



**UnB**

**Universidade de Brasília  
Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química  
Laboratório de Pesquisa em Polímeros e Nanomateriais**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**SÍNTESE FOTOQUÍMICA E CARACTERIZAÇÃO DE  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA NA PRESENÇA DE AMIDO**

**MICHELE AVILA DOS SANTOS**

**Orientadora: Prof. Dra. Maria José Araújo Sales  
Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno**

**Brasília, DF**

**2016**

**Universidade de Brasília**  
**Instituto de Química**  
**Programa de Pós-Graduação em Química**  
**Laboratório de Pesquisa em Polímeros e Nanomateriais**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**SÍNTESE FOTOQUÍMICA E CARACTERIZAÇÃO DE  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA NA PRESENÇA DE AMIDO**

**MICHELE AVILA DOS SANTOS**

**Orientadora: Prof. Dra. Maria José Araújo Sales**  
**Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno**

**Brasília, DF**

**2016**



## Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Dissertação de Mestrado do (a) aluno (a) **Michele Avila dos Santos**, matrícula nº 15/0104057, intitulada "*Síntese fotoquímica e caracterização de nanopartículas de prata na presença de amido*", apresentada no (a) Auditório Lauro Morhy do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 13 de dezembro de 2016.

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria José Araújo Sales  
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof. Dr. Luciano Paulino da Silva  
Membro Titular (CENARGEN/EMBRAPA)

Prof. Dr. José Roberto dos Santos Politi  
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Márcia Murta  
Membro Suplente (IQ/UnB)

Em 13 de dezembro de 2016.

À minha família por todo amor, carinho,  
apoio e incentivo que dedicaram  
incondicionalmente a mim.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder oportunidades de superar minhas limitações.

À minha família pelo amor e carinho incondicionais, em especial, ao meu esposo por me incentivar a sempre seguir em frente, aos meus pais e a minha irmã por me apoiarem em todos os momentos.

À minha orientadora profa. Dra. Maria José Araújo Sales pela amizade, dedicação e ensinamentos, que contribuíram significativamente para o meu crescimento profissional e pessoal.

Ao meu coorientador prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno pela paciência, pela disponibilidade, pela importante e fundamental colaboração científica no desenvolvimento deste trabalho e por tudo que me ensinou durante este período.

Ao prof. Dr. Sanclayton G. C. Moreira do Instituto de Física da Universidade Federal do Pará (UFPA) pelas análises de espectroscopia Raman.

Aos colegas Alan Baggio e Priscila Rios por me auxiliarem na operação de alguns equipamentos.

Aos meus amigos do Laboratório de Pesquisa em Polímeros e Nanomateriais (LabPolN) pelos momentos de descontração, pelas discussões e pelos incentivos.

Ao IQ-UnB pela infraestrutura e suporte proporcionados.

À Tatiane Oliveira pelas análises de MET e EDS realizadas no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Ao prof. Ricardo Bentes de Azevedo por possibilitar as análises de diâmetro hidrodinâmico e potencial Zeta realizadas no Laboratório de Nanobiotecnologia.

À CAPES e ao CNPQ pelo apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

|   |     |
|---|-----|
| ÍNDICE DE FIGURAS .....   | vii |
| ÍNDICE DE TABELAS .....   | ix  |
| LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS .....   | x   |
| RESUMO .....  | xi  |
| 1. Introdução e Objetivos .....   | 1   |
| 1.1. Introdução .....   | 1   |
| 1.2. Objetivos .....  | 2   |
| 2. Revisão Bibliográfica .....  | 4   |
| 2.1. Nanopartículas de prata .....  | 4   |
| 2.2. Síntese verde de nanopartículas de prata .....   | 6   |
| 2.3. Amido .....  | 8   |
| 3. Materiais e Métodos .....  | 11  |
| 3.1. Materiais .....  | 11  |
| 3.2. Preparo do amido .....   | 11  |
| 3.3. Síntese de AgNP .....  | 14  |
| 3.4. Determinação do agente nucleante/redutor .....   | 16  |
| 3.5. Estudo da cinética da síntese fotoquímica de AgNP em amido de batata .....                                 | 17  |
| 3.6. Caracterização das suspensões coloidais .....  | 19  |
| 3.6.1 Espalhamento de luz dinâmico (DLS), índice de Polidispersão (PDI) e potencial Zeta .....                  | 20  |
| 3.6.2 Voltametria de pulso diferencial (VPD) .....  | 20  |
| 3.6.3 Microscopia eletrônica de transmissão (MET) e Espectrometria de energia dispersiva de raios X (EDS) ..... | 20  |
| 3.6.4 Espectroscopia de fluorescência .....   | 21  |
| 3.6.5 Análise estatística e gráfica .....   | 21  |
| 4. Resultados e Discussão .....   | 22  |
| 4.1. Determinação do agente nucleante/redutor .....   | 22  |
| 4.2. Estudo da cinética da síntese fotoquímica de AgNP em amido de batata .....                                 | 30  |
| 4.3. Caracterização das suspensões coloidais de AgNP .....  | 44  |
| 5. Conclusões .....   | 58  |
| 6. Sugestões para trabalhos futuros .....   | 59  |
| 7. Bibliografia .....   | 60  |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Esquemas das sínteses fotoquímicas adaptado. ....  | 7  |
| <b>Figura 2.</b> Estrutura química (a) da amilose e (b) da amilopectina.....  | 9  |
| <b>Figura 3.</b> Imagem digital do sistema utilizado para o preparo do amido. ....  | 12 |
| <b>Figura 4.</b> Imagem digital da caixa UV utilizada para irradiar as amostras. ....   | 14 |
| <b>Figura 5.</b> Foto digital das lâminas de vidro contendo gotas das amostras ACT A0, ACT A10, BAT A0 e BAT A10 antes de secarem.....  | 17 |
| <b>Figura 6.</b> Esquema dos sistemas testados em diferentes iluminações. ....  | 17 |
| <b>Figura 7.</b> Esquema da relação das diferentes concentrações de nitrato de prata usadas na análise cinética.....  | 18 |
| <b>Figura 8.</b> Esquema da relação das diferentes concentrações de amido de batata usadas na análise cinética.....   | 19 |
| <b>Figura 9.</b> Espectros de absorção UV-vis das suspensões de: (a) amido de mandioca acetilado ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ) e (b) amido de batata ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ), ambas com 30 mM de $\text{AgNO}_3$ , antes da exposição à radiação UV e após 1, 3, 5, 10, 15 e 30 min de irradiação. ....   | 23 |
| <b>Figura 10.</b> Imagens digitais das amostras de amido de mandioca acetilado e amido de batata ambas com 30 mM de $\text{AgNO}_3$ (a) antes da irradiação e (b) após 10 min de irradiação UV....  | 24 |
| <b>Figura 11.</b> Espectros de absorção UV-vis das suspensões controle de (a) amido de mandioca acetilado ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ), (b) amido de batata ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ) puras e da (c) solução aquosa de nitrato de prata (30 mM), após diferentes tempos de de exposição à radiação UV e suas respectivas imagens digitais, após 10 min de irradiação. .... | 25 |
| <b>Figura 12.</b> Esquema da reação de síntese de AgNP. ....  | 27 |
| <b>Figura 13.</b> Espectros Raman das amostras (a) ACT A0 e ACT A10 e (b) BAT A0 e BAT A10. ....  | 29 |
| <b>Figura 14.</b> Espectros de absorção UV-vis das suspensões de amido de batata ( $1,25 \text{ g.L}^{-1}$ ) com $\text{AgNO}_3$ (30 mM) (a) armazenada protegida da luz por 192 h, (b) irradiada por luz UV por 400 min e (c) exposta à luz ambiente por 192 h, todas mantidas a $20^\circ\text{C}$ , e suas imagens digitais em determinados tempos. ....           | 32 |
| <b>Figura 15.</b> Imagens digitais das amostras S1, S2, S3, S4 e S5 (a) antes da exposição à radiação UV e depois de (b) 5 min e de (c) 30 min de irradiação. ....  | 34 |
| <b>Figura 16.</b> Espectros de absorção UV-vis das suspensões com $1,25 \text{ g.L}^{-1}$ de amido: (a) S1 ( $0,03 \text{ mM}$ de $\text{AgNO}_3$ ), (b) S2 ( $1 \text{ mM}$ de $\text{AgNO}_3$ ), (c) S3 ( $3 \text{ mM}$ de $\text{AgNO}_3$ ) após diferentes tempos de irradiação de luz UV, durante 300 min de exposição. ....                                    | 35 |
| <b>Figura 17.</b> Espectros de absorção UV-vis das suspensões com $1,25 \text{ g.L}^{-1}$ de amido: (a) S4 ( $10 \text{ mM}$ de $\text{AgNO}_3$ ) e (b) S5 ( $30 \text{ mM}$ de $\text{AgNO}_3$ ), após diferentes tempos de irradiação de luz UV, durante 300 min de exposição. ....   | 36 |
| <b>Figura 18.</b> Espectros de absorção UV-vis das suspensões com (a) $0,25 \text{ g.L}^{-1}$ e (b) $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ de amido, ambas contendo 30 mM de $\text{AgNO}_3$ , após diferentes tempos de irradiação de luz UV, durante 300 min de exposição. ....   | 38 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 19.</b> Imagens digitais das suspensões com 30 mM de AgNO <sub>3</sub> : S6 (0,25 g.L <sup>-1</sup> de amido), S5 (1,25 g.L <sup>-1</sup> de amido) e S7 (2,5 g.L <sup>-1</sup> de amido) (a) antes da exposição à radiação UV, (b) após 10 min e (c) após 300 min de irradiação com luz UV. .... | 39 |
| <b>Figura 20.</b> Gráficos da absorbância em 430 nm versus tempo de exposição à radiação UV: (a) quando a concentração de AgNO <sub>3</sub> é variada e (b) quando a concentração de amido é variada, utilizando como ajuste de curva o modelo JMA. ....  | 41 |
| <b>Figura 21.</b> Gráfico de absorbância em 430 nm versus tempo <sup>1/2</sup> (a) quando a concentração de AgNO <sub>3</sub> é variada e (b) quando a concentração de amido é variada. ....  | 43 |
| <b>Figura 22.</b> Imagem digital das suspensões S2, S5 e S7, após 10 min de exposição à radiação UV. ....   | 45 |
| <b>Figura 23.</b> Espectros de absorção UV-vis das amostras (a) S2, (b) S5 e (c) S7 irradiadas por 10 min, durante os 19 dias de armazenamento. ....  | 46 |
| <b>Figura 24.</b> Curvas da absorbância em 430 nm <i>versus</i> o tempo de armazenamento (em dias) para as amostras S2, S5 e S7. ....   | 48 |
| <b>Figura 25.</b> Curva de densidade de corrente <i>versus</i> concentração de Ag <sup>+</sup> obtida a partir de dados de VPD. ....  | 49 |
| <b>Figura 26.</b> Micrografias por MET das amostras (a) S2, (b) S5 e (c) S7 irradiadas por 10 min, após os 19 dias de armazenamento. ....   | 50 |
| <b>Figura 27.</b> Espectros de EDS das amostras (a) S2, (b) S5 e (c) S7 irradiadas por 10 min, após os 19 dias de armazenamento. ....   | 51 |
| <b>Figura 28.</b> Gráficos de distribuição de tamanho das partículas, após 19 dias de armazenamento, para as suspensões (a) S2 e (b) S5 e (c) S7 irradiadas por 10 min. ....  | 52 |
| <b>Figura 29.</b> (a) Micrografia por MET da suspensão S5, após 300 minutos de irradiação, e (b) seu respectivo gráfico de distribuição de tamanho. ....  | 55 |
| <b>Figura 30.</b> Espectros de (a) emissão de fluorescência de amido puro, S2, S5 e S7 todos com azul de metileno e (b) de absorção UV-vis das mesmas amostras. ....  | 57 |

## ÍNDICE DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> Relação das suspensões utilizadas na investigação da influência do $\text{AgNO}_3$ na reação.....  | 33 |
| <b>Tabela 2.</b> Relação de suspensões utilizadas para avaliar a influência do amido na reação.....   | 37 |
| <b>Tabela 3.</b> Dados obtidos do ajuste da curva pelo modelo JMA. ....   | 42 |
| <b>Tabela 4.</b> Concentrações de amido de batata e nitrato de prata das suspensões S2, S5 e S7. .  | 45 |
| <b>Tabela 5.</b> Largura a meia altura, em nm, das bandas das curvas de absorção UV-vis para suspensões S2, S5 e S7, irradiadas por 10 min, no dia da síntese e após 19 dias de armazenamento. .... | 47 |
| <b>Tabela 6.</b> Valores obtidos do potencial Zeta para as amostras avaliadas. ....   | 48 |
| <b>Tabela 7.</b> Diâmetro estimado por MET ( $D_{\text{MET}}$ ), diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersão (PDI) das suspensões S2, S5 e S7. ....                                       | 53 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

- Abs<sub>max</sub>**: Máxima absorvância
- ACT A0**: Amido acetilado de mandioca com AgNO<sub>3</sub> sem irradiar
- ACT A10**: Amido acetilado de mandioca com AgNO<sub>3</sub> irradiado 10 min
- AgNP**: Nanopartículas de prata
- BAT A0**: Amido de batata com AgNO<sub>3</sub> sem irradiar
- BAT A10**: Amido de batata com AgNO<sub>3</sub> irradiado 10 min
- DH**: Diâmetro hidrodinâmico
- DLS**: Espalhamento de luz dinâmico
- D<sub>MET</sub>**: Diâmetro médio obtido por MET
- EDS**: Energia dispersiva de Raios X
- GO**: Óxido de grafeno
- ITO**: Óxido de estanho dopado com índio
- JMA**: Equação de Johnson-Mehl-Avrami
- LSPR**: Ressonância plasmônica de superfície localizada (*Localized surface plasmon resonance*)
- MET**: Microscopia eletrônica de transmissão
- MNP**: Nanopartículas metálicas
- NP**: Nanopartículas
- PdI**: Índice de polidispersão
- S1**: Suspensão de amido (1,25 g.L<sup>-1</sup>) com AgNO<sub>3</sub> (0,03 mM)
- S2**: Suspensão de amido (1,25 g.L<sup>-1</sup>) com AgNO<sub>3</sub> (1 mM)
- S3**: Suspensão de amido (1,25 g.L<sup>-1</sup>) com AgNO<sub>3</sub> (3 mM)
- S4**: Suspensão de amido (1,25 g.L<sup>-1</sup>) com AgNO<sub>3</sub> (10 mM)
- S5**: Suspensão de amido (1,25 g.L<sup>-1</sup>) com AgNO<sub>3</sub> (30 mM)
- S6**: Suspensão de amido (0,25 g.L<sup>-1</sup>) com AgNO<sub>3</sub> (30 mM)
- S7**: Suspensão de amido (2,5 g.L<sup>-1</sup>) com AgNO<sub>3</sub> (30 mM)
- SDS**: Dodecil sulfato de sódio
- SERS**: espalhamento Raman intensificado por superfície (*Surface enhancement Raman scattering*)
- T(G)**: Temperatura de gelatinização.
- TFd**: Terapia fotodinâmica
- UV**: Radiação na região do ultra-violeta.
- VPD**: Voltametria de pulso diferencial
- ζ**: Potencial Zeta

## RESUMO

Neste trabalho, foi realizada a síntese de nanopartículas de prata (AgNP) por via fotoquímica na presença de amido, com o intuito de desenvolver uma rota sustentável de custo baixo e, assim, atribuir ao amido características que potencializem o seu uso e permitam o seu emprego em diversas áreas. Inicialmente, suspensões de amido de mandioca acetilado e de amido de batata foram testadas como agentes nucleantes e redutores por meio de análises de espectroscopia de absorção UV-vis e espectroscopia de espalhamento Raman. Apesar de ambos os tipos de amido permitirem a síntese de nanopartículas de prata utilizando esta rota fotoquímica, o amido de batata foi considerado mais promissor por apresentar bandas de ressonância plasmônica de superfície localizada (*localized surface plasmon resonance*) (LSPR) mais intensas e estreitas. Portanto, suspensões aquosas de amido de batata foram utilizadas para estudar a influência da radiação UV e da concentração de nitrato de prata e de amido nos processos de nucleação e crescimento das AgNP. Para isto, foram realizadas análises de espectroscopia de absorção UV-vis que demonstraram que a radiação e o amido são essenciais nesta síntese, visto que a luz fornece a energia mínima necessária para desencadear a reação e o amido atua como agente redutor e nucleante. Verificou-se, ainda, que a equação de Johnson-Mehl-Avrami (JMA) descreve adequadamente o perfil cinético desta síntese fotoquímica, e que este processo é controlado por mecanismos de difusão. A diferença entre o diâmetro obtido por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e o diâmetro hidrodinâmico (DH) obtido por meio do espalhamento de luz dinâmico (DLS) evidencia que o amido recobre as AgNP produzidas. Os baixos valores do módulo do potencial zeta apresentados por esses sistemas sugerem que essas NP são estabilizadas por fatores estéricos, indicando, assim, que o amido, também, atua como agente estabilizador. Por fim, foi constatado que os sistemas coloidais produzidos promovem a supressão de fluorescência do fluoróforo azul de metileno por um mecanismo não radiativo.

**Palavras-chave:** nanopartículas de prata, fotoquímica, amido, Johnson-Mehl-Avrami.

## ABSTRACT

In this work, silver nanoparticles (AgNP) were synthesized by photochemical in the presence of starch, to develop a sustainable route of low cost and to attribute to the starch characteristics that improve its properties and allow spanning their range of applications. Initially, suspensions of acetylated cassava starch and potato starch were tested as nucleating and reducing agents and analyzed by UV-vis absorption and Raman spectroscopies. Although both were able to produce silver nanoparticles using this photochemical route, the potato starch was considered more promising because it presented more intense and narrow localized surface plasmon resonance (LSPR) bands. Therefore, aqueous suspensions of potato starch were used to study the influence of UV radiation and the concentration of silver nitrate and starch on AgNP nucleation and growth processes. For this, UV-vis absorption spectroscopy analyzes were performed, which demonstrated that radiation and starch are essential in this synthesis, since light provides the minimum energy required to trigger the reaction and the starch acts as a reducing and nucleating agent. It was also verified that the Johnson-Mehl-Avrami (JMA) equation adequately describes the kinetic profile of this photochemical synthesis, and that this process is controlled by diffusion mechanisms. The difference between the diameter obtained by transmission electron microscopy (TEM) and the hydrodynamic diameter (HD) obtained through dynamic light scattering (DLS) shows that the starch covers the produced AgNP. The low values of the zeta potential modulus presented by these systems suggest that these NP were stabilized by steric factors, thus indicating that the starch also acts as a stabilizing agent. Finally, it has been found that the colloidal systems produced promote the suppression of fluorescence of the methylene blue fluorophore by a non-radiative mechanism.

**Keywords:** Silver nanoparticles, photochemistry, starch, Johnson-Mehl-Avrami.

# 1. Introdução e Objetivos

## 1.1. Introdução

Nanopartículas de metais (MNP) nobres como prata, platina e ouro têm sido amplamente estudadas, devido às suas propriedades ópticas e elétricas potencializarem o seu uso em diferentes áreas nas indústrias. Esses materiais em escala nanométrica apresentam propriedades diferentes das observadas em escala micro ou macroscópica.<sup>1,2</sup> Isto ocorre em função desses materiais possuírem uma grande razão da área superficial por unidade de volume, o que torna os efeitos de superfície relevantes, visto que haverá um número significativo de átomos na superfície do metal que possuem energia maior do que a dos átomos no interior da partícula.<sup>3</sup>

Uma MNP de grande interesse é a de prata que pode ser empregada em diversas áreas como na microeletrônica, na produção de sensores e, inclusive, no setor biomédico, em função da sua atividade antimicrobiana. De acordo com alguns autores,<sup>4-6</sup> as nanopartículas de prata (AgNP) atuam contra algumas bactérias e fungos que causam danos à saúde humana. Além disso, elas apresentaram potencial para serem utilizadas tanto no tratamento contra o câncer, quanto de forma preventiva contra estirpes circulantes do vírus HIV-1.<sup>7,8</sup> Ademais, pesquisas têm indicado que quanto menor as AgNP maior é a sua toxicidade.<sup>4,5,9</sup> Isto tem sido atribuído à maior área superficial das AgNP menores que favorece a oxidação dessas nanopartículas (NP), contribuindo, assim, para uma maior liberação de íons  $\text{Ag}^+$ , que atuam de forma nociva no interior das células.<sup>10,11</sup>

Outro setor em que as AgNP têm se destacado é no de produção de sensores. Vasileva e colaboradores<sup>12</sup> desenvolveram um sensor óptico contendo AgNP, estabilizadas com amido, para detecção de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) com boa sensibilidade, resposta linear ao longo de uma determinada gama de concentrações e limite de detecção inferior aos observados em determinados biosensores enzimáticos.

Em virtude das suas propriedades físicas, químicas e biológicas, o uso das AgNP em produtos comerciais tem aumentado. Em 2015, foi relatado que cerca de 24% de 1.814 diferentes produtos comerciais contendo nanomateriais possuía AgNP.<sup>13</sup> Com isso, a síntese de custo baixo e com menor impacto ambiental das AgNP, para o desenvolvimento de dispositivos moleculares mais eficientes e diferentes aplicações industriais, tem atraído grande interesse.<sup>14</sup>

Uma forma de sintetizar as AgNP é pela redução de um sal do metal, usando um agente redutor como o borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) seguida da adição de um agente

estabilizador.<sup>15,16</sup> Como o crescimento da partícula pode ser limitado pelo estabilizador, então, modificando este agente é possível obter partículas de diversos formatos e tamanhos o que potencialmente resultará em diferentes propriedades, permitindo, assim, diversificar o emprego dessas NP.<sup>14</sup>

Uma alternativa para a produção desses nanomateriais de maneira econômica e ecologicamente viáveis é por meio do emprego de polímeros naturais como agentes redutores e estabilizadores. A síntese pode ainda ser assistida por radiação UV, que pode atuar de forma direta como agente redutor do precursor metálico ou de forma indireta, utilizando fotosensibilizadores intermediários produzidos fotoquimicamente.<sup>15</sup>

A síntese fotoquímica de NP é um processo versátil em que a radiação é utilizada para promover a formação de NP bem definidas e materiais compósitos. Uma das suas principais vantagens é possibilitar a produção *in situ* de NP em diferentes meios como emulsões, vidros e matrizes poliméricas. Esta rota sintética tem utilizado, amplamente, polímeros para a estabilização desses materiais por fatores estéricos.<sup>15</sup>

Um polímero natural de fácil obtenção e de custo baixo que apresenta potencial para este tipo processo é o amido. Ele é um produto encontrado em raízes, tubérculos e cereais, composto por amilose e amilopectina em quantidades variáveis que dependem da sua procedência botânica.<sup>17</sup> O emprego desse biopolímero evita o uso de solventes e de agentes redutores e estabilizadores potencialmente agressivos ao meio ambiente. Assim, a associação do amido com técnicas de fotorredução é uma rota promissora para síntese verde de AgNP. Com este tipo de processo, buscam-se reduzir os riscos químicos, para a saúde e para o meio ambiente, provenientes desta síntese.

## **1.2. Objetivos**

O objetivo geral desse trabalho foi sintetizar e caracterizar AgNP produzidas por via fotoquímica em amido e, com isso, diversificar e ampliar o emprego desse polímero natural.

