



# UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

**ÍCARO MOTA OLIVEIRA**

**Estudos sobre interação entre nanopartículas de ouro para o desenvolvimento de nanoestruturas planejadas geradas por automontagem**

**Universidade Federal de Alagoas**

**Campus A. C. Simões  
Tabuleiro do Martins  
57072-970 - Maceió-AL**

**ÍCARO MOTA OLIVEIRA**

**Estudos sobre interação entre nanopartículas de ouro para o desenvolvimento de nanoestruturas planejadas geradas por automontagem**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti

Coorientadora: Profa. Dra. Monique Gabriella Angelo da Silva

Maceió – AL  
2020

**Catlogação na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos - CRB-4 - 2062

O48e Oliveira, Ícaro Mota.  
Estudos sobre interação entre nanopartículas de ouro para o desenvolvimento de nanoestruturas planejadas geradas por automontagem / Ícaro Mota Oliveira. – 2020. 126 f. : il. : tabs. color.

Orientador: Mário Roberto Meneghetti.

Coorientadora: Monique Gabriella Ângelo da Silva.

Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2020.

Bibliografia: f. 110-121.

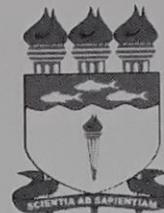
Anexos: f. 123-126.

1. Nanopartículas de ouro. 2. Automontagem. 3. Nanotecnologia. 4. Ácido mercaptoacético. 5. Cisteamina. I. Título.

CDU: 546: 620.3



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E**  
**BIOTECNOLOGIA**

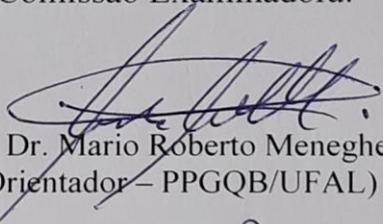


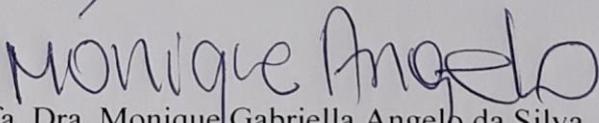
BR 104 Km14, Campus A. C. Simões  
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins  
57072-970, Maceió-AL, Brasil  
Fone: (82) 3214-1144  
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

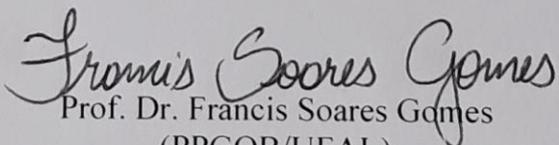
**FOLHA DE APROVAÇÃO**

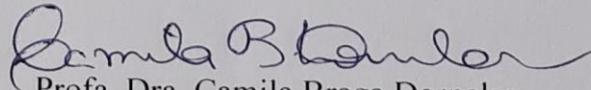
Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese do Doutorando **ÍCARO MOTA OLIVEIRA** intitulada: **“Estudos sobre interação entre nanopartículas de ouro para o desenvolvimento de nanoestruturas planejadas geradas por automontagem”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 27 de fevereiro de 2020, às 9h00, na Sala de Aulas da Pós-Graduação do IQB/UFAL.

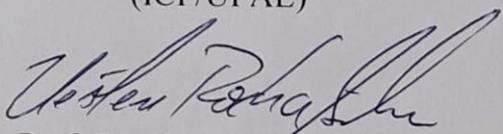
Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti  
(Orientador – PPGQB/UFAL)

  
Prof. Dra. Monique Gabriella Angelo da Silva  
(Coorientadora - PPGQB/UFAL)

  
Prof. Dr. Francis Soares Gomes  
(PPGQB/UFAL)

  
Prof. Dra. Camila Braga Dornelas  
(ICF/UFAL)

  
Prof. Dr. Uéslen Rocha Silva  
(IF/UFAL)

Aos meus pais, Ana Lúcia Oliveira e Osmundo Oliveira (sempre presente) pelo amor, pela dedicação e toda abdicação em prol de nossos sonhos.

## AGRADECIMENTOS

Dificuldades e desafios estiveram presentes durante o processo de doutoramento. Em certas ocasiões consegui superá-los, já em outros momentos nem tanto. Também, felicidades e conquistas fizeram-se parte desta caminhada a qual não estava sozinho. Desta forma, preciso agradecer aos que foram coparticipantes nesta história.

Agradeço a Deus, aos guias espirituais que nos momentos que pensei em sucumbir, eles me ajudaram a ser mais forte, guiando-me pela fé.

Aos meus pais, Ana Lúcia e Osmundo (sempre presente), por todo amor, bem como aprendizados e valores adquiridos.

Aos meus irmãos, Tamires e Israel (sempre presente), por todo carinho e companheirismo.

Aos meus sobrinhos, Ítalo, Maria Ísis e Maria Helena, por serem fontes inesgotáveis de alegrias.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mario Meneghetti, por toda dedicação na orientação desta tese, pela paciência, pelos aprendizados e contribuições científicas que foram fundamentais para que eu crescesse como profissional. Muito obrigado!

À Profa. Dra. Monique Angelo, muito obrigado por todas as palavras de reconhecimento e incentivo, pelo apoio incondicional em todos os momentos e, acima de tudo, pela coorientação deste trabalho.

A todos os membros que fazem e fizeram parte do grupo de pesquisa no qual me integrei – GCAR – pelo simpático acolhimento, em particular ao subgrupo NanoTeam pela solidariedade e amizade.

Aos meus amigos de Aracaju, Maceió e Recife, com vocês a caminhada tornou-se mais amena, obrigado pelo entusiasmo e pelo conforto em cada palavra, por estarem sempre presentes em minha vida!

Agradeço à Universidade Federal de Alagoas (UFAL), ao Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia (PPGQB) e à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) por todo suporte necessário para que eu obtivesse este título.

Gratidão!

Você pode sonhar, criar, desenhar e construir o lugar mais maravilhoso do mundo. Mas é necessário ter pessoas para transformar seu sonho em realidade.

(Walt Disney)

## RESUMO

Nanopartículas de ouro têm sido usadas como novos materiais devido às suas propriedades eletrônicas, ópticas, térmicas, catalíticas, assim como às suas aplicações em vários ramos da ciência. Quando as nanopartículas interagem entre si, novas propriedades são geradas quando comparadas às propriedades das partículas individuais. O processo de automontagem usando nanopartículas de ouro como um componente básico ainda é um paradigma na nanotecnologia, embora esses processos sejam usados para organizar e transformar nanomateriais em arquiteturas funcionais para um propósito específico. O principal objetivo deste trabalho foi sintetizar nanopartículas de ouro com geometrias e tamanhos distintos, e utilizá-las como bloco de construção no desenvolvimento através de processos de automontagem. Em um primeiro momento, foram realizados estudos para determinar a concentração de ligantes (ácido mercaptoacético – AMA e cisteamina – CYS) para a funcionalização de nanopartículas. Em segundo lugar, foram realizados estudos de interação - chamados sistemas - entre as nanopartículas funcionalizadas, a fim de obter as nanoestruturas. Diante dos resultados, percebeu-se que há interação entre nanopartículas funcionalizadas, no entanto, essa ação não é de forma controlada nem organizada. Alguns fatores podem ser avaliados futuramente, por exemplo, o tamanho dos ligantes, o tamanho dos blocos de construção ou o ambiente em que os sistemas ocorreram. Assim, o estudo de novas rotas ou estratégias químicas para controlar a automontagem de nanopartículas de ouro em meio aquoso é de fundamental importância.

Palavras-chave: nanopartículas de ouro; automontagem; auto-organização; funcionalização de superfície.

## ABSTRACT

Gold nanoparticles have been used as new materials due to their electronic, optical, thermal, catalytic properties, as well as their applications in various branches of science. When nanoparticles interact with each other, new properties are generated when compared to the properties of individual particles. The self-assembly process using gold nanoparticles as a basic component is still a paradigm in nanotechnology, although these processes are used to organize and transform nanomaterials into functional architectures for a specific purpose. The main objective of this work was to synthesize gold nanoparticles with different geometries and sizes, and to use them as a building block in the development through self-assembly processes. Initially, studies were carried out to determine the concentration of ligands (mercaptoacetic acid - AMA and cysteamine - CYS) for the functionalization of nanoparticles. Second, interaction studies - called systems - were carried out between the functionalized nanoparticles in order to obtain the nanostructures. In view of the results, it was noticed that there is interaction between functionalized nanoparticles, however, this action is neither controlled nor organized. Some factors can be evaluated in the future, for example, the size of the binders, the size of the building blocks or the environment in which the systems occurred. Thus, the study of new routes or chemical strategies to control the self-assembly of gold nanoparticles in aqueous medium is of fundamental importance.

Keywords: gold nanoparticles; self-assembly; self-organization; surface functionalization.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Duas divisões da Taça de Licurgo, sob luz natural (refletida), em cor verde e por iluminação interna com luz branca (transmitida), em cor vermelho .....	21
Figura 2. Origem de um dipolo elétrico induzido e efeito da força restauradora devido à separação de cargas nas nanopartículas metálicas. Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada (LSPR) .....	24
Figura 3. Ilustração dos processos de obtenção de nanopartículas: <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i> .....	25
Figura 4. Ilustração dos processos de pré-nucleação, nucleação e crescimento.....	27
Figura 5. Representação da síntese de nanopartículas de ouro mediada por semente ( <i>seed</i> )...	29
Figura 6. Ilustração dos processos de estabilizações estérica e eletrostática de nanopartículas .....	29
Figura 7. Representação de diferentes morfologias de nanopartículas de ouro .....	31
Figura 8. Ilustração das diferentes cores de nanopartículas de ouro, (a) esferas e (b,c,d,e) bastões com diferentes razões C/L ( <i>aspect ratio</i> ).....	32
Figura 9. Ilustração da ressonância de plasma de superfície (SPR) para (a) nanoesferas e (b) nanobastões, e análise de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) para (c) nanoesferas e (d) nanobastões .....	33
Figura 10. Representação de funcionalização da superfície de uma nanopartícula de ouro ....	36
Figura 11. Representação da interação entre os nanobastões de ouro e ligantes.....	43
Figura 12. Espectros de UV-Vis (A) e imagens de TEM (B, C, D, E) do processo de automontagem de nanoesferas de Au em solução de amônia. ....	50
Figura 13. Evolução dos espectros UV-Vis da solução de nanobastões de Au durante o processo de automontagem (a) ponta a ponta e (b) lado a lado. E imagens típicas de TEM em diferentes tipos de interação (b) e (c) automontagem do tipo ponta a ponta; e (e) e (f) automontagem do tipo lado a lado.....	51
Figura 14. (a) Estrutura do ssDNA utilizado para a funcionalização da nanopartícula. De (b) a (e) Espectroscopia UV-Vis e imagens de TEM das AuNPs-ssDNA em diferentes valores de pH, (b) pH 7 (c) pH 3 (d) pH 2 e (e) pH 1. TEM das AuNPs-ssDNA seca de uma solução a (b') pH 7, (c') pH 3 e (e') pH 1 .....	52
Figura 15. (a) Imagem de TEM da automontagem das nanoesferas e (b) imagem XY digitalmente cortada aproximadamente no meio da vesícula formada pela automontagem ....	54

Figura 16. (a) Processo de gravação dos poços de 50 nm na camada de PMMA por meio de litografia por feixe de elétrons. (b) Substrato é mergulhado em uma solução de nanopartículas de ouro, as nanopartículas não interagem com o PMMA, mas através dos grupos amino .....	56
Figura 17. Ilustração da fase de preparação de sementes ( <i>seed</i> ) de ouro. ....	62
Figura 18. Ilustração da preparação da solução de crescimento.....	63
Figura 19. Ilustração do processo de crescimento.....	63
Figura 20. Ilustração da reação de automontagem entre as nanopartículas de ouro. ....	64
Figura 21. Espectros de UV-Vis característicos de (a) nanoesferas e de (b) nanobastões .....	70
Figura 22. (a) Imagem TEM de nanoesferas com tamanho médio de 20 nm e (b) Imagem TEM de nanobastões de ouro com tamanho médio de 40 nm (comprimento) e 15 nm (largura). ....	71
Figura 23. Histogramas de tamanho de partícula por espalhamento de luz (DLS) das soluções contendo (a) AuNSs e (b) AuNRs .....	71
Figura 24. Representação das estruturas dos conectores.....	72
Figura 25. Espectros de UV-Vis da solução de AuNSs funcionalizada com 1,0 mL de uma solução de AMA $5,0 \times 10^{-2}$ M .....	73
Figura 26. Histogramas de tamanho de partícula por DLS após a adição da solução de AMA $5,0 \times 10^{-2}$ M à solução coloidal contendo AuNSs. (a) Padrão (0 min), tempo de contato entre as AuNSs e AMA a (b) 1 min, (c) 30 min, (d) 60 min e (e) 120 min. ....	74
Figura 27. Solução de AuNSs funcionalizadas com AMA a partir de 1,0 mL de soluções com concentração de (a) $5,0 \times 10^{-4}$ M e (b) $5,0 \times 10^{-6}$ M.....	75
Figura 28. Espectros de UV-Vis da solução de AuNSs funcionalizada com 1,0 mL de uma solução de CYS $5,0 \times 10^{-2}$ M.....	76
Figura 29. Histogramas de tamanho de partícula por DLS após a adição da solução de CYS $5,0 \times 10^{-2}$ M à solução coloidal contendo AuNSs. (a) Padrão (0 min), tempo de contato entre AuNS e CYS a (b) 1 min, (c) 30 min, (d) 60 min e (e) 120 min. ....	77
Figura 30. Espectros de UV-Vis de soluções coloidais de AuNSs funcionalizadas com 1,0 mL de CYS nas concentrações de (a) $5,0 \times 10^{-4}$ M e (b) $5,0 \times 10^{-6}$ M.....	78
Figura 31. Espectros de UV-Vis das soluções contendo AuNRs funcionalizadas com AMA 1,0 mL nas concentrações de (a) $5,0 \times 10^{-2}$ M, (b) $5,0 \times 10^{-4}$ M e (c) $5,0 \times 10^{-6}$ M. ....	79
Figura 32. Espectros de UV-Vis da solução contendo AuNRs funcionalizadas com a solução de AMA $5,0 \times 10^{-1}$ M.....	80

Figura 33. Histogramas de tamanho de partícula por DLS após a adição da solução de AMA $5,0 \times 10^{-1}$ M à solução coloidal contendo AuNRs.(a) Padrão (0 min) tempo de contato entre AuNR e AMA (b) 1 min, (c) 30 min, (d) 60 min e (e) 120 min.....	81
Figura 34. Espectros de UV-Vis das soluções contendo AuNRs funcionalizados com 1,0 mL de uma solução de CYS com concentração de (a) $5,0 \times 10^{-2}$ M, (b) $5,0 \times 10^{-4}$ M e (c) $5,0 \times 10^{-6}$ M.....	82
Figura 35. Espectros de UV-Vis das AuNRs funcionalizadas com a solução de CYS $5,0 \times 10^{-1}$ M.....	83
Figura 36. Histogramas de tamanho de partícula por após a adição da solução de CYS $5,0 \times 10^{-1}$ M à solução coloidal contendo AuNRs. (a) Padrão (0 min), tempo de contato entre AuNR e CYS (b) 1 min, (c) 30 min, (d) 60 min e (e) 120 min. ....	83
Figura 37. Espectros de UV-Vis da simples mistura de AuNS@AMA / AuNR@CYS (Sistema 1). Valores normalizados.....	86
Figura 38. Acompanhamento por DLS da simples mistura de AuNS@AMA - AuNR@CYS (Sistema 1). a) 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min, (f) 240 min e (g) 24 h .....	87
Figura 39. Imagens da solução coloidal do Sistema 1 (AuNRs-CYS/AuNSs-AMA) no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h.....	88
Figura 40. Imagens de TEM das nanopartículas presentes na mistura AuNS@AMA / AuNR@CYS (Sistema 1).....	88
Figura 41. Espectros de UV-Vis da simples mistura de AuNS@CYS / AuNR@AMA (Sistema 2). Valores das absorvâncias normalizados.....	89
Figura 42. Acompanhamento por DLS da simples mistura de AuNS@CYS / AuNR@AMA (Sistema 2). a) com 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min, (f) 240 min e (g) 24 h.....	90
Figura 43. Imagens da solução coloidal do Sistema 2 no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h.....	91
Figura 44. Imagens TEM das nanopartículas presentes no Sistema 2.....	91
Figura 45. Espectros de UV-Vis do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC, Sistema 3. Os espectros de absorvância tem seus valores normalizados.....	93
Figura 46. Imagens da solução coloidal do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC (Sistema 3) no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h .....	93

Figura 47. Acompanhamento por DLS do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC, Sistema 3. a) com 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min, (f) 240 min e (g) 24 h .....	94
Figura 48. Imagens TEM das nanopartículas presentes no Sistema 3.....	95
Figura 49. Espectros de UV-Vis do sistema AuNS@AMA + EDC / AuNR@CYS, Sistema 4. Os valores das absorvâncias foram normalizados. ....	96
Figura 50. Acompanhamento por DLS do sistema AuNS@AMA + EDC / AuNR@CYS, Sistema 4. a) 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min, (f) 240 min e (g) 24 h.....	97
Figura 51. Imagens da solução coloidal do sistema AuNS@AMA + EDC / AuNR@CYS, Sistema 4, no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h.....	98
Figura 52. Imagens TEM das nanopartículas presentes no Sistema 4.....	98
Figura 53. Espectros de UV-Vis do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 5 min, Sistema 5. Os espectros de absorvância tiveram seus valores normalizados. ....	99
Figura 54. Acompanhamento por DLS do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 5 min, Sistema 5. a) 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min, (f) 240 min e (g) 24 h .....	100
Figura 55. Imagens da solução coloidal do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 5 min, Sistema 5, no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h.....	101
Figura 56. Imagens TEM das nanopartículas presentes no Sistema 5.....	101
Figura 57. Espectros de UV-Vis do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 30 min, Sistema 6 .....	102
Figura 58. Acompanhamento por DLS do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 30 min, Sistema 6. a) 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min e (f) 240 min .....	103
Figura 59. Imagens da solução coloidal do Sistema 6 no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h.....	104
Figura 60. Imagens TEM das nanopartículas presentes no Sistema 6.....	104
Figura 61. Espectros de UV-Vis do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 1 h, Sistema 7 .....	105
Figura 62. Imagens da solução coloidal do Sistema 7 no início do processo (a) 0 min e (b) após 24h .....	106
Figura 63. Acompanhamento por DLS do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 1 h, Sistema 7. a) 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min e (f) 240 min ..	106
Figura 64. Imagens TEM do Sistema 7 .....	107

