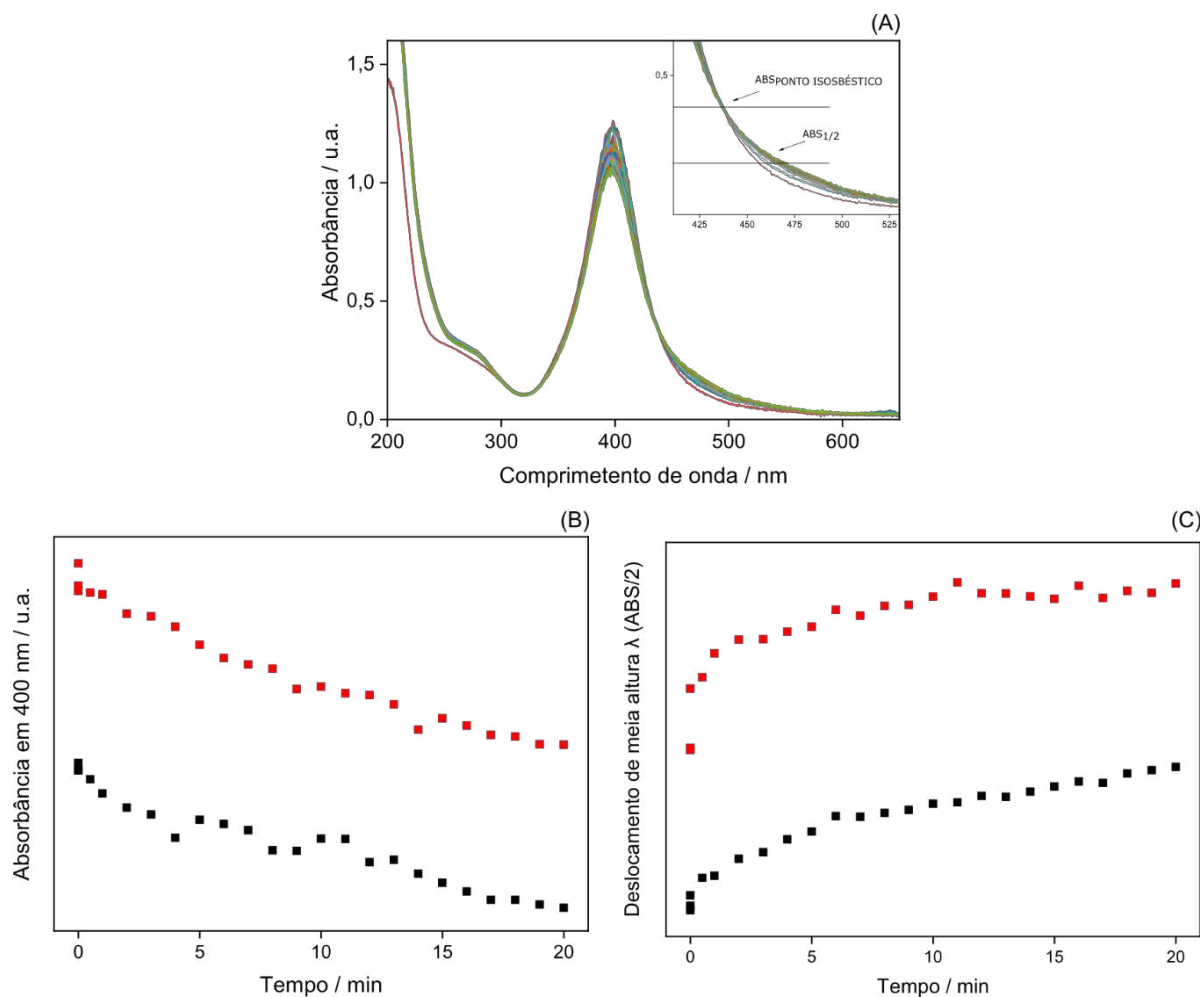


Figura 34. Estudo cinético das NPs Ag em contato com a cipermetrina. (A) Espectro de absorção molecular monitorado de 0-20 minutos. (B) Monitoramento da banda de ressonância plasmônica em 400 nm. (C) Monitoramento da banda de meia altura do ponto isosbético (ABS/2). Condições experimentais: Medida 1 (■) e Medida 2 (■); Concentração inicial de NPs Ag: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Concentração de cipermetrina: 250 mg L^{-1} ($0,495 \text{ mmol L}^{-1}$); Temperatura ambiente: $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. O inserto de (A) demonstra como foi medido o $\lambda_{\text{ABS}/2}$.

Também foram realizadas medidas de espalhamento de luz por meio do DLS para avaliar a agregação das NPs Ag quando combinadas a deltametrina por 22,5 horas, monitorando a sua distribuição de tamanhos. Na Figura 35A é possível perceber há dois decaimentos em função do tempo na curva, indicando que há duas distribuições de tamanhos na suspensão.

Na Figura 35B tem-se a distribuição das duas populações de tamanho em função do tempo. Pode-se observar que para as partículas de menores os tamanhos mantêm-se constantes ao longo de toda a medida entre 0,27 - 0,30 nm, enquanto as partículas maiores os tamanhos variaram de 31 nm no tempo zero e ao final de 22,5 horas, tem-se o tamanho de 37 nm.

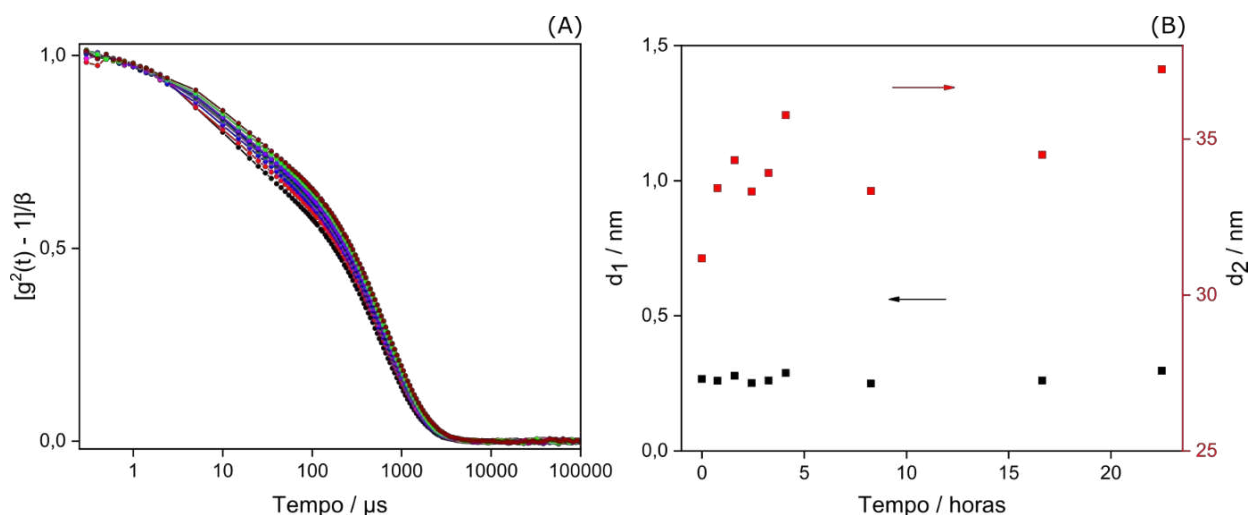


Figura 35. (A) Curva de correlação temporal obtido por espalhamento de luz a fim de observar a interação entre as NPs Ag e o deltametrina monitorado por 22 horas. (B) Distribuições de tamanho encontrados ao analisar por DLS a interação entre as NPs Ag e a deltametrina. Condições experimentais: Concentração inicial de NPs Ag: $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; Concentração da deltametrina: 250 mg L^{-1} ; Temperatura ambiente: $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