Para atingir esta proposta geral, destacam-se os seguintes objetivos específicos:

- preparar suspensões de amido como meio para a síntese das AgNP;
- comparar dois tipos de amido para determinar qual atua como o melhor agente nucleante/redutor
- estudar a cinética de formação de AgNP, utilizando amido de batata como agente nucleante e estabilizador;

- caracterizar as AgNP formadas quanto ao tamanho, polidispersividade, forma e carga de superfície;
- verificar o efeito das suspensões de AgNP em amido na emissão de fluorescência do fluoróforo azul de metileno.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Nanopartículas de prata

Nanopartículas (NP) possuem dimensões inferiores a 100 nm e propriedades físico-químicas distintas do verificado em escala macroscópica. Isto é, apresentam características intermediárias aos efeitos quânticos dos átomos e às propriedades observadas em materiais macromoleculares.<sup>1</sup> Isto se deve à grande razão área superficial/volume desses materiais que intensifica os efeitos de superfície.<sup>18</sup> As NP de diferentes tamanhos tendem a atuar de maneiras distintas. Além disso, a forma da NP também pode interferir em algumas propriedades como, por exemplo, na atividade catalítica.<sup>1</sup> Portanto, controlar o tamanho e a forma das NP é essencial para utilizá-las apropriadamente.<sup>19</sup>

Nanopartículas de metais como prata, ouro e platina têm sido utilizadas como aditivos para funcionalizar materiais já existentes e, assim, criar produtos com novas propriedades e capacidades, atribuindo a eles um maior valor agregado. Em virtude disto, o emprego destes nanomateriais pelas indústrias tem aumentado, em especial, o das nanopartículas de prata (AgNP), tendo em vista possuírem ação bactericida e propriedades ópticas e elétricas com potencial aplicação na área médica e na microeletrônica.<sup>13</sup>

As propriedades ópticas das AgNP têm sido estudadas com o intuito de desenvolver sensores mais sensíveis e seletivos.<sup>12</sup> Em particular, o forte acoplamento entre os *plasmons* de superfície com a luz visível é responsável pelo fenômeno de ressonância plasmônica localizada (*localized surface plasmon resonance*, LSPR). Entre outros efeitos, o fenômeno LSPR atribui cores distintas às suspensões coloidais dessas NP. As cores são dependentes do formato, tamanho e distância interpartículas. Além disso, dependem das propriedades físico-químicas do ambiente que as envolve, tais como constante dielétrica, natureza dos solutos, o que permite seu uso como sonda em sensores químicos e biológicos. O fenômeno LSPR contribui para um aumento do campo elétrico local e que será experimentado pelas moléculas que estejam adsorvidas sobre as NP. Embora o aumento na intensidade do campo elétrico seja normalmente modesto, o aumento da intensidade da luz espalhada é da ordem de  $10^4$ . Isso causa uma intensificação significativa do espalhamento Raman, conhecido como efeito SERS (*surface enhancement Raman scattering*). O efeito SERS é explorado no desenvolvimento de sensores, em particular, para a detecção de quantidades muito pequenas de analito (de nano a femtomol).<sup>20-22</sup> Além disso, esse movimento oscilatório em ressonância com a radiação incidente pode transformar esta energia em térmica, durante o processo de absorção, o que possibilita a aplicação das AgNP na terapia fototérmica contra o câncer e na fotocatalise.<sup>19</sup>

A banda LSPR e a cor das soluções coloidais das AgNP dependem fortemente do formato das nanoestruturas, pois diferentes formas, com menor simetria, geram diferentes distribuições de cargas na superfície da NP que resultam em mais modos de ressonância eletrônica não degenerados. Por exemplo, partículas esféricas apresentam apenas um modo de ressonância plasmônica, pois todos os modos são degenerados, devido à simetria da partícula.<sup>19</sup> No entanto, o tamanho das NP não altera o modo de ressonância plasmônica, mas afeta o acoplamento com o campo elétrico. Em geral, em partículas maiores os efeitos de dispersão de energia prevalecem, o que pode acarretar em um espectro de absorção com bandas LSPR mais largas, menos intensas e deslocadas para maiores comprimentos de onda.<sup>19</sup> Então, controlando-se o formato e o tamanho das AgNP, pode-se obter diferentes cores e espectros de absorção.<sup>19</sup> Uma forma de auxiliar esse controle é utilizar na síntese de NP um agente estabilizador, pois ele atua limitando o crescimento das AgNP, quando a interação entre ele e a NP é relativamente forte.

O uso de um agente estabilizador e um agente redutor para promover a formação de AgNP estáveis pela redução de um sal do metal é um dos métodos de síntese mais comuns, denominado *bottom-up*. Existem duas categorias de métodos para a síntese de MNP: a *top-down*, que é baseada na redução de partículas maiores, e a *bottom-up*, que consiste em autoagregação e aglomeração de átomos.<sup>14,16</sup> O método *bottom-up* possibilita a produção de grandes quantidades de NP com um custo menor. Esse método envolve, basicamente, duas etapas: a nucleação e o crescimento da partícula. Como possuem alta energia superficial, as NP formadas, pela redução do cátion metálico, tendem a se aglomerar para formar a ligação metal-metal, o que gera o crescimento da partícula. Com isso, a estabilização é um fator muito importante a ser considerado, pois evita essa aglomeração.<sup>15</sup> Os agentes estabilizadores mais utilizados são polímeros ou moléculas orgânicas que interagem com as NP, evitando que elas se associem e precipitem.<sup>14,15</sup> Estes agentes possuem um papel essencial, pois a forma, o tamanho, a agregação e o recobrimento influenciam diretamente no comportamento das NP.<sup>23</sup>

Um polímero natural que tem sido usado como estabilizador em diversas pesquisas é o amido.<sup>12,24-31</sup> Apesar das interações entre esse biopolímero e as AgNP serem consideradas um pouco fracas, portanto, facilmente reversíveis, ele tem sido utilizado por não ser agressivo ao meio ambiente e atuar de maneira eficaz no recobrimento das NP,<sup>12,24-31</sup> o que indica uma crescente preocupação no desenvolvimento de métodos de síntese eficientes e ambientalmente amigáveis.

## 2.2. Síntese verde de nanopartículas de prata

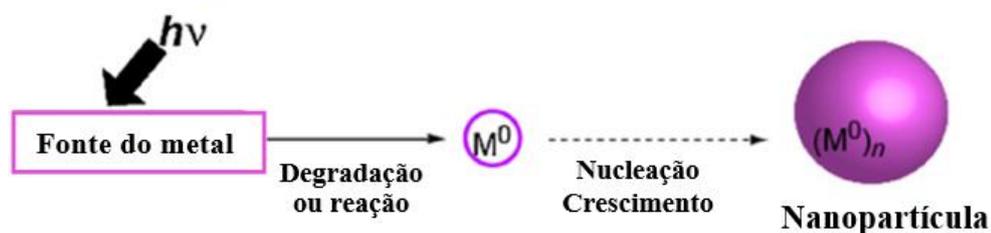
A síntese verde de AgNP emprega organismos biológicos ou produtos extraídos deles como uma rota sustentável alternativa à utilização de agentes redutores e estabilizadores tóxicos.<sup>32</sup> Este tipo de abordagem visa, também, ao emprego de solventes não tóxicos com o intuito de reduzir os riscos químicos para a saúde e para o ambiente.<sup>33</sup> Muitas pesquisas nessa área têm utilizado extratos de plantas por apresentarem em sua composição produtos como aminoácidos, terpenóides, flavonoides e polissacarídeos capazes de promover esta reação de maneira eficiente e reprodutível.<sup>23,32</sup>

Dentre esses insumos, o amido tem se destacado. Estudos têm utilizado esse biopolímero na síntese de AgNP, devido à sua capacidade de manter, por um longo período de tempo, a estabilidade desses coloides.<sup>26</sup> Nestas pesquisas, o amido tem atuado de maneira eficaz, predominantemente, no recobrimento das AgNP.<sup>24-31</sup> Em geral, ele é utilizado em associação com substâncias de maior potencial de redução como ácido ascórbico, glicose e borohidreto de sódio.<sup>12,25,27</sup> Adicionalmente, tem sido atribuída ao amido uma colaboração na formação de AgNP.<sup>29</sup> De acordo com Ortega-Arroyo e colaboradores,<sup>26</sup> a hidrólise do amido auxilia na redução dos íons  $\text{Ag}^+$ . Quando esses agentes redutores não conseguem iniciar a reação, na temperatura ambiente, é fornecida energia na forma de calor ou radiação ao sistema.

O uso da radiação para desencadear a formação de NP a partir da redução de íons metálicos percursoros ( $\text{M}^+$ ) é denominado como síntese fotoquímica. Esse processo é versátil e permite a formação de NP bem definidas e materiais compósitos.<sup>15</sup>

A síntese fotoquímica pode ser feita de forma direta ou indireta utilizando fotosensibilizadores. No primeiro processo, ocorre a formação de NP do metal ( $\text{M}^0$ ) a partir da excitação direta da fonte do metal pela radiação; e, no segundo, ocorre a redução do cátion metálico por meio de intermediários produzidos fotoquimicamente, tais como moléculas excitadas e radicais (Figura 1). Este último caso permite a flexibilização do comprimento de onda de excitação, pois a radiação a ser utilizada depende da energia necessária para promover a sensibilização do reagente que irá formar o intermediário redutor.<sup>15</sup>

### Síntese fotoquímica direta



### Síntese fotoquímica indireta

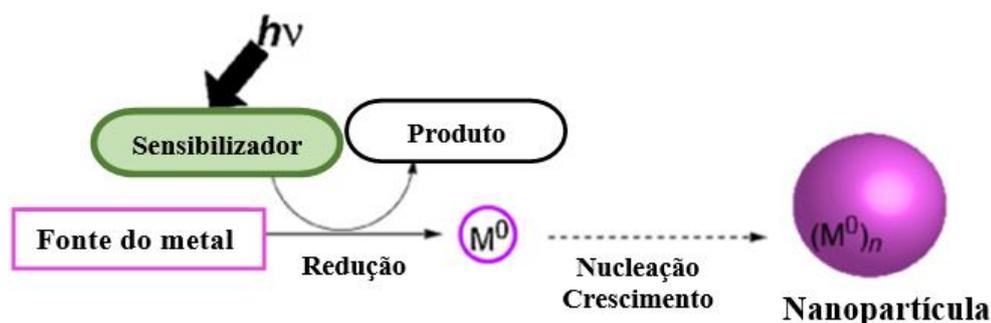


Figura 1. Esquemas das sínteses fotoquímicas adaptado.<sup>15</sup>

Uma das principais vantagens da síntese fotoquímica é possibilitar a produção *in situ* de NP em vários meios como emulsões, vidros e polímeros. A radiação pode promover a reação sem destruir o meio envolvente, enquanto métodos térmicos podem destruir ou afetar significativamente o meio.<sup>15</sup>

Uma desvantagem observada do método fotoquímico em comparação ao térmico, nos experimentos desenvolvidos por Yin e colaboradores,<sup>34</sup> foi que as AgNP produzidas por via fotoquímica apresentaram maior polidispersividade que as NP produzidas por indução de calor. De acordo com esses autores,<sup>34</sup> a interação das AgNP com a luz gera a criação de um dipolo oscilante oriundo da distribuição não uniforme de carga na superfície da NP, causada pela oscilação de elétrons em ressonância. Com isso, ocorre uma atração dipolo-dipolo que colabora para a agregação de NP, o que contribui para a formação de NP maiores e mais polidispersas.<sup>34</sup> No entanto, devido à complexidade dos sistemas coloidais de NP, ainda não é possível afirmar que todas as rotas fotoquímicas formarão espécies mais polidispersas que as rotas térmicas.

Outra vantagem que torna as rotas fotoquímicas mais atraentes é que, em geral, são consideradas tecnologia limpa e, associadas ao uso de fontes renováveis como matéria-prima,

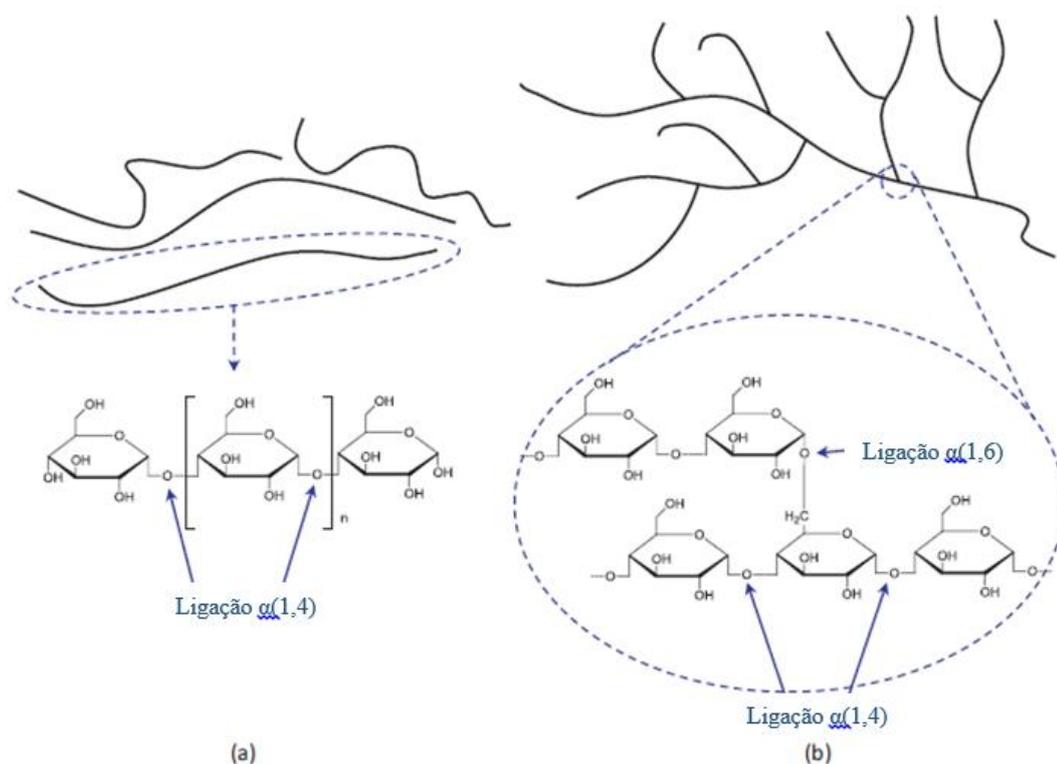
podem produzir materiais biocompatíveis e biodegradáveis em larga escala por um custo baixo. Uma fonte renovável que tem se mostrado promissora para isto é o amido. Ele tem atuado de forma eficaz como agente estabilizador em diversas sínteses de AgNP, além de apresentar potencial para atuar como agente redutor.<sup>12,,24-31</sup>

### **2.3. Amido**

O amido tem sido amplamente estudado, para ser aplicado em funções fora do ramo alimentício, devido ao seu custo baixo, disponibilidade ampla e porque sua compostagem não produz materiais tóxicos.<sup>35</sup>

Ele é um polissacarídeo de origem vegetal com estrutura granular, formado por unidades de  $\alpha$ -D-glicose. Essas moléculas se unem por ligação glicosídica  $\alpha(1,4)$  e  $\alpha(1,6)$ , originando macromoléculas lineares e ramificadas denominadas, respectivamente, amilose e amilopectina. A quantidade dessas biomacromoléculas varia de acordo com a procedência botânica do amido, cuja proporção determina uma série de propriedades. A Figura 2 ilustra a estrutura química dessas importantes macromoléculas que coexistem dentro do grânulo de amido.<sup>35</sup>

A amilopectina é a principal responsável pela cristalinidade do amido, devido às suas cadeias em formato de dupla hélice que se organizam em domínios (*clusters*). Com isso, lamelas cristalinas são formadas. Já, a amilose, principal componente da parte amorfa, controla as propriedades reológicas e térmicas.<sup>17,35</sup>



**Figura 2.** Estrutura química (a) da amilose e (b) da amilopectina.<sup>35</sup>

Dentre as quatro principais fontes de amido, estão a batata e a mandioca. Os amidos obtidos dessas fontes possuem um baixo teor de proteínas e gorduras e são de isolamento relativamente fácil. Apesar de variar com a origem botânica, em geral, o comprimento médio das cadeias de amilopectina e amilose é menor em amidos provenientes da mandioca do que da batata. A morfologia de seus grânulos é ligeiramente diferente, enquanto os grânulos de batata são grandes, redondos ou ovais (10–100  $\mu\text{m}$ ), os de mandioca são menores e redondos (3–32  $\mu\text{m}$ ).<sup>17</sup> Além disso, ambos possuem uma temperatura de gelatinização, T(G), baixa, o que é favorável para aplicações industriais por necessitar de menor energia para o seu processamento.

A gelatinização é um processo irreversível, no qual há o rompimento da estrutura granular e cristalina do amido mediante o fornecimento de calor na presença de água em excesso. Outro fator que favorece esta desestruturação é o cisalhamento, pois provoca a quebra dos grânulos intumescidos.<sup>35,36</sup>

Em temperaturas abaixo da T(G), os grânulos apenas incham por absorver grandes quantidades de água, enquanto que, na T(G), ocorre a perda da birrefringência com o tempo.<sup>35</sup> Em geral, o amido com grandes quantidades de cadeias longas de amilopectina apresenta

T(G) mais alta, indicando que essas cadeias são responsáveis pela estabilização da estrutura cristalina.<sup>17</sup>

O amido de batata, apesar de ter essas cadeias longas em grande quantidade, apresenta uma T(G) baixa (61°C a 70°C), que se deve à presença de alguns grupos de monofosfatos ligados à amilopectina. Assim, as cargas negativas desses grupos se repelem deixando as cadeias ligeiramente mais afastadas, facilitando a hidratação.<sup>17</sup>

A escolha do amido a ser usado nas indústrias depende, principalmente, da T(G) e das suas propriedades reológicas. Esta última descreve o comportamento do amido, quando submetido a uma tensão mecânica.<sup>36</sup>

Alguns tratamentos têm sido desenvolvidos para aprimorar o desempenho deste biopolímero. A modificação química, como a acetilação,<sup>37</sup> por exemplo, torna o amido ligeiramente mais resistente à hidratação e a incorporação de aditivos, como o glicerol, promove a sua plastificação,<sup>38</sup> processo em que as interações intermoleculares da matriz polimérica são substituídas por interações polímero-aditivo, alterando a viscosidade do sistema, transformando-o em um polímero termoplástico. Ambas as modificações conferem a este polímero maior flexibilidade, o que é pertinente para a produção de filmes biodegradáveis por *casting*. Além disso, o amido pode ser associado à MNP, o que aumenta a gama de aplicação deste material e potencializa o seu uso em diversas áreas.

### **3. Materiais e Métodos**

#### **3.1. Materiais**

Os reagentes e materiais utilizados neste trabalho foram: o amido de batata (Lote: SZBD2670V) adquirido da Sigma-Aldrich; o amido de mandioca acetilado (produto: FARAZYM T) da AVEBE Guaíra Amidos Ltda; o nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) da VETEC; água ultrapura (resistividade: 18 Mohm.cm), obtida por um sistema Milli-Q da MilliPore; agitador mecânico da Caframo para agitar as suspensões; agitador magnético com aquecimento da marca Quimis modelo Q261-22, utilizado apenas para aquecer um recipiente metálico contendo glicerina (sistema usado como banho de glicerina); balança analítica Ay220 Marte para pesar os reagentes; balão volumétrico de 50 mL, 25 mL e de 10 mL; béqueres de 80 mL e 50 mL; caixa de luz UV *homemade*, tendo como fonte uma lâmpada Osram 8 W ( $\lambda = 254$  nm) por ser mais econômica e de fácil acesso, para a síntese fotoquímica das nanopartículas; erlenmeyers de 125 mL; micropipetas da marca Digpet; provetas graduadas e termômetro para controlar a temperatura do sistema usado como banho de glicerina.

#### **3.2. Preparo do amido**

O preparo das suspensões em diferentes concentrações de amido, neste trabalho, ocorreu basicamente da seguinte forma: inicialmente, para aquecer as suspensões dentro do erlenmeyer e manter a temperatura do meio reacional constante, foi montado um sistema com um recipiente metálico contendo glicerina (banho de glicerina) sobre um agitador magnético com aquecimento (com a sua função de agitação magnética desligada) (Figura 3). Com o auxílio de um termômetro a temperatura do sistema foi monitorada durante toda a síntese. Após esse sistema atingir  $95^\circ\text{C}$ , o amido foi adicionado lentamente à água, sob agitação mecânica constante, com o auxílio do agitador mecânico da Caframo, com velocidade de 2500 rpm. Essa suspensão permaneceu sob agitação a  $95^\circ\text{C}$  por 1 h para a gelatinização dos grânulos e uma maior solubilização do amido.



**Figura 3.** Imagem digital do sistema utilizado para o preparo do amido.

A preparação das suspensões de amido será descrita nos tópicos abaixo, com detalhes, para cada etapa deste trabalho,

- Suspensões de amido de mandioca acetilado e de amido de batata utilizadas para a determinação do melhor agente redutor e nucleante:

- um erlenmeyer contendo 80 mL de água ultrapura foi colocado no banho de glicerina a 95°C. Em seguida, 0,1 g de amido de mandioca acetilado ou de batata foram adicionados lentamente, sob agitação mecânica constante (2500 rpm). Essa suspensão permaneceu sob agitação, a 95°C, por 1 h. Após este tempo, foi deixada em repouso até atingir a temperatura ambiente. Em seguida, 40 mL desta suspensão foram transferidos para um balão volumétrico de 50 mL e o volume completado com água ultrapura, com o objetivo de obter uma concentração final de amido de 1 g.L<sup>-1</sup>. Os 40 mL restantes foram transferidos para outro balão volumétrico de 50 mL e, sem completar o volume, foi reservado para ser utilizado na síntese das AgNP.

- Suspensões de amido de batata utilizadas para compreender a influência da radiação na síntese:

- após ser determinado como melhor agente nucleante/redutor, o amido de batata foi selecionado para participar das demais etapas deste trabalho. Adicionalmente, foi observado que suspensões com concentração final de amido igual a  $1,25 \text{ g.L}^{-1}$  apresentaram bandas de absorção no UV-vis mais intensas e estreitas. Então, nesta etapa, suspensões foram produzidas de forma a obter uma concentração final de amido, após a adição da solução de  $\text{AgNO}_3$ , igual a  $1,25 \text{ g.L}^{-1}$ . Para isto, um erlenmeyer contendo 120 mL de água ultrapura foi colocado no banho de glicerina a  $95^\circ\text{C}$ . Em seguida, 0,15 g de amido de batata foram adicionados lentamente, sob agitação mecânica constante (2500 rpm), a  $95^\circ\text{C}$ , por 1 h. Após este tempo, foi deixada em repouso, até atingir a temperatura ambiente. Em seguida, em três balões volumétricos de 50 mL, foram adicionados 40 mL desta suspensão e sem completar o volume foram reservados para serem utilizados na síntese das AgNP.

- Suspensões de amido de batata utilizadas para compreender a influência da concentração de  $\text{AgNO}_3$  na síntese:

- com o intuito de compreender a influência da concentração de  $\text{AgNO}_3$  na síntese, cinco suspensões contendo a mesma concentração de amido de batata e diferentes concentrações de  $\text{AgNO}_3$  foram preparadas (S1, S2, S3, S4 e S5). Para conseguir produzir estas suspensões de amido, partindo de uma única suspensão mãe e evitar o consumo dos reagentes em grande quantidade, essas reações foram programadas de forma a obter um volume final de 25 mL. Para isto, um erlenmeyer contendo 100 mL de água ultrapura foi colocado no banho de glicerina a  $95^\circ\text{C}$ . Depois, 0,156 g de amido de batata foram adicionados lentamente, sob agitação mecânica constante (2500 rpm), a  $95^\circ\text{C}$ , por 1 h. Após este tempo, foi deixada em repouso até atingir a temperatura ambiente. Em seguida, em cinco balões volumétricos de 25 mL foram adicionados 20 mL desta suspensão e sem completar o volume foram reservados para serem utilizados na síntese das AgNP.