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais ligantes empregados para funcionalizar nanoesferas e nanobastões de ouro.....	37
Tabela 2. Exemplos de processos de automontagem. ....	48
Tabela 3. Reagente e solventes utilizados na realização dos experimentos .....	59
Tabela 4. Concentrações ideais dos conectores para funcionalização das nanopartículas.....	84

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AMA	Ácido mercaptoacético
Au@AgNCs	Nanocubos de ouro e prata (do inglês <i>gold silver nanocubes</i> )
AuNP	Nanopartícula de ouro (do inglês <i>gold nanoparticles</i> )
AuNS@AMA	Nanoesfera de ouro funcionalizada com AMA
AuNS@CYS	Nanoesfera de ouro funcionalizada com CYS
AuNR	Nanobastão de ouro (do inglês <i>gold nanorods</i> )
AuNR@AMA	Nanobastão de ouro funcionalizado com AMA
AuNR@CYS	Nanobastão de ouro funcionalizado com CYS
AuNSs	Nanoesferas de ouro (do inglês <i>gold nanospheres</i> )
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
CYS	Cisteamina
DCA	Organização Química Dirigida
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz (do inglês <i>Dynamic Light Scattering</i> )
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i> )
EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
LSPR	Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada (do inglês <i>Localized Surface Plasmon Resonance</i> )
NHS	<i>N</i> -hidroxissuccinimida
NP	Nanopartícula
PMMA	Polimetilmetacrilato
SPR	Ressonância Plasmônica de Superfície (do inglês <i>Surface Plasmon Resonance</i> )
ssDNA	DNA de cadeia simples
TEM	Microscopia eletrônica de Transmissão (do inglês <i>Transmission Electron Microscopy</i> )
TOAB	Brometo de tetraoctilamônio
UV-Vis	Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta Visível
TEMT	Microtomografia Eletrônica de Transmissão

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo geral.....	20
2.2 Objetivos específicos.....	20
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	21
3.1 Nanopartículas Metálicas.....	21
3.1.1 Aspectos gerais.....	21
3.1.2 Efeito da Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada.....	22
3.1.3 Formação de nanopartículas metálicas.....	25
3.1.4 Obtenção de nanopartículas através de processos por via úmida – <i>Bottom-up</i> .....	27
3.2 Nanopartículas de Ouro.....	30
3.2.1 Propriedades ópticas das nanopartículas de ouro.....	31
3.2.2 Síntese de nanopartículas de ouro.....	33
3.2.2.1 Método de Turkevich.....	34
3.2.2.2 Método de Brust-Schiffrin.....	34
3.2.2.3 Método de Murphy.....	35
3.2.3 Funcionalização.....	35
3.2.4.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM).....	38
3.2.4.2 Espectrofotometria de Ultravioleta-Visível (UV-Vis).....	39
3.2.4.3 Difração Dinâmica da Luz (DLS).....	39
3.2.5 Aplicações de nanopartículas de ouro.....	40
3.2.6 Interação entre nanopartículas de ouro.....	42
3.3 Automontagem ( <i>Self-assembly</i> ) de nanopartículas.....	43
3.3.1 Tipos de processos de automontagem.....	45
3.3.2 Características gerais de processos de automontagem.....	47
3.3.3 Métodos de obtenção de sistemas automontados de nanopartículas.....	49
3.3.3.1 Uso de biomoléculas como agentes funcionalizantes na superfície na nanopartícula.....	51
3.3.3.2 Evaporação de solventes.....	53
3.3.3.3 Automontagem em suspensão.....	54
3.3.3.4 Uso de moldes para indução de automontagem de nanopartículas.....	55
3.3.4 Aplicações de processos de automontagem.....	56

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	59
4.1 Considerações iniciais .....	59
4.2 Materiais, reagentes e solventes .....	59
4.3 Preparo das soluções reagentes .....	60
4.4 Sínteses das nanopartículas de ouro .....	61
4.4.1 Síntese de nanoesferas de ouro (AuNSs).....	61
4.4.2 Síntese de nanobastões de ouro (AuNRs) .....	61
4.5 Funcionalização da superfície das nanopartículas e interação entre os sistemas. ....	64
4.6 Técnicas de caracterização .....	67
4.6.1 Espectroscopia de Absorção no Ultravioleta Visível (UV-Vis).....	67
4.6.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM).....	67
4.6.3 Difração Dinâmica da Luz (DLS) .....	68
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	69
5.1 Síntese e caracterização das nanopartículas de ouro .....	69
5.2 Estudo das concentrações dos ligantes utilizados na funcionalização das nanopartículas .....	71
5.2.1 Estudos das concentrações dos ligantes nas nanoesferas de ouro (AuNSs).....	72
5.2.1.1 Concentrações de ácido mercaptoacético (AMA).....	72
5.2.1.2 Concentrações de cisteamina (CYS) .....	75
5.2.2 Estudos das concentrações dos ligantes nos nanobastões (AuNRs).....	78
5.2.2.1 Concentrações de ácido mercaptoacético (AMA).....	78
5.2.2.2 Concentrações de cisteamina (CYS) .....	81
5.3 Automontagem das nanopartículas.....	84
5.3.1 Sem adição dos agentes de <i>crosslinking</i> .....	85
5.3.2. Com adição dos agentes de <i>crosslinking</i> nas misturas AuNRs e AuNSs funcionalizadas .....	92
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	108
7 PERSPECTIVAS .....	109
REFERÊNCIAS .....	110
ANEXOS .....	122

## 1 INTRODUÇÃO

Os estudos referentes aos nanomateriais ganhou importância significativa no final do século XX, promovendo a consolidação do conhecimento científico e tecnológico relacionado a Nanociência e a Nanotecnologia (N&N). N&N representam os conjuntos de ações de pesquisa, desenvolvimento e inovação, que se baseiam nas propriedades peculiares que a matéria exhibe quando organizada a partir de estruturas com dimensões na escala nanométrica (ALVES; BELLUCCI, 2016).

O termo nanotecnologia foi criado por Norio Taniguchi em 1974 para designar uma gama de tecnologias que operam na construção de nanomateriais, através do controle da forma e tamanho em nanoescala. Esta construção tem como objetivo desenvolver materiais promissores com propriedades melhoradas ou totalmente inéditas (USKOKOVIC, 2007; ADAMS; BARBANTE, 2013). Uma definição mais apropriada foi proposta por Eric Drexler, que corresponde à metodologia de processamento envolvendo a manipulação átomo por átomo. Por outro lado, a nanociência se refere ao estudo do fenômeno e da manipulação de sistemas físicos que produzem informações significativas (isto é, diferenças perceptíveis), em uma escala nano ( $10^{-9}$  m = 1 nm) com dimensões típicas que não excedam geralmente 100 nm (USKOKOVIC, 2007; ADAMS; BARBANTE, 2013).

Apesar desse intervalo sugerido, o surgimento destas propriedades diferenciadas se dá apenas a partir de um determinado tamanho; um tamanho crítico entre as fronteiras das características moleculares e mássicas do material. Essas características diferenciadas não surgem apenas por questões de tamanho, mas também por um sinergismo entre a organização do material e do meio em que se encontram.

Nanomateriais, principalmente metálicos, têm atraído atenção pela contribuição no aprimoramento da rotina de processos, na preservação do meio ambiente e no aperfeiçoamento de materiais já existentes (ALAALDIN et al, 2012). Frisa-se que partículas de tamanho extremamente pequeno estão presentes na natureza há milhares de anos. Este tipo de material nanométrico, incluindo fulerenos (C60), ocorre naturalmente – por exemplo – a partir de processos de combustão, como incêndios florestais e atividade vulcânica e, indiretamente, através da combustão de alta temperatura dos processos industriais (DISNER, CESTARI, 2016).

Nanoestruturas são constituintes naturais dos seres vivos, originando, por exemplo, as cores iridescentes das asas de borboletas ou o efeito lótus, que faz com que as folhas de algumas plantas sejam altamente hidrofóbicas (DISNER, CESTARI, 2016).

As nanopartículas metálicas destacam-se devido às inúmeras possibilidades de aplicação, em especial aquelas à base de metais nobres como o ouro, a prata e o cobre (ALAALDIN et al, 2012; RANA et al, 2012; WELCH; COMPTON, 2006). Em geral, nanopartículas metálicas são preparadas e acondicionadas em condição de suspensão (coloide) em meio líquido (aquoso ou não).

Particularmente, nanopartículas de ouro têm despertado muito interesse na comunidade científica devido à sua versatilidade de formas de obtenção e potencial de aplicações. A partir das condições pré-determinadas de reação, tais como as concentrações do precursor metálico, agente redutor (ou oxidante), agente estabilizante, solvente, temperatura empregada etc. é possível obter morfologias e tamanhos diferentes da partícula (HER; JAFFRAY; ALLEN, 2017).

Nanopartículas podem também ter sua superfície modificada (funcionalizada), revestida por diferentes tipos de moléculas (ligantes), sendo que essa funcionalização é útil no desenvolvimento de dispositivos que poderão ser utilizados para diversos fins, como exemplo, em processos eletroquímicos, óptico-eletrônicos, catalíticos, na área médica, entre outros (THORKESSON; BAI; XU, 2015; MIRZA; SHAMSHAD, 2013; ZHANG et al, 2015).

Na literatura é possível encontrar muitos trabalhos sobre a fabricação de materiais nanoestruturados tendo nanopartículas de ouro como bloco de construção, empregando processos de *self-assembly* (automontagem) (GRZELCZAK et al, 2010). Por exemplo, Grzelczak, Sánchez e Liz-Marzán (2013) utilizaram nanopartículas de ouro como bloco de construção, onde obtiveram um aglomerado em forma esférica, construído por nanopartículas esféricas de dois tamanhos diferentes. Essa nanoestrutura formada apresentava novas propriedades catalíticas e ópticas (sensores emissores de luz). Em outro exemplo, Wang e colaboradores (2010) utilizaram nanoesferas e nanobastões de ouro como blocos de construção para gerar uma nanoestrutura que pudesse detectar a trombina (enzima presente no plasma) em concentrações muito baixas no sangue humano. Com isso, o uso de nanopartículas de ouro como bloco de construção em processos de automontagem é versátil e promissor na aplicabilidade desejada.

Processos de automontagem, empregando partículas de dimensões nanométricas para a fabricação de nanoestruturas ou dispositivos, continua um grande desafio tanto tecnológico quanto científico (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002), pois a elaboração desses dispositivos funcionais requer um elevado controle na manipulação dos objetos (átomos, moléculas ou nanopartículas) que serão utilizados como blocos de construção (RANGEL; FERREIRA, 2009). Assim, é de fundamental importância o estudo de novas estratégias para controlar em termos químicos e físicos a automontagem de nanopartículas metálicas, como exemplo, a funcionalização da superfície das partículas, o grau de evaporação do solvente, a homogeneidade das nanopartículas preparadas etc. (FERNANDES et al., 2010).

Ressalta-se que, dentre estes fatores, a funcionalização da superfície das nanopartículas é uma das ações mais estudadas para o controle do processo de automontagem, e essa funcionalização pode ser feita com moléculas com poucas funções químicas e substituintes, quanto com biomoléculas mais complexas como proteínas, anticorpos etc. (RANGEL; FERREIRA, 2009).

Nesse contexto, o presente trabalho visa a síntese e funcionalização de nanopartículas que, posteriormente, permitirão a ocorrência de interações planejadas para obter um arranjo destes nanomateriais, e assim, vislumbrar a elaboração e construção de pequenos arranjos organizados em escala nanométrica, tendo-se as nanopartículas de ouro funcionalizadas como bloco de construção.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Sintetizar nanopartículas de ouro com geometrias e tamanhos distintos e utilizá-las como blocos de construção de nanoestruturas através de processos de automontagem (*self-assembly*).

### 2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas coloidais de ouro na forma de bastões e esferas de maneira controlada e em solução aquosa;
- Funcionalizar as nanopartículas de ouro com ligantes específicos de forma planejada;
- Caracterizar as nanopartículas quanto ao formato e tamanhos médios, assim como, os sistemas coloidais obtidos, empregando-se técnicas de Espectroscopia de Absorção da Região do Ultravioleta Visível (UV-Vis), Espalhamento de Luz (DLS) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM).

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

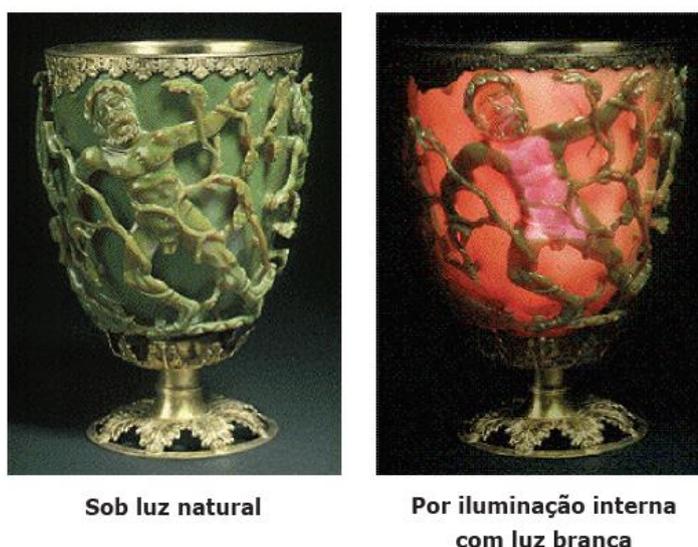
#### 3.1 Nanopartículas Metálicas

##### 3.1.1 Aspectos gerais

Nos últimos 20 anos o interesse por nanopartículas metálicas tem aumentado constantemente devido a sua ampla variedade de aplicações (LOGUERCIO et al., 2015; SANTOS, 2016). Vários grupos de pesquisa têm estudado nanopartículas isoladas de tamanhos e formas diferentes, buscando entender seu comportamento óptico e catalítico. Adicionalmente, a literatura descreve a constante busca por metodologias de síntese cada vez mais simples, de baixo custo e com alta reprodutibilidade (SANTOS, 2016).

O comportamento óptico de nanopartículas metálicas tem fascinado a humanidade há vários séculos, principalmente através de obras de arte, isso mesmo antes que se tivesse o conhecimento sobre o que eram nanopartículas. Um clássico exemplo é a Taça de Licurgo (século 4 d.C.), que tem a fascinante particularidade de exibir uma de duas cores - vermelho ou verde - dependendo do ângulo com que a luz se faz incidir, conforme visto na Figura 1. Por detrás deste intrigante comportamento óptico do artefato se encontra nanotecnologia, pois o vidro utilizado conta com partículas de prata e ouro com dimensões de até cinquenta nanômetros (MADHAVAN, 2004; SILVA, 2008).

**Figura 1. Duas divisões da Taça de Licurgo, sob luz natural (refletida), em cor verde e por iluminação interna com luz branca (transmitida), em cor vermelho**



Fonte: SILVA, 2008.

Não obstante, o estudo com caráter mais científico e menos empírico sobre as nanopartículas metálicas tornou-se evidente com os trabalhos de Michael Faraday que, em 1857, publicou um artigo no periódico “*Philosophical Transactions of the Royal Society of London*”, que tentava explicar o efeito da interação da luz em uma solução coloidal de nanopartículas de ouro obtida através da redução do cloreto de ouro pelo fósforo (MADHAVAN, 2004; FARADAY, 1857). A partir desta época, e até os dias atuais, vários métodos de preparação de nanopartículas metálicas vêm sendo desenvolvidos (VEPREK et al., 2007; RANGEL; FERREIRA, 2009).

Ainda sobre o comportamento óptico singular das nanopartículas metálicas, verificou-se que tais particularidades estão associadas ao Efeito da Ressonância de Plasma de Superfície Localizada (do inglês, LSPR). Mie, em 1908, foi o primeiro a elucidar a origem das cores nestas estruturas e sua teoria foi posteriormente complementada com os modelos de Maxwell-Garnett que explicavam a interação das nanopartículas com o meio. Estes estudos proporcionaram uma ampla visão quanto as possíveis aplicações destas nanopartículas e no desenvolvimento de novos materiais (OLIVEIRA et al.; FERREIRA et al., 2015; FAN et al., 2013; SANTOS et al., 2016).

Desde então, o interesse nestas nanopartículas tem aumentado e novas metodologias de síntese e caracterização têm sido desenvolvidas, possibilitando grande controle de seus tamanhos e formatos (SHAW et al., 2013; SANTOS et al., 2013). A partir destes trabalhos, vários estudos científicos foram publicados em síntese e modificação da superfície de nanopartículas de ouro, utilizando uma ampla diversidade de condições experimentais. Logo, uma diversidade de nanomateriais, tais como: nanotubos de carbono, nanopartículas metálicas e semicondutores foram sintetizados e propostos como blocos de construção para o desenvolvimento de catalisadores, dispositivos eletrônicos e ópticos nanoestruturados (FELDHEIN; FOSS, 2002).

### 3.1.2 Efeito da Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada

Para que a Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada (LSPR) pudesse ser compreendida, foi necessário que houvessem avanços científicos relacionados a natureza e do comportamento eletromagnético da luz. Estes avanços tiveram início em 1820, quando o estudioso dinamarquês Hans Christian Orsted, através de observações experimentais da deflexão de uma bússola nas proximidades de um fio condutor permeado por uma corrente

elétrica, deu um passo importante para a unificação da eletricidade e do magnetismo (até então os fenômenos elétricos e magnéticos eram estudados separadamente) (SANTOS et al, 2016).

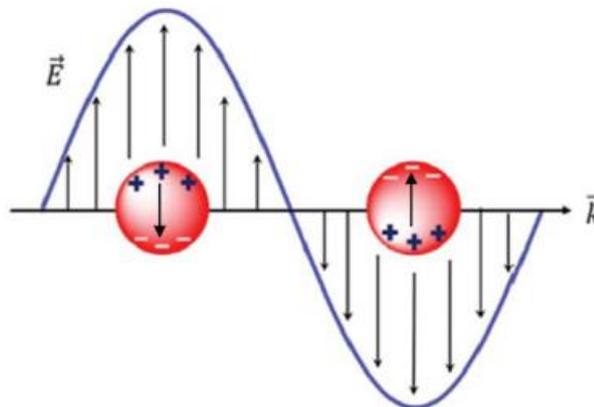
Posteriormente, em 1865 James Clerk Maxwell desenvolveu a teoria do eletromagnetismo, que associava os fenômenos observados de interação entre a eletricidade e o magnetismo. As equações propostas por Maxwell permitiram explicar com clareza diversos fenômenos, permitindo classificar a luz como sendo uma onda eletromagnética, caracterizada por oscilações de campos elétricos e magnéticos (perpendiculares entre si) em função do tempo. Paralelamente ao trabalho de Maxwell para o eletromagnetismo, em 1857, Michael Faraday trabalhava na interação da luz com soluções coloidais, e através de dados empíricos, descreveu a dependência das colorações dos colóides com a concentração e tamanho das partículas presentes na solução (SANTOS et al., 2016). Suas contribuições, somadas ao estudo das equações do eletromagnetismo aplicadas nas propagações das ondas eletromagnéticas a grandes distâncias, permitiu uma melhor compreensão da interação dos campos eletromagnéticos com a matéria para explicar os fenômenos de transmissão, reflexão, espalhamento e absorção da luz.