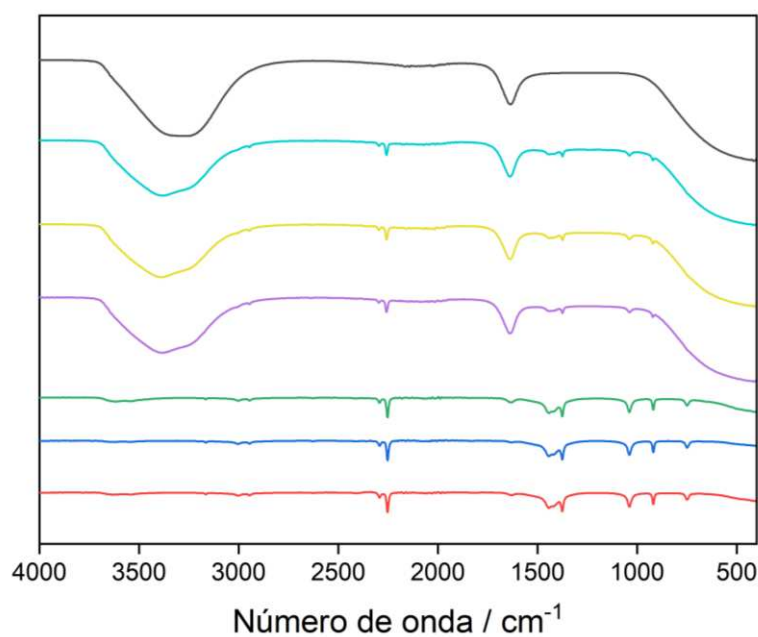


Figura 36. Espectro no infravermelho com transformada de Fourier, onde de cima para baixo, tem-se: — Suspensão de NPs Ag (Concentração teórica inicial $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$); — NPs Ag na presença de cipermetrina (Concentração 250 mg L^{-1}); — NPs Ag na presença de deltametrina (Concentração 250 mg L^{-1}); — Suspensão de NPs Ag na presença do co-solvente ACN (50 % v/v); — Solução de cipermetrina (Concentração 250 mg L^{-1}); — Solução de deltametrina (Concentração 250 mg L^{-1}); — acetoneitrila.

Visando compreender o mecanismo de agregação das NPs Ag na presença de deltametrina e cipermetrina, foram realizadas análises de Espectroscopia no Infravermelho para a suspensão de NPs Ag, o co-solvente utilizado e os inseticidas, como mostrado na Figura 36.

Porém, não foi possível obter informações relevantes acerca da interação CIP-NPs Ag, uma vez que a deltametrina e a cipermetrina encontravam-se bastante diluídas (250 mg L^{-1}) e as bandas da molécula de água sobressaem frente as demais.

Ainda, foram realizadas análises de Microscopia Eletrônica de Transmissão para as misturas. Nas Figura 37 A e B são mostradas as imagens obtidas para as NPs Ag em contato com o co-solvente, acetonitrila. Embora as NPs Ag continuem com o formato esférico, é evidente um estágio de agregação mais avançado, em que as NPs Ag se encontram aglomeradas, uma vez que as partículas possuem tamanhos de $15,3 \pm 6,8 \text{ nm}$, os quais são maiores que aqueles observados na Figura 14.

Nas imagens das Figura 37 C e D são mostradas as NPs Ag na presença de deltametrina e nas Figura 37 E e F tem-se as NPs Ag na presença de cipermetrina. Nelas também há formação de aglomerados, em que é possível observar pontos mais eletrodensos compostos por NPs Ag. Porém, o aspecto da aglomeração, possivelmente, é proveniente da agregação limitada por difusão (ALD).

A ALD é um modelo utilizado para descrever crescimentos dendríticos. Segundo Gentile *et. al.*¹⁰⁰, o fenômeno baseia-se na ideia de que, em reações químicas muito rápidas, a dinâmica de agregação é determinada pela difusão. Por esse motivo, a direção de deslocamento, bem como a trajetória dos íons metálicos em solução, são desordenados como o movimento Browniano. Esse movimento desordenado das partículas intensifica a aglomeração, fazendo com que haja a formação de dendritos ao secarem. Assim, tem-se duas características elementares desse modelo de agregação: a primeira afirma que partículas livres em suspensão executam movimentos aleatórios e a segunda afirma que agregação das partículas ocorre por simples contato^{100,101}. Nessa perspectiva, quando a NPs Ag entram em contato com os inseticidas piretróides, a cinética da reação ocorrerá rapidamente devido ao movimento desordenado das partículas, o que favorece a agregação das partículas por difusão limitada, levando a formação dos dendritos.

Diante dos resultados, como a cipermetrina não apresenta mudança de coloração visual ao entrar em contato com o nanosensor de prata, optou-se por validar o método utilizando apenas a deltametrina.