- Suspensões de amido de batata utilizadas para compreender a influência da concentração do amido de batata na síntese:

- duas suspensões contendo a mesma concentração de  $\text{AgNO}_3$  e diferentes concentrações de amido de batata foram preparadas (S6 e S7). Sabendo que o volume e a área de exposição à radiação afetam os resultados, essas reações foram programadas de forma a obter um volume final de 25 mL, para analisar em conjunto com a suspensão S5. Para isto, um erlenmeyer contendo 20 mL de água ultrapura foi colocado no banho de glicerina a  $95^\circ\text{C}$ .

Posteriormente, 0,125 g de amido de batata foram adicionados lentamente, sob agitação mecânica constante (2500 rpm), a 95°C, por 1 h. Após este tempo, foi deixada em repouso, até atingir a temperatura ambiente. Em seguida, em dois balões volumétricos de 25 mL foram adicionados, com o auxílio de uma micropipeta e uma proveta, respectivamente, 1 mL e 10 mL desta suspensão e sem completar o volume foram reservados para serem utilizados na síntese das AgNP.

### 3.3. Síntese de AgNP

A síntese das AgNP foi feita basicamente da seguinte forma: no balão volumétrico contendo a suspensão de amido foi acrescentada uma alíquota da solução de AgNO<sub>3</sub>, de forma a obter a concentração final desejada, quando o volume do balão fosse completado. Em seguida, a suspensão resultante foi vertida em um béquer e agitada mecanicamente, por 10 min, para uma melhor homogeneização. Depois, em uma sala climatizada a 20°C, esse béquer, contendo a suspensão, foi colocado no interior da caixa UV *homemade* (Figura 4) e exposto à radiação UV por diferentes tempos, para a formação das AgNP. Nessa irradiação foram acionados uma das lâmpadas Osram 8 W ( $\lambda = 254$  nm) e o sistema de ventilação da caixa. Nos tópicos abaixo, será exposto com mais detalhes como foi feita essa síntese para cada etapa deste trabalho.



**Figura 4.** Imagem digital da caixa UV utilizada para irradiar as amostras.

- Síntese das AgNP nas suspensões de amido de mandioca acetilado e de amido de batata utilizadas para a determinação do melhor agente redutor/nucleante:

- no balão volumétrico, contendo 40 mL da suspensão de amido de mandioca acetilado ou de batata, reservado para a síntese, foram adicionados 5 mL da solução de  $\text{AgNO}_3$  (0,3 M) e o volume do balão foi completado com água ultrapura até atingir 50 mL. Com isso, a concentração final obtida para o amido (de mandioca acetilado ou de batata) foi de  $1 \text{ g.L}^{-1}$  e para o  $\text{AgNO}_3$  foi de 30 mM. Em seguida, a suspensão foi vertida em um béquer e agitada mecanicamente por 10 min com o auxílio do agitador mecânico da Caframo (2500 rpm). Depois, em uma sala climatizada a  $20^\circ\text{C}$ , esse béquer foi colocado no interior da caixa UV *homemade* (Figura 4) que foi fechada e ligada para expor a suspensão à radiação UV por 0, 1, 3, 5, 10, 15 e 30 min, para a formação das AgNP.

- Preparo das suspensões utilizadas para compreender a influência da radiação nesta síntese:

- em cada um dos três balões volumétricos com 40 mL da suspensão de amido de batata reservados para esta análise, foram adicionados 3 mL da solução de  $\text{AgNO}_3$  (0,5 M) e o volume do balão foi completado com água ultrapura até atingir 50 mL. Com isso, a concentração final obtida nesses balões para o amido de batata foi de  $1,25 \text{ g.L}^{-1}$  e para o  $\text{AgNO}_3$  foi de 30 mM. Em seguida, essas suspensões foram vertidas em béqueres de 80 mL e agitadas mecanicamente por 10 min com o auxílio do agitador mecânico da Caframo (2500 rpm). Depois, em uma sala climatizada a  $20^\circ\text{C}$ , um béquer foi armazenado protegido da luz, o outro foi exposto à luz ambiente, ambos por um longo tempo, 192 h, e o terceiro béquer foi exposto à radiação UV por 300 min.

- Síntese das diferentes suspensões de AgNP em amido de batata utilizadas para o estudo da influência da concentração de nitrato de prata:

- nos cinco balões volumétricos contendo 20 mL da suspensão de amido de batata reservados para este estudo, foram adicionados, respectivamente, 0,005 mL, 0,166 mL, 0,5 mL, 1,666 mL e 5 mL da solução de  $\text{AgNO}_3$  (0,15 M) e o volume dos balões foram completados com água ultrapura até atingir 25 mL. Com isso, a concentração final obtida nesses balões para o amido de batata foi de  $1,25 \text{ g.L}^{-1}$  e para o  $\text{AgNO}_3$  foi de 0,03 mM para a suspensão denominada S1, 1 mM para a S2, 3 mM para a S3, 10 mM para a S4 e 30 mM para a S5. Em seguida, essas suspensões foram vertidas em béqueres de 50 mL e agitadas

mecanicamente por 10 min com o auxílio do agitador mecânico da Caframo (2500 rpm). Depois, em uma sala climatizada a 20°C, foram submetidas à radiação UV, com o auxílio da caixa UV *homemade*, por 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 e 300 min.

- Síntese das diferentes suspensões de AgNP em amido de batata utilizadas para compreender a influência da concentração do amido de batata na síntese:

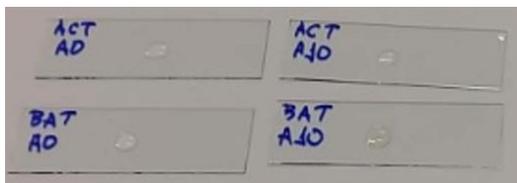
- nos dois balões volumétricos, contendo 1 mL e 10 mL da suspensão de amido de batata, reservados para este estudo, foram adicionados 2 mL da solução de AgNO<sub>3</sub> (0,375 M) e o volume dos balões foram completados com água ultrapura até atingir 25 mL. Com isso, a concentração final obtida nesses balões para o AgNO<sub>3</sub> foi de 30 mM e para o amido de batata foi de 0,25 g.L<sup>-1</sup> para a suspensão denominada S6 e 2,5 g.L<sup>-1</sup> para a S7. Em seguida, essas suspensões foram vertidas em béqueres de 50 mL e agitadas mecanicamente por 10 min com o auxílio do agitador mecânico da Caframo (2500 rpm). Depois, em uma sala climatizada a 20°C, foram submetidas à radiação UV, com o auxílio da caixa UV *homemade*, por 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 e 300 min.

### 3.4. Determinação do agente nucleante/redutor

Inicialmente, para o estudo da síntese *in situ* por via fotoquímica de AgNP, foram testados como agentes nucleantes e redutores o amido de mandioca acetilado e o amido de batata. Para isto, suspensões de amido de mandioca acetilado pura (1 g.L<sup>-1</sup>), de amido de batata pura (1 g.L<sup>-1</sup>), ambas contendo 30 mM de AgNO<sub>3</sub>, foram feitas, conforme relatado anteriormente. Essas quatro suspensões juntamente com a solução pura de nitrato de prata (30 mM), todas com um volume final de 50 mL e armazenadas em béqueres de 80 mL destampados, foram submetidas à radiação UV por 30 min, com o auxílio da caixa UV *homemade*. Após 1, 3, 5, 10, 15 e 30 min de irradiação, foram obtidos espectros de absorção UV-vis, utilizando o espectrofotômetro UV-VIS-NIR Varian Cary 5000, para averiguar se ocorriam modificações nos espectros que indicassem a formação de AgNP ou a degradação do amido.

Além disso, as amostras de amido de batata com nitrato de prata sem irradiar, irradiadas por 10 min, de amido acetilado de mandioca sem irradiar e irradiada por 10 min denominadas, respectivamente, BAT A0, BAT A10, ACT A0 e ACT A10 foram submetidas a espectroscopia Raman, utilizando o espectrômetro micro-Raman Jobin Ivon, modelo T64000, do Laboratório de espectroscopia vibracional e altas pressões da Universidade Federal do Pará

(UFPA). Para isto, as amostras foram depositadas sobre lâminas de vidro e deixadas secar num processo de repetição para serem obtidos os melhores resultados possíveis (Figura 5). Em seguida, foram excitadas por meio de um *laser* com comprimento de onda de 633 nm.

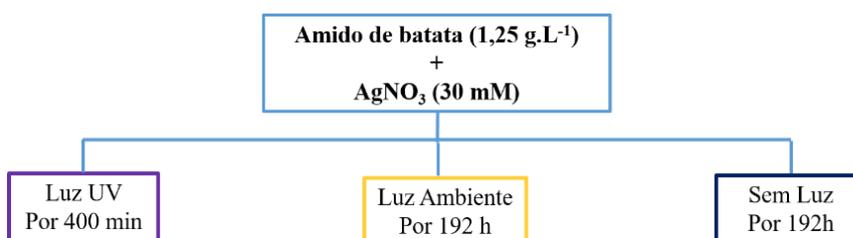


**Figura 5.** Foto digital das lâminas de vidro contendo gotas das amostras ACT A0, ACT A10, BAT A0 e BAT A10 antes de secarem.

### 3.5. Estudo da cinética da síntese fotoquímica de AgNP em amido de batata

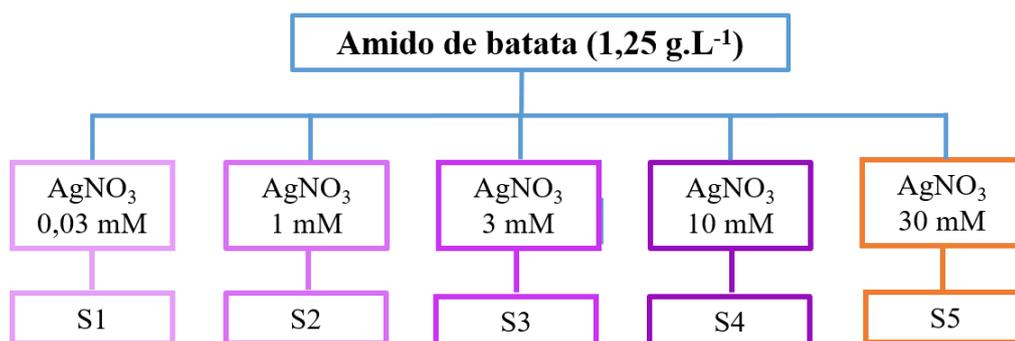
Os resultados das análises descritas no item 3.4 mostraram que o amido de batata foi considerado melhor agente nucleante/redutor, Portanto, apenas ele foi utilizado nas demais etapas deste trabalho.

Para compreender a influência da radiação nesta síntese, foram preparadas 3 amostras contendo  $1,25 \text{ g.L}^{-1}$  de amido de batata e  $30 \text{ mM}$  de  $\text{AgNO}_3$ . Esses sistemas foram mantidos a  $20^\circ\text{C}$  e monitorados por espectroscopia de absorção UV-vis para estudar o seu comportamento, após diferentes tempos de exposição à luz UV, à luz ambiente e no escuro (Figura 6). Como a amostra protegida da luz e a exposta a luz ambiente, nos primeiros 400 min deste experimento, não apresentaram modificações nos espectros de absorção UV-vis, elas foram monitoradas por 192 h com o intuito de conhecer o comportamento delas com o tempo. No entanto, a amostra exposta à radiação UV foi irradiada apenas por 400 min por ficar muito turva, prejudicando, assim, a qualidade dos espectros de absorção.



**Figura 6.** Esquema dos sistemas testados em diferentes iluminações.

Após conhecer o papel da radiação nesta síntese, foi avaliada a influência da concentração de nitrato de prata. Para isto, cinco suspensões (S1, S2, S3, S4 e S5) com uma concentração fixa de amido de batata ( $1,25 \text{ g.L}^{-1}$ ) e diferentes concentrações de  $\text{AgNO}_3$  (0,03 mM; 1 mM; 3 mM; 10 mM e 30 mM) foram feitas. O esquema apresentado na Figura 7 ilustra a metodologia utilizada. Essas amostras, contendo um volume final de 25 mL, foram colocadas em béqueres de 50 mL destampados, para serem irradiadas por luz UV pelo máximo tempo possível para observar o comportamento dessas suspensões com o tempo de irradiação. Como, após 300 min, estas amostras já estavam muito turvas foi cessada a exposição à radiação UV. Este processo de irradiação foi monitorado por espectroscopia de absorção UV-vis, utilizando o espectrofotômetro UV-VIS-NIR Varian Cary 5000. Os espectros de absorção UV-vis foram obtidos, após diferentes tempos de irradiação (1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 e 300 min).



**Figura 7.** Esquema da relação das diferentes concentrações de nitrato de prata usadas na análise cinética.

Após verificar o comportamento das suspensões no estudo anterior, foi selecionada a concentração de 30 mM de  $\text{AgNO}_3$  para auxiliar na análise do comportamento cinético desta síntese, quando a quantidade de amido é variada, esquematizado na Figura 8. Para isso, duas suspensões denominadas S6 e S7, contendo a mesma concentração de  $\text{AgNO}_3$  (30 mM) e, respectivamente,  $0,25 \text{ g.L}^{-1}$  e  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$  de amido de batata foram feitas para serem comparadas com a suspensão S5, que possui a mesma concentração de  $\text{AgNO}_3$  e  $1,25 \text{ g.L}^{-1}$  de amido de batata. As amostras S6 e S7 assim como a S5 continham um volume final de 25 mL e foram colocadas em béqueres de 50 mL destampados, para serem expostas à radiação por 300 min e monitoradas por espectroscopia de absorção UV-vis, por meio da obtenção de espectros, após 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 e 300 min de irradiação. Vale ressaltar que não foram

analisadas maiores concentrações de amido, pois as amostras ficavam turvas rapidamente, interferindo na qualidade dos espectros.



**Figura 8.** Esquema da relação das diferentes concentrações de amido de batata usadas na análise cinética.

Com os dados dos espectros UV-vis desses 7 sistemas (S1, S2, S3, S4, S5, S6 e S7), foram obtidas curvas de absorvância em 430 nm *versus* tempo de exposição à radiação. Com isso, foi observado que o ajuste de curva mais adequado para o comportamento exibido pelas amostras é o modelo Johnson-Mehl-Avrami (JMA), que será especificado na parte de resultados e discussão. Além disso, gráficos de absorvância em 430 nm *versus* a raiz quadrada do tempo de exposição à radiação foram elaborados com o intuito de desvendar o mecanismo predominante de crescimento das NP. Nesse gráfico, foi utilizado um ajuste de curva linear obtido com auxílio do programa OriginPro 2015.

### 3.6. Caracterização das suspensões coloidais

Com as análises anteriores, observou-se que S5 e S7, que possuíam a mesma concentração AgNO<sub>3</sub> e diferentes concentrações de amido de batata, apresentavam um comportamento similar, principalmente, quando irradiadas por 10 min, que sugeria a formação de AgNP menos polidispersas. Então, com o objetivo de aprofundar a caracterização dessas suspensões irradiadas por 10 min, S5 e S7 foram selecionadas para outras análises. Para fins comparativos, a amostra S2 irradiada por 10 min também foi selecionada, visto que esta última apresentava um comportamento diferente das duas primeiras.

Inicialmente, foi avaliada a estabilidade destas amostras com o tempo, quando submetidas a variações ambientais de temperatura (19°C a 30°C), mas ao abrigo da luz. Para isto, as amostras S2, S5 e S7 irradiadas apenas 10 min foram monitoradas por 19 dias por espectroscopia de absorção UV-vis. Para a análise destes dados, gráficos de absorvância em

430 nm *versus* tempo de armazenamento foram gerados com o auxílio do programa OriginPro 2015.

### **3.6.1 Espalhamento de luz dinâmico (DLS), índice de Polidispersão (PdI) e potencial Zeta**

O diâmetro hidrodinâmico (DH), o índice de polidispersão (PdI) e o potencial zeta ( $\zeta$ ) das suspensões S2, S5 e S7 foram determinados em suspensão por espalhamento de luz dinâmico (DLS) pelo equipamento Zeta Sizer Nano-ZS, Malvern Instruments. Para as três análises, utilizou-se a diluição das amostras em água ultrapura na proporção de 1:9 e os dados apresentados, neste trabalho, correspondem à média das triplicatas realizadas. As medidas foram adquiridas utilizando programação automática do *software* do equipamento (ZetaSizer 10.11.1, Malvern). Para o DH e o PdI os dados foram obtidos com base na intensidade do espalhamento de luz a 25°C, com ângulo de espalhamento fixado em 90° do *laser* com comprimento de onda 633 nm.

### **3.6.2 Voltametria de pulso diferencial (VPD)**

Análises de voltametria de pulso diferencial (VPD) foram realizadas para averiguar a fração de íons  $\text{Ag}^+$  remanescente. Para isto, na suspensão S7, após 300 min de irradiação UV (tempo máximo de irradiação que a amostra foi submetida), foram feitas seis sucessivas adições de 100  $\mu\text{L}$  da solução padrão aquosa de  $\text{AgNO}_3$  (30 mM), a fim de obter uma curva de calibração por adição da solução padrão. Antes de adicionar a primeira alíquota da solução padrão de  $\text{AgNO}_3$ , foi feita a medida da densidade de corrente no potencial em que ocorre a redução dos íons  $\text{Ag}^+$  (aproximadamente +0,79 V). Com as sucessivas adições de solução padrão aquosa de  $\text{AgNO}_3$  foram obtidos outros valores de densidade de corrente, nesse potencial, que, também, foram utilizados para a construção da curva de calibração. Para poder determinar a concentração de  $\text{Ag}^+$  na suspensão S7 após 300 min, por regressão linear, os cálculos foram feitos considerando o fator de diluição 64, aplicado na suspensão S7. Para estas medidas, foi utilizado o potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 204, com velocidade de varredura de 0,01  $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , na faixa de potencial de -0,7 a 1 V, numa célula eletroquímica de três eletrodos; eletrodo de referência  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ , contra eletrodo de platina e eletrodo de trabalho de óxido de estanho dopado com índio (ITO).

### **3.6.3 Microscopia eletrônica de transmissão (MET) e Espectrometria de energia dispersiva de raios X (EDS)**

A morfologia das nanopartículas das amostras S2, S5 e S7 irradiadas por 10 min, após serem armazenadas no escuro e expostas às variações ambientais de temperatura (19°C a

30°C) por 19 dias, foi observada por microscopia eletrônica de transmissão (MET), utilizando o equipamento Jeol, JEM-2100, equipado com o espectrômetro de energia dispersiva de raios X Thermo Scientific. O diâmetro médio das NP foi estimado a partir de uma distribuição logNormal com os dados dos diâmetros de 300 partículas esféricas obtidos por meio do *software ImageJ*. Para complementar essa caracterização microscópica, análises de energia dispersiva de raios X (EDS) foram feitas. Esses experimentos foram conduzidos no Laboratório multiusuário de microscopia de alta resolução (LabMic) da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia-GO.

#### **3.6.4 Espectroscopia de fluorescência**

A interação de AgNP com fluoróforos pode gerar uma supressão de fluorescência ou um aumento na fluorescência devido ao efeito da LSPR. Então, para conhecer a atuação dos sistemas produzidos na presença do fluoróforo azul de metileno, as suspensões S2, S5 e S7 irradiadas por 10 min, após os 19 dias de armazenamento, foram analisadas por espectroscopia de fluorescência. Com o auxílio do fluorímetro da Fluorolog<sup>TM</sup> modelo Horiba fluorescence IRH320, foram obtidos espectros de emissão das suspensões S2, S5, S7 e de amido de batata puras e com o fluoróforo. Sabendo que, quando excitado em 300 nm, o azul de metileno fluoresce intensamente em 680 nm, então, as amostras puras e com o fluoróforo foram excitadas nesse comprimento de onda. Para isto, em 2,5 mL de cada amostra foram adicionados 100 µL de água ultrapura, para as medidas de emissão das suspensões puras, ou 100 µL azul de metileno de concentração 0,5 g.L<sup>-1</sup>, para as medidas na presença do fluoróforo. Além disso, para essas medidas foram utilizadas fendas de entrada e de saída de 2 nm e 10 nm, respectivamente.

#### **3.6.5 Análise estatística e gráfica**

As curvas de absorção UV-vis, de espectroscopia Raman e de fluorescência, bem como todos os gráficos apresentados neste trabalho foram plotados com o auxílio do programa OriginPro 2015. Esse programa também foi utilizado para aplicar ajustes de curva (JMA, linear e lognormal) nos gráficos. Apenas as medidas de potencial zeta, DH e PdI foram realizadas em triplicata e os dados expostos referentes a elas corresponde à média.

## 4. Resultados e Discussão

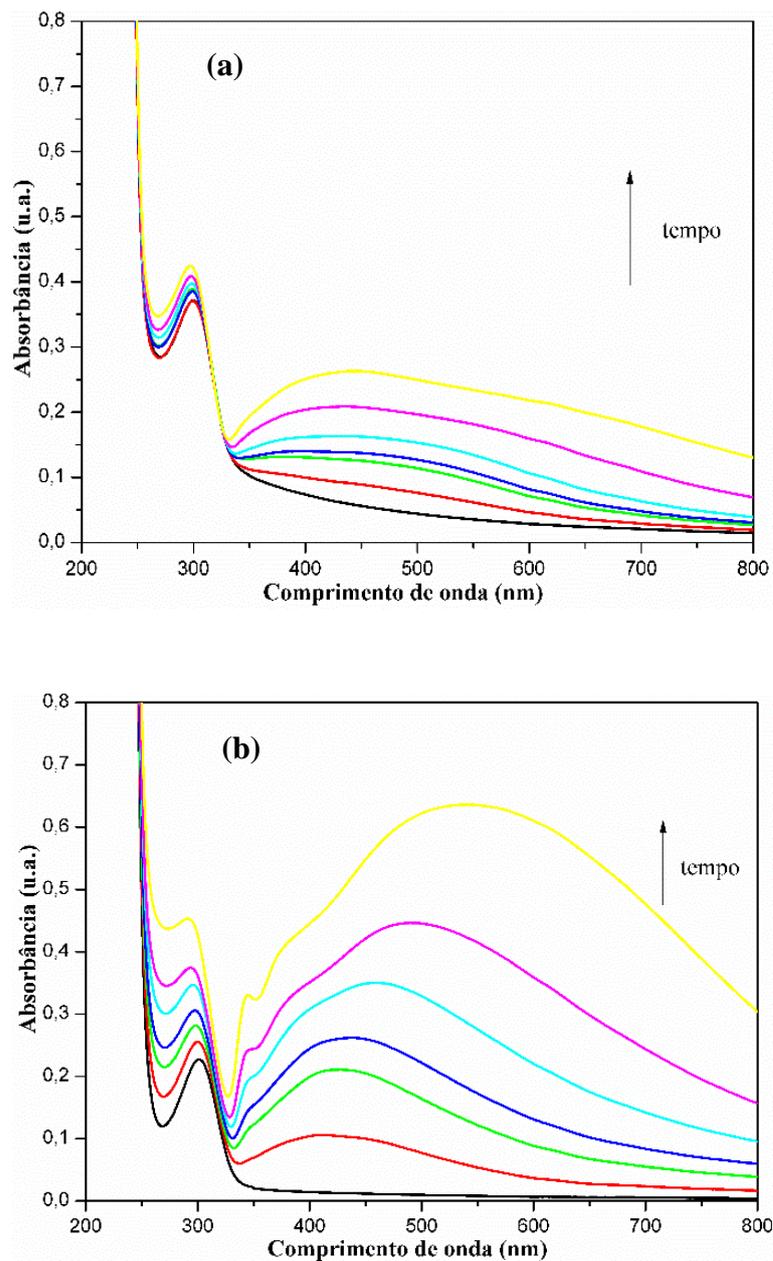
### 4.1. Determinação do agente nucleante/redutor

Os agentes nucleantes/redutores testados, neste estudo, para a síntese *in situ* por via fotoquímica de AgNP, foram escolhidos por serem materiais de custo baixo e de fácil obtenção. Ademais, apresentam, em sua estrutura, o grupo funcional hidroxila que é susceptível à oxidação e, conseqüentemente, bom redutor dos íons  $\text{Ag}^+$ . Essa capacidade pode ser ainda ampliada, quando energia (térmica ou luminosa) é fornecida ao sistema.<sup>24,28.,29</sup>

Para determinar o agente mais adequado para esta síntese, o comportamento espectroscópico de suspensões pouco concentradas de amido de mandioca acetilado ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ) e de amido de batata ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ), ambas contendo 30 mM de  $\text{AgNO}_3$ , durante os 30 min de exposição à radiação UV, foi analisado (Figura 9).