Em 1908 Mie apresentou uma resolução satisfatória para as equações de Maxwell, explicando porque partículas de tamanhos diferentes e de mesmo material forneciam cores distintas, conforme preconizado por Faraday. A solução proposta por Mie fez com que houvesse um melhor entendimento sobre a interação da luz com metais em escala nanométrica. E, o estudo desta interação deu origem ao que hoje é denominado de Plasmônica (MAXIMINO, 2011).

Em linhas gerais, a Plasmônica estuda como o campo eletromagnético pode ser confinado em dimensões de mesmos tamanhos ou menores que o comprimento de onda. Os materiais mais importantes no estudo da plasmônica são os metais, pois este suporta modos de propagação de plásmons de superfície (ou *surface plasmons*, SP). Por outro lado, plásmons de superfície são originados a partir do acoplamento entre a onda eletromagnética e a oscilação coletiva dos elétrons livres (ou de condução) de um metal. Quando esta oscilação é otimizada, ou seja, são escolhidos parâmetros para que ela atinja a condição de ressonância, passa-se a ser chamada de ressonância de plasmônica de superfície ou ressonância de plásmon de superfície (*surface plasmons resonance*, SPR). Há dois tipos de SPs, i) polarização plasmônica de superfície (*surface plasmons polariton*, SPP), é obtido quando uma onda eletromagnética incide em filmes metálicos e esta fica confinada na superfície deste filme; e

ii) superfície plasmônica localizada (*localized surface plasmons*, LSP), representado na Figura 2, que é obtido quando o acoplamento é feito com uma nanopartícula metálica com diâmetro muito menor que o comprimento de onda incidente. Ambos efeitos aceitam a condição de ressonância, sendo classificados como SPPR e LSPR, respectivamente (MAXIMINO, 2011).

**Figura 2. Origem de um dipolo elétrico induzido e efeito da força restauradora devido à separação de cargas nas nanopartículas metálicas. Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada (LSPR)**



Fonte: SANTOS et al., 2016.

A incidência de um campo elétrico homogêneo sobre a partícula metálica provoca o deslocamento dos elétrons desta partícula no sentido contrário ao campo elétrico da onda incidente (JACKMAN; RAHIM FERHAN; CHO, 2017). Este deslocamento das cargas promove a indução de um dipolo elétrico na partícula. O dipolo induzido promove o aparecimento de um campo elétrico restaurador na partícula, o qual tem a função de restaurar o equilíbrio de distorção das cargas. Esta força restauradora e a indução do dipolo, quando acopladas, geram a ressonância plasmônica (SANTOS, 2016; CHANG et al., 2012) A Figura 2 ilustra o dipolo elétrico induzido e a força restauradora criada devido a separação de cargas na partícula.

As nanopartículas de metais nobres, por exemplo, de ouro e prata, distinguem-se dos demais metais, por possuírem propriedades ópticas únicas como a alta luminescência de superfície, devido ao espalhamento de luz, facilmente observada por detecção óptica (HUANG; NERETINA; EL-SAYED, 2009) e bandas de extinção na região do visível

(HUANG; EL-SAYED, 2010), ambas devido à ressonância plasmônica de superfície (SPR) (HULTEEN et al., 1999).

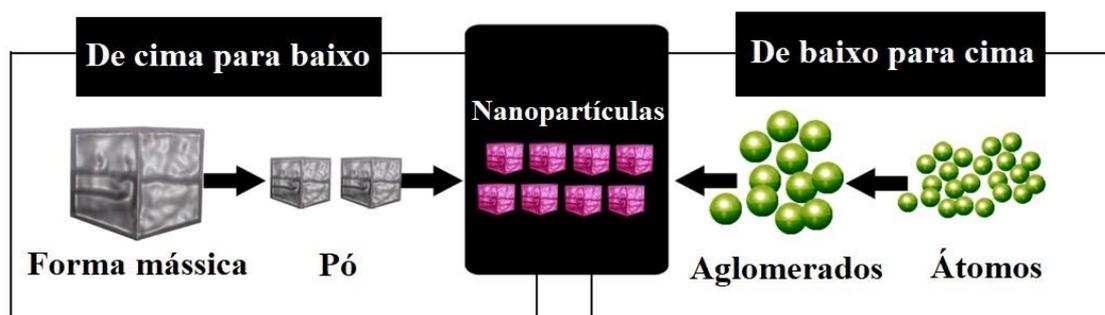
### 3.1.3 Formação de nanopartículas metálicas

De forma geral, uma nanopartícula é considerada um nanomaterial quando uma de suas dimensões se encontra entre 1 e 100 nm, pois, geralmente nessa faixa, propriedades diferenciadas se manifestam advindas de seu tamanho reduzido (FELDHEIN; FOSS, 2002; DURÁN; MATTOSO; MORAIS, 2006; SILVA, 2010).

A produção de nanopartículas pode ser feita por meio de duas abordagens: i) pelo método conhecido como *top-down* (de cima para baixo), que se baseia na desconstrução de estruturas maiores, utilizando técnicas de fabricação para cortar, moer e moldar materiais até atingir a nanoescala; e ii) pelo método *bottom-up* (de baixo para cima), que explora as propriedades químicas de moléculas/átomos individuais como bloco de construção para fazer com que estes se organizem e formem uma estrutura em nanoescala (FELDHEIN; FOSS, 2002; TISCHER; TISCHER-FARIA, 2012).

O método *top-down* é geralmente realizado em sistemas secos; e o *bottom-up*, em meio aquoso ou com solvente orgânico (TISCHER; TISCHER-FARIA, 2012). Estes dois processos estão ilustrados de forma esquemática na Figura 3.

**Figura 3. Ilustração dos processos de obtenção de nanopartículas: *top-down* e *bottom-up***



Fonte: adaptado de ZARBA, 2016.

A abordagem de *bottom-up* baseia-se em processos químicos de síntese de nanomateriais através de crescimento das suas unidades constituintes por intermédio de reações químicas, tais como, redução de íons metálicos ou precipitação de óxidos ou outros

compostos iônicos. As reações utilizadas neste processo podem ser de decomposição térmica, fotocatalítica, fotoquímica, redução química e eletroquímica etc. (WANG; CHANG; PENG, 2011; PEREIRA, 2014).

Este método pode ser bastante eficaz, caso as unidades constituintes se depositem de uma forma organizada em estruturas bem definidas. Estas técnicas têm, usualmente, fácil aplicabilidade, bons rendimentos e baixos custos energéticos.

Os métodos empregando a abordagem *top-down* baseiam-se em processos físicos de desintegração de um material macroscópico para obter um nanomaterial com a morfologia adequada para determinada aplicação (EUSTIS; EL-SAYED, 2006; PEREIRA, 2014). Nestes processos ocorrem, comumente, perda do material, ocasionando menores rendimentos e baixa homogeneidade das partículas obtidas (CAO; WANG, 2011).

Contrariamente aos métodos *bottom-up*, as partículas obtidas com base na abordagem *top-down*, não contam com possibilidades na variação de modificação de sua superfície. Por sua vez, estes processos, além dos baixos rendimentos, têm a desvantagem de terem elevado consumo energético e não ser usualmente fáceis de adaptar a largas escalas de produção (PEREIRA, 2014).

A abordagem *bottom-up*, geralmente, origina nanopartículas com maior controle de forma e tamanho, após otimização de parâmetros, já que se remete à construção das nanoestruturas a partir de átomo por átomo, íon por íon ou molécula por molécula, mantendo o controle durante a síntese (CAO; WANG, 2011).

As nanopartículas são termodinamicamente instáveis e têm a tendência natural de se agregarem, diminuindo seu potencial de superfície. Assim, o grande desafio na obtenção, consiste, exatamente, em preparar nanomateriais estáveis (i.e., que permaneçam na escala nanométrica sem sofrer decomposição, agregação ou crescimento) e monodispersos, tanto em relação ao tamanho quanto à forma dessas partículas.

Comumente, nos métodos *bottom-up* existem duas fases principais na síntese de nanopartículas: i) a fase de nucleação e ii) a fase de crescimento, que serão detalhadas na próxima subseção.

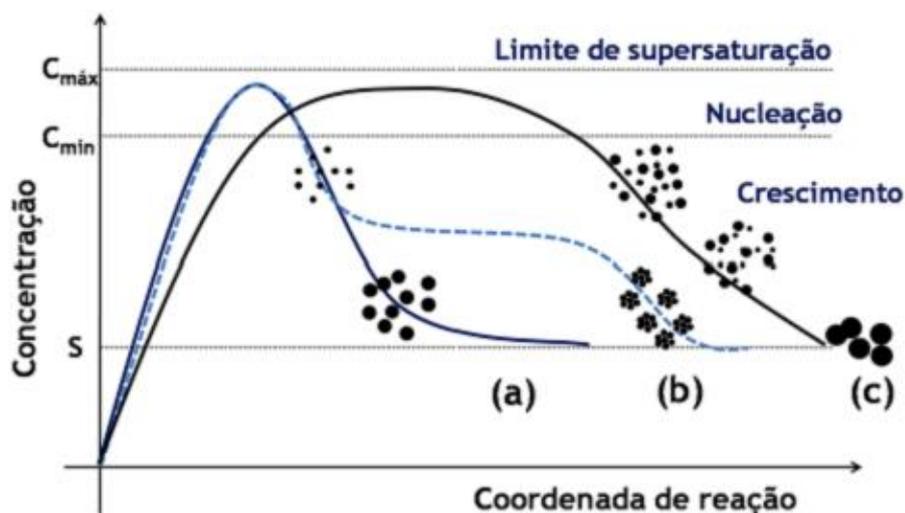
Vale ressaltar que, neste trabalho, a obtenção das nanopartículas (esferas e bastões) foram realizadas através de abordagem *bottom-up*.

### 3.1.4 Obtenção de nanopartículas através de processos por via úmida – *Bottom-up*

Devido às propriedades singulares que podem ser obtidas, métodos de síntese de partículas com tamanhos de 1 a 100 nm têm sido objeto de inúmeros trabalhos científicos (SANTOS et al., 2010). Adicionalmente, a literatura descreve a constante busca por metodologias de síntese cada vez mais simples, de baixo custo e com alta reprodutibilidade. Nessa perspectiva, a síntese de nanopartículas por via úmida, gerando soluções coloidais, ocupará um papel chave (COLOMBO et al., 2012; FILHO; SERRA, 2015).

Sistemas coloidais de nanopartículas metálicas podem ser descritos como sendo uma fase sólida de partículas suspensas em uma fase contínua líquida, apresentando alto grau de dispersão das partículas e baixa taxa de aglomeração e sedimentação. Durante a síntese coloidal de nanopartículas, dois processos ocorrem de maneira praticamente simultânea são considerados: a nucleação (formação de numerosos cristallitos iniciais) e o crescimento das partículas (FILHO; SERRA, 2015). A Figura 4 representa o processo de precipitação segundo o modelo de La Mer (FILHO; SERRA, 2015; LAMER; DENGAR, 1950), com suas três etapas características: pré-nucleação, nucleação e crescimento.

**Figura 4. Ilustração dos processos de pré-nucleação, nucleação e crescimento**



Fonte: FILHO; SERRA, 2015.

Em geral, no modelo de La Mer (Figura 4, Gráfico a) a etapa de nucleação deve ser rápida e de curta duração para a geração de nanopartículas monodispersas (RAO; MÜLLER;

CHEETHAM, 2007). Contudo, essa condição não necessariamente ocorre, por isso, o devido controle das etapas de formação das partículas é fundamental para síntese reprodutivas e de alta seletividade. O maior problema reside na ocorrência concomitante das etapas de nucleação e crescimento das partículas, acarretando, a princípio, uma grande variação no tamanho das partículas (FILHO; SERRA, 2015).

No modelo de Ocaña (Figura 4, Gráfico b), assume-se a ocorrência, também, de um processo rápido de nucleação, porém a geração das partículas finais ocorreria através da agregação dos germes iniciais e das partículas menores; já no modelo de Sugimoto (Figura 4, Gráfico c), assume-se uma etapa muito lenta de nucleação, levando à formação de germes polidispersos (FILHO; SERRA, 2015).

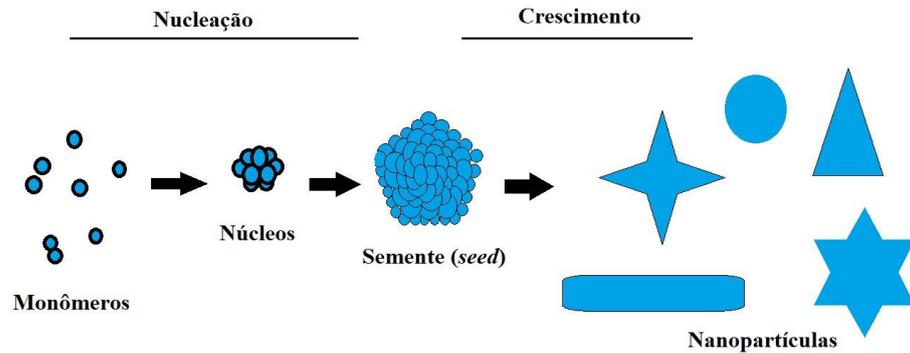
O crescimento é, então, explicado pela coalescência limitada por difusão dos germes menores (mais instáveis) em favor do aumento das partículas maiores, através do processo de *Ostwald ripening* (“maturação de Ostwald”). Este processo consiste em um fenômeno no qual as partículas pequenas em suspensão tendem a se redissolver e depositar sua massa em partículas maiores mais estáveis, assim minimizando o potencial de superfície, atingindo maior estabilidade termodinâmica (FILHO; SERRA, 2015).

Em linhas gerais, na etapa de nucleação ocorre a formação de pequenos núcleos metálicos a partir das moléculas de precursor, quando a concentração destas se encontra acima de um limiar de concentração na região de supersaturação, provocando a nucleação. Em contrapartida, na fase de crescimento ocorre a deposição de átomos metálicos livres nos núcleos formados, provocando assim o crescimento da nanopartícula. A dispersão de tamanhos de uma população de nanopartículas depende fortemente da duração relativa entre estas fases de nucleação e crescimento. De maneira a obter uma população monodispersa de nanopartículas é importante ter um período de nucleação curto e separado da fase de crescimento, para que haja uma formação quase simultânea de núcleos, seguido de um crescimento homogêneo, visto que o número final de nanopartículas formadas é determinado durante a fase de nucleação (XIA et al., 2009; PEREIRA, 2014).

Deste modo, o controle do tamanho e da morfologia das partículas pode ser conseguido através da modulação dos processos de nucleação e crescimento. Logo, uma boa estratégia para a elaboração de nanopartículas metálicas, particularmente, de ouro, é a técnica mediada por semente (SILVA, 2010), o esquema desta estratégia pode ser visualizado na Figura 5. Este método utiliza sementes pré-formadas nas quais nanopartículas crescem

quando um agente redutor fraco (ácido ascórbico, por exemplo) na presença de um surfactante, levando à formação de nanopartículas com formas e tamanhos desejados.

**Figura 5. Representação da síntese de nanopartículas de ouro mediada por semente (*seed*)**



Fonte: Autor, 2019.

Uma vez sintetizadas, as nanopartículas precisam ser protegidas, pois, do contrário, poderão aumentar de tamanho, unir e precipitar em um curto espaço de tempo. Para evitar essa agregação e prolongar o uso destes nanomateriais, é necessário fazer alguns procedimentos para que os impeçam de se aproximar um dos outros o suficiente, evitando quaisquer intercorrências. Para tal, utiliza-se a técnica de estabilização, que pode ser realizada de duas maneiras: i) por estabilizações do tipo eletrostática; e ii) estérica (WANG; FAN, 2010; YU; XIE, 2012). Na Figura 6 é apresentada uma representação destes dois tipos de estabilização de nanopartículas.

**Figura 6. Ilustração dos processos de estabilizações estérica e eletrostática de nanopartículas**



Fonte: WANG; FAN, 2010.

Na estabilização eletrostática, utiliza-se um composto com carga (positiva ou negativa) que, geralmente, fica adsorvido sobre a superfície das nanopartículas, conferindo-lhes, portanto, um potencial eletrostático. Essa carga impede que as nanopartículas se aproximem o suficiente para que o processo de agregação se inicie. Já na estabilização estérica, as nanopartículas são revestidas com uma camada de polímero, proteína ou dendrímero, por exemplo. Por exemplo, criando-se uma barreira molecular que impede a aproximação entre as mesmas, evitando o processo de agregação (WANG; FAN, 2010; YU; XIE, 2012).

### 3.2 Nanopartículas de Ouro

Desde a década passada é notável o crescente interesse da comunidade científica a respeito do ramo da nanociência que se refere às intrigantes mudanças nas propriedades físicas de determinados sólidos, quando suas dimensões são reduzidas à escala nanométrica. Além disso, também, nesse período, aumentou-se à possibilidade de controle sobre os componentes estruturais de materiais e dispositivos em escalas de tamanho bem inferiores às aquelas convencionais. Parte do fascínio que permeia o assunto é atribuído às inúmeras aplicações dadas a nanopartículas metálicas (MELO JR. et al., 2012) tais como, na construção de sensores, no uso em microeletrônica, em catálise, bactericida, células fotovoltaicas (WANG et al., 2011; LUKMAN et al., 2011).