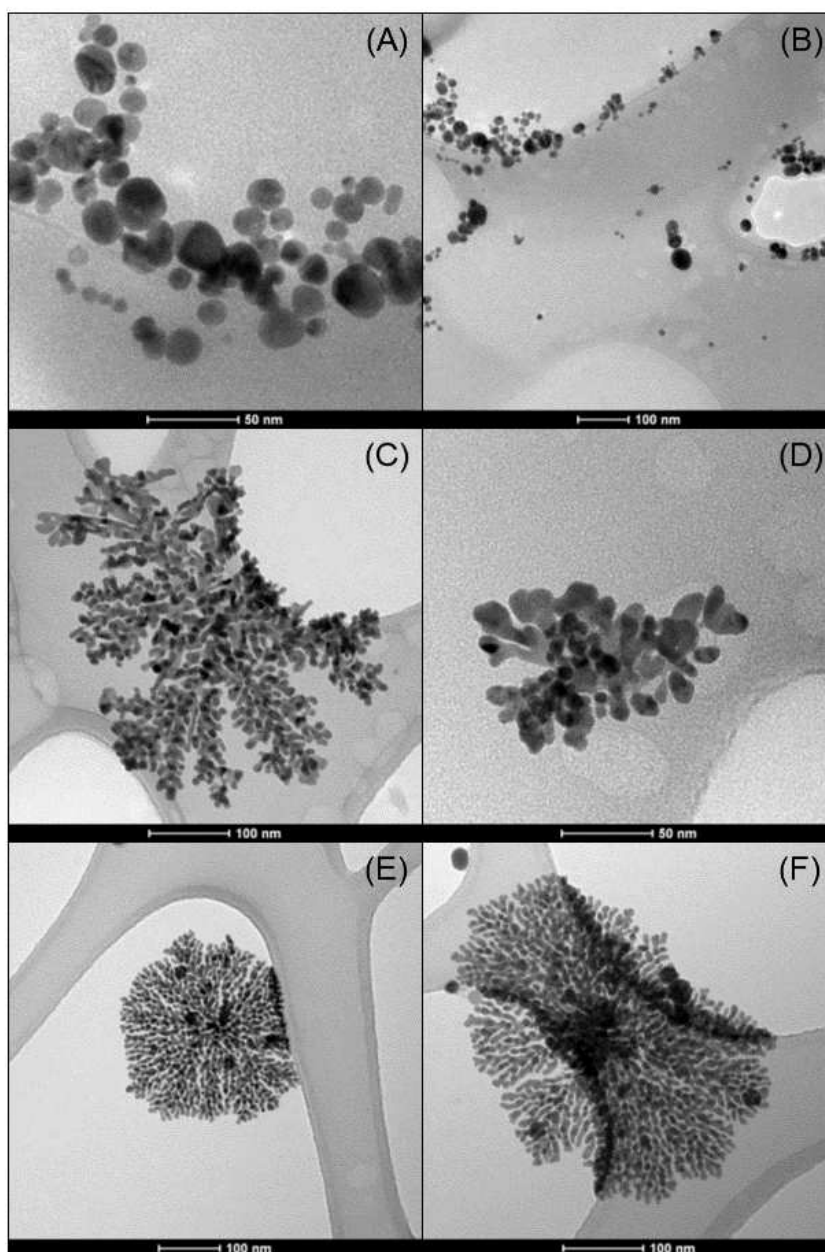


Figura 37. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão. (A) e (B) NPs Ag em contato com o co-solvente acetonitrila; (C) e (D) NPs Ag com deltametrina; (E) e (F) NPs Ag com cipermetrina.

5.6 Desenvolvimento e validação do método de determinação de deltametrina por NPs Ag

A validação do método para determinação de deltametrina em meio aquoso por NPs Ag consistiu na determinação das seguintes figuras de mérito: veracidade, repetitividade, precisão intermediária, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), conforme os parâmetros exigidos pela ANVISA^{102,103}.

As curvas analíticas, obtidas nos três dias de análise são mostradas na Figura 38. A qualidade dos ajustes foi comprovada pelo coeficiente de determinação (R^2), reportados na Tabela 14 e pelos gráficos de resíduos (gráficos não mostrados), em que os resíduos se encontram distribuídos aleatoriamente ao redor do zero, não apresentando tendências. A faixa linear de trabalho variou de 1,25 a 12,5 mg L⁻¹. As equações das retas encontram-se na Tabela 14, bem como os respectivos coeficientes de determinação (R^2).

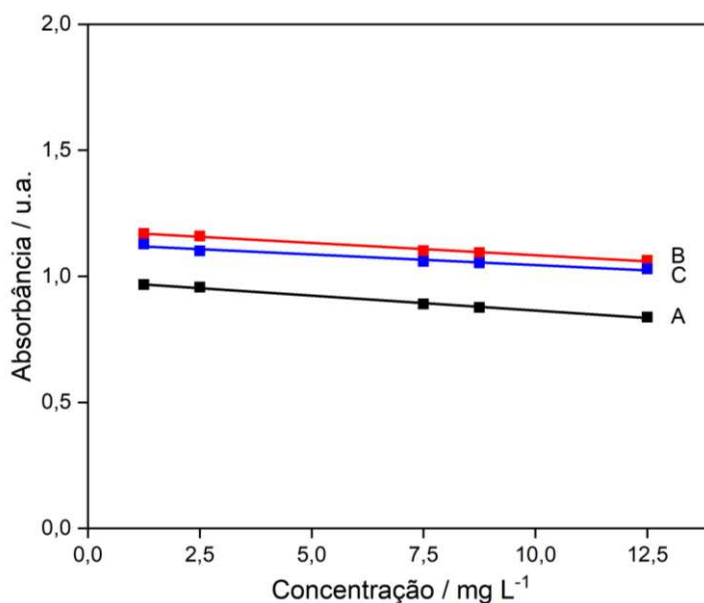


Figura 38. Curva analítica para a deltametrina em diferentes dias. (A) Dia 1. (B) Dia 2. (C) Dia 3. Condições experimentais: concentração de deltametrina: 1,25 – 12,5 mg L⁻¹.

Tabela 14. Parâmetros analíticos obtidos ao quantificar a deltametrina por NPs Ag em três dias distintos. Condições experimentais: concentração de deltametrina: 1,25 – 12,5 mg L⁻¹.

Dia	Equação da Reta	Coefficiente de determinação (R^2)
1	$A = (-0,0118 \pm 0,0004) L mg^{-1} c + 0,982 \pm 0,003$	0,9964
2	$A = (-0,0098 \pm 0,0005) L mg^{-1} c + 1,181 \pm 0,004$	0,9920
3	$A = (-0,0084 \pm 0,0009) L mg^{-1} c + 1,129 \pm 0,007$	0,9645

Na Tabela 15 são mostrados os parâmetros obtidos na validação do método, avaliados em dois níveis. Pode-se observar uma boa veracidade, uma vez que as recuperações ficaram dentro do limite aceitável estabelecido pela ANVISA, isto é, 80 – 120%^{102,103}. O método apresentou uma boa repetitividade, com valores inferiores a 20%, exceto no primeiro nível avaliado, o qual para o primeiro dia apresentou um coeficiente de variação de 49,9% e o terceiro dia de 24,2%. A precisão intermediária foi avaliada nos mesmos níveis apresentados, e apresentou resultados satisfatórios, isto é, recuperação entre 80-120% e o coeficiente de variação inferior a 20%.

Os Limites de Detecção e Quantificação foram, respectivamente, 0,17 e 0,51 mg L⁻¹.

Tabela 15. Avaliação da veracidade, repetitividade e precisão intermediária para o método colorimétrico empregando NPs Ag na determinação de deltametrina.

Concentração mg L ⁻¹	1º dia		2º dia		3º dia		Precisão intermediária	
	R*	CV**	R*	CV**	R*	CV**	R*	CV**
2,5	110,4	49,9	83,1	16,7	114,7	24,2	102,7	16,6
7,5	98,7	5,9	114,9	2,8	118,7	6,9	110,7	9,6

*Recuperação; **Coeficiente de variação. Ambos em porcentagem.

A seletividade do método foi avaliada, no qual foram selecionados alguns pesticidas de uso comum, como cipermetrina, endossulfam, tiametoxam, atrozina e clorpirifós. Todos solubilizados no co-solvente ACN. Os resultados são mostrados na Figura 39. Observa-se que o nanosensor de prata muda de coloração apenas na presença de deltametrina, indicando a seletividade do método.



Figura 39. NPAg em contato com diferentes pesticidas, onde: (A) padrão de NPs Ag com água; (B) padrão de NPs Ag com ACN; (C) NPs Ag com Cipermetrina; (D) NPs Ag com Deltametrina; (E) NPs Ag com Atrozina; (F) NPs Ag com Endossulfam; (G) NPs Ag com clorpirifós; (H) NPs Ag com Tiametoxam; (I) NPs Ag com Paratiora. Condições experimentais: concentração do solvente ACN: 25% (v/v); Concentração dos pesticidas: 10 mg L⁻¹.

5.7 Aplicação do método para amostra autêntica de água de torneira

O método foi aplicado em uma amostra autêntica de água potável. Essa amostra de água apresentou um pH de $6,67 \pm 0,01$ e uma condutância de $106 \pm 2 \mu\text{S/cm}$. Vale ressaltar que a água Tipo 1 apresentou um pH de $7,61 \pm 0,01$ e uma condutância de $0,89 \pm 0,06 \mu\text{S/cm}$. Ambas análises foram realizadas a $23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Foram construídas curvas analíticas com superposição de matriz (Figura 40). O método de superposição de matriz foi adotado para minimizar o efeito de matriz que pode ser causado pela presença de íons existentes em água tratada, como íons de cloro, flúor, sódio, potássio, etc. Fato comprovado pela maior condutância.