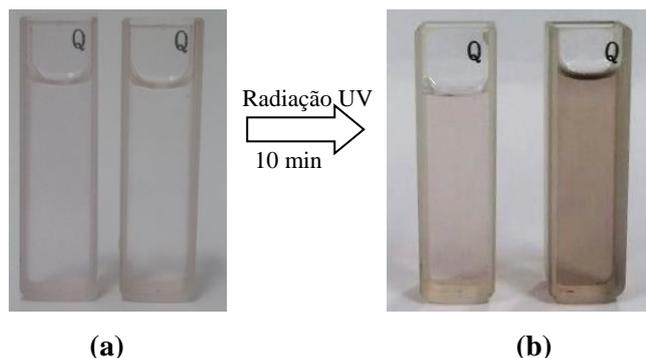
Antes e após a exposição à radiação UV, observa-se nesses espectros a presença de uma banda próxima a 300 nm que corresponde à transição  $n \rightarrow \pi^*$  do grupo  $\text{N}=\text{O}$  do íon nitrato, oriundo do sal utilizado como fonte de  $\text{Ag}^+$ . Com a exposição à radiação UV, ocorre o surgimento de bandas na região entre 350 e 600 nm nos espectros de absorção UV-vis dessas suspensões (Figura 9). Estas bandas estão dentro da faixa característica para bandas de LSPR das AgNP.<sup>28</sup>

Comparando os espectros de absorção UV-vis dessas suspensões, foi observado que o espectro da suspensão contendo amido de mandioca acetilado (Figura 9a) apresenta bandas mais largas, menos intensas e com menor simetria que os espectros da suspensão contendo amido de batata (Figura 9b).



**Figura 9.** Espectros de absorção UV-vis das suspensões de: (a) amido de mandioca acetilado ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ) e (b) amido de batata ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ), ambas com  $30 \text{ mM}$  de  $\text{AgNO}_3$ , antes da exposição à radiação UV e após 1, 3, 5, 10, 15 e 30 min de irradiação.

Além disso, após a irradiação foi observada uma mudança na coloração das suspensões, que inicialmente eram incolores e adquiriram coloração rosada e amarelo amarronzada, respectivamente, para as suspensões de amido de mandioca acetilado e de amido de batata, ambas contendo  $\text{AgNO}_3$  (Figura 10).

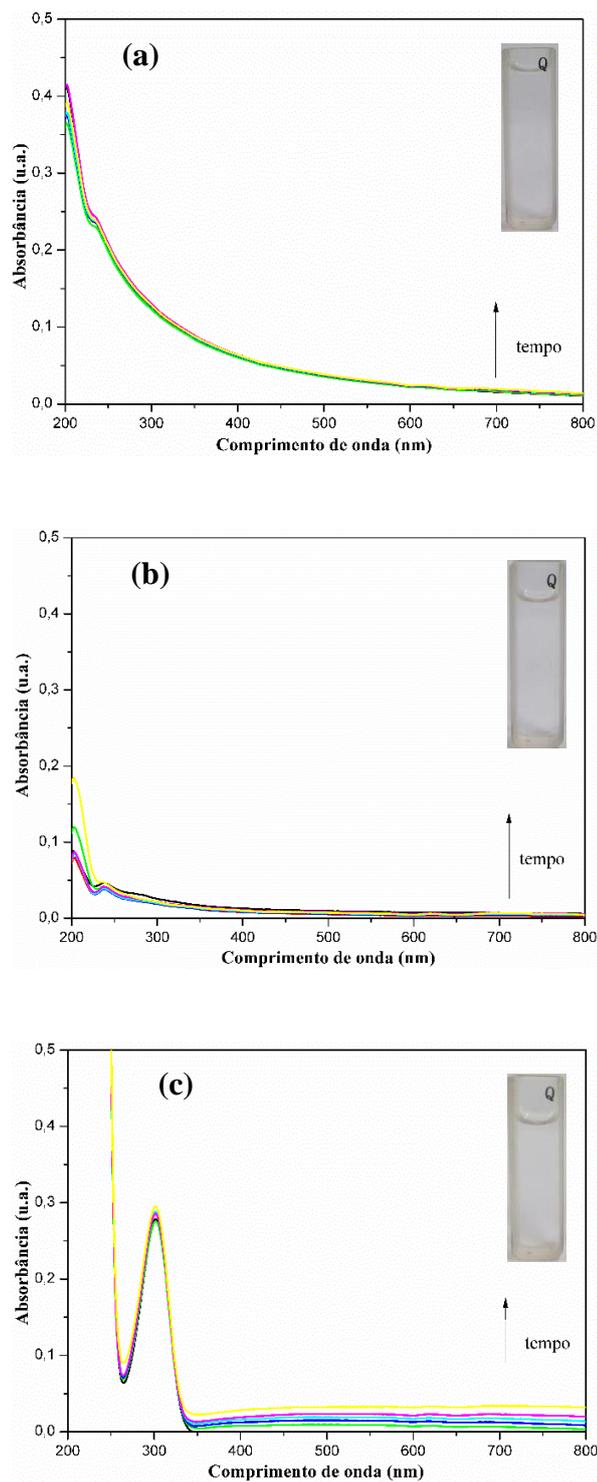


**Figura 10.** Imagens digitais das amostras de amido de mandioca acetilado e amido de batata ambas com 30 mM de  $\text{AgNO}_3$  (a) antes da irradiação e (b) após 10 min de irradiação UV.

A mudança de coloração e o perfil das curvas de absorção UV-vis obtidos sugerem que ambas as suspensões são capazes de formar AgNP. Para confirmar que essas modificações não são oriundas da interação das suspensões puras de amido e da solução aquosa pura de  $\text{AgNO}_3$  com a radiação UV, as suspensões de amido de mandioca acetilado e de amido de batata, ambas sem  $\text{AgNO}_3$ , e a solução aquosa de nitrato de prata foram expostas à radiação UV e monitoradas por espectroscopia de absorção UV-vis da mesma forma que as duas suspensões anteriores (Figura 11).

De acordo com a literatura,<sup>39</sup> a irradiação UV não altera a estrutura cristalina nem a entalpia de gelatinização do amido, mas conduz à sua despolimerização oxidativa, que depende do comprimento de onda e da intensidade da radiação aplicada. A formação de radicais livres pela luz UV cliva as ligações glicosídicas, causando um encurtamento da cadeia de amilose e uma desramificação da amilopectina, ou seja, a fotodegradação do amido. As alterações decorrentes da exposição à radiação UV, relatadas por outros autores, foram observadas após longos tempos de irradiação.<sup>39-41</sup>

Neste trabalho, não foram constatadas modificações significativas nos espectros UV-vis das amostras puras de amido com a irradiação UV, nem a presença de bandas na mesma região da banda LSPR das AgNP (Figura 11). Além disso, essas suspensões permaneceram incolores após serem submetidas à radiação UV. Nos espectros da solução aquosa de  $\text{AgNO}_3$ , foi observado, antes e após a irradiação, apenas a presença de uma banda próxima à 300 nm que corresponde a transição  $n \rightarrow \pi^*$  do grupo  $\text{N=O}$  do íon nitrato, não sendo observado, também, modificações na região de 350 a 600 nm.



**Figura 11.** Espectros de absorção UV-vis das suspensões controle de (a) amido de mandioca acetilado (1 g.L<sup>-1</sup>), (b) amido de batata (1 g.L<sup>-1</sup>) puras e da (c) solução aquosa de nitrato de prata (30 mM), após diferentes tempos de de exposição à radiação UV e suas respectivas imagens digitais, após 10 min de irradiação.

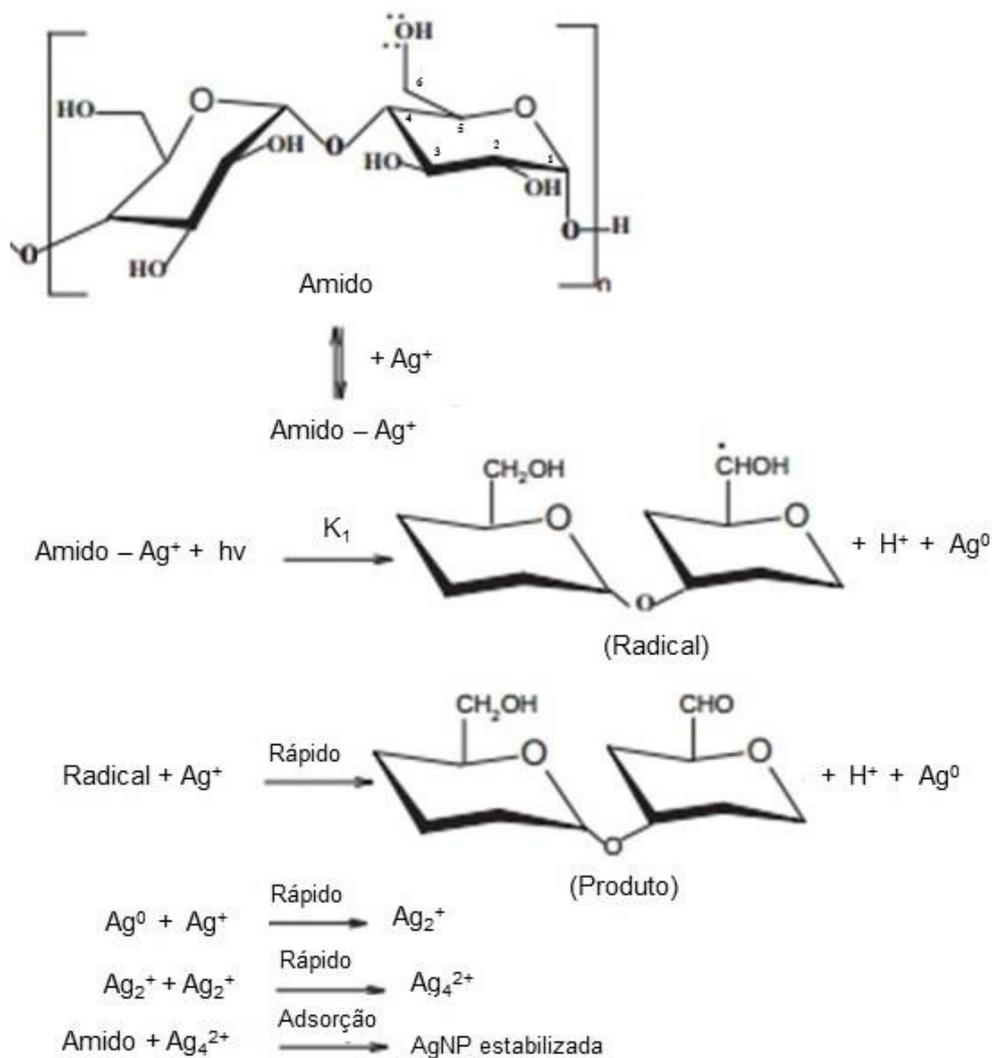
Essas análises comprovam que a síntese das AgNP por esta metodologia foi realizada com sucesso, isto é, que as modificações observadas nos espectros de absorção UV-vis da Figura 9, após a exposição à radiação UV, podem ser correlacionadas à formação de AgNP. E que esta síntese depende fundamentalmente da presença do amido, pois a solução aquosa pura de AgNO<sub>3</sub> não foi capaz de produzir NP, quando irradiada.

A correlação entre o perfil da curva das suspensões de amido de mandioca acetilado e de amido de batata, ambas com AgNO<sub>3</sub>, após a irradiação UV (Figura 9), e o tamanho das AgNP formadas é um pouco complexo. De acordo com a literatura,<sup>19</sup> em partículas pequenas a absorção de energia prevalece, enquanto que, em partículas maiores a dispersão de energia é favorecida. Assim, a banda LSPR tende a ser mais larga e menos intensa em partículas maiores. No entanto, nos espectros da Figura 9, não é possível afirmar que a menor intensidade de absorbância observada na suspensão de amido de mandioca acetilado com AgNO<sub>3</sub> irradiada se deve à formação de AgNP maiores, pois essa menor absorbância também poderia ser atribuída a uma menor quantidade de NP formadas. De acordo com a lei de Beer, a absorbância pode ser diretamente proporcional à concentração de uma espécie absorvente e ao caminho óptico do meio absorvente.<sup>42</sup> Logo, uma menor absorbância, também, pode ser atribuída a uma menor quantidade de espécie absorvente. Então, a absorbância observada nesses sistemas pode ser resultado da influência da quantidade e do tamanho das AgNP formadas.

A principal diferença entre os amidos testados que pode influenciar significativamente esta síntese e o comportamento observado nos espectros de absorção UV-vis é a presença do grupo acetil (-COCH<sub>3</sub>) no amido de mandioca acetilado, que diminui o número de hidroxilas disponíveis para participar do processo, gerando um menor número de AgNP, o que pode resultar em uma menor absorbância. Além disso, os grupos hidroxilas do amido também controlam fatores como o tamanho e a estabilização por meio da estrutura de rede deste polímero. Essas redes poliméricas facilitam a estabilização de NP por meio de efeitos eletrostáticos e estéricos.<sup>26</sup>

Ortega-Arroyo e colaboradores,<sup>26</sup> descreveram que essa síntese ocorre inicialmente, com a formação de complexos entre os íons de prata e grupos hidroxila. Com a oxidação dos grupos hidroxilas primários resultantes da hidrólise do amido, compostos como aldeídos e ácidos carboxílicos são formados e os cátions Ag<sup>+</sup> são reduzidos, gerando Ag<sup>0</sup>. A oxidação do amido pode ocorrer no carbono 6 dos anéis, como mostra a Figura 12 ou no carbono 1

(carbono anomérico), que não participaram de ligações glicosídicas, as chamadas de pontas reductoras.



**Figura 12.** Esquema da reação de síntese de AgNP, adaptado da referência 30.

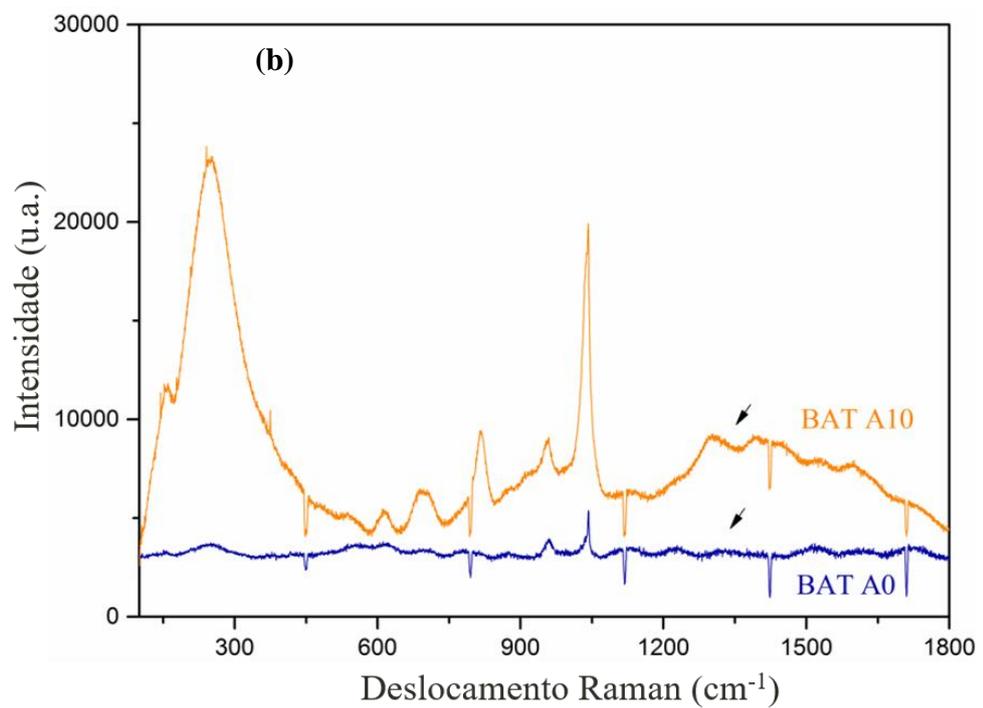
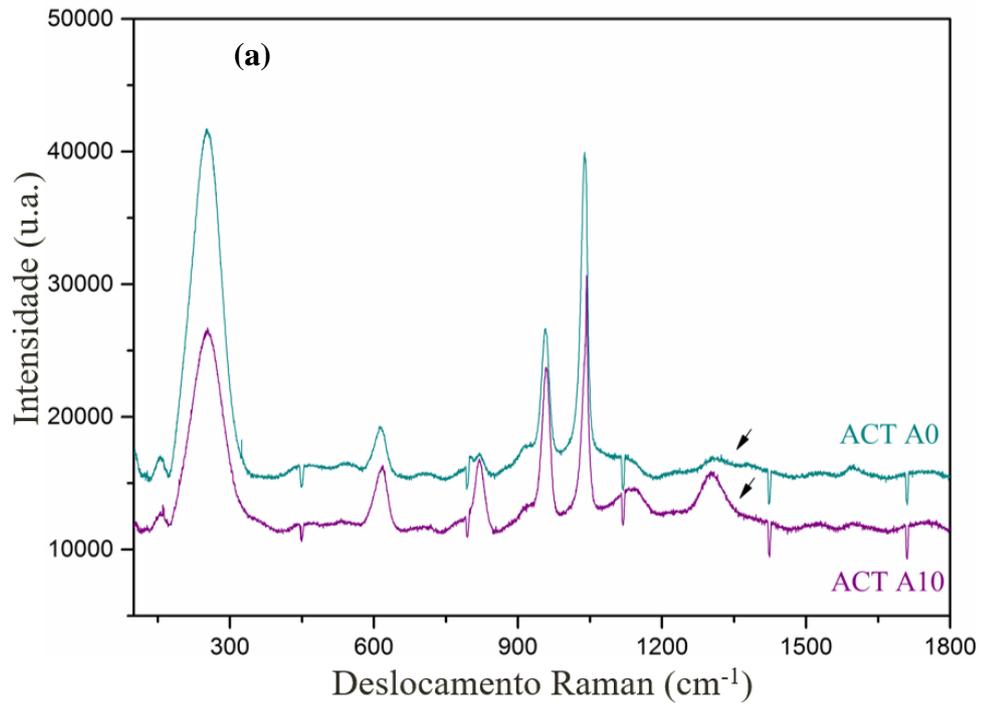
Os grupos carboxila formados com a oxidação tendem a cercar e proteger por mais tempo as NP, formando um revestimento carregado negativamente que impedem que NP próximas entrem em contato, conduzindo, assim, a uma distribuição relativamente mais uniforme.<sup>26</sup>

Com o intuito de verificar se a exposição à radiação UV por pouco tempo promovia a fotodegradação dos amidos puros e se, nas amostras contendo  $AgNO_3$ , apareceriam bandas de grupos carboxilas referentes à oxidação do amido, foram realizadas análises por espectroscopia Raman. Esta técnica foi escolhida por se tratar de suspensões aquosas, já que a água não interfere significativamente nessas medidas como ocorre em técnicas como a

espectroscopia por infravermelho (FTIR). Além disso, o tempo de irradiação escolhido foi de 10 min, pois as suspensões de amido com  $\text{AgNO}_3$  neste tempo apresentavam variações significativas na coloração e nos espectros de absorção UV-vis. No entanto, apesar das inúmeras tentativas, os espectros de antes e depois da irradiação, por 10 min, das suspensões de amido puro não apresentaram uma boa definição de bandas na faixa de 200 a 2000  $\text{cm}^{-1}$ . Isto pode ser relacionado à formação de uma camada pouco uniforme nas lâminas de vidro usadas como porta-amostra das análises, o que interfere na qualidade dos resultados obtidos. Com isso, não puderam ser analisados nem foram apresentados neste trabalho. No entanto, os espectros Raman das amostras de amido de batata com nitrato de prata sem irradiar, irradiado por 10 minutos, de amido acetilado de mandioca sem irradiar e irradiado por 10 min denominadas, respectivamente, BAT A0, BAT A10, ACT A0 e ACT A10 estão expostos na Figura 13.

Nestes espectros, é possível observar picos nas regiões de deformações exocíclicas (700 a 500  $\text{cm}^{-1}$ ) e de deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH (região de 950 a 700  $\text{cm}^{-1}$ ) e uma banda em 1040  $\text{cm}^{-1}$ , referente ao estiramento simétrico  $\nu_1$  do grupo  $\text{NO}_3^-$  do nitrato de prata.<sup>26,43</sup> Além disso, foi possível perceber o aparecimento de um pico em 1300  $\text{cm}^{-1}$ , correspondente aos grupos carboxila nas amostras, após serem irradiadas.<sup>26</sup> Este pico já constava com uma fraca intensidade na amostra ACT A0, em virtude dela possuir grupos acetil em sua estrutura, mas foi intensificado com a irradiação. No amido de batata, este pico só aparece depois da incidência da radiação. Com isso, foi averiguada a formação de grupos carboxila resultantes da oxidação dos amidos.

Esses resultados associados com os espectros de absorção UV-vis, analisados anteriormente, sugerem que a presença do íon nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), um agente oxidante, oriundo do sal  $\text{AgNO}_3$ , utilizado como fonte de íons  $\text{Ag}^+$ , favorece a hidrólise dos amidos por radiação UV. Com isso, um maior número de hidroxilas primárias suscetível à oxidação seria formado. Assim, com a irradiação esses grupos seriam oxidados e resultariam, conseqüentemente, na redução do cátion  $\text{Ag}^+$ , formando as AgNP.



**Figura 13.** Espectros Raman das amostras (a) ACT A0 e ACT A10 e (b) BAT A0 e BAT A10.

Por meio das análises realizadas nesta etapa foi depreendido que o amido é essencial para que esta síntese ocorra e que, aparentemente, o amido de batata promove a formação de uma maior quantidade de AgNP que são mais uniformes, menos polidispersas, devido à largura da banda LSPR ser mais estreita que a largura da banda exibida pelo amido de mandioca acetilado. Portanto, neste estudo, o amido de batata foi selecionado para ser utilizado como agente nucleante e redutor das AgNP.

## **4.2. Estudo da cinética da síntese fotoquímica de AgNP em amido de batata**

Conhecer os fatores que influenciam a reação de formação das AgNP é muito importante para se obter um maior controle do tamanho e da forma das NP. Nesta síntese, os principais fatores a serem compreendidos são: influência da exposição à radiação UV, da concentração de AgNO<sub>3</sub> e da concentração de amido de batata no processo de nucleação e crescimento das NP.

Em vista disso, foi observado o comportamento das suspensões contendo amido de batata (1,25 g.L<sup>-1</sup>) e AgNO<sub>3</sub> (30 mM), quando armazenada protegida da luz, submetida a diferentes tempos de irradiação UV e à luz ambiente (Figura 14).