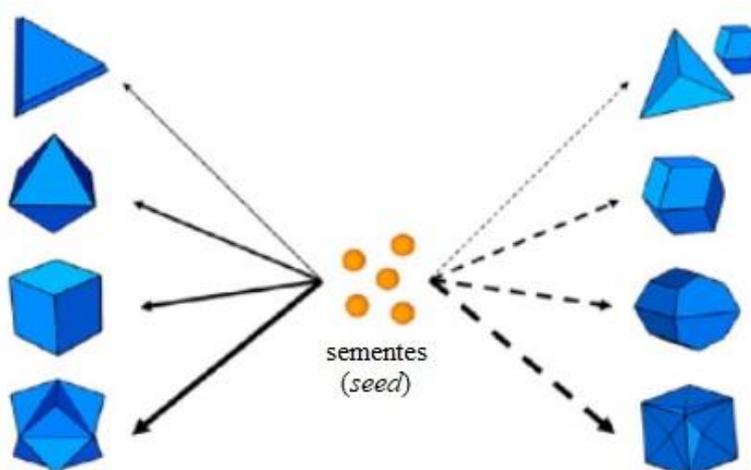
Dentro do universo das nanopartículas metálicas, aquelas de ouro foram as primeiras a serem utilizadas para algum propósito, muito provavelmente pelo fato de serem preparadas com muita facilidade (COURA et al., 2018). O ouro é um metal de grande importância histórica devido ao seu alto valor agregado e sua beleza associada. Além disso, devido a suas propriedades químicas de metal nobre, é utilizado em distintas áreas, principalmente o comportamento óptico diferenciado que depende da morfologia e tamanho da partícula (JUNQUEIRA; SILVA; GUERRA, 2012; PEREIRA, 2014; COURA et al., 2018).

Por apresentarem propriedades físicas e químicas distintas, tanto do nível atômico quanto da sua forma mássica (*bulk*), as nanopartículas de ouro vêm recebendo cada vez mais a atenção em inúmeros campos de pesquisa, principalmente devido às propriedades plasmônicas (PARVEEN, 2017).

A depender dos parâmetros experimentais, como temperatura, concentração do íon metálico, velocidade de redução, uso e concentração de agentes estabilizantes etc. (SCHULZ

et al., 2014; COURA et al., 2018), pode-se obter nanopartículas de ouro com morfologias e tamanhos variados (MIRKIN; PERSONICK, 2013), conforme representação da Figura 7.

**Figura 7. Representação de diferentes morfologias de nanopartículas de ouro**



Fonte: adaptado de MIRKIN; PERSONICK, 2013.

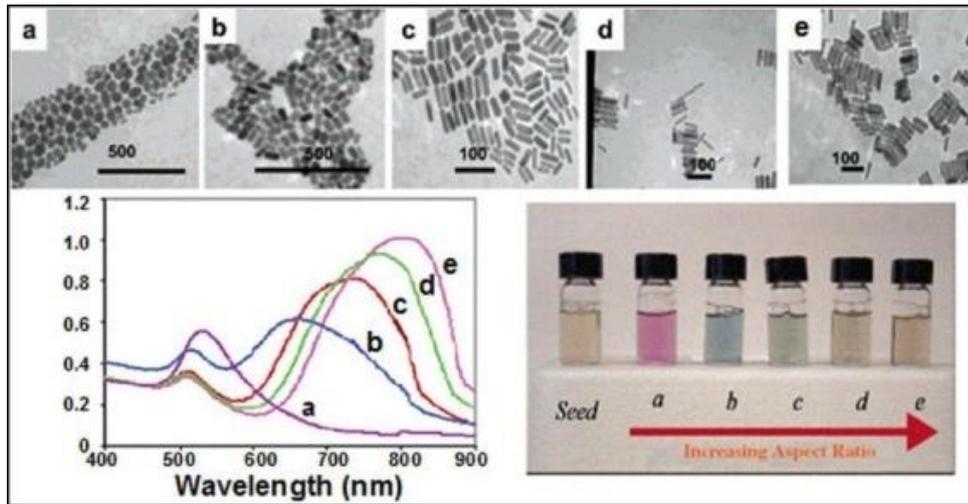
As nanopartículas de ouro podem ser isotrópicas ou anisotrópicas, dependendo da sua forma. As nanopartículas de ouro isotrópicas, i.e., de forma esférica, com diâmetros entre 5 nm e 20 nm apresentam uma única banda plasmônica típica entre 510-525 nm. As partículas anisotrópicas – outras formas não esféricas – apresentam normalmente mais que uma banda plasmônica (LI; ZHAO; ASTRUC, 2014), nanobastões exibem duas bandas de SPR, visto que a oscilação coletiva dos elétrons pode ocorrer em dois sentidos, dependendo da polarização da luz incidente (FERREIRA et al., 2017).

### 3.2.1 Propriedades ópticas das nanopartículas de ouro

Os nanomateriais apresentam interessantes propriedades ópticas. Um exemplo clássico desse comportamento são as partículas em suspensão coloidal de ouro, as quais podem exibir diversas tonalidades na região do ultravioleta-visível. Esta particularidade é intrinsecamente dependente da forma e das dimensões destes constituintes (PEREIRA et al., 2007), como apresentada na Figura 8, onde tem-se características distintas para as nanoesferas e os nanobastões com diferentes razões de comprimento/largura (C/L) ou *aspect ratio*. A diversidade de cores observada para estes materiais é resultante do efeito de ressonância de

plasma de superfície localizada destas partículas e tem sido devidamente explicada através da teoria de Maxwell-Garnett, conforme já mencionada na subseção 3.1.2 desta tese.

**Figura 8. Ilustração das diferentes cores de nanopartículas de ouro, (a) esferas e (b,c,d,e) bastões com diferentes razões C/L (*aspect ratio*)**

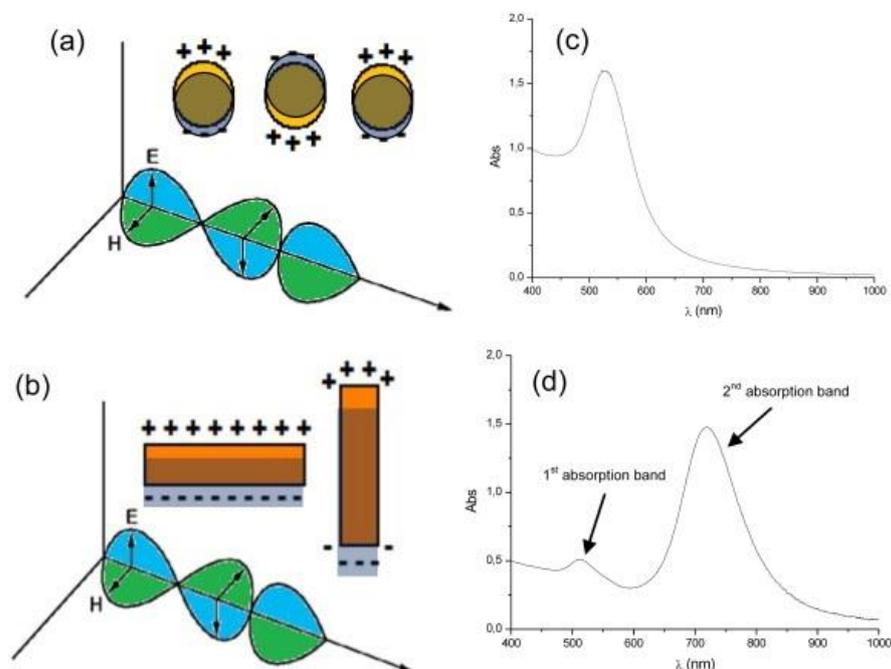


Fonte: WANG et al., 2016.

As diferentes cores observadas nas suspensões do ouro coloidal são devido às oscilações coletivas dos elétrons responsáveis pelas bandas de condução existentes na superfície das nanopartículas. Esses elétrons interagem com o vetor elétrico da energia radiante, constituindo um fenômeno denominado de ressonância de plasma de superfície (SPR), sendo resultante de vibrações eletrônicas e mudanças na densidade de carga localizada em uma interface, também denominadas como ondas de Langmuir. A mobilidade dos elétrons livres promove a oscilação da frequência da SPR, cuja excitação pode ser observada na região do visível em partículas miniaturizadas. Materiais nanoparticulados são dotados de uma lacuna envolvendo as bandas de valência e de condução, capazes de permitir uma transição eletrônica na interface condutor-isolador (PEREIRA et al., 2007).

Quanto à propriedade de SPR, as nanoesferas assim como os nanobastões de ouro apresentam bandas de absorção plasmônicas específicas, conforme já mencionado na seção 3.2. A Figura 9 ilustra a ressonância de plasma de superfície para este dois tipos de nanopartículas.

**Figura 9. Ilustração da ressonância de plasma de superfície (SPR) para (a) nanoesferas e (b) nanobastões, e análise de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) para (c) nanoesferas e (d) nanobastões**



Fonte: DA SILVA et al., 2013.

Assim, para os nanobastões existe uma banda de absorção no comprimento de onda semelhante ao das nanoesferas (denominada banda transversal) e uma banda longitudinal (>600nm) como resultado da absorção induzida pelo eixo longo dos nanobastões, a qual varia de acordo com sua relação de aspecto (comprimento/largura). Com o aumento dessa razão, que pode ser determinado tanto pela modificação do tamanho da nanopartícula quanto pela ligação de moléculas em sua superfície, a cor do ouro em solução é alterada e o comprimento de onda de ressonância de plasma de superfície é deslocado (FERREIRA et al., 2017).

### 3.2.2 Síntese de nanopartículas de ouro

Esforços significativos foram dedicados ao longo das últimas quatro décadas para a fabricação de nanopartículas de ouro monodispersas com controle de tamanho e forma bem definidos. Até o momento, nanopartículas de ouro com diâmetros variando de 2 nm a 150 nm e morfologias diferentes, incluindo nanoesferas, nanobastões, nanoprimas e nanoestrelas podem ser rapidamente sintetizadas através de diversas metodologias (RANA et al., 2012; CHEN; ZHOU; ZHAO, 2018). Os processos de obtenção de nanopartículas metálicas

envolvem, geralmente, o uso de agentes redutores e estabilizantes, tais como o citrato de sódio, boro-hidreto de sódio, hidrazinas, formaldeídos, ácido ascórbico, que previnem a agregação destes nanomateriais (SCHULZ et al, 2014; SENGANI; GRUMEZESCU; RAJESWARI, 2017; CHEN; ZHOU; ZHAO, 2018). Contudo, a síntese destas nanopartículas pode ser feita de duas maneiras: i) métodos químicos (de Turkevich, de Brust-Schiffrin, de Murphy entre outros) e por ii) métodos físicos (radiólise, termólise etc.). Na próxima subseção dar-se-á importância aos métodos químicos de síntese mais comumente utilizados na prática laboratorial.

### 3.2.2.1 Método de Turkevich

Entre os métodos químicos, a maioria usa o ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ), como fonte de íons Au (III) e diversos agentes redutores, como exemplo, citrato de sódio ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ). Dentro desse contexto, o método de Turkevich (TURKEVICH; STEVENSON; HILLERE, 1951), descrito pela primeira vez em 1951, consiste basicamente em adicionar citrato de sódio (em excesso) como agente redutor sobre uma solução aquosa de ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) sob refluxo. Após trinta minutos de reação, é obtida uma solução coloidal de nanoesferas de ouro, de tonalidade roxa. O citrato em excesso serve para, além da redução do precursor de ouro, estabilizar as nanopartículas por repulsões eletrostáticas na solução coloidal (DA SILVA et al., 2013; TEIXEIRA, 2016).

Apesar de inicialmente este método ter estado limitado a NP de cerca de 20 nm, posteriormente foi adaptado a sínteses de NP com tamanhos médios de 16 a 147 nm, variando-se a razão entre o reagente de ouro e o agente estabilizador/redutor. A ligação do íon citrato à superfície da NP é relativamente fraca, o que é particularmente interessante quando se deseja proceder às reações de substituição na superfície. A introdução de agentes anfífilos baseados em tióis conjuntamente com o citrato tem sido também apresentada com sucesso (MARTINS; TRINDADE, 2012).

### 3.2.2.2 Método de Brust-Schiffrin

Brust e Schiffrin descreveram a obtenção de NP de Au com dimensões mais reduzidas (diâmetros entre 1,5 e 5,2 nm) com boa estabilidade térmica e coloidal. Estes pesquisadores desenvolveram um método que utiliza (boro-hidreto de sódio)  $\text{NaBH}_4$  como agente redutor do Au (III) ( $\text{HAuCl}_4$ ) num sistema bifásico: tolueno/água (BRUST et al., 1994). O íon  $\text{AuCl}_4^-$  é

transferido para a fase orgânica pela ação de um tensoativo (brometo de tetraoctilamônio, TOAB) o que permite a redução de ouro iônico pelo  $\text{NaBH}_4$ . A ligação do TOAB à superfície das NP formadas não é suficientemente forte para garantir estabilidade coloidal a longo prazo. A estabilidade do coloide é promovida pela adição de tióis de cadeia carbonada longa que, devido à afinidade do ouro (Au) (ácido mole) pelo enxofre (S) (base mole), coordenam fortemente à superfície das NP (BRUST et al., 1994; BRUST et al., 1995; MARTINS; TRINDADE, 2012).

### 3.2.2.3 Método de Murphy

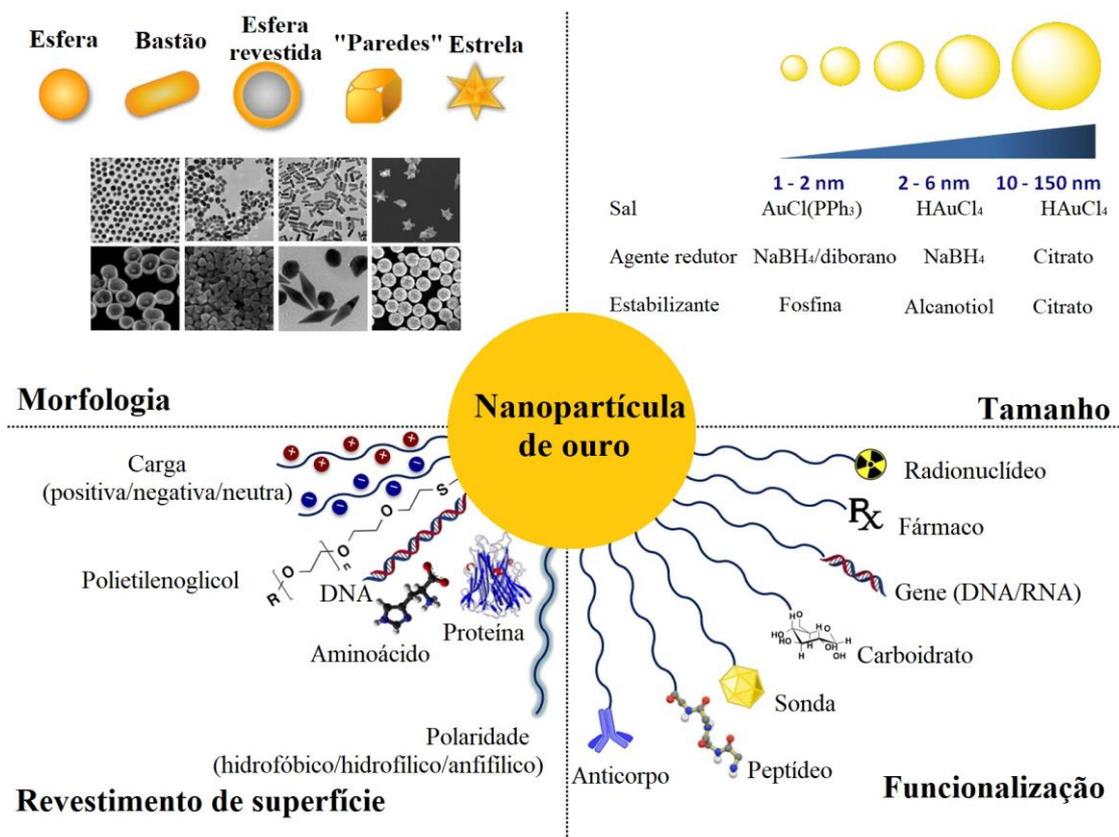
Murphy e colaboradores (2001) obtiveram NP de Au com tamanhos médios entre 5-40 nm, utilizando agentes redutores distintos na preparação de sementes e na fase de crescimento em partículas maiores. As sementes de ouro foram preparadas por redução de  $\text{HAuCl}_4$  utilizando  $\text{NaBH}_4$  na presença de íon citrato e, na fase de crescimento, adicionou-se ácido ascórbico. A estabilidade das partículas durante a fase de crescimento foi promovida pela adição do agente tensoativo brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB). O ácido ascórbico é um redutor fraco, permitindo a redução de espécies de Au (III) apenas até a Au (I) em solução aquosa. No entanto, com a adição de partículas sementes de Au (0), o potencial de redução aumenta, levando ao crescimento das partículas sementes com a redução de Au (I) sobre a superfície das partículas adicionadas. Esse processo mostrou-se muito eficaz para o crescimento controlado das nanopartículas (MURPHY; JANA; GEARHEART, 2001; MARTINS; TRINDADE, 2012).

### 3.2.3 Funcionalização

A funcionalização de nanopartículas consiste na adição de grupos funcionais (leia-se, ligantes) à superfície das NPs, sendo efetuada com objetivos específicos, tais como aumentar a estabilidade coloidal das partículas, prevenir fenômenos de agregação ou determinar maior afinidade para determinada aplicação (HOMBERGER; SIMON, 2010). Conforme já mencionado, as nanopartículas de ouro são sistemas interessantes no desenvolvimento dos mais diversos tipos de materiais nanoestruturados, além das diversas propriedades e aplicabilidades, este tipo de NP possui superfície que pode ser facilmente substituída por ligantes, sem que a sua estabilidade coloidal fique comprometida (SOARES, 2016).

Na Figura 10 pode-se perceber a versatilidade no uso de alguns ligantes, independente da morfologia ou tamanho das nanopartículas. A capacidade da superfície da nanopartícula ao interagir com grupos tióis e amins fornece uma maneira conveniente de introduzir conjuntos funcionais reativos que, podem ser utilizados juntamente com as propriedades ópticas e eletrônicas da nanopartículas, para uma variedade de aplicações (HER; JAFFRAY; ALLEN, 2017).

**Figura 10. Representação de funcionalização da superfície de uma nanopartícula de ouro**



Fonte: adaptado de HER; JAFFRAY; ALLEN, 2017.

Os ligantes são incorporados à superfície podendo melhorar a estabilidade das nanopartículas e dotá-las de novas propriedades ou funções (SPERLING; PARAK, 2010). Na maioria dos casos, o ligante liga-se mais fortemente à superfície da nanopartícula. Salienta-se que, a geometria molecular dos ligantes em relação ao diâmetro das partículas é um fator que influencia o modo como as moléculas se distribuem ao redor das partículas, afetando por sua vez a estabilidade coloidal.