A qualidade dos ajustes foi comprovada pelo coeficiente de determinação (R^2), reportados na Tabela 16 e pelo gráfico de resíduos (gráfico não mostrado), em que os resíduos

se encontram distribuídos aleatoriamente ao redor do zero, não apresentando tendências. Na Tabela 16 encontram-se as equações das curvas analíticas bem como os coeficientes de determinação.

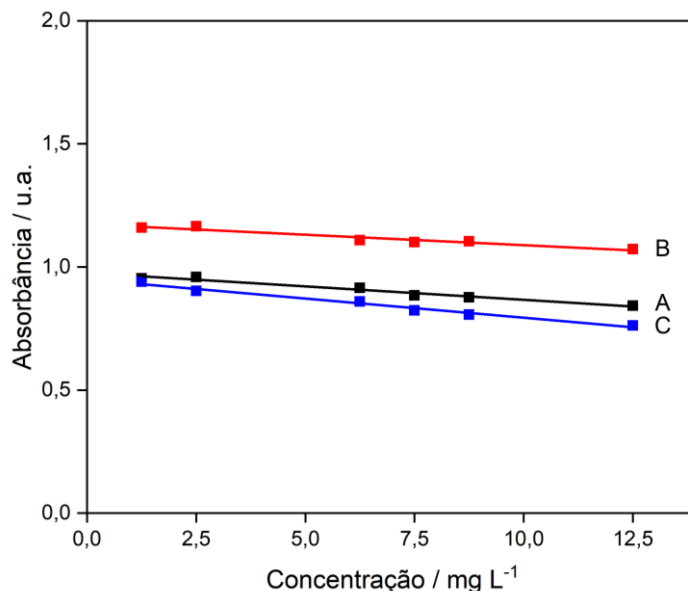


Figura 40. Curva analítica com superposição de matriz (água tratada) para delta-metrina feito em dias diferentes. (A) Dia 1; (B) Dia 2; (C) Dia 3. Condições experimentais: concentração de delta-metrina: 1,25 – 12,5 mg L⁻¹.

Tabela 16. Parâmetros analíticos obtidos ao quantificar a delta-metrina por NPs Ag em três dias distintos. Condições experimentais: concentração de delta-metrina: 0 – 12,5 mg L⁻¹

Dia	Equação da Reta	Coefficiente de determinação (R ²)
1	$A = (-0,011 \pm 0,001)L \text{ mg}^{-1} c + 0,976 \pm 0,008$	0,9643
2	$A = (-0,009 \pm 0,001)L \text{ mg}^{-1} c + 1,174 \pm 0,009$	0,9297
3	$A = (-0,015 \pm 0,001)L \text{ mg}^{-1} c + 0,949 \pm 0,008$	0,9812

Comparando a sensibilidade das curvas usando água Tipo 1 ($0,010 \pm 0,002$) e água de torneira ($0,012 \pm 0,003$), foram feitos testes estatísticos com o intuito de observar a presença ou ausência de efeitos de matriz: Teste F para avaliar a média das variâncias e o Teste T de *Student*, para avaliar a média das inclinações. Com base nos valores observados na Tabela 17 é possível observar que para o Teste F o valor tabelado é maior que o valor calculado, o que significa que as variâncias não diferem significativamente. Assim, a partir do resultado do Teste F, foi feito o Teste T, onde foi possível observar que o valor tabelado também é maior que o valor calculado, logo as médias das inclinações não diferem significativamente. Desse modo, com base em nesses resultados, conclui-se que não há efeito de matriz. Ainda, os limites de detecção

e quantificação foram praticamente o dobro em relação à água Tipo 1, isto é, 0,35 e 1,07 mg L⁻¹, respectivamente.

Tabela 17. Testes estatísticos realizados para avaliar se houve efeito de matriz.

Teste estatístico	Valor calculado	Valor tabelado
Teste F	5,1	19
Teste T de <i>Student</i>	0,75	2,78

Os parâmetros de mérito veracidade, repetitividade, precisão intermediária, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram determinados, conforme pré-estabelecido pela ANVISA^{102,103}. As análises apresentaram uma boa veracidade, uma vez que as recuperações dentro do intervalo de 80 – 120%. A repetitividade foi considerada satisfatória para o nível 2, com coeficiente de variação inferiores a 20%, entretanto para o nível 1, o primeiro e o segundo dia apresentou coeficientes de variação superiores a 20%. A precisão intermediária também foi considerada satisfatória com valores de recuperação entre 80 – 120% e coeficiente de variação inferior a 20%. Na Tabela 18 são mostrados os parâmetros e avaliados em dois níveis.

Tabela 18. Avaliação da veracidade, repetitividade e precisão intermediária para o método analítico empregando NPs Ag na determinação de deltametrina com superposição de matriz.

Concentração mg L ⁻¹	1º dia		2º dia		3º dia		Precisão intermediária	
	R*	CV**	R*	CV**	R*	CV**	R*	CV**
2,5	110,7	49,4	94,1	41,1	121,2	8,7	108,7	12,6
7,5	112,6	7,2	115,7	3,6	107,4	3,3	111,9	3,8

O método proposto foi comparado com outros métodos desenvolvidos para detecção de deltametrina e outros pesticidas piretróides (Tabela 19). Os limites de detecção e quantificação obtidos no presente trabalho são superiores a outros trabalhos. Porém, as vantagens da metodologia apresentada consiste na facilidade de manuseio da amostra além da possibilidade de análises *in situ*.

Contudo, ao comparar os parâmetros de ambas curvas analíticas (Figuras 38 e 40) e os parâmetros para validação feitos para a deltametrina é possível afirmar que a sua detecção por meio dos nanosensores de prata é um método seletivo, simples, de fácil manuseio e que pode ser utilizado para fazer análises *in situ*.

Tabela 19. Comparação entre os parâmetros linearidade, limite de detecção e quantificação dos métodos analíticos convencionais para detecção de deltametrina e o método analítico proposto.