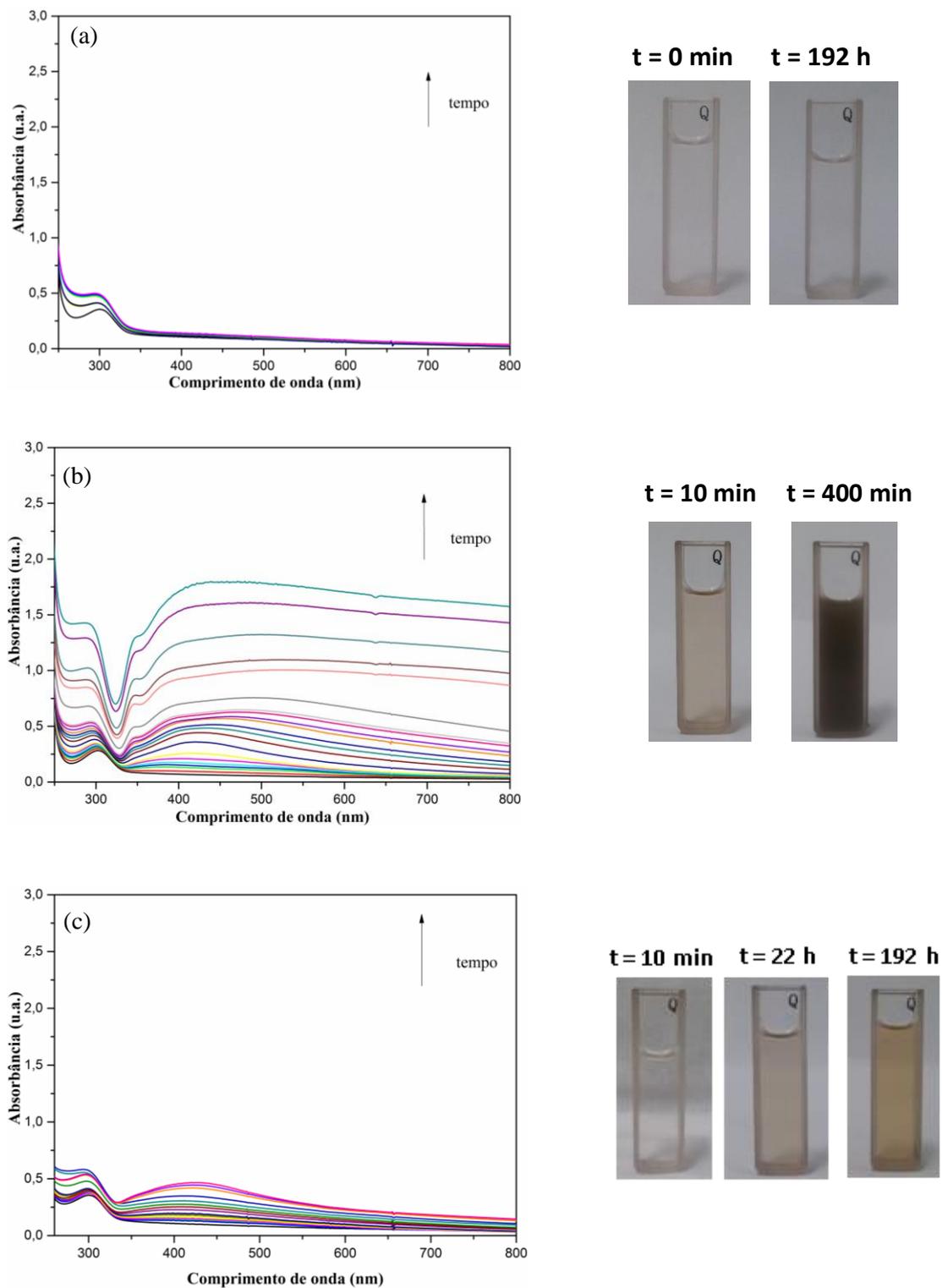
Essas amostras, contendo as mesmas concentrações, foram armazenadas e testadas em ambiente com temperatura controlada, a 20°C, para averiguar apenas a atuação da luz na reação. Sabe-se que o calor contribui para a formação de NP, já que algumas sínteses<sup>28,34,44,45</sup> o utilizam como fonte de energia para promover a produção de AgNP e que a variação de temperatura pode influenciar na cinética de reações.<sup>46,47</sup>

A suspensão armazenada no escuro e a exposta a luz ambiente não apresentaram modificações significativas, após o tempo de 400 min. Então, para verificar se a reação nestas condições aconteceria posteriormente, o tempo deste experimento para essas amostras foi estendido para 192 h (8 dias). Enquanto que, a amostra submetida à radiação UV foi exposta apenas por 400 min por ficar muito turva após esse tempo.

Com os espectros adquiridos, foi observado que apenas o amido não é suficiente para promover a formação de AgNP, pois, quando protegida da luz, a suspensão não apresenta indícios da formação de NP (Figura 14a), mesmo após 192 h. Ou seja, os espectros dessa amostra, assim como a coloração dela não apresentaram variação. Nesses espectros, só é possível observar a presença da banda próxima a 300 nm que é referente ao íon nitrato. Portanto, a radiação possui um papel fundamental, fornecendo a energia mínima necessária

para iniciar o processo. Essa observação é corroborada pelo trabalho realizado por Teixeira e colaboradores,<sup>48</sup> o qual mostrou que nanopartículas de ouro são rapidamente formadas na presença de poli(etileno imina) somente quando o meio reacional é irradiado por luz UV. Ela também se mostrou essencial na síntese de AgNP com dodecil sulfato de sódio (SDS), conduzida por Bhaduri e colaboradores.<sup>49</sup> Porém, o comportamento observado neste trabalho não pode ser generalizado. Pois, de acordo com Goham e colaboradores,<sup>50</sup> a exposição à luz UV de AgNP comerciais estabilizadas com citrato promove um decaimento na absorbância da banda LSRP, indicando a dissolução das NP. O que ressalta a importância de estudar e caracterizar os diferentes tipos de suspensões coloidais de AgNP e o tipo de síntese utilizada.

O espectro de absorção UV-vis da suspensão exposta à luz ambiente apresentou o surgimento de uma banda na região característica da banda LSPR das AgNP. No entanto, a absorbância obtida após 192 h é muito menor que a obtida para a suspensão irradiada por 400 min. Foi constatado, ainda, que são necessárias cerca de 22 h para que a suspensão exposta à luz ambiente atinja uma absorbância similar à da suspensão irradiada por 10 min com luz UV. Assim, o uso da caixa UV acelera o processo por fornecer em grande quantidade a faixa específica de comprimento de onda responsável por desencadear a reação.



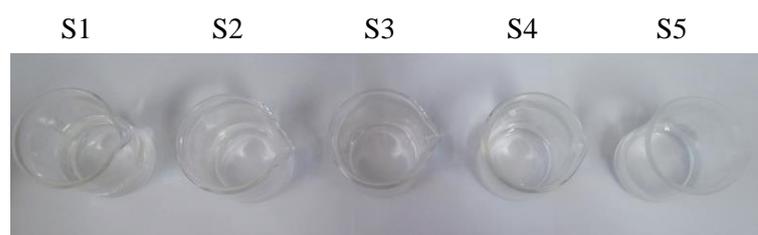
**Figura 14.** Espectros de absorção UV-vis das suspensões de amido de batata ( $1,25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) com  $\text{AgNO}_3$  ( $30 \text{ mM}$ ) (a) armazenada protegida da luz por 192 h, (b) irradiada por luz UV por 400 min e (c) exposta à luz ambiente por 192 h, todas mantidas a  $20^\circ\text{C}$ , e suas imagens digitais em determinados tempos.

O próximo fator avaliado foi a influência da concentração do sal de prata utilizado na síntese. Para isto, 5 (cinco) concentrações deste reagente foram testadas, conforme dados apresentados na Tabela 1.

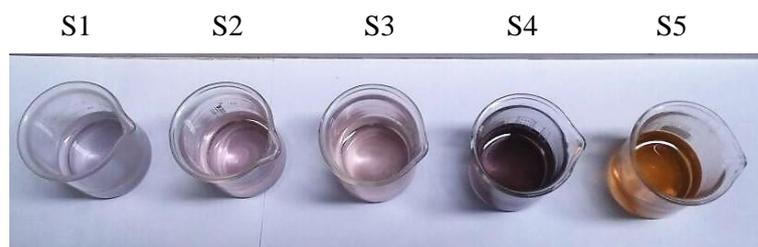
**Tabela 1.** Relação das suspensões utilizadas na investigação da influência do  $\text{AgNO}_3$  na reação.

| Nome da suspensão | Concentração de amido de batata ( $\text{g.L}^{-1}$ ) | Concentração de $\text{AgNO}_3$ (mM) |
|-------------------|---|--------------------------------------|
| S1                | 1,25  | 0,03                                 |
| S2                | 1,25  | 1                                    |
| S3                | 1,25  | 3                                    |
| S4                | 1,25  | 10                                   |
| S5                | 1,25  | 30                                   |

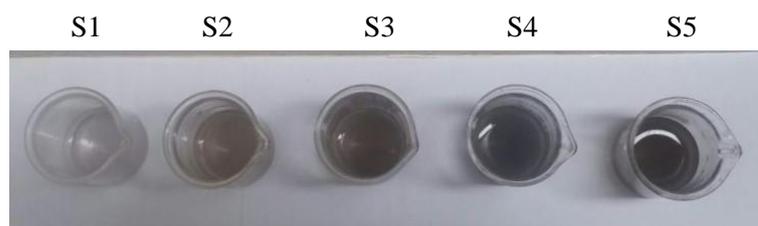
Para conhecer o comportamento dessas amostras com o tempo de irradiação, elas foram submetidas à radiação UV pelo maior tempo possível. Inicialmente, com a exposição, as suspensões S1, S2 e S3 de incolores ficaram rosadas, enquanto a S4 e a S5 adquiriram coloração roxa e amarelada, respectivamente (Figura 15). A partir de 30 min de exposição, foi observado que as amostras tendiam a ficar acinzentadas, turvas e com aspecto pouco homogêneo, mesmo assim a irradiação foi mantida para averiguar o comportamento das curvas de absorção UV-vis. O tempo máximo de exposição utilizado, visando que a turbidez não interferisse na qualidade dos espectros, foi de 300 min. Além disso, notou-se que, nos primeiros tempos de irradiação, as mudanças nas curvas dos espectros de absorção UV-vis eram mais visíveis. Com o tempo, a variação entre as curvas foi diminuindo, logo, os intervalos de tempo para aquisição dos espectros foram aumentados. Portanto, S1, S2, S3, S4 e S5 foram expostas à radiação UV pelo tempo máximo de 300 min e monitoradas por medidas de absorção UV-vis após 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 e 300 min de irradiação (Figuras 16 e 17).



(a)

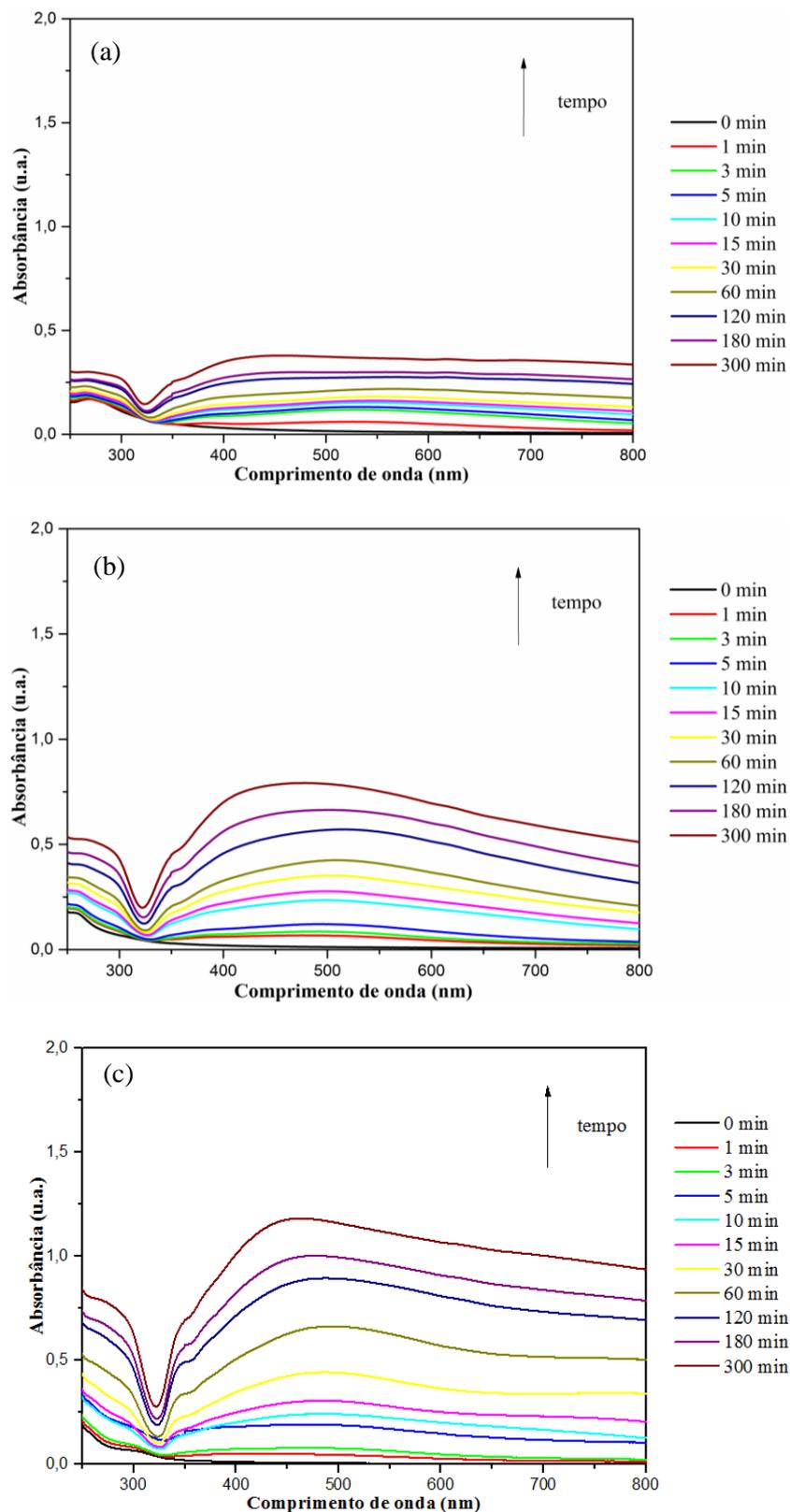


(b)

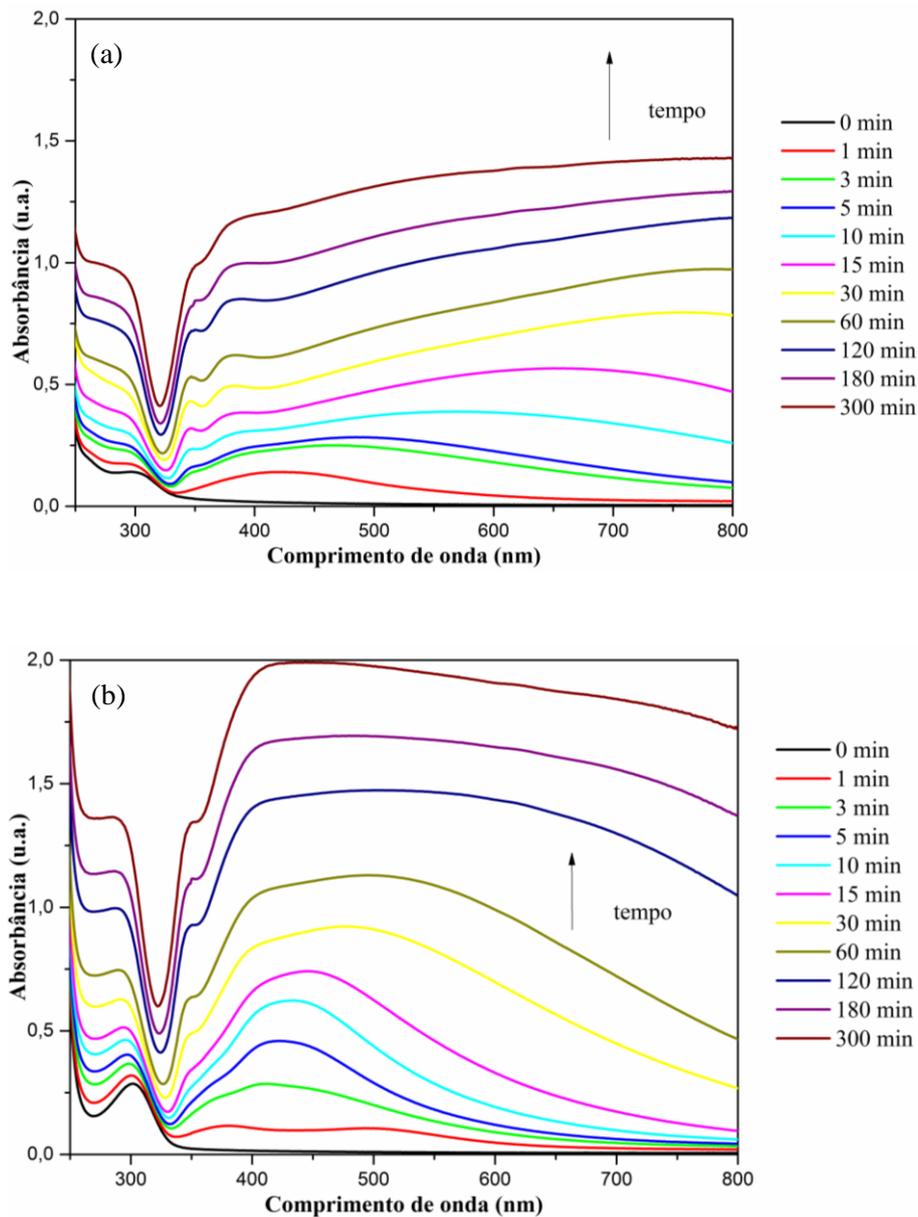


(c)

**Figura 15.** Imagens digitais das amostras S1, S2, S3, S4 e S5 (a) antes da exposição à radiação UV e depois de (b) 5 min e de (c) 30 min de irradiação.



**Figura 16.** Espectros de absorção UV-vis das suspensões com  $1,25 \text{ g.L}^{-1}$  de amido: (a) S1 ( $0,03 \text{ mM}$  de  $\text{AgNO}_3$ ), (b) S2 ( $1 \text{ mM}$  de  $\text{AgNO}_3$ ), (c) S3 ( $3 \text{ mM}$  de  $\text{AgNO}_3$ ) após diferentes tempos de irradiação de luz UV, durante 300 min de exposição.



**Figura 17.** Espectros de absorção UV-vis das suspensões com  $1,25 \text{ g.L}^{-1}$  de amido: (a) S4 (10 mM de  $\text{AgNO}_3$ ) e (b) S5 (30 mM de  $\text{AgNO}_3$ ), após diferentes tempos de irradiação de luz UV, durante 300 min de exposição.

Com isso, foi verificado que, nas menores concentrações de  $\text{AgNO}_3$  (0,03 mM, 1 mM e 3 mM), os espectros UV-vis, nos tempos iniciais, apresentaram bandas que se estendiam por uma larga faixa de comprimento de onda, o que sugere uma maior variação no tamanho ou no formato das partículas. Com o tempo de exposição, ocorre o deslocamento do comprimento de onda, onde ocorre a  $Ab_{S_{max}}$ , para próximo a 430 nm (Figura 16). Este comportamento é similar ao observado por Khan<sup>25</sup>, na síntese AgNP com ácido ascórbico estabilizada com

amido. De acordo com este autor, isto ocorre porque, inicialmente, as NP crescem para formar AgNP maiores e, com o tempo, o amido atua como um agente direcionador de forma.

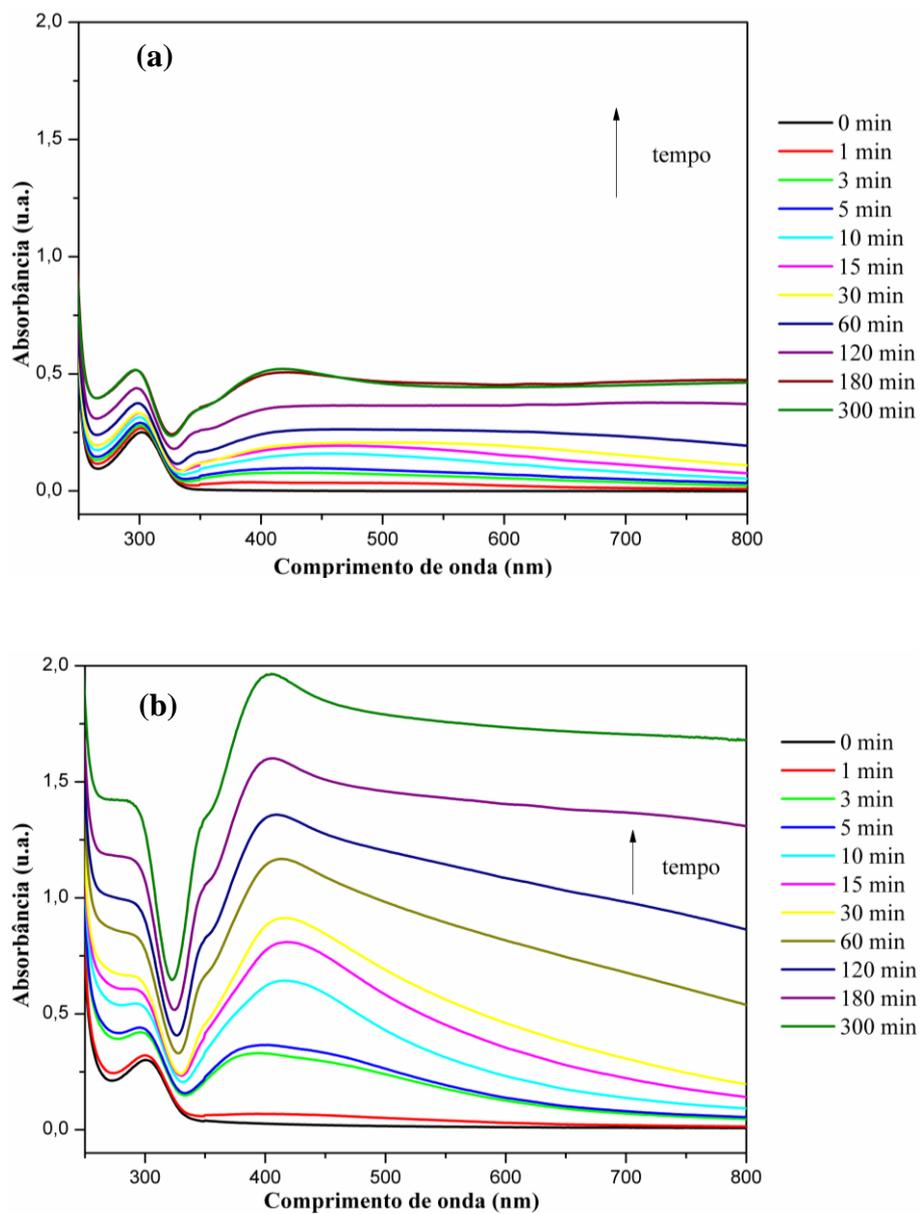
A amostra S4, com 10 mM de AgNO<sub>3</sub>, nos primeiros tempos de irradiação, apresenta o surgimento de uma banda larga assim como S1, S2 e S3. No entanto, após 10 min de exposição, ela se comporta de maneira diferente das demais, isto é, o pico de Abs<sub>max</sub> é deslocado para maiores comprimentos de onda, que pode ser associado a uma possível aglomeração das AgNP.<sup>28</sup>

Dentre as suspensões estudadas, a S5 que continha 30 mM de AgNO<sub>3</sub> mostrou-se mais promissora, por revelar nos seus espectros UV-vis uma melhor absorção, isto é, bandas LSPR próximas a 430 nm mais estreitas e intensas, quando irradiadas por pouco tempo (5, 10 e 15 min; curvas: azul, azul claro e rosa da Figura 17b), o que sugere a presença de partículas mais uniformes, menos polidispersas. Portanto, por exibir aparentemente uma boa uniformidade e maior homogeneidade, quando irradiada por pouco tempo, e apresentar coloração característica amarelada de AgNP, esta concentração foi utilizada para averiguar a influência do amido nesta síntese fotoquímica. Para isto, diferentes concentrações de amido de batata foram avaliadas (Tabela 2).