Um dos exemplos mais significativos é precisamente o caso das nanopartículas de ouro (AuNPs) em meio aquoso, sintetizadas por redução de citrato (SPERLING; PARAK, 2010; SOARES, 2016). As nanopartículas resultantes contêm íons citrato carregados negativamente adsorvidos à sua superfície e mantêm-se estabilizadas por repulsões eletrostáticas. A camada de citrato pode ser substituída por ligantes que se liguem com maior afinidade, sendo os exemplos mais populares moléculas como fosfinas sulfonadas, ácidos mercaptocarboxílicos, dissulfetos, entre outros (TALLURY et al., 2010; SOARES, 2016).

Para que estas nanopartículas de ouro apresentem aplicabilidade, o CTAB ou citrato de sódio empregados na síntese devem ser removidos ou substituídos com ligantes e/ou moléculas de interesse, tais como polietileno glicol (PEG), oligonucleotídeos, peptídeos, polímeros ou sílica inorgânica. Moléculas bifuncionais são amplamente empregadas (vide Tabela 1), e, geralmente, possuem grupos de ácido carboxílico que atuam como ligantes químicos para conjugação, através de acoplamento mediado por carbodiimida via amina primária (FERREIRA, 2017).

**Tabela 1. Principais ligantes empregados para funcionalizar nanoesferas e nanobastões de ouro**

<b>Ligantes</b>	<b>Referências</b>
PEG/SH-PEG	WANG et al., 2013
Estreptavidina/Biotina	HU; DOU; ZHAO, 2014
Aminoácidos	WANGOO et al., 2008
Precursores de sais de diazônio	FERREIRA et al., 2017
Ácido 3-mercaptopropiônico (MPA)	NIETZOLD; LISDAT, 2012
Ácido 11-mercaptoundecanoico (MUDA)	MILLER; AKBAR; MORRIS, 2015
Ácido lipoico	SIMONS, 2000
Polietilenoimina (PEI)	FERREIRA et al., 2017
Cisteamina	MA et al., 2013

Fonte: adaptado de FERREIRA et al., 2017.

Todos os eventos de funcionalização descritos no parágrafo anterior podem ser facilmente monitorados através da ressonância plasmônica de superfície, já que a ligação de

moléculas na superfície das nanopartículas altera o ambiente circundante e afeta a densidade de cargas dos elétrons ali presentes, o que acarreta em deslocamento da banda de absorção longitudinal (MOON et al, 2011; FERREIRA et al., 2017). Nesse contexto, existem inúmeras aplicações baseadas nas alterações da ressonância de plasma de superfície. Uma delas é o biossensoriamento, conhecido por nanoSPR, obtido pela ligação de biomoléculas (como anticorpos) aos nanobastões já acoplados a um ligante. A posterior interação com o alvo conclui a detecção, resultando em um deslocamento observável da banda longitudinal.<sup>19</sup> Estes nanomateriais, portanto, podem ser empregados em ensaios de biossensoriamento químico, com fácil detecção do resultado final por meio da verificação do deslocamento da banda de absorção plasmônica longitudinal em espectrofotômetro (FERREIRA et al., 2017).

Salienta-se que, para este trabalho, as nanopartículas de ouro, nanoesferas (AuNS) e nanobastões (AuNR), foram funcionalizadas com os seguintes ligantes: ácido mercaptoacético (AMA) e cisteamina (CYS) (TRONCI et al.; MIRZA; SHAMSHAD, 2013).

### 3.2.4 Métodos de caracterização de nanopartículas

A propriedade básica da nanopartícula, além do material que a constitui, é o seu tamanho, isto é, o seu diâmetro. O método mais comum de caracterização do tamanho das nanopartículas consiste na Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM), que é capaz de obter imagens das NPs. Não obstante, outras técnicas são de suma importância para caracterizar as nanopartículas, por exemplo, Espectrofotometria de Ultravioleta-Visível (UV-Vis), Difração Dinâmica de Luz (DLS), avaliação do Potencial Zeta, Eletroforese em Gel, Microscopia de Força Atômica (AFM), entre outros (BOISSELIER; ASTRUC, 2009; ALEX; TIWARI, 2015).

#### 3.2.4.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

A Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) é uma técnica bem estabelecida que permite analisar aspectos de materiais construídos à escala nanométrica, tais como a morfologia, o tamanho e o estado de agregação das nanopartículas. Apesar de permitir obter informação estrutural sobre materiais de origem biológica, a priori utiliza-se para obter, também, informações sobre espécies metálicas. Devido a possível formação de “artefatos” durante a preparação de amostras, a informação obtida por TEM é normalmente corroborada por outros métodos como exemplo, espectrofotometria de UV-Vis (ALEX; TIWARI, 2015).

O princípio do TEM baseia-se na emissão de um feixe de elétrons altamente energéticos que incide numa amostra de fina espessura, que interage com ela e é transmitido através da amostra com uma distribuição de intensidade e direção controlada pelas leis de difração impostas pelo arranjo cristalino dos átomos na amostra. O feixe transmitido é enviado através de várias lentes de ampliação para atingir a resolução pretendida e transformada numa imagem de TEM com contraste de fase, sendo posteriormente analisada (PEREIRA, 2014). A partir das fotografias, é possível obter histogramas de distribuição do tamanho das nanopartículas, tendo-se assim informação crucial quanto à dispersão das nanopartículas.

#### 3.2.4.2 Espectrofotometria de Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

A Espectrofotometria de UV-Vis é uma das técnicas mais comuns e baseia-se na medição da intensidade de luz ultravioleta ou visível absorvida por uma amostra a um determinado comprimento de onda, comparativamente a um branco. Além de informação relativa aos comprimentos de onda correspondentes aos máximos de absorção, que podem ser utilizados para fins identificativos, embora com baixa qualidade, a absorbância é frequentemente utilizada para determinar a concentração de espécies em solução, através da equação de *Lambert-Beer* (Equação 1):

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l \quad \text{[Equação 1]}$$

em que  $A$  é a absorbância a um determinado comprimento de onda,  $c$  é a concentração molar da espécie absorvente,  $\epsilon$  representa o coeficiente de extinção molar e  $l$  o caminho óptico da célula que contém a amostra (PEREIRA, 2014).

Salienta-se que, no decorrer deste trabalho esta técnica foi extremamente fundamental para monitorizar o processo de síntese e de funcionalização das nanopartículas (nanoesferas e nanobastões) tão quantos os diversos tipos de interação entre estas NPs funcionalizadas.

#### 3.2.4.3 Difração Dinâmica da Luz (DLS)

A Difração Dinâmica de Luz (DLS), também, denominada de Espectroscopia de Correlação Fotônica ou Dispersão de Luz Quasi-elástica é uma técnica de dispersão de luz adequada para a determinação do diâmetro de partículas com dimensões na ordem dos nanômetros, podendo mesmo determinar tamanhos inferiores a 1 nm. As partículas possuem

movimento aleatório, designado por movimento Browniano. Ao incidir o laser numa amostra da dispersão coloidal, a intensidade de luz dispersa depende do tamanho e concentração das partículas. Este tipo de medições (dispersão de luz estática) permite avaliar o tamanho médio, mais concretamente o raio hidrodinâmico médio das partículas numa solução coloidal. Neste contexto, a DLS é um método que mede a intensidade de flutuação do movimento Browniano das partículas e relaciona-o com o tamanho das mesmas. A medição da difração dinâmica de luz permite ainda determinar distribuições de raios hidrodinâmicos, ou seja, avaliar a dispersão dos tamanhos das NPs.

Esta técnica permite assim determinar o tamanho das partículas em suspensão de uma forma rápida e fiável em amostras com baixa dispersão de tamanhos. Para amostras polidispersas, a medição não é tão fiável e ocorre usualmente um desvio dos resultados para maiores diâmetros. Assim, a técnica é consideravelmente sensível à formação de agregados, sobrestimando à presença destes últimos assim como de NPs de maiores tamanhos na distribuição de raio hidrodinâmico determinado. Por esta razão, a medição fiável de diâmetros através desta técnica depende consideravelmente da estabilidade das soluções coloidais (PEREIRA, 2015).

Durante este trabalho utilizou-se esta técnica para determinar o diâmetro hidrodinâmico médio das NPs sintetizadas assim como os materiais nanoestruturados a partir da interação entre as nanopartículas.

### 3.2.5 Aplicações de nanopartículas de ouro

A capacidade das nanopartículas de ouro em interagir com outras moléculas ou ligantes, assim como a possibilidade de moldar as suas propriedades, torna-as instrumentos de elevado potencial para aplicação em catálise, na síntese de coloides, em processos fotoquímicos, no desenvolvimento de sensores e dispositivos eletrônicos, em aplicações médicas, na obtenção de novos fármacos e no controle ambiental (RANGEL; FERREIRA, 2009; LI; ZHAO; ASTRUC, 2014).

Estudos realizados por Marisca e colaboradores (2015) demonstram a viabilidade em se utilizar as nanopartículas de ouro para fins médicos, estes pesquisadores utilizaram o

colágeno, a proteína mais abundante em mamíferos, como revestimento de tais nanopartículas, demonstrando baixa toxicidade e altos níveis de absorção, tendo em vista a aplicação em sistemas de entregas de fármacos e biomarcadores para contrastes de imagem. Esse é um dos tipos de aplicação que pode ser utilizado em cosméticos atuando, também, no rejuvenescimento cutâneo. Ainda nesta vertente, Fathi-Azarbayjani e colaboradores (2010) elaboraram uma máscara facial antirrugas nanofibrosa contendo ácido ascórbico, ácido retinóico, nanopartículas de ouro, e colágeno. As AuNPs foram preparadas pela redução química do sal de ouro ( $\text{HAuCl}_4$ ) com citrato de sódio em solução de PVA (álcool polivinílico). Uma vez umedecida, o conteúdo da máscara gradualmente dissolve-se e libera os ingredientes ativos assegurando uma penetração máxima na pele. O uso de AuNPs nesse estudo é devido a propriedades como o aumento da circulação sanguínea, a elasticidade cutânea, o poder de rejuvenescimento facial por meio da redução da formação de rugas e o seu potencial na entrega transdérmica.

O emprego de catalisadores contendo nanopartículas de ouro sobre suportes mesoporosos constitui outra importante aplicação em catálise que vem sendo desenvolvido há quase uma década. Por exemplo, Sobczak e colaboradores (2007) prepararam materiais mesoporosos contendo nanopartículas de ouro com diferentes tamanhos e observaram que esses sistemas eram promissores para a redução catalítica seletiva de óxido nítrico. Por outro lado, Yin e colaboradores (2005) utilizaram alumina mesoporosa como suporte de nanopartículas de ouro para obter catalisadores eficientes para a epoxidação do estireno.

Já para a utilização em sensores, Sempionatto e colaboradores (2014) desenvolveram um sensor com propriedades inteligentes, baseado em poliácido acrílico modificado com nanopartículas de ouro, este sensor demonstrou propriedades que podem discriminar diferentes valores de pH. Outro estudo feito por Abbas e colaboradores (2015) desenvolveram um sensor eletroquímico utilizando as nanopartículas de ouro modificado com pasta de carbono para detecção de cisteína, a deficiência deste aminoácido está envolvida em síndromes de crescimento lento em crianças, o sensor demonstrou uma ótima sensibilidade para essa detecção.

Como já relatado na subseção 3.2, as NPs podem ser obtidas por vários processos e atualmente podem ser sintetizadas nos mais variados formatos como esferas, cubos, tubos, prismas, octaedros, e muitos outros. Cada forma apresenta diferentes propriedades específicas – que podem ser ajustadas pela modificação da superfície das nanopartículas ou através da funcionalização, possibilitando uma variedade de aplicações nanomateriais.

### 3.2.6 Interação entre nanopartículas de ouro

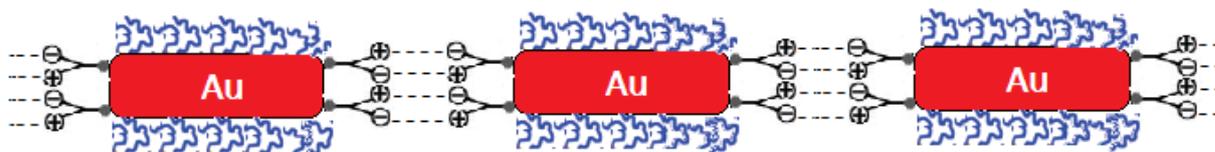
A principal característica dos nanomateriais é que eles são compostos por um “pequeno” número de átomos, entre centenas a milhares. Como visto, é justamente devido a estas pequenas dimensões que as propriedades físicas destes materiais geralmente diferem daquelas apresentadas pelo mesmo material em sua forma mássica. As propriedades e o desempenho dos materiais podem ser melhorados e otimizados pelo mecanismo de montagem de nanomateriais. Novas propriedades físicas têm sido observadas nestes sistemas, resultado da interação entre as partículas. Tais propriedades não são nem as propriedades das partículas individuais nem as propriedades do material em sua forma mássica, mas são resultantes do benefício da organização do nanomaterial.

As nanopartículas devem ser móveis para que possa ocorrer o arranjo ordenado da estrutura. A ideia é, desta forma, alcançar o nível de auto-organização do nanomaterial, ou seja, induzir o sistema a uma organização espontânea em grande escala sem intervenção de objetos em nível nanoscópico, mas apenas submetidos a condições programadas macroscopicamente (SILVA, 2010).

Conforme já mencionado em tópicos anteriores, as nanopartículas de ouro apresentam excelentes propriedades de ressonância de plásmon de superfície (FERREIRA et al., 2017). Diversos métodos químicos têm sido desenvolvidos para a obtenção de nanopartículas de ouro com alto controle de tamanho e forma (RANA et al., 2012; CHEN; ZHOU; ZHAO, 2018). O próximo desafio no momento é alcançar um nível de montagem específica destas nanopartículas na construção de dispositivos a fim de obter propriedades e funções desejadas.

Por exemplo, nanobastões de ouro, como mencionado na subseção 3.2.1, apresentam duas bandas de absorção referente ao plásmon de superfície transversal e outra, ao longitudinal. Este último aparecendo entre o visível e, podendo alcançar a faixa do infravermelho no espectro (FERREIRA et al., 2017). Tem sido mostrado que nanobastões podem se unir ponta a ponta através de reconhecimento bioquímico entre ligantes, uma ilustração entre este sistema pode ser demonstrada na Figura 11 (CHANG et al, 2005; SILVA, 2010; LEUNG et al, 2016).

**Figura 11. Representação da interação entre os nanobastões de ouro e ligantes**



Fonte: SILVA, 2010.

### 3.3 Automontagem (*Self-assembly*) de nanopartículas

O interesse atual em utilizar conjuntos de nanopartículas metálicas é motivado pela capacidade de explorar suas propriedades coletivas e a possibilidade de usá-las para determinado propósito. Assim, estes conjuntos de nanopartículas podem ser usados para melhorar as propriedades de alguns materiais (compósitos, por exemplo), e eles também podem permitir múltiplas tarefas a serem realizadas simultaneamente ou em sequência (NIE; PETUKHOVA; KUMACHEVA, 2010). O processo de *self-assembly* (automontagem) tem sido utilizado como um método simples para construir superestruturas em escala nanométrica com composições bem definidas e com propriedades diferenciadas. Estas novas propriedades físicas e/ou químicas especiais poderão ser utilizadas na otimização de algumas análises técnicas, tão quanto apresentar novas aplicabilidades. Portanto, a automontagem tem sido amplamente pesquisada e aplicada em muitos campos da ciência (XU et al., 2016).

A automontagem de nanopartículas de ouro foi relatada pela primeira vez em 1996 por Mirkin e Alivisatos, onde obtiveram estruturas automontadas a partir de nanopartículas em que suas superfícies estavam funcionalizadas com oligonucleotídeos tiolados. Esse sistema automontado foi então utilizado na detecção de DNA (PRIYADARSHINI, 2017; MIRKIN, ALIVISATOS, 1996; PRIYADARSHINI, 2017).

A interação destes ligantes específicos à superfície das nanopartículas pode acontecer por três maneiras: i) por adsorção física, que ocorre por meio de interação eletrostática ou hidrofóbica. É um processo rápido e evita a necessidade de um processo complexo de síntese. No entanto, qualquer alteração nos parâmetros físicos (pH, força iônica, temperatura etc.) do sistema pode não favorecer o acomplamento do ligante à superfície da NP (TAN, 2010); ii) por ligação covalente, é o tipo de interação mais utilizada. Esta baseia-se na forte interação de da ligação entre os átomos de Au, presentes na superfície das nanopartículas com os átomos de enxofre presentes em uma das extremidades dos ligantes. Diante deste fato, um grande

número de moléculas contendo tiol como alquiltiolatos, glutathiona, xantatos, dissulfetos, tioéteres, ditiocarbamatos têm sido utilizadas como ligantes na funcionalização de nanopartículas de ouro (ZHAO et al, 2012) e; iii) por reconhecimento específico, este método baseia-se no princípio da especificidade das moléculas do ligante para a molécula do analito em questão. Por exemplo, os NPS são marcados com anticorpos e usadas para a detecção da molécula de antígeno correspondente (PRIYADARSHINI, 2017).

A funcionalização de nanopartículas de ouro com biopolímeros, por exemplo, é empregada na construção de biossensores para a detecção de ácidos nucleicos e proteínas. Outro exemplo é a funcionalização dessas partículas com alcanotióis e amidoferrocenilalcanotiol, que permite a identificação de grupos tais como as espécies  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e  $\text{HSO}_4^-$ , em solução (RANGEL, 2009). Este processo de modificação da superfície das nanopartículas consiste na conjugação por uma molécula funcionalizante (ligante) de tal forma que ela se ancora quimicamente à superfície da nanopartícula e a outra extremidade permanece livre. E, os grupos funcionais livres da molécula podem, assim, ligar-se ou interagir com uma molécula-alvo de interesse (PRIYADARSHINI, 2017).

O processo de automontagem tem sido reconhecido como uma técnica autêntica e com sinônimo de garantia para obter nanoestruturas com excelentes propriedades, sejam aquelas de naturezas orgânicas ou inorgânicas. Estes nanomateriais podem ter dimensionalidades distintas (1D, 2D ou 3D) originados a partir de interações específicas (SINGAMANENI et al., 2011; KITCHING et al., 2013). Na literatura observa-se controvérsias relativamente à distinção entre automontagem (*self-assembly*) e auto-organização. Contudo, muitos autores defendem que a automontagem se refere às estruturas que geram sistemas químicos em equilíbrio enquanto o termo auto-organização descreve sistemas dinâmicos multiestáveis (GRUMEZESCU, 2016; KOTOV, 2017). No entanto, apesar de já ter se tornado alvo de discussões por possuírem conceitos diferentes, os termos são aplicados de maneira indiscriminada no campo científico.