Método analítico	Matriz	Linearidade	Limite de detecção e quantificação	Ref.
Método analítico proposto	Água	$R^2 > 0,96$	LD – 0,17 mg L⁻¹ LQ – 0,51 mg L⁻¹	Presente trabalho
Micro extração líquido-líquido e GC/MS 5 tipos de piretróides	Água	$R^2 = 0,9974$	LD – $2,1 \times 10^{-5}$ mg L ⁻¹ LQ – $6,5 \times 10^{-5}$ mg L ⁻¹	Fernández-Gutiérrez <i>et al.</i> ¹⁰⁴
Micro extração líquido-líquido e GC/FID 2 tipos de piretróides	Água	$R^2 = 0,9985$	LD – 2×10^{-4} mg L ⁻¹ LQ – 8×10^{-4} mg L ⁻¹	Haddadi <i>et al.</i> ¹⁰⁵
HPLC-UV 3 tipos de piretróides	Água ambiental	$R^2 = 0,9705$	LD – $4,6 \times 10^{-6}$ mg L ⁻¹ LQ – Não obtido	Zhou <i>et al.</i> ¹⁰⁶
GC-ECD 6 tipos de piretróides	Água do mar	$R^2 > 0,9912$	LD – $2,8 \times 10^{-5}$ mg L ⁻¹ LQ – $9,4 \times 10^{-5}$ mg L ⁻¹	Shi <i>et al.</i> ¹⁰⁷
GC/MS 7 tipos de piretróides	Água do mar	$R^2 = 0,9999$	LD – $3,0 \times 10^{-4}$ mg L ⁻¹ LQ – $8,0 \times 10^{-4}$ mg L ⁻¹	Gil-García <i>et al.</i> ¹⁰⁸
GC/MS 14 tipos de piretróides	Água do Rio Ebro (Espanha)	$R^2 = 0,9990$	LD – $3,80 \times 10^{-7}$ mg L ⁻¹ LQ – $1,25 \times 10^{-6}$ mg L ⁻¹	Feo <i>et al.</i> ¹⁰⁹
HPLS/MS Vários inseticidas	Águas superficiais	Não obteve	LD – $8,8 \times 10^{-8}$ mg L ⁻¹ LQ – Não obtido	Woudneh <i>et al.</i> ¹¹⁰
GC/MS 5 tipos de piretróides	Amostras de chá	$R^2 = 0,9907$	LD – $1,29 \times 10^{-5}$ mg g ⁻¹ LQ – $4,32 \times 10^{-5}$ mg g ⁻¹	Xu <i>et al.</i> ¹¹¹

Método analítico	Matriz	Linearidade	Limite de detecção e quantificação	Ref.
GC/MS - IT 16 tipos piretróides	Amostras de chá	Não obteve	LD – $5,0 \times 10^{-5}$ mg g ⁻¹ LQ – Não obtido	Hau <i>et. al.</i> ¹¹²
HPLC/UV 2 tipos de piretróides	Tecidos suínos	$R^2 > 0,9999$	LD – $1,7 \times 10^{-5}$ mg g ⁻¹ LQ – $5,6 \times 10^{-5}$ mg g ⁻¹	Cheng <i>et. al.</i> ¹¹³

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

6 Conclusão

Diante dos resultados apresentados, pode-se concluir que foi possível desenvolver um método colorimétrico empregando nanopartículas de prata para detecção de deltametrina em sistemas aquosos. Destaca-se como grande vantagem da metodologia proposta a possibilidade de análises *in situ*.

Além disso foi possível otimizar a síntese das NPs Ag e caracterizá-las por meio das técnicas de Espectroscopia de Absorção Molecular UV/Vis, Espalhamento Dinâmico de Luz, Microscopia Eletrônica de Transmissão, Potencial Zeta e Espectroscopia no Infravermelho. A estabilidade das NPs Ag também foi avaliada e, dentre os estabilizantes avaliados, aqueles que obtiveram êxito na estabilização das suspensões de NPs Ag foram o dodecil sulfato de sódio e o polivinilpirrolidona. Porém, tais estabilizantes inviabilizaram o emprego das NPs Ag como nanosensores de deltametrina.

Quanto ao uso de co-solventes, próticos e apróticos, os próticos promoveram um deslocamento batocrômico da banda de ressonância plasmônica das NPs Ag, enquanto os apróticos, como a acetona apresentou deslocamento da banda. Assim, a acetonitrila foi selecionada para solubilizar a deltametrina e prosseguir com a validação do método.

Por fim, o método analítico para detecção de deltametrina foi validado, avaliando os parâmetros limites de detecção e quantificação, seletividade, faixa linear de trabalho, exatidão, repetitividade e precisão intermediária, os quais apresentaram resultados satisfatórios.

7 Sugestão para futuros trabalhos

Como perspectivas para futuros trabalhos envolvendo nanosensores de prata, propõe-se:

- Investigar a interação entre os nanosensores de prata e o agente redutor borohidreto de sódio;
- Substituir o redutor borohidreto de sódio, com o intuito de avaliar a estabilidade das NPs Ag com outros redutores;
- Investigar a síntese das NPs Ag com agentes redutores que colaborem com o princípio da química verde;
- Avaliar a estabilidade das NPs Ag na presença de outros agentes estabilizantes e, posteriormente, avaliar a detecção em matrizes complexas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pavela R. History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects - A review. *Plant Prot Sci.* 2016;52(4):229-241. doi:10.17221/31/2016-PPS
2. Moreira RJ. *Críticas Ambientalistas à Revolução Verde.*; 2000.
3. Borsoi A, Santos PRR dos, Taffarel LE, Gonçalves Junior AC. Agrotóxicos: histórico, atualidades e meio ambiente Augustinho. *Acta Iguazu.* 2014;3(1):86-100.
4. Diana Cléssia Vieira Belchior, Saraiva A de S, Córdova LAM, Scheidt GN. Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde humana. *Cad Ciência Tecnol Brasília.* 2017;34:135-151.
5. Brasil. Registros de agrotóxicos consedidos no período de 2005 a 2019 - atualizado em 16/09/2019. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>. Published 2019.
6. Pignati WA, e Lima FAN de S, de Lara SS, et al. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: Uma ferramenta para a vigilância em saúde. *Cienc e Saude Coletiva.* 2017;22(10):3281-3293. doi:10.1590/1413-812320172210.17742017
7. ANVISA. *Guia Para Elaboração De Rótulo E Bula De Agrotóxicos, Afins E Preservativos De Madeira.*; 2018.
8. ANVISA. Relatório das análises de mostras monitoradas no período de 2013 a 2015. *Programa Análise Resíduos Agrotóxicos Em Aliment - Para.* 2016:246.
9. Brasil. Produtos agrotóxicos. Ministério do Meio Ambiente. <https://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/gestao-das-substancias-quimicas/produtos-agrotóxicos.html>. Published 2015.
10. ANVISA. *Distribuição Dos Grupos Químicos de Agrotóxicos.*; 2011.
11. Bradberry SM, Cage SA, Proudfoot AT, Vale JA. Poisoning due to Pyrethroids. *Toxicol Rev.* 2016;24:93-106. doi:10.2165/00139709-200524020-00003

12. Montanha FP, Pimpão CT. Efeitos toxicológicos de piretróides (cipermetrina e deltametrina) em peixes. *Rev Científica Eletrônica Med Veterinária*. 2012;9(18):58.
13. Pimpão CT, Zampronio AR, Silva de Assis HC. Effects of deltamethrin on hematological parameters and enzymatic activity in *Ancistrus multispinis* (Pisces, Teleostei). *Pestic Biochem Physiol*. 2007;88(2):122-127. doi:10.1016/j.pestbp.2006.10.002
14. El-Sayed YS, Saad TT. Subacute intoxication of a deltamethrin-based preparation (Butox® 5% EC) in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008;102(3):293-299. doi:10.1111/j.1742-7843.2007.00157.x
15. El-Sayed YS, Saad TT, El-Bahr SM. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2007;24(3):212-217. doi:10.1016/j.etap.2007.05.006
16. Tramuja FF, Fávalo LF, Pauka LM, Assis HCS de. Aspectos reprodutivos do peixe-zebra, *Danio Rario*, exposto a doses subletais de deltametrina. *Arch Vet Sci*. 2006;11(1):48-53.
17. Bayer SA. Bula do Decis 25 EC. 2004:1-20.
18. Bragança I, Mucha AP, Tomasino MP, et al. Deltamethrin impact in a cabbage planted soil: Degradation and effect on microbial community structure. *Chemosphere*. 2019;220:1179-1186. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.01.004
19. Liu X, Li L, Liu YQ, et al. Ultrasensitive detection of deltamethrin by immune magnetic nanoparticles separation coupled with surface plasmon resonance sensor. *Biosens Bioelectron*. 2014;59:328-334. doi:10.1016/j.bios.2014.03.020
20. Nortox SA. Cipermetrina Nortox 250 EC. 2006:1-15.
21. Singh PB, Singh V. Cypermethrin induced histological changes in gonadotrophic cells, liver, gonads, plasma levels of estradiol-17 β and 11-ketotestosterone, and sperm motility in *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Chemosphere*. 2008;72(3):422-431. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.02.026
22. Cunha EO, Reis A dos, Macedo MB, Machado MS, Dallegrave E. Ototoxicity of cypermethrin in Wistar rats. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2019;(xx).