**Tabela 2.** Relação de suspensões utilizadas para avaliar a influência do amido na reação.

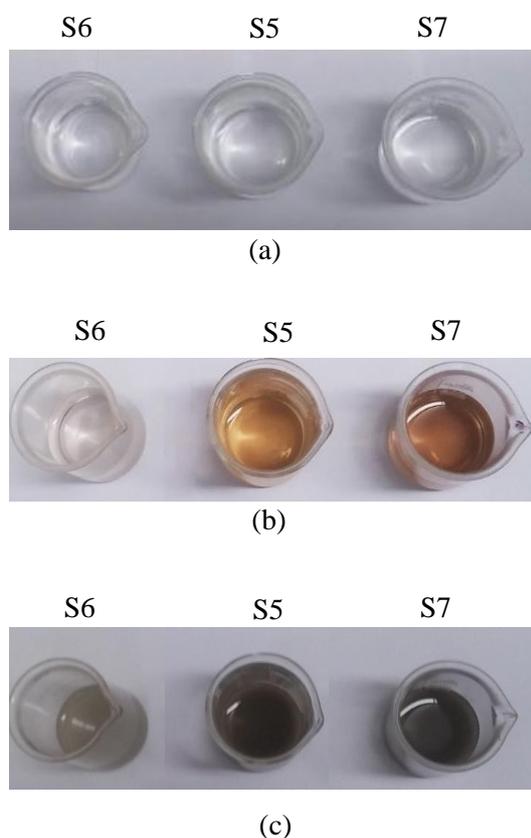
| Nome da suspensão | Concentração de amido de batata (g.L <sup>-1</sup> ) | Concentração de AgNO <sub>3</sub> (mM) |
|-------------------|--|--|
| S6                | 0,25   | 30                                     |
| S5                | 1,25   | 30                                     |
| S7                | 2,5  | 30                                     |

Da mesma forma que as anteriores, as amostras S6 e S7 também foram expostas à irradiação UV por 300 min e monitoradas por espectroscopia de absorção UV-vis, para compará-las à S5 (Figura 18). Para compreender a atuação do amido, foram utilizadas suspensões pouco concentradas de amido (0,25 g.L<sup>-1</sup>) e muito concentrada (2,5 g.L<sup>-1</sup>). Não foi possível utilizar maiores concentrações, visto que as suspensões com maiores concentrações saturavam o detector rapidamente.



**Figura 18.** Espectros de absorção UV-vis das suspensões com (a) 0,25 g.L<sup>-1</sup> e (b) 2,5 g.L<sup>-1</sup> de amido, ambas contendo 30 mM de AgNO<sub>3</sub>, após diferentes tempos de irradiação de luz UV, durante 300 min de exposição.

A suspensão S7 exibiu um comportamento similar ao observado na S5. Houve o surgimento de bandas relativamente mais simétricas, estreitas e mais intensas próximas a 430 nm, principalmente quando irradiadas por luz UV, durante 10 min (curva azul claro das Figuras 17b e 18b). No entanto, a amostra S6 apresentou bandas largas e pouco intensas. Além disso, esta última apresentou maior lentidão na mudança de cor, sendo mais perceptível a partir de 15 min de irradiação por luz UV, quando ficou levemente rosada, enquanto a S7 apresentou, rapidamente, uma coloração amarela amarronzada mais intensa. Essas suspensões assim como a S2, S3, S4 e S5, após longos tempos de exposição à luz UV, ficaram turvas (Figura 19), acinzentadas e com aspecto pouco homogêneo, o que sugere uma aglomeração das AgNP, resultando em NP maiores.



**Figura 19.** Imagens digitais das suspensões com 30 mM de  $\text{AgNO}_3$ : S6 ( $0,25 \text{ g.L}^{-1}$  de amido), S5 ( $1,25 \text{ g.L}^{-1}$  de amido) e S7 ( $2,5 \text{ g.L}^{-1}$  de amido) (a) antes da exposição à radiação UV, (b) após 10 min e (c) após 300 min de irradiação com luz UV.

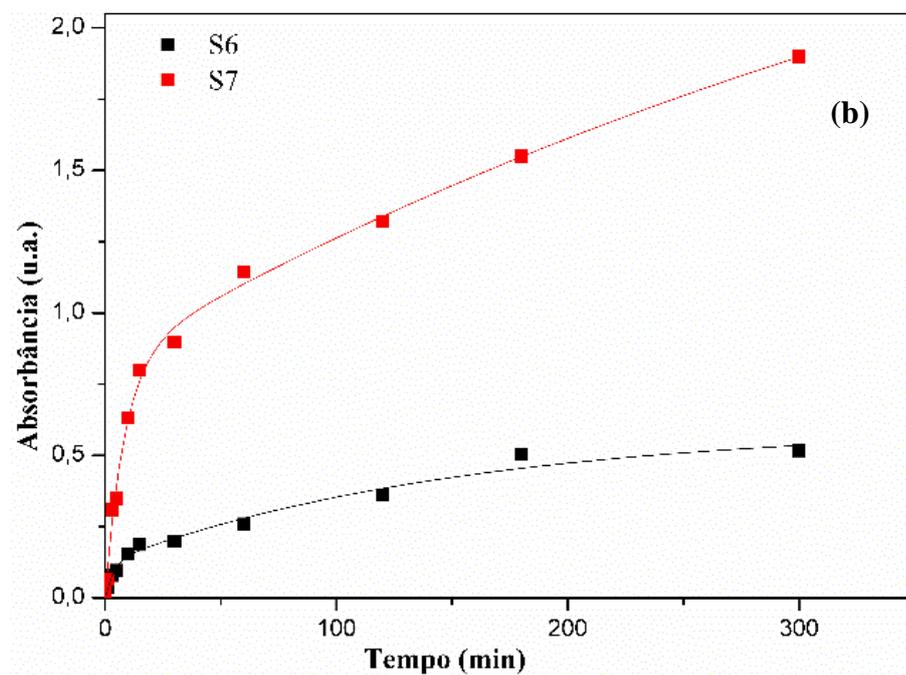
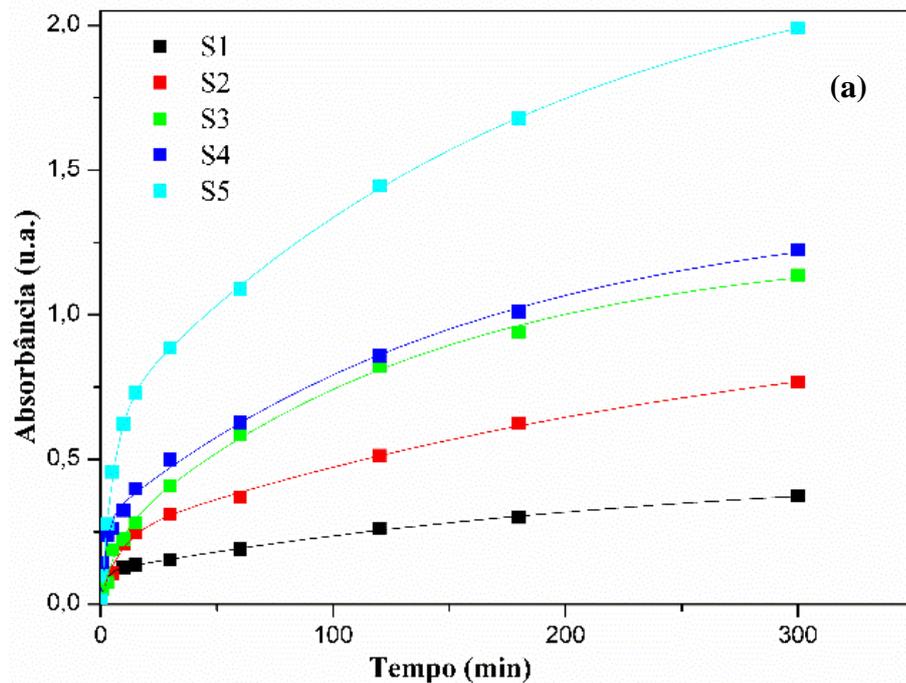
Com o intuito de compreender melhor o comportamento dessas amostras (S1, S2, S3, S4, S5, S6 e S7), curvas de absorvância em 430 nm *versus* tempo de exposição foram analisadas (Figura 20). Com isso, foram observados que os perfis exibidos com a variação de amido e de nitrato de prata são compatíveis com a equação de Johnson-Mehl-Avrami (JMA), visto que o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) obtido foi próximo a 1 (Tabela 3), o que indica que essa equação retrata adequadamente este processo. O modelo clássico de JMA descreve a cinética isotérmica de uma transformação que envolve processos como nucleação, crescimento e o impedimento causado pelo crescimento de núcleos adjacentes.<sup>51</sup>

A nucleação é a formação de partículas de tamanho supercrítico (núcleos) a partir de partículas de tamanho subcrítico, etapa que demanda consumo de energia. Na literatura,<sup>46,47</sup> existem diversos perfis de curvas referentes a diferentes modos de nucleação e o que se assemelha ao perfil observado nas curvas da Figura 20 é o proposto por Avrami. Neste modelo, o cálculo da taxa de nucleação leva em consideração, principalmente, o volume estendido (volume total que poderia ser transformado se não houvesse o impedimento causado por outros núcleos) e a sua relação com a temperatura (neste caso, isotérmica).<sup>46,47,51</sup>

Para obter um tratamento de dados mais preciso, a equação de JMA não considera somente os modelos de nucleação e de crescimento mais adequados ao comportamento observado, mas, também, as respectivas correções, considerando a interferência mútua entre os núcleos.<sup>46,47,51</sup> A Equação 1, oriunda do modelo JMA, apresenta a sobreposição de duas equações exponenciais para descrever este processo.<sup>52</sup>

$$A = A_0 + K_1 \left( 1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) \right) + K_2 \left( 1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_2}\right)^n \right) \quad (1)$$

onde: A,  $K_1$ ,  $K_2$ , t,  $\tau$  e n são, respectivamente, absorvância, constante de taxa de nucleação, constante de taxa de crescimento, tempo de exposição à radiação, tempo característico de cada etapa e o coeficiente de Avrami.<sup>52</sup> Este coeficiente de Avrami tem relação com o mecanismo de uma determinada fase, pois, apesar da cinética não detalhar o caminho da reação, ela colabora para sua compreensão.<sup>47</sup>



**Figura 20.** Gráficos da absorbância em 430 nm *versus* tempo de exposição à radiação UV: (a) quando a concentração de  $\text{AgNO}_3$  é variada e (b) quando a concentração de amido é variada, utilizando como ajuste de curva o modelo JMA.

**Tabela 3.** Dados obtidos do ajuste da curva pelo modelo JMA.

| Amostra | R <sup>2</sup> | K <sub>1</sub> ± erro (min <sup>-1</sup> ) | K <sub>2</sub> ± erro (min <sup>-1</sup> )    | K <sub>2</sub> /K <sub>1</sub> |
|---------|----------------|--|---|--------------------------------|
| S1      | 0,998          | 0,37 ± 0,02                                | 9,05.10 <sup>-2</sup> ± 5,04.10 <sup>-3</sup> | 0,24                           |
| S2      | 0,995          | 0,84 ± 0,16                                | 0,21 ± 0,03                                   | 0,25                           |
| S3      | 0,996          | 1,04 ± 0,05                                | 0,19 ± 0,04                                   | 0,18                           |
| S4      | 0,996          | 0,26 ± 0,02                                | 1,11 ± 0,06                                   | 4,26                           |
| S5      | 0,999          | 0,64 ± 0,02                                | 1,70 ± 0,06                                   | 2,65                           |
| S6      | 0,976          | 0,12 ± 0,04                                | 0,47 ± 0,06                                   | 3,91                           |
| S7      | 0,994          | 2,33 ± 1,28                                | 0,83 ± 0,07                                   | 0,35                           |

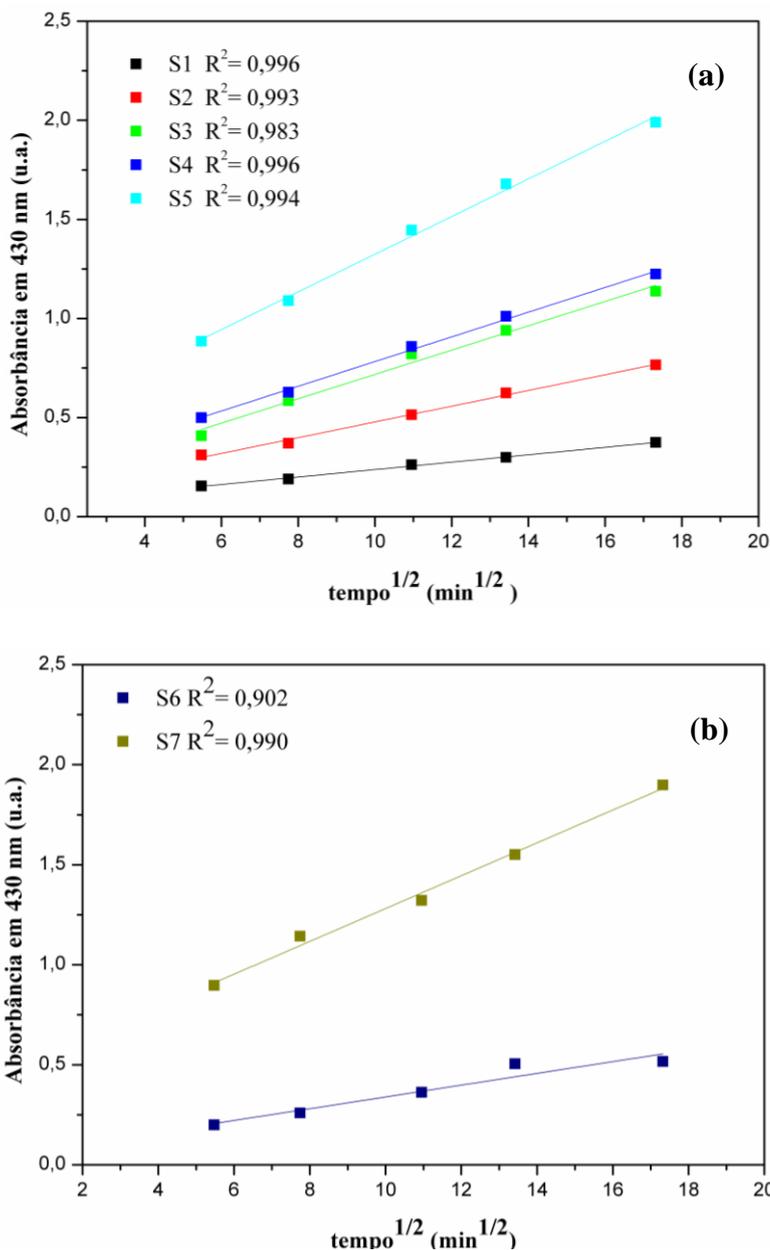
A primeira exponencial da Equação 1 corresponde a uma cinética de primeira ordem referente à etapa de nucleação, que ocorre predominantemente nos primeiros 15 min de reação.<sup>51</sup> Para curvas de transformações isotérmicas, como as da Figura 20, a região que intercepta o eixo do tempo é considerada o período de indução para a nucleação.<sup>46,47</sup>

De acordo com os dados obtidos pela Equação 1 (Tabela 3), observa-se que, nas suspensões S1, S2, S3 e S7, a razão K<sub>2</sub>/K<sub>1</sub> é baixa, isto é, K<sub>1</sub> é maior que K<sub>2</sub>, o que indica que a etapa de nucleação predomina, enquanto que a de crescimento é uma etapa lenta, contribuindo para a polidispersividade da amostra. As demais amostras (S4, S5 e S6), possuem uma alta razão K<sub>2</sub>/K<sub>1</sub>, isto é, apresentam um K de crescimento bem maior do que o de nucleação, favorecendo, possivelmente, a formação de partículas maiores e menos polidispersas.

Já, a segunda exponencial refere-se à etapa de crescimento da partícula. O valor de *n* encontrado por meio deste tratamento de dados foi 1, o que corresponde a um processo de primeira ordem.<sup>46,47</sup> Este valor pode ser associado ao mecanismo que contribui para o crescimento da partícula, pois existem 2 tipos de modelos de crescimento: o crescimento controlado por volume de difusão e o crescimento controlado por interface. No primeiro, a taxa de crescimento é determinada, principalmente, pelas condições de difusão dos átomos no meio, isto é, esse processo envolve o transporte de longo alcance dos átomos para as regiões em crescimento ou para longe das mesmas. Enquanto que, o segundo envolve processos atômicos na vizinhança imediata da interface da partícula. No entanto, esta etapa pode exibir um caráter misto, isto é, pode ocorrer uma transição de um modelo para o outro no decorrer da transformação.<sup>46,47</sup>

Em geral, reações controladas por difusão apresentam uma relação linear entre a região em crescimento e a raiz quadrada do tempo de crescimento, porém em sistemas controlados por interface esse comportamento linear ocorre em relação ao tempo.<sup>47</sup> Para verificar o

modelo de crescimento que predomina nesta síntese fotoquímica, foi plotado um gráfico de absorvância em 430 nm *versus* a raiz quadrada do tempo de irradiação em que o crescimento predomina ( $\text{tempo}^{1/2}$ ), isto é, após 15 min de irradiação (Figura 21). Isso constatou que o crescimento das partículas nesta síntese fotoquímica de AgNP em amido é controlada por difusão, visto que este gráfico apresenta uma relação linear com um  $R^2$  satisfatório, isto é, próximo a 1.



**Figura 21.** Gráfico de absorvância em 430 nm *versus* tempo<sup>1/2</sup> (a) quando a concentração de AgNO<sub>3</sub> é variada e (b) quando a concentração de amido é variada.

Em geral, os trabalhos encontrados na literatura sobre síntese de AgNP por via fotoquímica ou com o uso de amido, apresentam gráficos da relação tempo dependente desta transformação, mas não abordam de forma matemática o significado destas curvas. O principal foco destes trabalhos é mostrar a variação no perfil das curvas decorrentes de alterações da concentração dos reagentes.<sup>25,30,34,53</sup> Alguns, ainda, associam o comportamento observado a uma cinética de pseudo-primeira ordem em função da concentração de Ag<sup>+</sup> e obtêm constantes de velocidades com base nisto.<sup>28,34,53</sup> No entanto, não foram encontradas, até o presente momento, pesquisas que descrevam matematicamente o comportamento da síntese fotoquímica em amido de AgNP com base na equação JMA, que é uma das principais equações utilizadas no estudo de processos de nucleação e crescimento, mesmo nas que o perfil se assemelha a este modelo.

De acordo com os dados obtidos por esse estudo cinético e pela caracterização por espectroscopia de UV-vis, considera-se que, para obter partículas menores e mais uniformes, o tempo ideal de irradiação é entre 5 e 15 min. Já que, em geral, a partir de 15 min de reação, o processo de crescimento predomina, o que contribui para a formação de AgNP maiores. Além disso, nesse período, principalmente, após 10 min de irradiação, as amostras S5 e S7 apresentaram curvas de absorção UV-vis relativamente mais estreitas e intensas, próximas a 430 nm, o que sugere partículas menores e mais uniformes. Portanto, o tempo de 10 min mostra ser o tempo ideal de exposição à radiação UV para essa síntese fotoquímica.

### **4.3. Caracterização das suspensões coloidais de AgNP**

Outro aspecto importante a ser compreendido nestes tipos de processos é a estabilização das nanopartículas, que, devido à alta relação área/volume e, conseqüentemente, alta energia superficial, tendem a se aglomerar. Fatores como a morfologia da NP e revestimento influenciam na agregação.

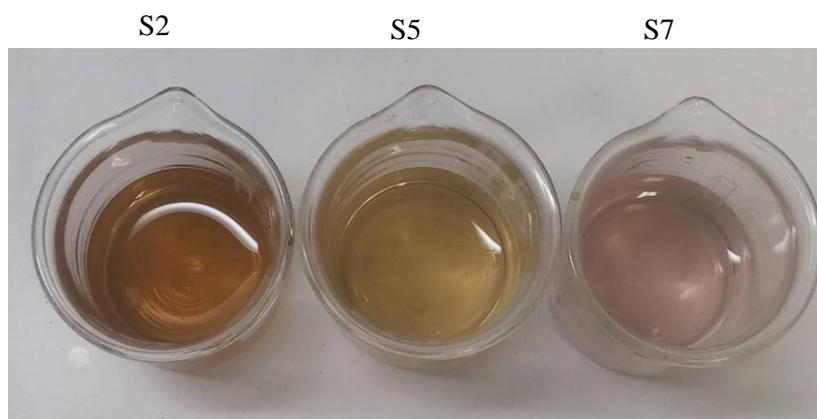
Para conhecer o comportamento das suspensões produzidas por esta metodologia com o tempo de armazenamento, isto é, verificar se estas amostras são estáveis ou tendem a sofrer modificações, após cessada a exposição à radiação UV, foram selecionadas 3 suspensões: S2, S5 e S7. As suspensões S5 e S7 foram escolhidas por apresentarem uma melhor absorção e bandas mais estreitas, principalmente, quando irradiadas por 10 min, enquanto a S2 foi selecionada para fins comparativos por se comportar de maneira diferente das duas primeiras, após o mesmo tempo de irradiação, isto é, apresentar uma banda mais larga, próxima a 500 nm, o que sugere uma maior polidispersividade. Além disso, essa escolha permite

analisar o comportamento da suspensão, quando a quantidade de nitrato de prata é variada e a de amido é mantida constante S2 e S5 e, quando a de amido é variada enquanto a de nitrato de prata permanece constante, S5 e S7 (Tabela 4).