É possível encontrar várias denominações para a automontagem. Segundo Whitesides e Grzybowski, a automontagem é a organização autônoma de componentes em padrões ou estruturas sem intervenção humana. Já para Palacin e Demadrill, trata-se de um processo espontâneo e reversível que reúne em uma geometria definida, movendo aleatoriamente corpos distintos através de forças seletivas de ligação (HAGHI, 2013). Porém, Grumerzescu (2016) define a automontagem como um processo onde os componentes de um sistema - sejam moléculas, polímeros, partículas coloidais ou partículas macroscópicas - se organizam

em estruturas ou padrões ordenados e/ou funcionais como consequência de interações locais específicas entre os próprios componentes, sem estímulo externo.

De modo geral, a automontagem descreve a interação espontânea das nanopartículas como blocos de construção em estruturas maiores com simetria bem definida e arquitetura elaborada. O potencial de interação entre os blocos de construção tem origem diversa, mas a força motriz é alcançar o equilíbrio termodinâmico entre os mesmos através da minimização da energia livre (GRÖSCHEL; MÜLLER, 2015).

Como já mencionando, o termo automontagem é bastante abrangente. Pode ser utilizado para designar um sistema qualquer que se estrutura espontaneamente a partir de seus componentes, formando estruturas moleculares ou supramoleculares. Já o termo auto-organização pode ser considerado como uma parte inserida no conceito geral de automontagem. Enquadrando-se, desta forma, como um processo de automontagem possuidor de ordem definida, específica e programada no tempo, analisando a estrutura no espaço em relação ao tempo. Para se obter um fenômeno de auto-organização é necessário que ocorra uma interação entre as partes que constituem o sistema e uma integração das interações para enfim se gerar um comportamento coletivo.

É relevante considerar que um sistema, para ser denominado como gerado de um processo de auto-organização, não precisa necessariamente possuir uma periodicidade ou regularidade, mas apenas um comportamento definido, ou seja, é necessário apenas que exista anteriormente uma intenção a organização e que a mesma, de certa forma, se concretize, mesmo que eventualmente só possa ser explicada após uma etapa de caracterização (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002).

No contexto da escrita desta tese, os termos foram utilizados livremente seguindo o uso sem censura considerando os termos como sinônimos químicos, conforme aplicado na literatura. Visto que, são termos com definições que se tangenciam frequentemente, assim, foi utilizada a expressão automontagem de forma preferencial neste trabalho.

### 3.3.1 Tipos de processos de automontagem

Os processos de automontagem podem ser estáticos e dinâmicos, sendo o último mais complexo do que a primeiro, uma vez que a automontagem dinâmica só ocorre quando o sistema está dissipando energia, tornando-o muito mais difícil de ser estudado e compreendido. Em contrapartida a automontagem estática, envolve sistemas que estão em

algum tipo de equilíbrio, o que faz com que o estudo seja menos complexo (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002; HAGHI, 2013).

Ressalta-se que, a automontagem pode ser observada em diferentes partes do Universo. Embora a maioria do conhecimento atual adquirido seja referente a estudos realizados em processos estáticos de automontagem, os grandes desafios e oportunidades estão direcionados a processos dinâmicos. A maior justificativa para se estudar processos dinâmicos de automontagem é pelo fato deles serem a base dos processos vitais (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002).

Em nível molecular, os processos de automontagem estática aparecem na formação da bicamada lipídica, no emparelhamento das bases e na dobra de algumas proteínas. Revelando a hierarquia de automontagem como um artifício fundamental para o funcionamento da célula. Processos de automontagem também são comuns em sistemas não vivos, embora não sejam tão estudados e compreendidos como os presentes em sistemas vivos (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002).

Em processos de automontagem dinâmica, as interações para a formação entre as estruturas só ocorrem sob dissipação de energia. Esses processos dependem não apenas da energia fornecida momentaneamente, mas estão sinergicamente relacionados ao meio em que se encontram e às condições reacionais. Sistemas submetidos à dinâmica de competição e difusão em reações químicas são geralmente mais complexos; células biológicas são exemplos em que se pode observar este tipo de processo (SINGAMANENI et al., 2011; HAGHI, 2013). Mas, é relevante considerar que o entendimento de sistemas de autoformação dinâmica ainda se encontra nos primeiros passos.

A dificuldade em estudar processos de automontagem é o fato de ser difícil avaliar ou mesmo controlar todos os parâmetros que determinam o comportamento entre os componentes do sistema e a interação entre os mesmos. Por isso, é um desafio obter sistemas automontados em que todos os parâmetros possam ser controlados ou avaliados independentemente para uma melhor compreensão e controle do processo e das propriedades do sistema. Na Química, os primeiros estudos envolvendo processos de automontagem tiveram início através das pesquisas realizadas na área da orgânica, onde buscou-se compreender as interações entre as moléculas tais como polímeros e surfactantes, e no decorrer dos anos, estes estudos foram se expandido para campos mais específicos: nas áreas da robótica, microeletrônica e nanociência, por exemplo (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002; LI; QI, 2018).

### 3.3.2. Características gerais de processos de automontagem

A automontagem reflete a informação codificada de um grupo que carrega as características de cada componente em particular (massa, tamanho, forma, propriedades de superfície, polarizabilidade, cargas, dipolo magnético, entre outras). O *design* dos componentes e a forma como as unidades estão se ordenando dentro dos padrões desejados é o estopim dos estudos da automontagem (*self-assembly*).

Estas unidades de formação, também denominadas de blocos de construção, precisam se mover de forma a manter o equilíbrio estacionário entre as forças de repulsão e atração entre as mesmas (HAGHI, 2013). A automontagem molecular envolve interações covalentes e/ou não covalentes (eletrostáticas, de van der Waals, de hidrogênio etc.). Em processos de automontagem de unidades em escalas micro a macroscópicas, as interações podem ser predefinidas e adaptadas. Tornando-se possível incluir interações como atração gravitacional, campos eletromagnéticos, interações magnéticas, capilares e entrópicas (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002; HAGHI, 2013).

É necessário que os componentes possuam pelo menos dois sítios de interação para efetuar concretamente um processo de automontagem capaz de estabilizar as conexões. Essas interações podem conduzir a um sistema sob homomontagem ou heteromontagem. A homomontagem acontece quando os componentes se associam entre si e a heteromontagem é observada quando os componentes se associam entre outros componentes. Devido ao fato de processos de automontagem necessitarem de mobilidade, estes ocorrem comumente em meios líquidos ou em superfícies maleáveis (HAGHI, 2013).

Enfatiza-se que, o meio no qual se origina o processo pode modificar as interações entre as unidades, assim como, o uso de moldes e de agentes controladores em processos de automontagem é importante porque reduz os defeitos e controla a formação das estruturas, mas também pode acontecer em solução, por interface e assistida. O equilíbrio é um fator fundamental quando se deseja construir estruturas ordenadas. É necessário que haja uma fronteira definida entre aglomeração e não aglomeração das unidades, ou que se tenha de forma especificada e controlada a distância entre as mesmas durante um processo de aglomeração (HAGHI, 2013).

A maior justificativa para se estudar processos de automontagem é pelo fato deles serem a base dos processos vitais. Em nível molecular, os processos de automontagem estática aparecem na formação da bicamada lipídica, no emparelhamento das bases e na dobra

de algumas proteínas revelando a hierarquia de automontagem como um artífice fundamental para o funcionamento da célula (GRÖSCHEL; MÜLLER, 2015), de acordo exemplos apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2. Exemplos de processos de automontagem.**

Sistema	Tipo*	Aplicações/importância	Referências
Cristais atômicos, moleculares e iônicos	E	Materiais, óptico-eletrônicos	BALL, 2004
Camadas poliméricas iônicas e fase separada	E	Materiais, óptico-eletrônicos	DE ROSA et al., 2000
Monocamadas auto-organizadas (MAOs)	E, M	Microfabricação, sensores, nanoeletrônicos	AIZENBERG et al., 1999
Bicamadas lipídicas e filmes pretos de lipídeos	E	Biomembranas, emulsões	JONES.; CHAPMAN, 1995
Cristais líquidos	E	Displays	LOUDET et al., 2000
Cristais coloidais	E	Peneira molecular, materiais <i>band gap</i>	WHITESIDES, 2002
Estruturas macro e mesoscópicas	E ou D, M	Circuitos eletrônicos	GRZYBOWSKI et al., 2001
Automontagem fluídica	E, M	Microfabricação	SRINIVASAN et al., 2001
Reações oscilantes e de difusão	B	Oscilações biológicas	HESS, 2000
Colônias de bactérias	D,B	Oscilações biológicas	HESS, 2000
Enxames (formigas) e cardumes (peixes)	D,B	Novos modelos de computação	BONABEAU et al., 2000
Padrões climáticos	D	Novos modelos de computação	BALL, 2004
Sistemas solares	D	Novos modelos de computação	WHITESIDES, 2002
Galáxias	D	Novos modelos de computação	WHITESIDES, 2002

\* E, estático; D, dinâmico; M, molde; B, biológico

Fonte: adaptado de WHITESIDES, 2002.

Contudo, os processos celulares podem ser classificados como de automontagem dinâmicos, pois a célula pode ser considerada como um pacote de reações químicas, que são responsáveis por sensores ambientais que permitem a célula apresentar um dispositivo natural com capacidade de adaptação, dissipação e autorreplicação energética. De fato, organismos vivos transformam reações químicas relativamente simples, num processo complexo de automontagem.

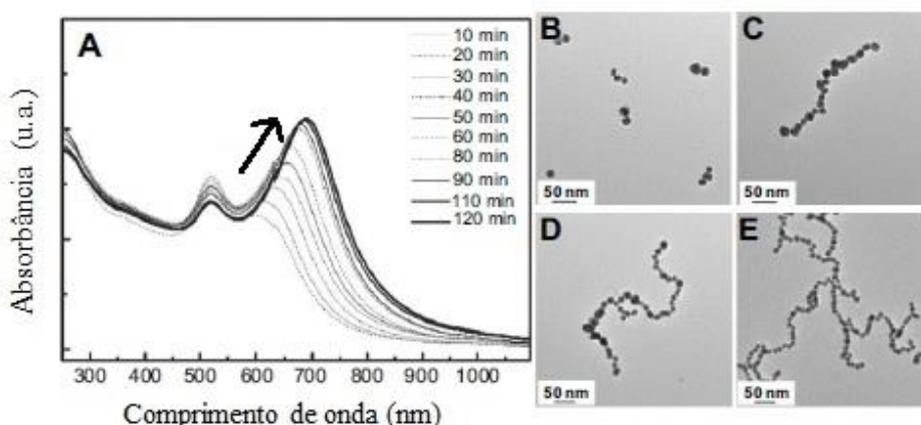
Cabe lembrar, que processos de automontagem dinâmicos também são comuns em sistemas não vivos, por exemplo, reações oscilantes em solução, superfície de catalisadores, células de Rayleigh Bernard, e padrões obtidos em leitos fluidizados de partículas, assim como células de tempestade na atmosfera são bons exemplos de padrões de automontagem dinâmicos (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002).

### 3.3.3 Métodos de obtenção de sistemas automontados de nanopartículas

Nanopartículas inorgânicas (ou metálicas) possuem diversas aplicabilidades, podendo ser utilizadas como catalisadores, sensores, marcadores forenses, células solares em medicamentos entre outros (ZHANG et al, 2015). E com base em processos de automontagem de nanopartículas podem-se obter novos materiais tão quanto gerar novas propriedades e/ou aplicações. Isso acontece porque quando a interação entre as nanopartículas ocorre, suas propriedades individuais podem ser alteradas e, assim, podem surgir propriedades coletivas, pois as mesmas estão intrinsecamente ligadas as interações entre as partículas e por sua organização no meio (GRZELCZAK et al, 2010; GWO et al, 2016).

Um exemplo clássico para demonstrar o quanto estas propriedades sofrem alterações quando as nanopartículas sofrem algum tipo de organização específica, é efeito de ressonância plasmônica de superfície localizada (da sigla em inglês, LSPR). Este é um fenômeno que acontece em nanopartículas metálicas que pode ser observado quando se obtém morfologias diferentes, presença de ligantes e/ou moléculas na superfície, diferença no tamanho e na organização das nanopartículas no meio reacional. De acordo com Santos e colaboradores (2016), qualquer um desses tipos de mudança, afeta o índice de refração próximo à superfície do metal, mudando a frequência da LSPR e, em consequência, mudando seu espectro de absorção, como pode ser observado na Figura 12.

**Figura 12. Espectros de UV-Vis (A) e imagens de TEM (B, C, D, E) do processo de automontagem de nanoesferas de Au em solução de amônia.**



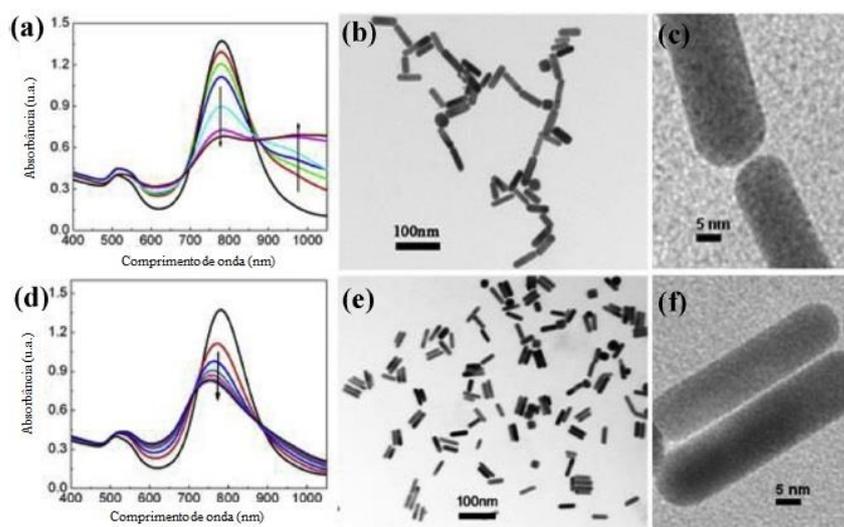
\*Tempo de contato entre nanoesferas de Au com sílica B) 10 min; C) 40 min; D) 60 min e) 120 min

Fonte: adaptado de YIN et al, 2014.

Neste estudo, Yin e colaboradores (2014) utilizaram nanoesferas de ouro como bloco de construção em processo de automontagem, obtendo-se nanocorrentes de Au na presença de solução de amônia, demonstrando que a LSPR das nanopartículas de Au podem ser melhoradas quando ocorre o processo de automontagem (YIN et al, 2014). Diferentemente, Liu e colaboradores (2017) utilizaram nanobastões de Au revestidos por sílica e que através de um protocolo de automontagem simples e eficaz, obtiveram sistemas nanoestruturados bem definidos (lado a lado e ponta a ponta), representados na Figura 13. Os pesquisadores, também, estudaram as propriedades plasmônicas das nanoestruturas obtidas. Os resultados experimentais indicaram que estes nanossistemas possuem estabilidade óptica, observada através do estudo de LSPR como também podem ser utilizados em aplicação biomédica para bioimagem *in vivo* e terapia fototérmica para câncer (LIU et al, 2017).

A interação controlada entre nanopartículas também pode ser utilizada em processos de fotocatalise conforme pode ser descrito no trabalho de Chen e colaboradores (2018) que sintetizaram e automontaram nanopartículas híbridas de Ag/ZnO pelo método de evaporação de solventes para utilizar em processos de fotodegradação de agentes poluentes de água, tendo resultados positivos em que a atividade fotocatalítica foi aperfeiçoada, principalmente, por causa da estabilidade coloidal das nanopartículas automontadas (CHEN et al, 2018).

**Figura 13.** Evolução dos espectros UV-Vis da solução de nanobastões de Au durante o processo de automontagem (a) ponta a ponta e (b) lado a lado. E imagens típicas de TEM em diferentes tipos de interação (b) e (c) automontagem do tipo ponta a ponta; e (e) e (f) automontagem do tipo lado a lado.



Fonte: adaptado de Liu et al, 2017.

### 3.3.3.1 Uso de biomoléculas como agentes funcionalizantes na superfície na nanopartícula

Na literatura é possível encontrar diversos trabalhos sobre automontagem utilizando diversas espécies químicas – leia-se ligantes – para funcionalizar as superfícies das nanopartículas, seguido do processo de automontagem. Para nanopartículas de metais nobres tais como as de ouro (Au), os agentes de ligação mais utilizados são aqueles que contêm um grupo tiol (-SH) em alguma das respectivas extremidades. Pois, esse tipo de ligante é normalmente selecionado pela forte interação existente entre a superfície dos metais com o enxofre, sendo o ouro um dos metais mais utilizados no momento para síntese de nanoestruturas por processos de automontagem, seja pelas possíveis aplicações que podem ser oferecidas tão quanto pela sua estabilidade química (HÄKKINEN, 2012; XUE et al, 2014).

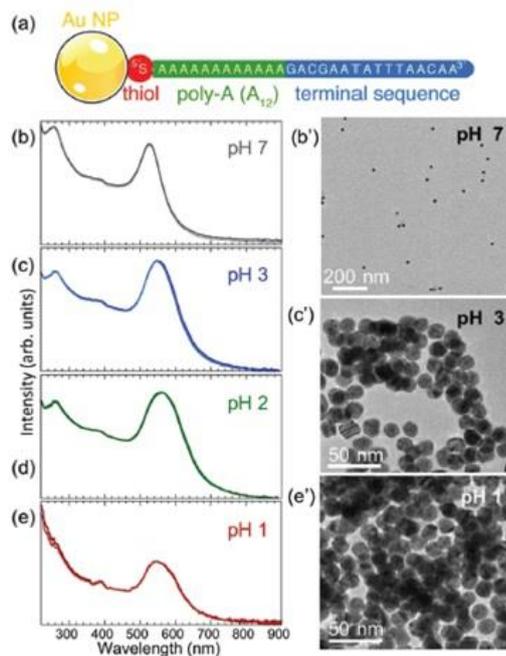
Na generalidade, os ligantes mais utilizados para estes processos são biomoléculas, tais como, proteínas, aminoácidos e filamentos da cadeia do DNA, devido à estabilização das estruturas formadas, porém, a utilização de biomoléculas está direcionada, principalmente, as aplicações biomédicas, como por exemplo, na liberação de fármacos, na detecção de doenças, entre outros processos biológicos e médicos. No tocante ao uso das biomoléculas como ligantes, outro fator importante está relacionado à reversibilidade do processo perante a funcionalização,

enquanto que os processos de funcionalização de superfície com agentes que não são biomoléculas tioladas são normalmente irreversíveis, característica esta muitas vezes pouco interessante para determinadas aplicações (CAO et al, 2012; CHEN et al, 2019).