doi:10.1016/j.bjorl.2019.02.007

23. Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. *Princípio de Análises Instrumental*. 5ª edição. (Bookman, ed.). Porto Alegre; 2002.
24. Daniel C. Harris. *Análise Química Quantitativa*. Vol 1. 7 eh. (LTC, ed.). Rio de Janeiro; 1948.
25. Queiroz JER de, Gomes HM. Introdução ao Processamento Digital de Imagens Considerações Iniciais. *Rita instruções para Prep Doc em Word*. 2001;8(1):1-31.
26. Snell FD, Snell CT. *Colorimetric Methods of Analysis - Including Photometric Methods*. 1 st. (Company VNR, ed.). New York; 1970.
27. Pessoa KD. Desenvolvimento, otimização e validação de metodologia analítica baseada em imagens digitais de spot test para determinação de cobre e etanol em cachaça. 2016.
28. Pridmore RW. Complementary colors: The structure of wavelength discrimination, uniform hue spectral sensitivity, saturation, chromatic adaptation, and chromatic induction. *Color Res Appl*. 2009;34(3):233-252. doi:10.1002/col.20490
29. Deeb R, Ooms K, Brychtová A, Van Eetvelde V, De Maeyer P. Background and foreground interaction: Influence of complementary colors on the search task. *Color Res Appl*. 2015;40(5):437-445. doi:10.1002/col.21920
30. Pridmore RW. Relative wavelength metric for the complete hue cycle: Derivation from complementary wavelengths. *Color Res Appl*. 2010;35(2):122-133. doi:10.1002/col.20534
31. Zeraik AE, De Souza FSA, Fatibello-Filho O, Leite OD. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. *Quim Nova*. 2008;31(4):731-734.
32. Moraes LD de M. Desenvolvimento e validação de método para determinação de fluoroquinolonas por nanopartículas de prata. 2018.
33. Wang C, Xu L, Wang Y, et al. Fluorescent silver nanoclusters as effective probes for highly selective detection of mercury(II) at parts-per-billion levels. *Chem - An Asian J*. 2012;7(7):1652-1656. doi:10.1002/asia.201200033

34. Zhang J, Wang L, Pan D, et al. Visual cocaine detection with gold nanoparticles and rationally engineered aptamer structures. *Small*. 2008;4(8):1196-1200. doi:10.1002/sml.200800057
35. Kalita M, Balivada S, Swarup VP, et al. A nanosensor for ultrasensitive detection of oversulfated chondroitin sulfate contaminant in heparin. *J Am Chem Soc*. 2014;136(2):554-557. doi:10.1021/ja409170z
36. Andreou C, Hoonejani MR, Barmi MR, Moskovits M, Meinhart CD. Rapid Detection of Drugs of Abuse in Saliva Using Surface Enhanced Raman Spectroscopy and Microfluidics. *ACSNANO*. 2013;(8):7157-7164.
37. Ravindran A, Elavarasi M, Prathna TC, Raichur AM, Chandrasekaran N, Mukherjee A. Selective colorimetric detection of nanomolar Cr (VI) in aqueous solutions using unmodified silver nanoparticles. *Sensors Actuators, B Chem*. 2012;166-167:365-371. doi:10.1016/j.snb.2012.02.073
38. Xiong D, Li H. Colorimetric detection of pesticides based on calixarene modified silver nanoparticles in water. *Nanotechnology*. 2008;19(46). doi:10.1088/0957-4484/19/46/465502
39. Xu Q, Du S, Jin G di, Li H, Hu XY. Determination of acetamiprid by a colorimetric method based on the aggregation of gold nanoparticles. *Microchim Acta*. 2011;173(3-4):323-329. doi:10.1007/s00604-011-0562-y
40. Shrivastava K, Sahu S, Sahu B, et al. Silver nanoparticles for selective detection of phosphorus pesticide containing π -conjugated pyrimidine nitrogen and sulfur moieties through non-covalent interactions. *J Mol Liq*. 2019;275:297-303. doi:10.1016/j.molliq.2018.11.071
41. Smith JE, Chávez JL, Hagen JA, Kelley-Loughnane N. Design and development of aptamer-gold nanoparticle based colorimetric assays for in-the-field applications. *J Vis Exp*. 2016;2016(112):1-10. doi:10.3791/54063
42. Huang PC, Gao N, Li JF, Wu FY. Colorimetric detection of methionine based on anti-aggregation of gold nanoparticles in the presence of melamine. *Sensors Actuators, B Chem*. 2018;255:2779-2784. doi:10.1016/j.snb.2017.09.092

43. Zarbin AJG. Química De (Nano)Materiais. *Quim Nova*. 2007;30(6):1469-1479.
44. Khan Z, AL-Thabaiti SA, Obaid AY, Khan ZA, Al-Youbi AO. Effects of solvents on the stability and morphology of CTAB-stabilized silver nanoparticles. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp*. 2011;390(1-3):120-125. doi:10.1016/j.colsurfa.2011.09.015
45. Solomon SD, Mulfinger L, Bahadory M, Jeyarajasingam A V., Rutkowsky SA, Boritz C. Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. *J Chem Educ*. 2007;84(2):322. doi:10.1021/ed084p322
46. Martins MA, Trindade T. Os nanomateriais e a descoberta de novos mundos na bancada do químico. *Quim Nova*. 2012;35(7):1434-1446.
47. Paschoalino MP, Marcone GPS, Jardim WF. Os nanomateriais e a questão ambiental. *Quim Nov Nov*. 2010;33(2):421-430. doi:10.1590/S0100-40422010000200033
48. Melo MA, Santos LSS, Do Carmo Gonçalves M, Nogueira AF. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: Um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. *Quim Nova*. 2012;35(9):1872-1878. doi:10.1590/S0100-40422012000900030
49. Lad AN, Pandya A, Agrawal YK. Overview of nano-enabled screening of drug-facilitated crime: A promising tool in forensic investigation. *Trends Anal Chem*. 2016;80:458-470. doi:10.1016/j.trac.2015.07.016
50. Quina FH. Nanotecnologia e o meio ambiente: perspectivas e riscos. *Quim Nova*. 2004;27(6):1028-1029. doi:10.1590/S0100-40422004000600031
51. Ghosh SK, Nath S, Kundu S, Esumi K, Pal T. Solvent and ligand effects on the localized surface plasmon resonance (LSPR) of gold colloids. *J Phys Chem B*. 2004;108(37):13963-13971. doi:10.1021/jp047021q
52. Guo L, Jackman JA, Yang HH, Chen P, Cho NJ, Kim DH. Strategies for enhancing the sensitivity of plasmonic nanosensors. *Nano Today*. 2015;10(2):213-239. doi:10.1016/j.nantod.2015.02.007
53. Li K, Qin W, Li F, et al. Nanoplasmonic imaging of latent fingerprints and identification of cocaine. *Angew Chemie - Int Ed*. 2013;52(44):11542-11545. doi:10.1002/anie.201305980