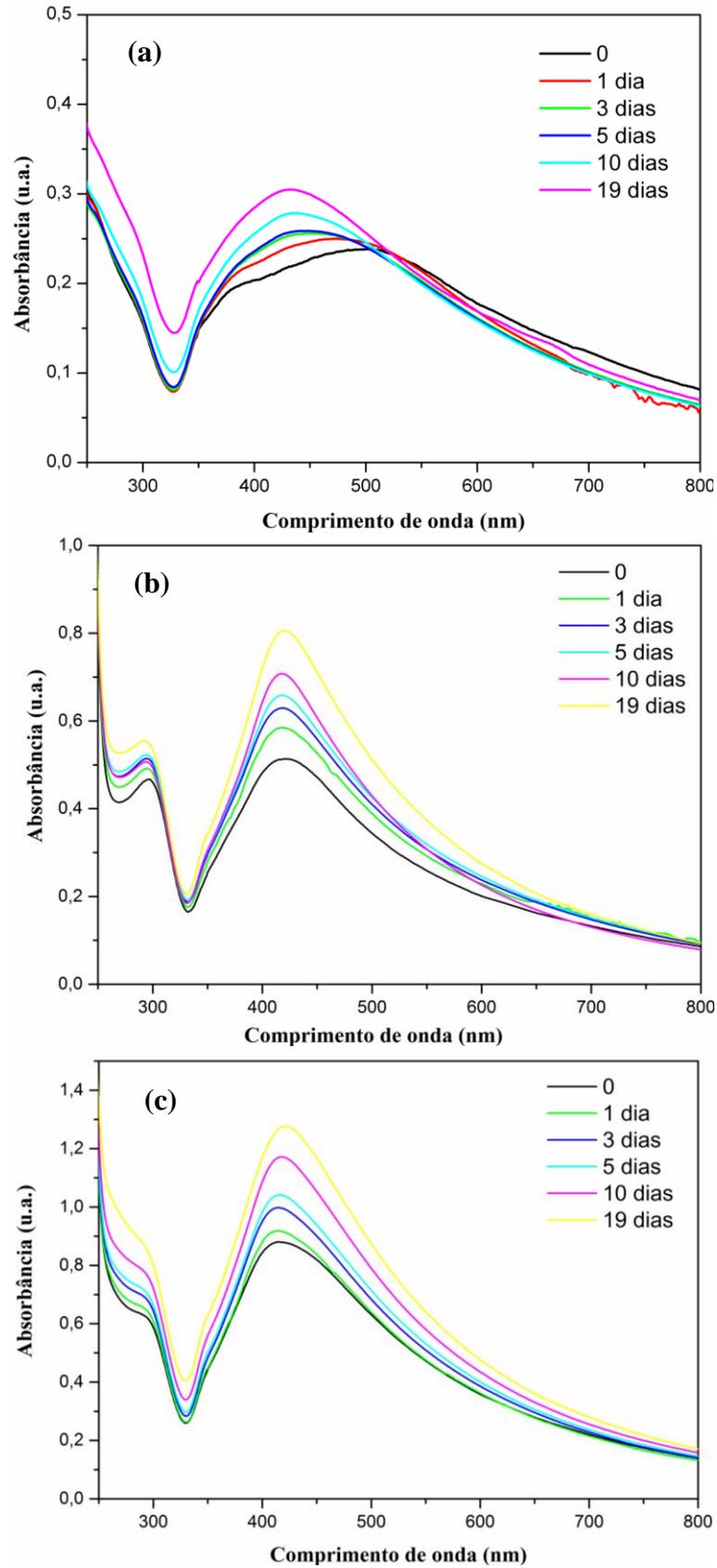
**Tabela 4.** Concentrações de amido de batata e nitrato de prata das suspensões S2, S5 e S7.

| Amostra | $K_2/K_1$ | [Amido]                | [AgNO <sub>3</sub> ] |
|---------|-----------|------------------------|----------------------|
| S2      | 0,25      | 1,25 g.L <sup>-1</sup> | 1 mM                 |
| S5      | 2,65      | 1,25 g.L <sup>-1</sup> | 30 mM                |
| S7      | 0,35      | 2,5 g.L <sup>-1</sup>  | 30 mM                |

Então, as amostras S2, S5 e S7, irradiadas apenas por 10 min (Figura 22), foram monitoradas por um período de 19 dias por espectroscopia de absorção UV-vis (Figura 23). Para isto, ficaram armazenadas e protegidas da luz, mas expostas às variações climáticas ambientais. Neste período, a temperatura máxima média foi 30°C e a mínima média 19°C.



**Figura 22.** Imagem digital das suspensões S2, S5 e S7, após 10 min de exposição à radiação UV.



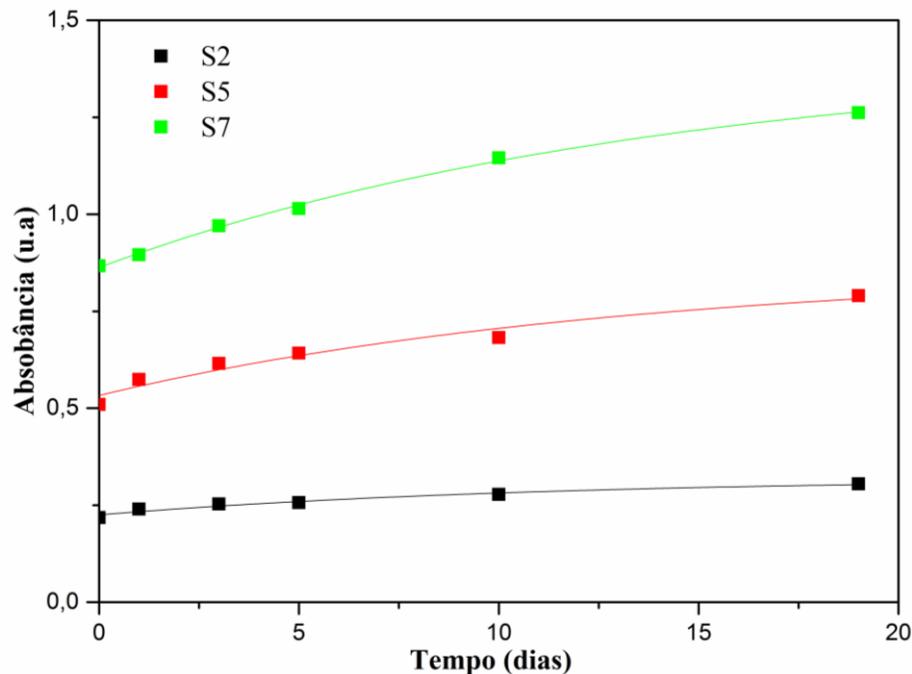
**Figura 23.** Espectros de absorção UV-vis das amostras (a) S2, (b) S5 e (c) S7 irradiadas por 10 min, durante os 19 dias de armazenamento.

Com esse monitoramento, foi observado que, com o tempo de armazenamento, essas 3 suspensões apresentaram um estreitamento da largura a meia altura das bandas de absorção (Tabela 5). Dentre elas, a S2 exibiu uma maior largura a meia altura, mesmo apresentando um maior estreitamento com o tempo de armazenamento, sugerindo que ela apresenta uma maior polidispersividade. Foi notado, também, que S2 adquiriu uma coloração um pouco amarelada com o tempo. Essa suspensão, ainda, exibiu um aumento na absorbância e um desvio do comprimento de onda da  $Abs_{max}$  para comprimentos de onda menores, isto é, para próximo de 430 nm. Isto sugere que S2 é mais instável que as demais, visto que S5 e S7 tiveram um aumento na absorbância da banda próxima a 430 nm, mas sem deslocamentos significativos do comprimento de onda em que essa  $Abs_{max}$  ocorria (Figura 23). Essa alteração significativa no perfil das curvas de absorção da suspensão S2 pode indicar uma variação no formato ou tamanho das AgNP, enquanto o aumento na absorbância, nas 3 suspensões, pode ser associado a um aumento na quantidade de AgNP formada. Isto se deve, provavelmente, à presença de íons  $Ag^+$  remanescentes, que podem ter sido reduzidos posteriormente.

**Tabela 5.** Largura a meia altura, em nm, das bandas das curvas de absorção UV-vis para suspensões S2, S5 e S7, irradiadas por 10 min, no dia da síntese e após 19 dias de armazenamento.

| Amostra | Largura a meia altura (nm) |              |
|---------|----------------------------|--------------|
|         | No dia da síntese          | Após 19 dias |
| S2      | 205                        | 171          |
| S5      | 135                        | 124          |
| S7      | 151                        | 136          |

As curvas da Figura 24, que relacionam a absorbância em 430 nm com o tempo de armazenamento, demonstram com maior clareza o aumento da absorbância com o tempo. Essas curvas exibem um comportamento levemente assintótico, o que sugere que esse aumento tende a diminuir com o tempo até atingir um limite superior.



**Figura 24.** Curvas da absorbância em 430 nm *versus* o tempo de armazenamento (em dias) para as amostras S2, S5 e S7.

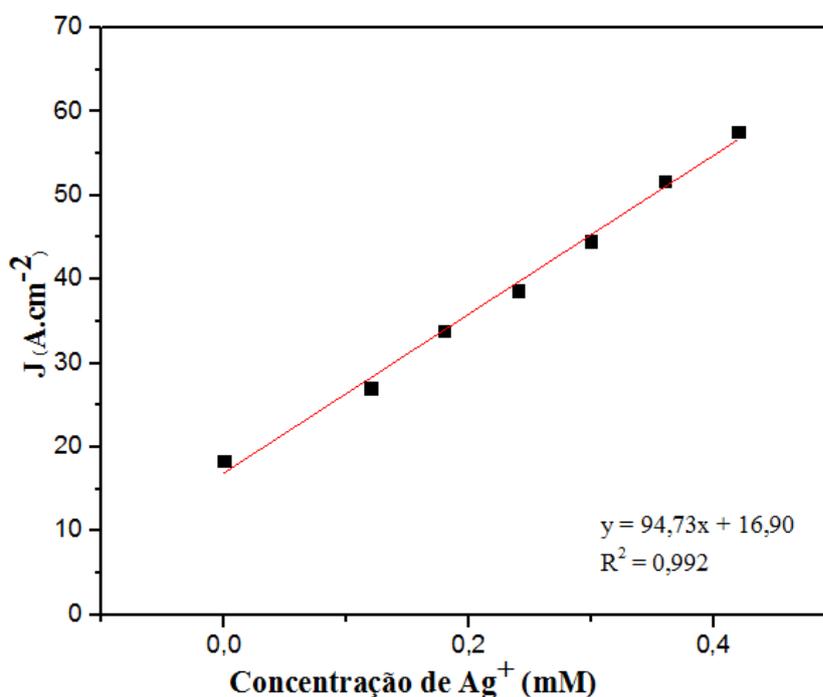
Um parâmetro que auxilia na avaliação da estabilidade de coloides é o potencial Zeta ( $\zeta$ ), visto que a repulsão eletrostática entre partículas altamente carregadas, positiva ou negativamente, impede a aglomeração. Os valores do  $\zeta$  obtidos para as 3 amostras, após os 19 dias de armazenamento, estão listados na Tabela 6, Eles foram relativamente baixos, cerca de -10 mV para S2 e -2 mV para S5 e S7, comparados aos valores que, geralmente, partículas estáveis eletricamente apresentam (acima de -30 mV ou +30 mV).<sup>54</sup> Como nesse período de armazenamento não foi observada precipitação nas suspensões, isso sugere que a estabilidade observada ocorra predominantemente por fatores estéricos. Foi observado, ainda, que, com o aumento da concentração de  $\text{AgNO}_3$ , o módulo do  $\zeta$  diminui consideravelmente, provavelmente, pela presença de cátions  $\text{Ag}^+$  remanescentes e que o aumento da concentração de amido não provoca uma modificação significativa.

**Tabela 6.** Valores obtidos do potencial Zeta para as amostras avaliadas.

| Amostra    | Concentrações de amido | Concentrações de $\text{AgNO}_3$ | $\zeta$ (mV) |
|------------|------------------------|----------------------------------|--------------|
| Amido puro | 1,25 g.L <sup>-1</sup> | -                                | -12,0        |
| S2         | 1,25 g.L <sup>-1</sup> | 1 mM                             | -10,9        |
| S5         | 1,25 g.L <sup>-1</sup> | 30 mM                            | -2,1         |
| S7         | 2,5 g.L <sup>-1</sup>  | 30 mM                            | -2,7         |

Para comprovar a presença de cátions  $\text{Ag}^+$  remanescentes, foi feita uma curva de calibração de adição da solução padrão onde diferentes concentrações de nitrato de prata foram adicionadas na amostra S7, após ser irradiada por 300 min, por meio da VPD (Figura 25). Esta técnica foi utilizada em virtude da sua sensibilidade que permite detectar concentrações da ordem de  $10^{-7}$  a  $10^{-8}$  mol.L<sup>-1</sup>. Os voltamogramas, gráficos da corrente *versus* potencial, desta técnica apresentam picos que fornecem a identificação qualitativa de analitos com base no potencial de pico e quantitativa com base na corrente de pico, tendo em vista que o valor da corrente de pico é proporcional à concentração da espécie eletroativa.<sup>42</sup>

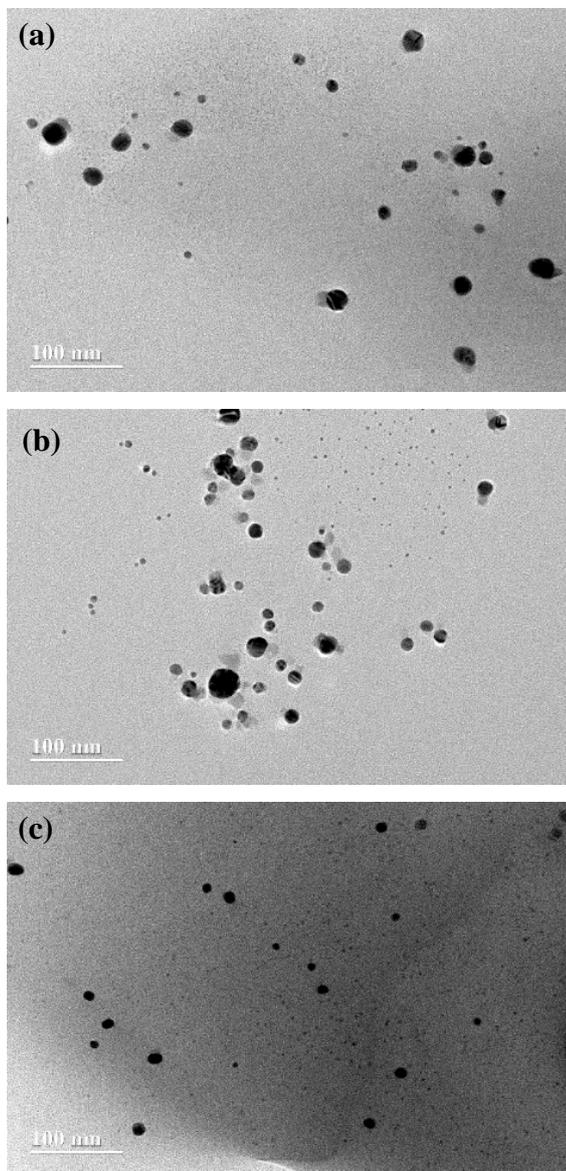
Então, a curva de calibração (Figura 25) foi feita colocando-se os valores de densidade de corrente obtidos em função do aumento da concentração de  $\text{Ag}^+$  com as adições da solução padrão de  $\text{AgNO}_3$  na suspensão S7. Com isso, foi possível determinar que cerca de 38% da quantidade inicial de  $\text{Ag}^+$  ainda permanecem no sistema, mesmo após 300 min de irradiação UV, sugerindo que a quantidade de  $\text{Ag}^+$  remanescente, após apenas 10 min de irradiação, deve ser bem maior.



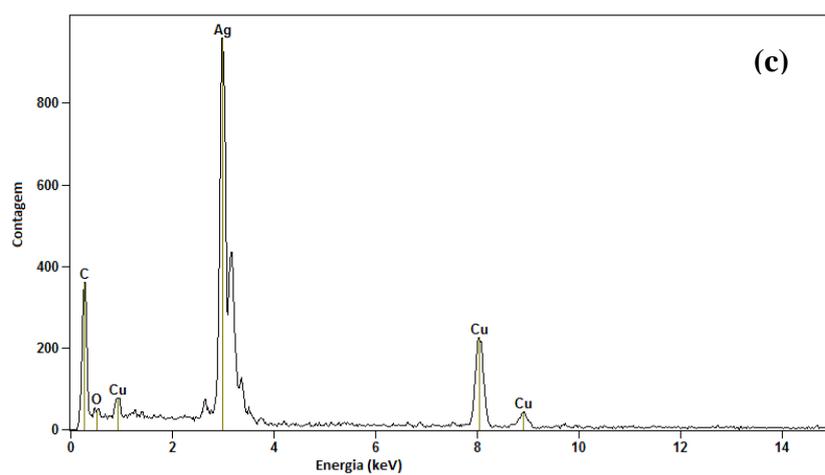
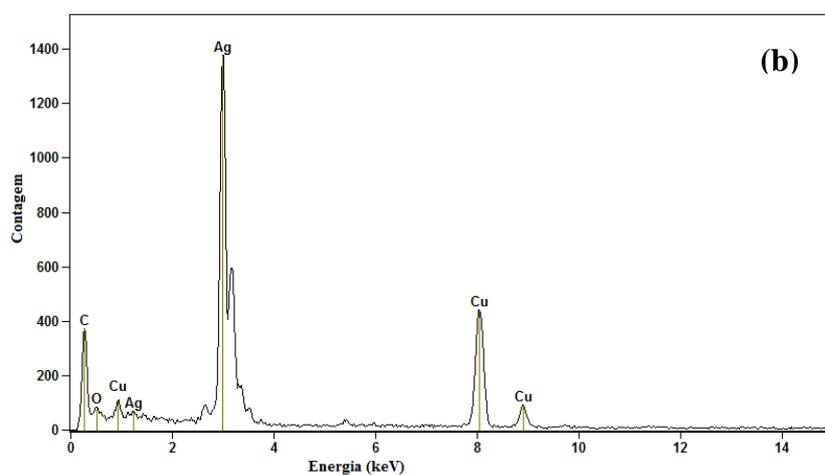
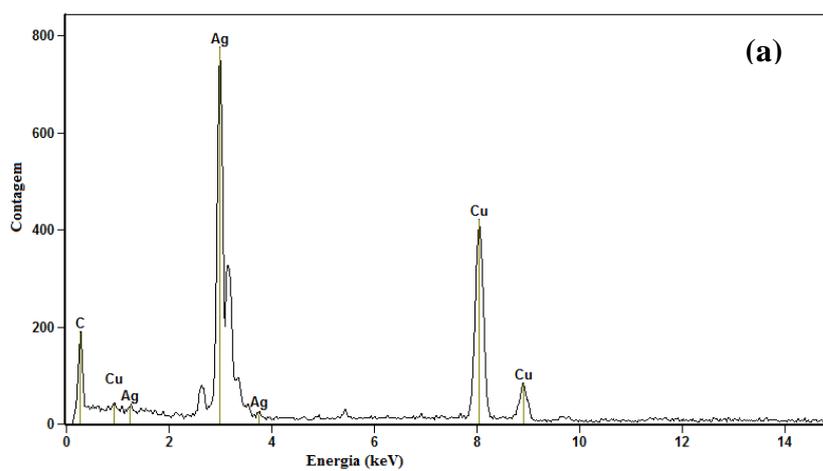
**Figura 25.** Curva de densidade de corrente *versus* concentração de  $\text{Ag}^+$  obtida a partir de dados de VPD.

A morfologia das AgNP formadas nessas 3 (três) suspensões foi verificada, após os 19 dias de armazenamento, nas micrografias obtidas por MET. A maioria das NP apresentaram um formato esférico, como pode ser visto na Figura 26. Ademais, a análise elementar da

composição das NP observadas nas micrografias obtidas por MET foram realizadas por EDS, confirmando que as NP, realmente, se tratavam de AgNP (Figura 27).

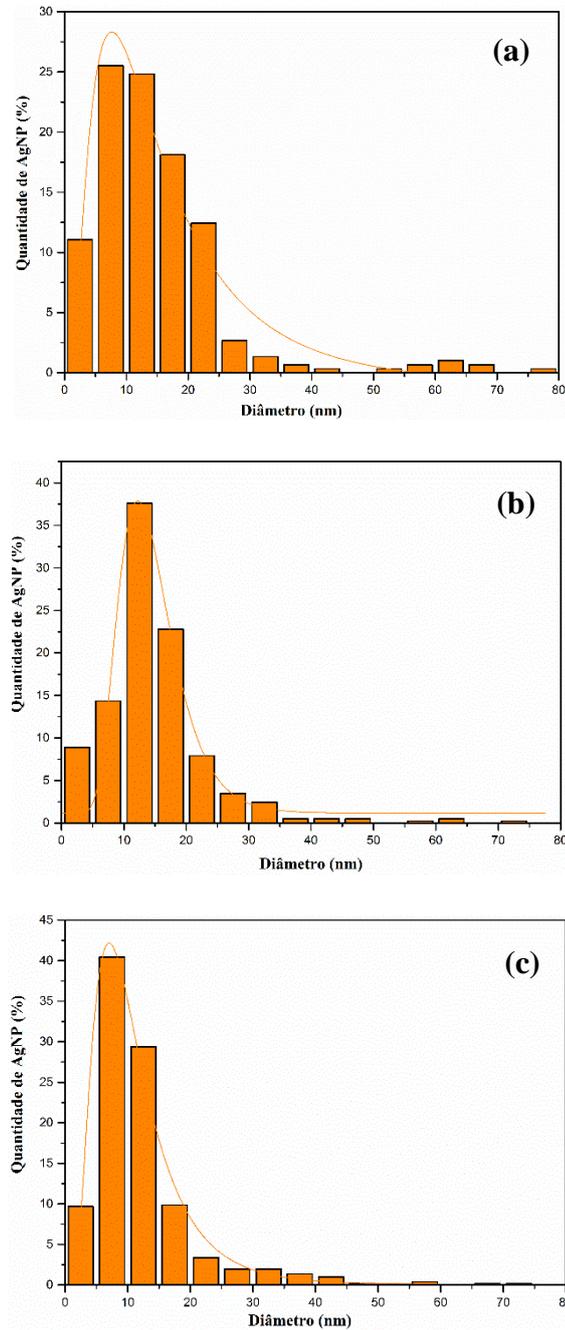


**Figura 26.** Micrografias por MET das amostras (a) S2, (b) S5 e (c) S7 irradiadas por 10 min, após os 19 dias de armazenamento.



**Figura 27.** Espectros de EDS das amostras (a) S2, (b) S5 e (c) S7 irradiadas por 10 min, após os 19 dias de armazenamento.

Gráficos de distribuição de tamanho das AgNP, das suspensões analisadas por MET, foram feitos para evidenciar melhor a influência dos fatores estudados na formação das AgNP (Figura 28).



**Figura 28.** Gráficos de distribuição de tamanho das partículas, após 19 dias de armazenamento, para as suspensões (a) S2 e (b) S5 e (c) S7 irradiadas por 10 min.

A Tabela 7 apresenta as principais características a serem observadas no gráfico de distribuição de tamanho das NP: o diâmetro médio ( $D_{MET}$ ), que neste caso representa uma tendência central do diâmetro, e o desvio padrão. Esses dados foram obtidos por uma das funções teóricas de distribuição que mais se aproximam das distribuições encontradas na natureza e no presente trabalho, a logNormal.<sup>55</sup> A Equação 2 descreve a distribuição de diâmetros observada na Figura 28.

$$y = y_0 + \frac{A}{(\sqrt{2\pi} \cdot w \cdot x) \cdot \exp(-\ln(\frac{x}{x_c})^2 \cdot w^2)} \quad (2)$$

onde:  $y$ ,  $x$ ,  $x_c$ ,  $w$  e  $A$  são, respectivamente, a quantidade, em porcentagem, de AgNP; diâmetro em nm das AgNP; diâmetro médio; desvio padrão e a área da curva.

**Tabela 7.** Diâmetro estimado por MET ( $D_{MET}$ ), diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersão (PdI) das suspensões S2, S5 e S7.

| Amostra | $D_{MET}$ (nm) | DH (nm) | PdI  |
|---------|----------------|---------|------|
| S2      | $13,8 \pm 0,7$ | 148,2   | 0,35 |
| S5      | $13,7 \pm 0,3$ | 200,3   | 0,28 |
| S7      | $9,8 \pm 0,5$  | 174,1   | 0,34 |

Com os dados da MET, foi constatado que o valor central do tamanho das NP formadas,  $D_{MET}$ , em S2 e S5 é similar, aproximadamente, a 13 nm, porém S7 possui um menor tamanho central. Esta similaridade, observada entre S2 e S5, pode ser atribuída ao fato dessas amostras terem ficado expostas por 19 dias a condições climáticas ambientais, mas protegidas da luz. Os espectros de absorção UV-vis registrados neste período, para monitorá-las, demonstraram que apenas a S2 sofreu um deslocamento significativo no seu comprimento de onda de absorbância máxima, passando de 500 nm para 430 nm (Figura 23a). Adicionalmente, a distribuição observada na Figura 28a, confirma que S2 possui uma maior polidispersividade, o que já tinha sido observado em virtude da largura das bandas obtidas nos espectros de UV-vis.