Em 1996 foi reportado um trabalho pioneiro sobre a funcionalização de nanopartículas de ouro utilizando biomoléculas. Mirkin e colaboradores (1996) “combinaram a química do DNA com a química de materiais coloidais inorgânicos”. Neste estudo, os tais pesquisadores funcionalizaram a superfície de AuNPs com oligonucleotídeos tiolados – e notou-se que estes eram mais estáveis frente a temperaturas mais elevadas tão quanto maior concentração de sal quando comparados as nanopartículas sem nenhum tipo de modificação (MIRKIN et al, 1996) Ressalta-se que, este trabalho foi importante, pois serviu para a consolidação de processos de automontagem de nanopartículas utilizando oligonucleotídeos aplicados nos tempos atuais.

Analogamente, Sutter e colaboradores (2019) também utilizaram DNA de cadeia simples (ssDNA) tiolado, mas o método de automontagem foi diferente, como pode ser observado na Figura 14.

**Figura 14. (a) Estrutura do ssDNA utilizado para a funcionalização da nanopartícula. De (b) a (e) Espectroscopia UV-Vis e imagens de TEM das AuNPs-ssDNA em diferentes valores de pH, (b) pH 7 (c) pH 3 (d) pH 2 e (e) pH 1. TEM das AuNPs-ssDNA seca de uma solução a (b') pH 7, (c') pH 3 e (e') pH 1**



Fonte: SUTTER et al, 2019.

A ideia inicial do estudo foi monitorar o efeito da diminuição do pH em nanopartículas de ouro funcionalizadas com o ssDNA dispersas em soluções aquosas (SUTTER et al, 2019). Os pesquisadores perceberam que a diminuição do valor do pH do meio favorece a aglomeração das nanopartículas.

Notou-se que, as nanopartículas de ouro não perderam a sua forma original. Esse resultado foi interessante, pois quando as AuNPs não são funcionalizadas com o ssDNA e passaram pelo mesmo processo de diminuição do pH do meio, estas acabaram se fusionando de forma irreversível. Neste trabalho, demonstra o uso de nanopartículas como bloco de construção funcionalizadas como alternativa na obtenção de superredes com filamentos de DNA simples para fins biológicos.

### 3.3.3.2 Evaporação de solventes

O uso da evaporação de solventes como processo de automontagem é um dos mais remotos. Ressalta-se que, este método é simples, tornando-o preferível por alguns cientistas. Em linhas gerais, as nanopartículas são transferidas para um solvente e gotejadas em um substrato para posterior evaporação, e desta forma, as partículas tendem a organizar-se em algum tipo de estrutura. Khanal e Zubarev (2007) obtiveram estruturas que denominaram “anel-de-café” (forma circular) ao mergulhar o substrato em uma solução de nanobastões previamente transferidos para diclorometano.

Interessados neste processo de automontagem Yang e colaboradores, também, testaram diferentes condições de evaporação de solventes para nanocubos de ouro e prata (Au@AgNCs). Eles foram gotejados em um substrato e deixados para secar a temperatura ambiente durante trinta minutos e depois foram transferidos para uma câmara de alta umidade para que a agregação das nanopartículas pudesse ser gradual e mais organizada (YANG et al, 2018). Após a evaporação do solvente, os pesquisadores perceberam que além da forma “anel-de-café” outra forma de organização das nanopartículas tinha ocorrido.

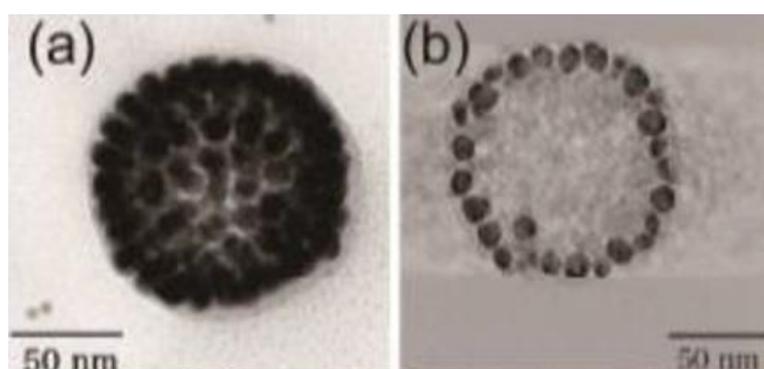
Vale ressaltar que, outros estudos relataram que durante o processo de secagem as nanopartículas sofreram maior deslocamento quando na presença de maior quantidade de solvente. Especificadamente, neste caso o solvente age auxiliando na movimentação das partículas, individuais ou já agregadas, para formar uma estrutura bidimensional (LEE et al, 2017).

### 3.3.3.3 Automontagem em suspensão

Estes tipos de processos são difíceis de serem acompanhado experimentalmente e seus estudos são escassos na literatura. Wei e colaboradores (2016) desenvolveram um processo de automontagem em forma de vesículas a partir de AuNPs de diferentes tamanhos, realizado em solução. Durante o experimento, os autores, primeiramente, sintetizaram um ligante fluorado cujas extremidades continham o fragmento um grupo tiol. Em seguida, nanopartículas de 15 nm foram adicionadas à solução do ligante em dioxano para a observação do comportamento das partículas quando funcionalizadas com o ligante.

As imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) mostram que houve um processo de automontagem em uma estrutura esférica utilizando nanoesferas de ouro, como pode ser visto na Figura 15. Percebe-se, também, que há um contraste entre as bordas da esfera formada e seu centro. Esse comportamento causou dúvidas na equipe de pesquisadores, o que os incentivou a fazer outro tipo de análise, nesse caso, uma microtomografia eletrônica de transmissão (TEMT). Os resultados mostraram que as nanoestruturas automontadas eram semelhantes a uma vesícula, uma estrutura oca cuja casca era formada por nanoesferas de ouro (Figura 15b), esclarecendo por que existia a diferença no contraste entre as bordas e o centro da estrutura formada.

**Figura 15. (a) Imagem de TEM da automontagem das nanoesferas e (b) imagem XY digitalmente cortada aproximadamente no meio da vesícula formada pela automontagem**



Fonte: WEI et al, 2016.

Diante desta perspectiva, estes estudiosos propuseram uma série de variações nos parâmetros (diferentes tamanhos e proporções de nanoesferas, por exemplo) no sistema para verificar o processo de automontagem, onde estes novos testes também tiveram os mesmos

resultados dos experimentos anteriores, mostrando que a organização das partículas é apenas dependente da formação da vesícula pelas nanopartículas menores e não das nanopartículas maiores (WEI et al, 2016).

#### 3.3.3.4 Uso de moldes para indução de automontagem de nanopartículas

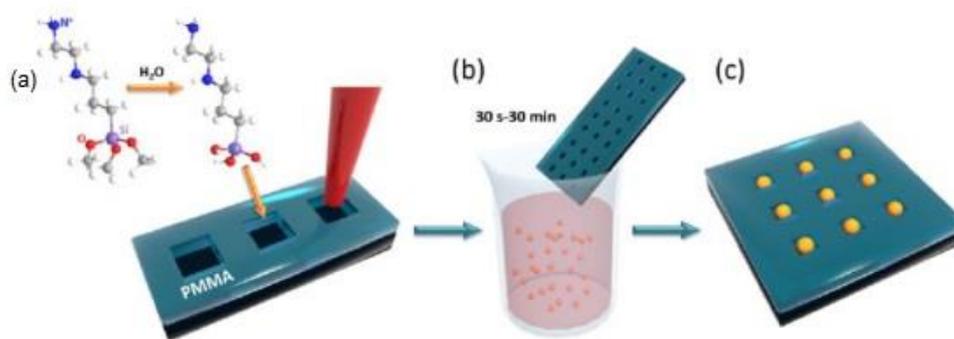
Estudos utilizando algum tipo de molde como método para a automontagem são quase tão populares na literatura quanto os processos utilizando biomoléculas como ligantes. E, na maioria dos casos, a utilização de moldes proporciona um maior controle no resultado final da automontagem (GWO et al, 2016; YAN; WANG, 2017).

Esse processo pode ser exemplificado pelo o estudo feito por Kinneer e colaboradores (2018) que demonstraram através da pesquisa uma maneira rápida de automontagem de nanopartículas de ouro utilizando um molde. O método foi chamado de Organização Química Dirigida (DCA), com o auxílio de um molde (*template*) feito normalmente de polímeros e as nanopartículas são adicionadas neste por meio de diferentes procedimentos.

Os pesquisadores utilizaram o método de criação de poços, numa camada de polimetilmetacrilato (PMMA) por meio de litografia por feixe de elétrons. Nesse modelo, o interior do molde foi funcionalizado por agentes silanizantes contendo grupos funcionais específicos. Foram utilizadas nanopartículas à base de dois tipos de metais e dois tipos de morfologias: nanoesferas e nanobastões de ouro e nanoesferas de prata. Essas partículas também foram funcionalizadas, sendo que as nanoesferas foram funcionalizadas com dois tipos de fosfinas e os nanobastões foram funcionalizados de forma mais elaborada, em dois passos: inicialmente com a adição de um polímero para estabilizar as partículas e depois a troca por um ácido carboxílico tiolado (KINNEAR et al, 2018).

As nanoesferas foram colocadas no molde por imersão, como pode ser visto na Figura 16, durante diferentes tempos (de 30 s a 30 min) e os nanobastões precisaram ser incubados durante 24 h. Os autores estudaram diferentes variáveis para tentar descobrir a melhor maneira de formar as estruturas automontadas (KINNEAR et al, 2018).

**Figura 16. (a) Processo de gravação dos poços de 50 nm na camada de PMMA por meio de litografia por feixe de elétrons. (b) Substrato é mergulhado em uma solução de nanopartículas de ouro, as nanopartículas não interagem com o PMMA, mas através dos grupos amino**



Fonte: KINNEAR et al, 2018.

De acordo com os experimentos, Kinneare e colaboradores (2018) concluíram que silanos, com bases de poliamina, tiveram melhores resultados e que moldes tiolados resultaram em poucas nanopartículas depositadas. Os nanobastões que foram funcionalizados com agentes tiolados também não tiveram resultados tão bons quando comparados aos das nanoesferas de ouro funcionalizadas com as fosfinas. A explicação para isso é atribuída pelas poucas interações eletrostáticas atrativas entre as partículas e o substrato (KINNEAR et al, 2018). Nota-se que, as nanopartículas de prata não tiveram resultados satisfatórios e os autores explicam que isso provavelmente ocorre por causa da menor interação que existe entre aminas e a prata. Tal interação é muito mais forte com o ouro.

### 3.3.4 Aplicações de processos de automontagem

Processos de automontagem são interessantes porque oferecem um amplo campo de estratégias para se montar dispositivos em escala micro e nanométrica, tudo sob condições reacionais que podem ser alteradas para se obter o controle da morfologia e propriedades.

A automontagem de partículas coloidais são de grande interesse e têm muitas aplicações, por exemplo, conjuntos coloidais poderiam melhorar as propriedades de dispositivos fotônicos, biossensores, materiais acústico, estruturas antirreflexivas, nanomateriais híbridos, e, principalmente, em aplicações biomédicas. Nanoesferas de ouro apresentam excelentes propriedades ópticas e contudo, são utilizadas para tratamento do

câncer (THORKESSON et al, 2015; MIRZA; SHAMSHAD, 2013; LI et al, 2017) como agentes fototérmicos mediante às propriedades de ressonância plasmônica de superfície apresentando bons resultados na reigão do infravermelho próximo (HUANG et al, 2008; LI et al, 2017). Pois, a automontagem destas nanopartículas provoca uma mudança colorimétrica indicativa de que as nanopartículas se agregam, podendo ser utilizadas como biossensores. (ELAHI; KAMALI; BAGHERSAD, 2018).

Assim como as nanoesferas, os nanobastões de ouro, também são utilizados como biossensores em aplicações biomédicas, como por exemplo, na detecção de vírus da hepatite do tipo B. E, devido a estes conjuntos de propriedades que estas nanopartículas possuem, muitos estudos e aplicações tem sido reportados (ELAHI; KAMALI; BAGHERSAD, 2018).

Com o avanço da tecnologia a presença de componentes estão se tornando cada vez menores devido a tendência da miniaturização, que está passando pela transição da microfabricação para nanofabricação, porém é uma dificuldade evidenciada a produção de sistemas a nível de dimensão nanométrica. No entanto, nanopartículas inorgânicas, de um modo geral, têm sido utilizada como sensores, no melhoramento de propriedades elétricas, como semicondutores e transporte de energia (CHEN et al, 2013; THORKESSON et al, 2015; ZHANG et al, 2015).

É importante frisar que, os métodos químicos de síntese das nanopartículas são os mais desenvolvidos para a produção de nanoestruturas como nanoesferas, nanobastões, nanotubos, nanofios, entre outras à base do método “de baixo para cima”. Os processos de automontagem são interessantes porque oferecem um amplo campo de estratégias para se montar dispositivos em escala micro e nanométrica, tudo sob condições reacionais que podem ser alteradas para se obter o controle da morfologia e propriedades (SILVA, 2010; YAN et al, 2017).

Fora dos limites dos processos de automontagem, segundo diversas áreas da ciência como a Física, Química e Biologia, estão os sistemas em rede (computadores, sensores e controladores), os quais funcionam por interação entre seus componentes através da inserção em uma configuração e fluxo funcional de bits. Este tipo de sistemas em rede possui um funcionamento diferente dos aderidos aos processos definidos como automontagem, mas se tangenciam aos conceitos que são adequados ao ramo de arquitetura e design (SILVA, 2010).

Nota-se que, as aplicações de nanopartículas via automontagem têm sido promissoras em várias áreas, desde estudos biológicos básicos até à detecção de espécies químicas e biológicas para testes de qualidade e segurança alimentar, diagnósticos médicos (marcadores

tumorais, hormonas) e monitorização ambiental (por exemplo, elementos pesados). Entretanto, produzir e arquitetar estruturas por automontagem é um dos grandes desafios da nanotecnologia (MAYER, 2011).

## 4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1 Considerações iniciais

Para este trabalho de doutorado foram realizados três grupos de experimentos: i) síntese de nanoesferas de ouro em meio aquoso; ii) síntese de nanobastões de ouro em meio aquoso e; iii) avaliação do processo de automontagem utilizando as nanopartículas sintetizadas. Todos os experimentos foram realizados nos laboratórios do Grupo de Catálise e Reatividade Química do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (GCaR/IQB/UFAL). As caracterizações das nanopartículas, assim como dos sistemas elaborados via *self-assembly*, também foram realizadas no laboratório do GCaR/IQB/UFAL, a exceção das análises por Microscopia Eletrônica por Transmissão (TEM) que foram realizadas no Centro de Tecnologia do Nordeste (CETENE, Recife, PE).

### 4.2 Material, reagentes e solventes

Neste trabalho foram utilizados os seguintes reagentes, com os respectivos graus de pureza e procedência, conforme elencados na Tabela 3.

**Tabela 3. Reagente e solventes utilizados na realização dos experimentos**

Reagentes/Solventes	Procedência
H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O, 99%	Sigma - Aldrich
NaBH <sub>4</sub> , 98%	Acros Organics
L(+)-ácido ascórbico P.A., 99%	Vetec
Brometo cetiltrimetilamônio (CTAB), 99%	Acros Organics
AgNO <sub>3</sub> , > 99%	Reagen
Citrato de sódio	Sigma - Aldrich
Cisteamina (CYS)	Sigma
Ácido mercaptoacético (AMA)	Sigma - Aldrich
N-hidroxissuccinimida (NHS)	Sigma - Aldrich
1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC)	Sigma - Aldrich
Água deionizada	Deionizador direct – Q3 millipore

Fonte: dados da pesquisa.

Ressalta-se que todas as vidrarias foram tratadas com água régia e lavadas com água e detergente líquido e secas na estufa.

### 4.3 Preparo das soluções reagentes

Preparo da solução estoque do precursor de ouro: A solução do precursor metálico de ouro foi preparada com ácido tetracloroáurico tri-hidratado,  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (25 mM), pela dissolução de 1,000 g (2,54 mmol) do ácido em 100 mL de água deionizada. A solução é degaseificada rapidamente por alto vácuo e estocada em um frasco de Schlenck sob atmosfera inerte (argônio), refrigerada e sob o abrigo da luz.

Preparo da solução de  $\text{NaBH}_4$ : A solução aquosa do agente redutor, boro-hidreto de sódio,  $\text{NaBH}_4$  (10 mM), foi utilizada imediatamente após o preparo. Foi preparada pela dissolução de 0,019 g (0,502 mmol) do composto em 50 mL de água deionizada gelada.

Preparo da solução de ácido ascórbico: A solução aquosa de ácido ascórbico,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$  (79,64 mM), foi preparada e utilizada imediatamente. Dissolveu-se 0,277 g (1,573 mmol) do composto em 20 mL de água deionizada.

Preparo da solução de brometo cetiltrimetilamônio (CTAB): A solução de CTAB na concentração utilizada durante a síntese (0,20 M) foi preparada pela dissolução de 0,729 g (4,14 mmol) do composto em 10 mL de água deionizada. Essa solução encontra-se acima de sua segunda concentração micelar crítica e, para facilitar a dissolução, aqueceu-se a solução a cerca de 50 °C.

Preparo da solução de citrato de sódio: A solução aquosa de citrato trissódico, 3% (m/v), foi preparada e utilizada imediatamente. Dissolveu-se 0,097 g (0,376 mmol) do composto em 150 mL de água deionizada.

Preparo da solução de nitrato de prata: Dissolveu-se 0,034 g (0,2 mmol) de nitrato de prata,  $\text{AgNO}_3$ , em 50 mL de água deionizada, gerando uma solução com concentração de 4 mM.

Preparo da solução de cisteamina: Foi preparada pela dissolução de 0,038 g (0,5 mmol) do composto em 1,0 mL de água deionizada, gerando uma solução com concentração de 0,5 M.

Preparo da solução de ácido mercaptoacético: Foi preparada pela diluição de 35  $\mu\text{L}$  (0,065 mol) do composto em 1,0 mL de água deionizada, gerando uma solução com concentração de 0,5 M.