54. Abnous K, Danesh NM, Ramezani M, Taghdisi SM, Emrani AS. A novel colorimetric aptasensor for ultrasensitive detection of cocaine based on the formation of three-way junction pockets on the surfaces of gold nanoparticles. *Anal Chim Acta*. 2018;1020:110-115. doi:10.1016/j.aca.2018.02.066
55. Mohseni N, Bahram M, Baheri T. Chemical nose for discrimination of opioids based on unmodified gold nanoparticles. *Sensors Actuators, B Chem*. 2017;250:509-517. doi:10.1016/j.snb.2017.04.145
56. Mao K, Yang Z, Li J, Zhou X, Li X, Hu J. A novel colorimetric biosensor based on non-aggregated Au@Ag core-shell nanoparticles for methamphetamine and cocaine detection. *Talanta*. 2017;175(April):338-346. doi:10.1016/j.talanta.2017.07.011
57. Pinto V V., Ferreira MJ, Silva R, Santos HA, Silva F, Pereira CM. Long time effect on the stability of silver nanoparticles in aqueous medium: Effect of the synthesis and storage conditions. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp*. 2010;364(1-3):19-25. doi:10.1016/j.colsurfa.2010.04.015
58. Garcia MA, Zhang X, Chen YL, Liu R-S. *Surface Plasmons in Metallic Nanoparticles: Fundamentals and Applications*. Vol 45.; 2012. doi:10.1088/0022-3727/45/38/389501
59. Netto-Ferreira JC. Catalytic reactions employing the plasmon effect of supported metal nanoparticles. *Rev Virtual Quim*. 2015;7(1):165-217. doi:10.5935/1984-6835.20150010
60. Kelly KL, Coronado E, Zhao LL, Schatz GC. The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment. *J Phys Chem B*. 2003;107(3):668-677. doi:10.1021/jp026731y
61. Halliday D, Resnick R. *Fundamentos de Física - Gravitação, Ondas e Termodinâmica*. 9th ed. (LTC - Livros técnicos e científicos editora ltda, ed.). Rio de Janeiro; 2012.
62. Murphy CJ, Jana NR. Controlling the aspect ratio of inorganic nanorods and nanowires. *Adv Mater*. 2002;14(1):80-82.
63. Song KC, Lee SM, Park TS, Lee BS. Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method. *Korean J Chem Eng*. 2009;26(1):153-155. doi:10.1007/s11814-009-0024-y
64. Levard C, Reinsch BC, Michel FM, Oumahi C, Lowry G V., Brown GE. Sulfidation

- processes of PVP-coated silver nanoparticles in aqueous solution: Impact on dissolution rate. *Environ Sci Technol.* 2011;45(12):5260-5266. doi:10.1021/es2007758
65. Fletcher ND, Lieb HC, Mullaugh KM. Stability of silver nanoparticle sulfidation products. *Sci Total Environ.* 2019;648:854-860. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.08.239
66. Yusuf A, Casey A. Toxicology in Vitro Surface modification of silver nanoparticle (AgNP) by liposomal encapsulation mitigates AgNP-induced inflammation. *Toxicol Vitro.* 2019;61(August):104641. doi:10.1016/j.tiv.2019.104641
67. Verkhovskii R, Kozlova A, Atkin V, Kamyshinsky R, Shulgina T, Nechaeva O. Physical properties and cytotoxicity of silver nanoparticles under different polymeric stabilizers. *Heliyon.* 2019;5(3):e01305. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01305
68. Pinto EP, Quaresma G, Duarte H, Filho F. O Microscópio de Força Atômica (AFM): importante ferramenta no estudo da morfologia de superfícies na escala nanométrica. *Estação Científica (UNIFAP).* 2013;3(2):41-50.
69. Mondal S, Verma S. Catalytic and SERS activities of tryptophan-EDTA capped silver nanoparticles. *Zeitschrift fur Anorg und Allg Chemie.* 2014;640(6):1095-1101. doi:10.1002/zaac.201400056
70. Yu SJ, Yin YG, Chao JB, Shen MH, Liu JF. Highly dynamic PVP-coated silver nanoparticles in aquatic environments: Chemical and morphology change induced by oxidation of Ag⁰ and reduction of Ag⁺. *Environ Sci Technol.* 2014;48(1):403-411. doi:10.1021/es404334a
71. Gandubert VJ, Lennox RB. Assessment of 4-(dimethylamino)pyridine as a capping agent for gold nanoparticles. *Langmuir.* 2005;21(14):6532-6539. doi:10.1021/la050195u
72. Thomas KG, Kamat P V. Chromophore-Functionalized Gold Surface Binding Properties of Capped Au. 2003;36(12):888-898.
73. Ito K, Hayakawa R. Quasi-elastic light scattering with the sinusoidal electric field: New measurement methods and frequency dispersion of the electrophoretic mobility and diffusion constant of polyions. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp.* 1999;148(1-2):135-148. doi:10.1016/S0927-7757(98)00597-4
74. Dhont JKG. *An Introduction to Dynamics of Colloids (Studies in Interface Science).*;

- 1996.
75. Schärfl W. *Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersion*. Vol 1.; 2007.
76. Teles VC, Andreani L, Valadares LF. *Uso de Microscopia de Luz e Eletrônica Como Técnicas de Análise Morfológica*. Brasília; 2017.
77. Malatesta M. Transmission electron microscopy for nanomedicine: novel applications for long-established techniques. *Eur J Histochem*. 2016;60(4):280-284. doi:10.4081/ejh.2016.2751
78. Chen X, Zheng B, Liu H. Optical and digital microscopic imaging techniques and applications in pathology. *Anal Cell Pathol*. 2011;34:5-18. doi:10.3233/ACP-2011-0006
79. Rodrigues ADG. Espectroscopias de infravermelho , Raman e de fotoluminescência : potencialidades e complementaridades. *Rev Bras Ensino Física*. 2012;4309(34):9.
80. Țucureanu V, Matei A, Avram AM. FTIR Spectroscopy for Carbon Family Study. *Crit Rev Anal Chem*. 2016;46(6):502-520. doi:10.1080/10408347.2016.1157013
81. Wiercigroch E, Szafraniec E, Czamara K, et al. Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc*. 2017;185:317-335. doi:10.1016/j.saa.2017.05.045
82. Chen Y, Zou C, Mastalerz M, Hu S, Gasaway C, Tao X. Applications of micro-fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) in the geological sciences—A Review. *Int J Mol Sci*. 2015;16(12):30223-30250. doi:10.3390/ijms161226227
83. Delgado A V., González-Caballero F, Hunter RJ, Koopal LK, Lyklema J. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena: (IUPAC technical report). *Pure Appl Chem*. 2005;77(10):1753-1805. doi:10.1351/pac200577101753
84. Industria II para pesquisa e. Potencial Zeta e estabilidade coloidal. <http://www.instrutecnica.com/represen/bic/teoriazeta.html>. Published 2011.
85. Malvern IW. *Zeta Potential: An Introduction in 30 Minutes*. Vol 1.; 2015.
86. Fernando I, Zhou Y. Impact of pH on the stability, dissolution and aggregation kinetics of silver nanoparticles. *Chemosphere*. 2019;216:297-305.