Comparando os valores do  $D_{MET}$  com os do DH, também listados na Tabela 7, é possível observar que os valores de DH são bem maiores. Isto sugere que o amido recobre as

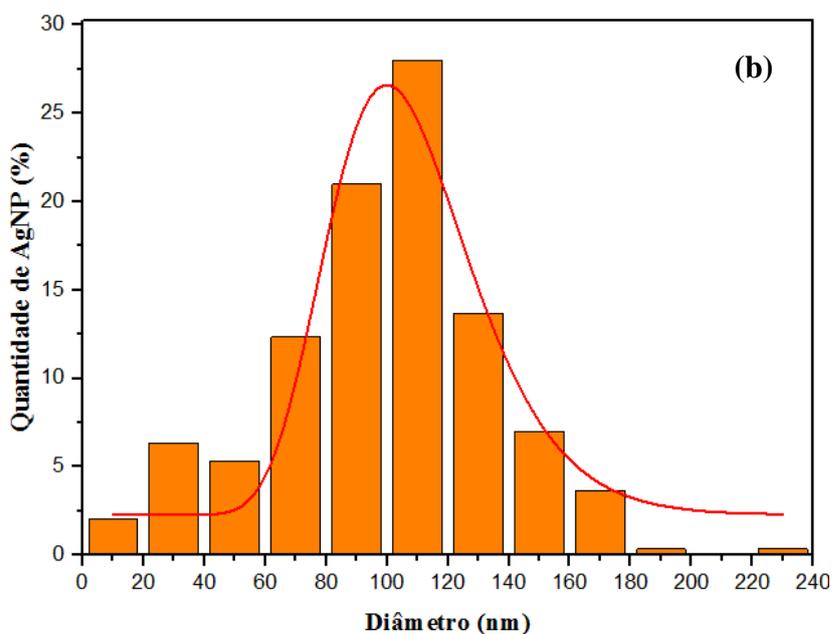
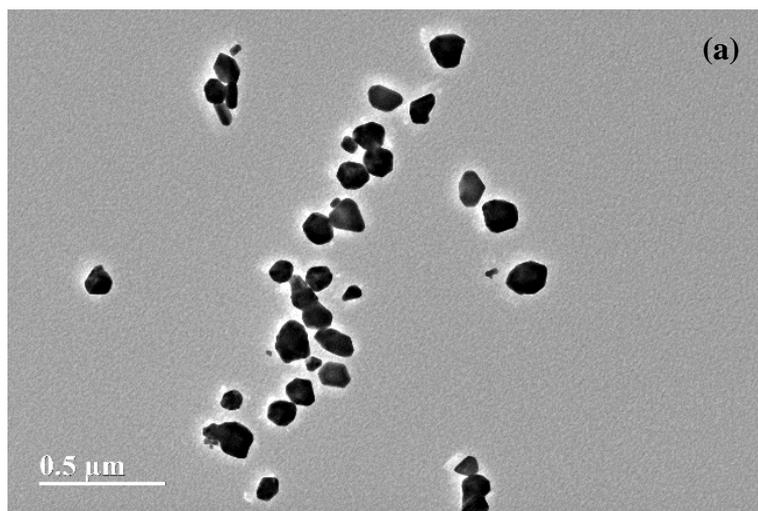
AgNP. Além disso, os valores PDI, que refletem a distribuição do DH, são maiores que 0,1 o que confirma a polidispersividade das amostras.<sup>56</sup>

Apesar de S7 exibir uma banda de absorção no UV-vis bem mais estreita que a de S2 (Figura 23), essas amostras possuem valores de PDI próximos, provavelmente, em função do recobrimento das NP pelo amido. Esses valores de PDI estão de acordo com o esperado, em virtude da largura a meia altura das bandas de absorção do espectro de UV-vis (Tabela 5), uma vez que S2 e S7 têm as maiores larguras e maiores valores de PDI, e S5 possui menor largura e menor valor de PDI.

Esses valores de PDI já eram esperados por se tratar de uma síntese do tipo *bottom-up* e fotoquímica. De acordo com Yin e colaboradores,<sup>34</sup> a síntese fotoquímica tende a gerar espécies polidispersas, devido à criação de um dipolo oscilante oriundo da distribuição de carga de superfície não uniforme, causada pela oscilação de elétrons em ressonância. Com isso, a atração dipolo-dipolo contribui para agregação de NP.

O processo de agregação observado neste trabalho é controlado por difusão. Neste tipo de sistema as colisões costumam ser mais eficientes, formando, em geral, agregados dendríticos.<sup>57</sup> A Figura 29 apresenta a micrografia da solução S5, após 300 min de irradiação e seu respectivo gráfico de distribuição de tamanho. Após esse tempo de exposição, a suspensão apresenta uma alta turbidez e coloração acinzentada.

Nessa imagem da Figura 29, foi observado que a longa exposição à radiação UV promove a formação de NP de diferentes formatos e contribui significativamente para o aumento do tamanho destas partículas, pois o  $D_{MET}$  para a suspensão S5, após 300 min de irradiação, é de aproximadamente  $105,4 \pm 0,2$  nm, 8 (oito) vezes maior que o  $D_{MET}$ , após 10 min de irradiação. Com isso, acredita-se que a coloração acinzentada e a alta turbidez, obtida após longo tempo de exposição, podem ser atribuídas à aglomeração das NP que formam maiores partículas de prata metálica.



**Figura 29.** (a) Micrografia por MET da suspensão S5, após 300 minutos de irradiação, e (b) seu respectivo gráfico de distribuição de tamanho.

Apesar de não ter sido observada a formação de corpo de fundo durante os 19 dias de armazenamento, as amostras não apresentam uma alta estabilidade, quando expostas a temperatura ambiente, visto que, com o decorrer do tempo de armazenamento, há um aumento da  $Abs_{max}$  da banda LSPR e uma intensificação na coloração. Mesmo assim, o  $D_{MET}$  apresentou valores menores que 15 nm para as 3 (três) amostras testadas, o que pode ser interessante para aplicações na área de catálise, por exemplo, considerando que a atividade

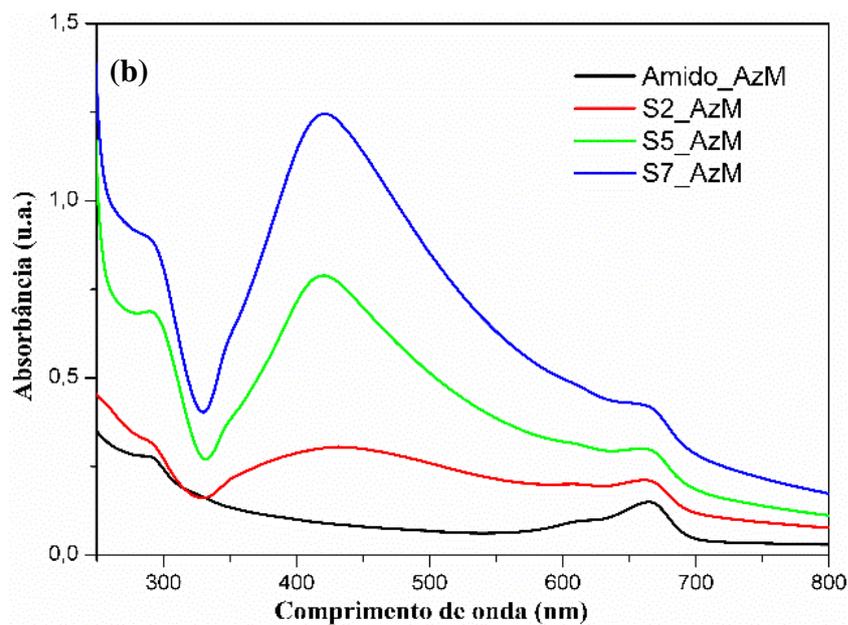
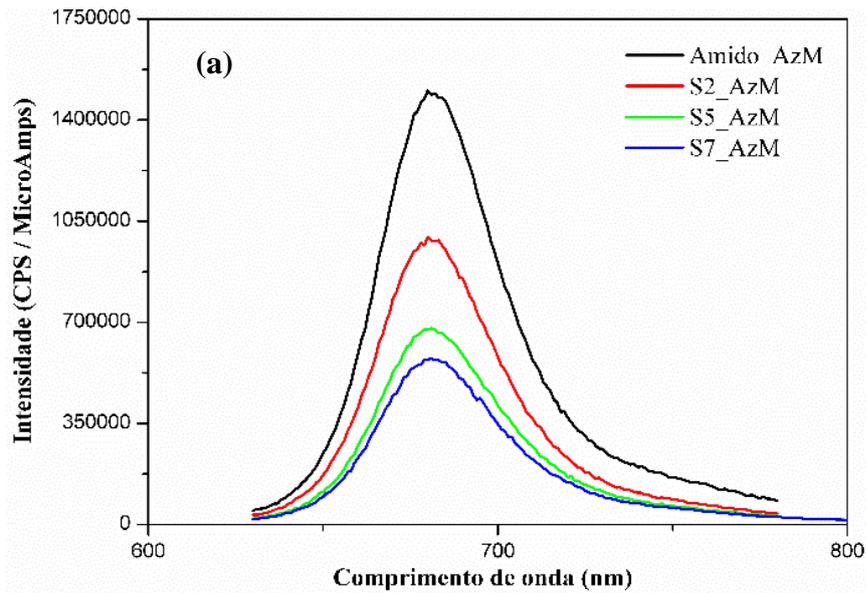
catalítica ocorre na superfície e partículas pequenas que possuem uma área superficial maior em relação ao volume, o que torna o processo mais eficiente.

Outra área promissora em que as AgNP têm ganhado destaque é a biomédica. Elas têm sido estudadas para potencializar a terapia fotodinâmica (TFd). Esta técnica utiliza um agente fotossensibilizador que, quando submetido a uma radiação de comprimento de onda específico, produz espécies reativas de oxigênio que atuam contra bactérias e contra células cancerígenas.<sup>58</sup>

A interação das AgNP com um agente fotossensibilizador pode intensificar a fluorescência do agente e, assim, potencializar a produção de espécies de oxigênio reativas, ou pode suprimir esse processo e inviabilizar o seu uso na TFd.<sup>58</sup> Então, para caracterizar o comportamento das AgNP produzidas na presença de um fotossensibilizador, elas foram analisadas por espectroscopia de fluorescência na presença do azul de metileno, um fluoróforo modelo.

Inicialmente, foi verificado que as suspensões de AgNP em amido de batata não apresentam emissão, quando excitados em 300 nm. Esse comprimento de onda foi testado por ser o mais adequado para a excitação do azul de metileno. Por outro lado, enquanto a suspensão de amido sem AgNP e contendo azul de metileno exibe uma emissão típica do corante em torno de 680 nm, na presença de AgNP essa intensidade de emissão é reduzida, principalmente, quando a suspensão S7 é utilizada (Figura 30). Além disso, não foi observada outra banda de emissão nesses espectros.

Com o intuito de complementar essa análise, espectros de absorção UV-vis dessas suspensões com azul de metileno foram obtidos (Figura 30b). Foi observado que as suspensões não absorvem no comprimento de onda em que ocorre a emissão do azul de metileno. Isso corrobora para confirmar que esse processo de supressão da emissão se dá por transferência de carga. Isto é, a supressão de fluorescência ocorre, devido à formação de um complexo de transferência de carga entre o azul de metileno (doador) e as AgNP (aceptor).<sup>59</sup>



**Figura 30.** Espectros de (a) emissão de fluorescência de amido puro, S2, S5 e S7 todos com azul de metileno e (b) de absorção UV-vis das mesmas amostras.

Logo, esse sistema não é adequado para o uso na TFD, mesmo possuindo características similares ao desenvolvido por Melo e colaboradores,<sup>58</sup> isto é, AgNP de aproximadamente 13 nm de  $D_{MET}$  recobertas por um polissacarídeo. No entanto, pode ser útil no desenvolvimento de dispositivos optoeletrônicos, como sensores e células voltaicas baseadas na separação de carga induzida pelo *plasmon* da superfície metálica.<sup>60</sup>

## 5. Conclusões

A síntese fotoquímica de AgNP na presença de amido, proposta neste trabalho, foi realizada com êxito. Os experimentos demonstraram que a espectroscopia de absorção UV-vis é um método eficiente para comprovar a formação de AgNP nos sistemas produzidos, visto que o amido não absorve na mesma região que a banda LSPR da prata, além desta técnica permitir observar o comportamento do sistema, nas condições específicas em que a reação ocorre. Portanto, por ser uma técnica usual para o estudo de AgNP e de fácil acesso ela foi amplamente utilizada nos estudos realizados.

Foi verificado que a presença do amido é fundamental, tendo em vista que essa síntese não ocorre na sua ausência. Ele atua como agente redutor, nucleante e estabilizador. Dentre os amidos testados como agentes redutores e nucleante, o de batata mostrou-se mais eficiente e promissor para a formação de AgNP esféricas, pois apresentou curvas de absorção UV-vis mais intensas e estreitas.

O estudo da influência da radiação nas suspensões de amido de batata com nitrato de prata constatou que a radiação UV é essencial para que a síntese ocorra, pois ela atua como agente iniciador, fornecendo a energia mínima necessária para que a nucleação aconteça.

O perfil cinético, obtido por meio da variação das concentrações de nitrato de prata e amido de batata, demonstrou que a nucleação pode ser descrita pelo modelo proposto por Avrami e que o processo de crescimento é dominado pelo mecanismo de difusão. Com isso, essa síntese pode ser retratada adequadamente pela equação de JMA.

Em geral, o processo de nucleação nessas suspensões predomina, nos 15 primeiros minutos da reação. Assim, o tempo de irradiação pode ser utilizado para controlar o tamanho das AgNP formadas. Com base nessas análises, foi verificado que o tempo ideal de exposição à radiação UV para esta síntese é de 10 min.

O comportamento das amostras S2, S5 e S7 irradiadas por 10 min, após 19 dias de armazenamento, evidenciaram um aumento na  $Abs_{max}$  nas suspensões S5 e S7 e um deslocamento do comprimento de onda de  $Abs_{max}$  da S2, o que sugere que esses sistemas não possuem uma alta estabilidade, quando expostos à variação de temperatura climática ambiental.

Por fim, foi verificado que as amostras S2, S5 e S7, irradiadas por 10 min, suprimem a fluorescência do fotossensibilizador azul de metileno, por meio de transferência de carga fotoinduzida.

## **6. Sugestões para trabalhos futuros**

- Aprofundar as análises de morfologia das AgNP, com o intuito de fundamentar mudança de coloração das suspensões com a variação das concentrações de reagentes.
- Continuar os estudos de fluorescência, para averiguar se esses sistemas coloidais atuam da mesma forma com outros fotosensibilizadores e se podem ser empregados na construção de dispositivos optoeletrônicos.
- Avaliar o uso das suspensões de AgNP em amido na intensificação por superfície de sinal Raman (SERS).
- Verificar os efeitos do recobrimento por amido e do tamanho médio das AgNP na toxicidade dessas suspensões.
- Estudar o efeito catalítico desse sistema em sínteses orgânicas que dependem fundamentalmente de presença de catalisadores,

## 7. Bibliografia

1. Ferreira, H.S.; Rangel, M. do C. *Quím. Nova* **2009**, 32, 1860.
2. Tansil, N.C.; Gao, Z. *Nano Today* **2006**, 1, 28.
3. Castellan, G. *Fundamentos de Físico-Química*. 1ª ed; 1986, ch 18
4. Morones, J.R.; Elechiguerra, J. L.; Camacho, A.; Holt, K.; Kouri, j. B.; Ramirez, J. T.; Yacaman, M. J. *Nanotechnology* **2005**, 16, 2346.
5. Sharma, V.K.; Yngard, R. A.; Lin, Y. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2009**, 145, 83.
6. Marambio-Jones, C.; Hoek, E. M. V. *J. Nanopart. Res.* **2010**, 12, 1531.
7. Kulandaivelu, B.; Gothandam, K. M. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **2016**, 59, 1.
8. Lara, H. H.; Ayala-Núñez, N.V.; Rodríguez-Padilla, C. *J. Nanobiotechnology* **2010**, 8, 1.
9. Almansour, M.; Jarrar, Q.; Battah, A.; Jarrar, B. *Int. J. Morphol.* **2015**, 33, 544.
10. Reidy, B.; Haase, A.; Luch, A.; Dawson, K. A. *Materials* **2013**, 6, 2295.
11. Gliga, A. R.; Skoglund, S.; Wallinder, I. O.; Fadeel, Bengt; Karlsson, H. L. *Part Fibre Toxicol* **2014**, 11, 1.
12. Vasileva, P.; Donkova, B.; Karadjovab, I.; Dushkina C. *Colloid Surface A* **2011**, 382, 203.
13. Vance, M. E.; Kuiken, T.; Vejerano, E. P.; Mcginnis, S. P.; Hochella, M. F., JR.; Rejeski, D.; Hull, M. S. *Beilstein J. Nanotechnol.* **2015**, 6, 1769.
14. Pillai, Z.S.; Kamat, P. V. *J. Phys Chem. B* **2004**, 108, 945.
15. Sakamoto, M.; Fujistuka M.; Majima T. *J. Photoch. Photobio. C* **2009**, 10, 33.
16. Oćwieja, M.; Adamczyk, Z.; Morga, M.; Kubiak, K. *Adv. Colloid Interfac.* **2014**, 222, 530.
17. Waterschoot, J.; Gomand, S. V.; Fierens, E.; Delcour, J. A. *Starch/Staerke* **2015**, 67, 14.
18. Ferreira, A.J.; Cemlyn-Jones, J.; Cordeiro, C. R. *Ver. Port. Pneumol.* **2013**, 19, 28.
19. Zhang, J.Z.; Noguez, C. *Plasmonics* **2008**, 3, 127.
20. Kelly, K.L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C. *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 668.
21. Tao, A.R.; Habas, S.; Yang, P. *Small* **2008**, 4, 310.
22. Noguez, C. *J. Phys. Chem. C* **2007**, 111, 3806.
23. Albernaz, V. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, 2014, Brasília-DF.
24. Vigneshwaran, N.; Nachane, R.P.; Balasubramanya, R. H.; Varadarajan, P. V. *Carbohydr. Res.* **2006**, 341, 2012.
25. Khan, Z.; Singh, T.; Hussaina, J. I.; Obaidb, A. Y.; AL-Thabaitib, S. A.; El-Mossalamyb, E.H. *Colloid Surface B* **2013**, 102, 578.
26. Ortega-Arroyo, L.; Martin-Martinez, E. S.; Aguilar-Mendez, M. A.; Cruz-Orea, A.; Hernandez-Pérez, I.; Glorieux, C. *Starch/Staerke* **2013**, 65, 814.

27. Cheng, F.; Betts, J.W.; Kelly, S. M.; Hector, A. L. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* **2015**, 46, 530.
28. Cheviron, P.; Gouanvé, F.; Espuche, E. *Carbohydr. Polym.* **2014**, 108, 291.
29. El-Sheikh, M.A. *The Scientific World Journal* **2014**, 2014.
30. Bashir, O.; Khan, Z. *J. Mol. Liq.* **2014**, 199, 524.
31. Oluwafemi, O. S.; Vuyelwa, N.; Scriba, M.; Songca, S. P. *Mater. Lett.* **2013**, 106, 332.
32. Silva, L. P.; Reis, I. G.; Bonatto C. C. In *Green Processes for Nanotechnology: From Inorganic to Bioinspired Nanomaterials*. Basiuk, V. A.; Basiuk, E. V., eds.; Springer International Publishing: Switzerland, 2015, Ch. 9.
33. Mohan, S.; Oluwatobi, S. Oluwafemi, O. S.; Songca, S. P.; Jayachandran, V.P.; Rouxel, D.; Joubert, O.; Kalarikkal, N.; Thomas, S. *J. Mol. Liq* **2016**, 213, 75.
34. Yin, Y.; Shen, M.; Zhou, X.; Yu, S.; Chao, J.; Liu, J.; Jiang, G. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, 48, 9366
35. Xie, F.; Pollet, E.; Halley, P. J.; Avérous, L. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, 38, 1590.
36. Ai, Y.; Jane, J. *Starch/Stärke* **2015**, 67, 213.
37. Cereda, M.P.; Vilpoux, O.; Demiate, I. M. In: *Tecnologias, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas*. Fundação Cargil: São Paulo, Brasil, 2003.
38. Fakhoury, F.M.; Maria Martelli, S.; Bertan, L. C.; Yamashita, F.; Mei, L.H.I.; Queiroz, F. P. C. *LWT - Food Sci. Technol* **2012**, 49, 149.
39. Bhat, R.; Karim, A. A. *Compr. Rev. Food Sci. F* **2008**, 8, 44.
40. Fiedorowicz, M.; Tomasik, P.; You, S.; Lim, S.T. *Starch/Staerke* **1999**, 51, 126.
41. Bertolini, A. C.; Mestres, C.; Raffi, J.; Buléon, A.; Lerner, D.; Colonna, P. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 675.
42. Skoog, D. A; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. *Fundamentos de Química Analítica*; 8ª ed; 2006, ch23e 24.
43. Ferreira, A. L. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Santa Catarina-PR.
44. Bonatto, C.C.; Silva, L.P. *Ind. Crop. Prod.* **2014**, 58, 46.
45. Shervani, Z.; Yamamoto, Y. *Carbohydr. Res.* **2011**, 346, 651.
46. Liu, F.; Sommer, F.; Bos, C.; Mittemeijer, E. J. *Int. Mater. Rev.* **2007**, 52,194
47. Christian, J.W. *The theory of Transformations in Metals and Alloys: Part I*, 2<sup>th</sup> ed.; Pergamon: Oxford, United Kingdom, 2002, ch. 1.
48. Teixeira, P. R.; Santos, M. S. C.; Silva, A. L. G.; Bão, S. N.; Azevedo, R. B.; Sales, M. J. A; Paterno, L. G. *Colloid Surface B*, **2016**, 148, 317.
49. Bhaduri, G. A.; Little, R.; Khomane, R. B.; Lokhande, S. U.; Kulkarni, B. D.; Mendis, B. G; Siller, L. *J. Photoch. Photobio. A* **2013**, 258, 1.
50. Gorham, J.M.; MacCusprie, R.I.; Klein, K.L. *J. Nanopart. Res.*, **2012**, 14, 1139.
51. Sumpter, M. L. Dissertação de Mestrado, Georgia Institute of Technology, 2004, USA.

52. Raposo, M; Pontes, R. S.; Mattoso, L. H. C.; Oliveira, Jr. O. N. *Macromolecules* **1997**, 30, 6095
53. Bashir, O.; Hussain, S.; Khan, Z.; AL-Thabaiti, S. A. *Carbohydr. Polym.* **2014**, 107, 167.
54. Da Róz, A. L.; Leite, M. F.; Ferreira, Oliveira Jr, O. N. *Nanoestruturas - Princípios e aplicações*, 1<sup>th</sup> ed.; Elsevier: Rio de Janeiro, Brasil, 2015.
55. Hunter, R.J. *Introduction to modern colloid science*. Oxford University press: New York, 2003.
56. Anton, N.; Benoit, J. P.; Saulnier, P. *J. Control. Release* **2008**, 128, 185.
57. Zhang, W. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2014**, 811, 19.
58. Melo L. S. A.; Gomes, A. S. L.; Saska, S.; Nigoghossian, K. Y.; Messaddeq, R. S. J. L.; De Araujo, R. E. *J. Fluoresce.* **2012**, 22, 230.
59. Rahman, D. S.; Deb,S.; Ghosh, S .K. *J. Phys. Chem. C* **2015**, 119, 27145.
60. Takahashi, Y.; Yamada, S.; Tatsuma, T. *Eletrochemistry* **2014**, 82, 726.