doi:10.1016/j.chemosphere.2018.10.122

87. Navarro Gallón SM, Alpaslan E, Wang M, et al. Characterization and study of the antibacterial mechanisms of silver nanoparticles prepared with microalgal exopolysaccharides. *Mater Sci Eng C*. 2019;99(January 2017):685-695. doi:10.1016/j.msec.2019.01.134
88. Michna A, Morga M, Adamczyk Z, Kubiak K. Monolayers of silver nanoparticles obtained by green synthesis on macrocation modified substrates. *Mater Chem Phys*. 2019;227(February):224-235. doi:10.1016/j.matchemphys.2019.01.072
89. Lodha A, Pandya A, Sutariya PG, Menon SK. Melamine modified gold nanoprobe for on-spot colorimetric recognition of clonazepam from biological specimens. *Analyst*. 2013;138(18):5411-5416. doi:10.1039/c3an00184a
90. De La Presa P, Multigner M, De La Venta J, García MA, Ruiz-González ML. Structural and magnetic characterization of oleic acid and oleylamine-capped gold nanoparticles. *J Appl Phys*. 2006;100(12). doi:10.1063/1.2401314
91. Karelin AI, Leonova LS, Arsatov A V., Dobrovol'Skii YA. Water adsorption on tin hydroxide and its effect on the contour of the infrared absorption band $\nu(\text{OH})$. *Russ J Inorg Chem*. 2013;58(5):563-569. doi:10.1134/S0036023613050094
92. Dean JA. *Lange's Handbook of Analytical Chemistry*. 15th ed. (McGraw-Hill Professional, ed.); 1999.
93. Wanarska E, Maliszewska I. The possible mechanism of the formation of silver nanoparticles by *Penicillium cyclopium*. *Bioorg Chem*. 2019;(February):1-9. doi:10.1016/j.bioorg.2019.02.028
94. Minkina VG, Shabunya SI, Kalinin VI, Martynenko V V., Smirnova AL. Stability of alkaline aqueous solutions of sodium borohydride. *Int J Hydrogen Energy*. 2012;37(4):3313-3318. doi:10.1016/j.ijhydene.2011.10.068
95. Marrero-Alfonso EY, Gray JR, Davis TA, Matthews MA. Minimizing water utilization in hydrolysis of sodium borohydride: The role of sodium metaborate hydrates. *Int J Hydrogen Energy*. 2007;32(18):4723-4730. doi:10.1016/j.ijhydene.2007.08.014
96. Amendola SC, Sharp-Goldman SL, Janjua MS, et al. A Safe, portable, hydrogen gas

- generator using aqueous borohydride solution and Ru catalyst. *Int J Hydrogen Energy*. 2000;25(10):969-975. doi:10.1016/S0360-3199(00)00021-5
97. Hung AJ, Tsai SF, Hsu YY, Ku JR, Chen YH, Yu CC. Kinetics of sodium borohydride hydrolysis reaction for hydrogen generation. *Int J Hydrogen Energy*. 2008;33(21):6205-6215. doi:10.1016/j.ijhydene.2008.07.109
98. Liu J, Lee JB, Kim DH, Kim Y. Preparation of high concentration of silver colloidal nanoparticles in layered laponite sol. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp*. 2007;302(1-3):276-279. doi:10.1016/j.colsurfa.2007.02.040
99. Vanysek P. Electrochemical Series - CRC Handbook of Chemistry and Physics. In: *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 87th Edition*. Vol 91. ; 2005:1-10.
100. Gentile F, Coluccio ML, Toma A, et al. Electroless deposition dynamics of silver nanoparticles clusters: A diffusion limited aggregation (DLA) approach. *Microelectron Eng*. 2012;98:359-362. doi:10.1016/j.mee.2012.07.041
101. Braga FL, Ribeiro MS. Diffusion Limited Aggregation: Algorithm optimization revisited. *Comput Phys Commun*. 2011;182(8):1602-1605. doi:10.1016/j.cpc.2011.04.005
102. ANVISA. Guia para tratamento estatístico de validação. *Guia Nº 10/2017 - Versão 1*. 2018:19.
103. ANVISA. Resolução da diretoria colegiada - RDC Nº 166. *Agência Nac Vigilância Sanitária*. 2017;2017.
104. Fernández-Gutiérrez A, Martínez-Vidal JL, Arrebola-Liébanas FJ, Gonzalez-Casado A, Vílchez JL. Determination of endosulfan and some pyrethroids in waters by micro liquid-liquid extraction and GC-MS. *Fresenius J Anal Chem*. 1998;360(5):568-572. doi:10.1007/s002160050760
105. Haddadi H, Shirani M, Semnani A, Rezaee M, Mashayekhi HA, Hosseinian A. Simultaneous determination of deltamethrin and permethrin in water samples using homogeneous liquid-liquid microextraction via flotation assistance and GC-FID. *Chromatographia*. 2014;77(9-10):715-721. doi:10.1007/s10337-014-2666-0
106. Zhou QX, Xie GH, Xiao JP, Wang WD, Ding YJ. Sensitive determination of

- fenprothrin, cyhalothrin and deltamethrin in environmental water samples using multiwalled carbon nanotubes cartridge prior to HPLC. *Chinese Chem Lett.* 2008;19(1):95-98. doi:10.1016/j.ccllet.2007.10.044
107. Shi X, Liu J, Sun A, Li D, Chen J. Group-selective enrichment and determination of pyrethroid insecticides in aquaculture seawater via molecularly imprinted solid phase extraction coupled with gas chromatography-electron capture detection. *J Chromatogr A.* 2012;1227:60-66. doi:10.1016/j.chroma.2012.01.012
108. Gil-García MD, Barranco-Martínez D, Martínez-Galera M, Parrilla-Vázquez P. Simple, rapid solid- phase extraction procedure for the determination of ultra- trace levels of pyrethroids in ground and sea water by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectroscopy. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2006;20:2395-2403. doi:10.1002/rcm.2600
109. Feo ML, Eljarrat E, Barceló D. A rapid and sensitive analytical method for the determination of 14 pyrethroids in water samples. *J Chromatogr A.* 2010;1217(15):2248-2253. doi:10.1016/j.chroma.2010.02.018
110. Woudneh MB, Oros DR. Quantitative determination of pyrethroids, pyrethrins, and piperonyl butoxide in surface water by high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometry. *J Agric Food Chem.* 2006;54(19):6957-6962. doi:10.1021/jf0609431
111. Xu H, Sun X, Song D. New sorptive extraction method based on polydimethylsiloxane sieve combined with GC-MS for determination of pyrethroid residues in tea. *Anal Methods.* 2012;4(12):4161-4167. doi:10.1039/c2ay25918d
112. Hua K, Hong M, Xiaolin H, Yunfeng Z, Yongning W, Chuanlai X. Simultaneous determination of 16 pyrethroid residues in tea samples using gas chromatography and ion trap mass spectrometry. *J Chromatogr Sci.* 2010;48(9):771-776. doi:10.1093/chromsci/48.9.771
113. Cheng J, Liu M, Yu Y, et al. Determination of pyrethroids in porcine tissues by matrix solid-phase dispersion extraction and high-performance liquid chromatography. *Meat Sci.* 2009;82(4):407-412. doi:10.1016/j.meatsci.2008.09.011