Preparo da solução de *N*-hidroxissuccinimida: Foi preparada pela dissolução de 0,057 g (0,5 mmol) do composto em 1,0 mL de água deionizada, gerando uma solução com concentração de 0,5 M.

Preparo da solução de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida: Foi preparada pela dissolução de 0,077g (0,5 mmol) do composto em 1,0 mL de água deionizada, gerando uma solução com concentração de 0,5 M.

#### **4.4 Sínteses das nanopartículas de ouro**

##### 4.4.1 Síntese de nanoesferas de ouro (AuNSs)

Nanopartículas esféricas de ouro foram sintetizadas baseadas no método padrão de Turkevich (1951). Em um balão de 250 mL foram adicionados 100 mL de uma solução aquosa de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , 0,01% (m/v) até que a mesma entre em ebulição. Depois, foram adicionados 3,5 mL de uma solução aquosa de citrato trissódico, 1% (m/v) ao sistema sob intensa agitação sob refluxo por mais 30 minutos. A adição do citrato de sódio promoveu a mudança de coloração da solução, passando de amarelo para vermelho escuro devido à redução do  $\text{Au}^{3+}$  para  $\text{Au}^0$  (TURKEVICH, J., STEVENSON, P. C., HILLERE, 1951).

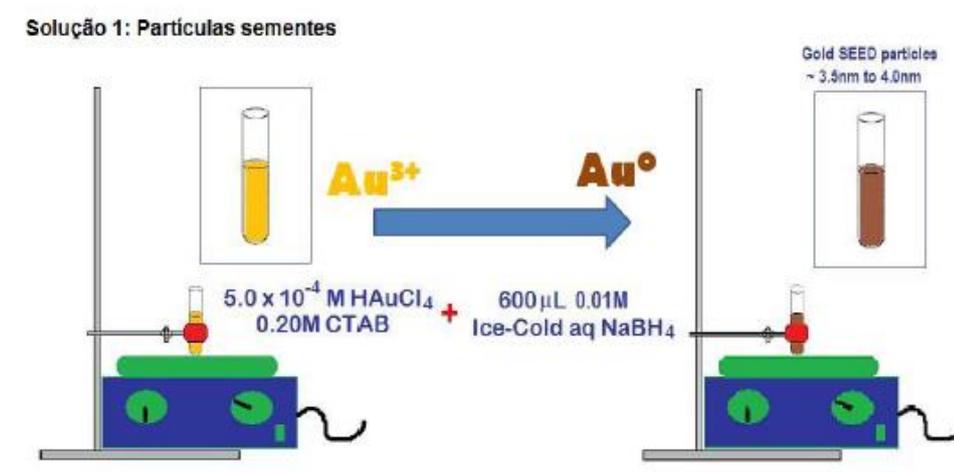
##### 4.4.2 Síntese de nanobastões de ouro (AuNRs)

A metodologia de síntese dos nanobastões de ouro adotada neste trabalho seguiu os mecanismos desenvolvidos pelos grupos de El-Sayed (2003) e Murphy (2001). O método de preparação de nanopartículas mediado por semente possui a vantagem de oportunizar o controle da razão comprimento/espessura por modificações nas condições reacionais como temperatura, concentração do precursor metálico, do agente direcionador de crescimento, do agente redutor, entre outros fatores (DA SILVA, 2010).

A etapa de nucleação ocorre durante a preparação da solução de partículas sementes (*seed*), ou núcleos, que possuem dimensões de 3,5 a 4,0 nm. É obtida a partir de íons de  $\text{Au}^{3+}$  provenientes do precursor metálico  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , em presença de um forte agente redutor, que neste caso é o  $\text{NaBH}_4$ . A solução semente é feita num sistema em agitação magnética branda

em que uma solução de ácido tetracloroáurico (100  $\mu\text{L}$ , 1%) é adicionada uma solução de CTAB (2,5 mL; 0,20 M). Em seguida, uma solução aquosa gelada de  $\text{NaBH}_4$  (600  $\mu\text{L}$ ; 0,01 M) é adicionada à solução anterior de uma só vez. Nesse momento, observa-se a alteração de cor da solução de amarelo para castanho escuro, conforme observado na ilustração da Figura 17, indicando a redução do precursor metálico, de  $\text{Au}^{3+}$  para  $\text{Au}^0$ . Essa solução é deixada em repouso durante duas horas.

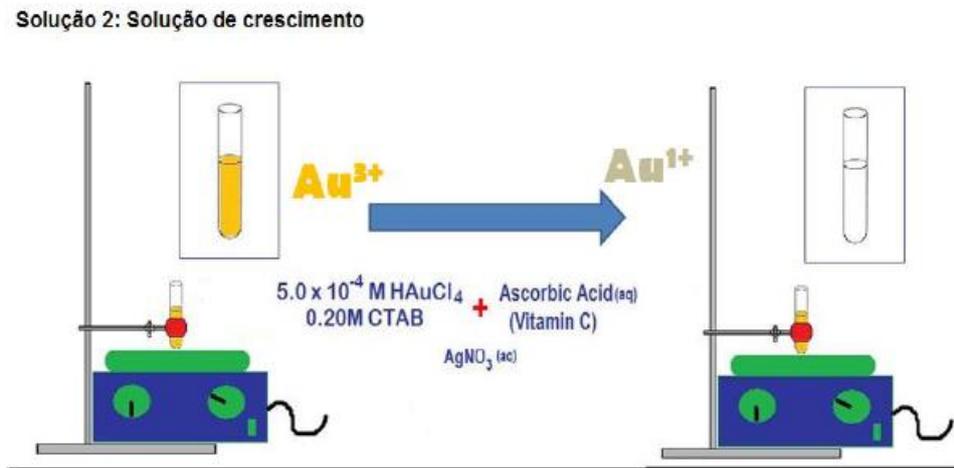
**Figura 17. Ilustração da fase de preparação de sementes (*seed*) de ouro.**



Fonte: DA SILVA, 2010.

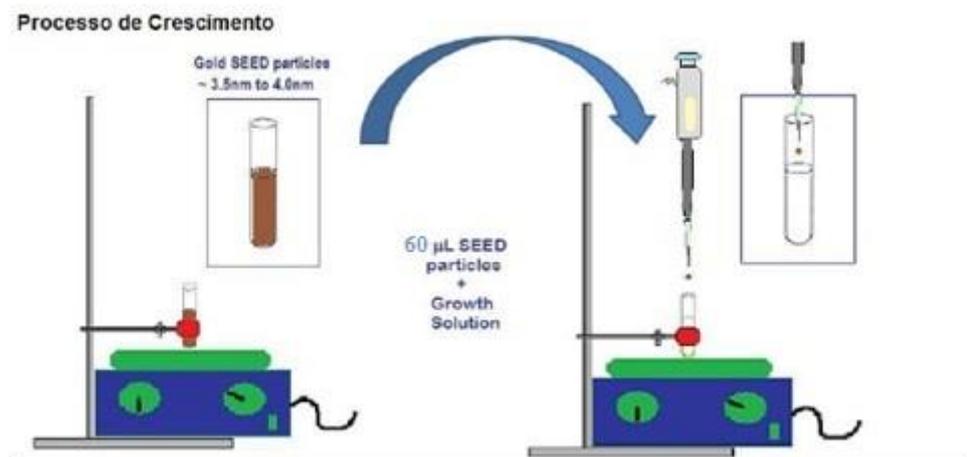
Posteriormente, ocorre a preparação da solução de crescimento que é obtida a partir de íons de  $\text{Au}^{3+}$  provenientes do mesmo precursor metálico, o  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , em presença de um fraco agente redutor, que neste caso é o ácido ascórbico. Para tanto, uma solução de CTAB (2,5 mL; 0,2 M) em agitação, foram adicionadas duas soluções aquosas, uma de ácido tetracloroáurico (200  $\mu\text{L}$ ; 1%) e uma de nitrato de prata (150  $\mu\text{L}$ ; 0,004 M). Em seguida, foi acrescentada uma solução de ácido ascórbico (70  $\mu\text{L}$ ; 0,078 M). Nesse processo observa-se a alteração da coloração da solução de marrom para transparente, indicando a redução do precursor metálico, de  $\text{Au}^{3+}$  para  $\text{Au}^{1+}$ . Esta etapa pode ser visualizada na Figura 18.

**Figura 18. Ilustração da preparação da solução de crescimento**



Fonte: DA SILVA, 2010.

**Figura 19. Ilustração do processo de crescimento**



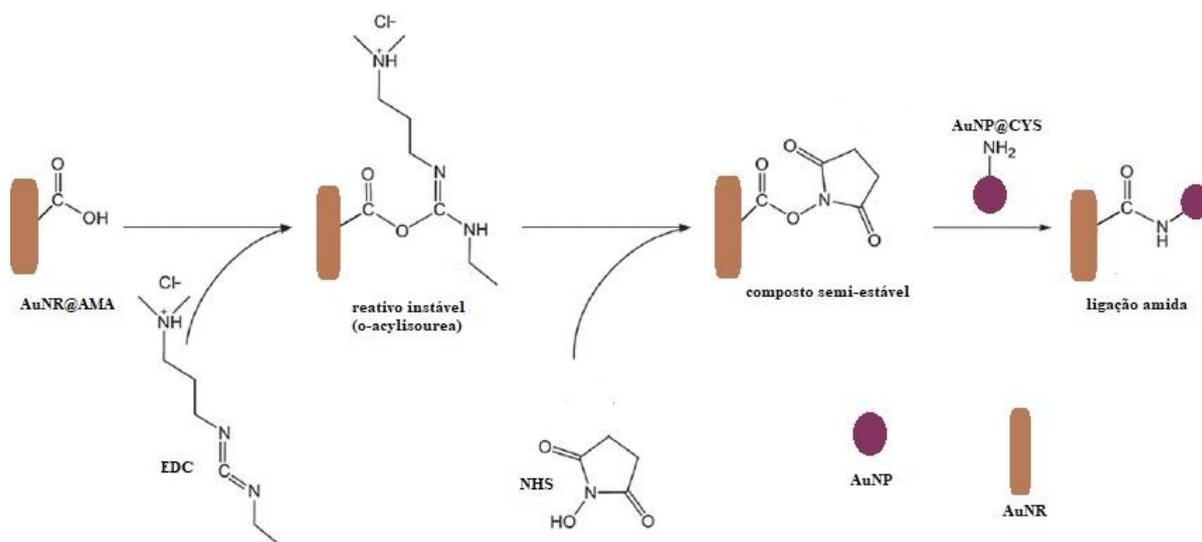
Fonte: DA SILVA, 2010.

A etapa de crescimento ocorre exatamente após a adição de partículas sementes na solução de crescimento preparada (Figura 19). Nesta fase, a solução semente (60 µL) foi adicionada à solução de crescimento como preparada acima, deixando em agitação por apenas dez segundos. A solução lentamente altera sua coloração (entre 10 e 20 min), passando de incolor para marrom, indicando a formação de nanobastões coloidais.

#### 4.5 Funcionalização da superfície das nanopartículas e interação entre os sistemas

A funcionalização das nanopartículas sintetizadas foi feita com dois tipos de agentes funcionalizantes; o ácido mercaptoacético (AMA) e a cisteamina (CYS), seguida da adição o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) e *N*-Hidroxissuccinimida (NHS), que atuam como agentes de *crosslinking* (BART et al, 2009; MIRZA, SHAMSHAD, 2013; NIMSE, 2014), levando à formação de funções amida a partir das funções ácido carboxílico e amino dos agentes funcionalizantes. A formação da ligação covalente C-N permitirá a interação entre as diferentes nanopartículas no processo de heteromontagem, conforme pode ser ilustrada na Figura 20.

Figura 20. Ilustração da reação de automontagem entre as nanopartículas de ouro



Fonte: adaptado de BART et al 2009.

Foram escolhidas quatro concentrações distintas dos ligantes (AMA e CYS), tais valores foram selecionados de acordo com observações de estudos prévios.

Em 4,0 mL da solução das nanopartículas - previamente centrifugadas três vezes a 13.500 rpm durante 15 minutos à temperatura de 25 °C - foi adicionado 1,0 mL da solução do conector (AMA ou CYS) em diferentes concentrações para o estudo ( $5,0 \times 10^{-1}$  M,  $5,0 \times 10^{-2}$  M,  $5,0 \times 10^{-4}$  M,  $5,0 \times 10^{-6}$  M). As soluções coloidais modificadas com os conectores foram monitoradas por aparelhos de UV-Vis e de DLS durante um intervalo de duas horas após a adição dos conectores.

Ressalta-se que, antes da etapa da funcionalização das nanopartículas, os AuNRs passaram por um processo de “lavagem” para que o excesso de moléculas do CTAB presente no meio fossem retiradas, pois este surfactante empregado na síntese deve ser removido ou substituído com ligantes e/ou moléculas de interesse (FERREIRA et al, 2017), obedecendo rigorosamente o Procedimento 1 transcrito:

#### Procedimento 1 (“lavagem” dos AuNRs)

1. Uma alíquota de 10 mL da solução coloidal de AuNRs foi condicionada em um tubo do tipo falcon;
2. Foi feita a centrifugação da solução a 13500 rpm, durante 15 min, a temperatura de 25 °C;
3. Retirou-se o sobrenadante;
4. O material retido foi redisperso em água deionizada até completar o volume de 10 mL (no falcon);
5. Repetiu-se o processo de centrifugação por duas vezes (condições do item 2);
6. A solução após as lavagens, foi redispersa em 5 mL de água deionizada.

É importante destacar que, as AuNSs não passaram pelo Procedimento 1, uma vez que as mesmas ficaram impregnadas “na parede” do tubo falcon, dificultando o processo de lavagem e perda de material.

Após esta etapa prévia, iniciou-se o processo de funcionalização das nanopartículas, conforme apresentado no Procedimento 2:

#### Procedimento 2 (funcionalização das nanopartículas):

##### **Para AuNR funcionalizada com AMA (AuNR@AMA)**

1. 5 mL da solução (resultante do Procedimento 1) de AuNR (0,643 mM) foram misturados com 1 mL da solução do ligante AMA (1 mL, 0,05 M);
2. Deixou-se em agitação branda num período de 2h, em temperatura ambiente;

3. Passado este tempo, o sistema foi lavado (centrifugado);
4. Centrifugação a 13500 rpm, durante 15 min a temperatura a 25 °C;
5. Retirou-se o sobrenadante;
6. Redispersou-se as NPs em água deionizada até completar o volume de 5 mL (no falcon);
7. Repetiu-se o processo de centrifugação;
8. A solução após as lavagens, foi redispersa em 5 mL de água deionizada.

#### **Para AuNS funcionalizada com CYS (AuNS@CYS)**

1. 5 mL da solução de AuNS (0,5993 mM) foram misturados com 1 mL da solução de CYS (1 ml, 0,05 M);
2. Deixou-se em agitação branda num período de 2h, em temperatura ambiente;
3. Passado este tempo, o sistema foi lavado (centrifugado);
4. Centrifugação a 13500 rpm, durante 15 min a temperatura a 25 °C;
5. Retirou-se o sobrenadante;
6. Redispersou-se as NPs em água deionizada até completar o volume de 5 mL (no falcon);
7. Repetiu-se o processo de centrifugação;
8. A solução após as lavagens, foi redispersa em 5 mL de água deionizada.

Diante do exposto, seguiu-se um protocolo, Procedimento 3, para o processo de formação da ligação amídica, conseqüentemente, a obtenção de automontagem entre as nanopartículas deste projeto.

#### **Procedimento 3:**

1. Após 2 h do processo de funcionalização, adicionou-se 1 mL da solução de EDC (1 mL, 0,5 M) na solução de AuNR@AMA (resultante do Procedimento 2) e deixou-se em agitação durante 30 min a temperatura ambiente;
2. Centrifugou-se a 13500 rpm, durante 15 min a temperatura de 25 °C;
3. Retirou-se o sobrenadante;
4. Redispersou-se em água deionizada até completar o volume de 5 mL (no falcon);
5. Repetiu-se o processo de centrifugação;

6. A solução após as lavagens, foi redispersa em 5 mL de água deionizada;
7. Adicionou-se 1 mL da solução de NHS (1 mL, 0,5 M) neste sistema e deixou-se em agitação a temperatura ambiente;
8. Repetiu-se as etapas 2 a 6;
9. Adicionou-se a solução de AuNS@CYS (resultante do Procedimento 2) sequencialmente e deixou-se em agitação moderada à temperatura ambiente.

#### 4.6 Técnicas de caracterização

As dispersões coloidais e as nanoestruturas automontadas de nanopartículas foram caracterizadas por Espectroscopia de Absorção no Ultravioleta Visível (UV-Vis), Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) e Espalhamento de Luz (DLS).

##### 4.6.1 Espectroscopia de Absorção no Ultravioleta Visível (UV-Vis)

Todos os sistemas de nanopartículas foram caracterizados através do espectrofotômetro UV-3600 Plus, da Shimadzu, configurado para correção de baseline de água deionizada (como branco) e faixa de absorção de 400 a 1000 nm, utilizando cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

##### 4.6.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

As análises por Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) foram realizadas no Centro de Tecnologia do Nordeste – CETENE, em um microscópio eletrônico de transmissão FEI, 200 kV, modelo Tecnai20, emissor LaB<sub>6</sub> ou W, módulo EDAX, tomografia Xplore3D, suporte de aquecimento controlado, resolução de ponto de 0,2 nm e de linha de 0,1 nm, com magnificação de até 1 milhão de vezes.

Para tal, as amostras foram preparadas despejando-se 2 µL da solução contendo as nanopartículas sobre uma grade de cobre (200 mesh) recoberta com filme de carbono. As amostras foram deixadas em dessecador por no mínimo 72 h de antecedência antes da análise para que o solvente fosse evaporado e depois mantidas em microtubo do tipo *Eppendorf*.

#### 4.6.3 Difração Dinâmica da Luz (DLS)

As dispersões coloidais assim como os sistemas via automontagem foram caracterizadas por Difração Dinâmica da Luz (DLS) através do equipamento Microtrac Zetatrac 150 Particle Counter, séries S3000/S3500. Essa técnica que permite medir o tamanho e a distribuição do tamanho das partículas dispersas em um líquido. A água deionizada foi utilizada como branco.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para este trabalho foi realizado um conjunto de experimentos de síntese de nanopartículas de ouro com diferentes morfologias (esfera e bastão), bem como para avaliação do processo de interação das nanopartículas e de automontagem. Na produção das nanopartículas foram empregados métodos de sínteses já consolidados na literatura (GRZELCZAK et al, 2010) e adaptados às condições do laboratório (DA SILVA et al, 2013). Para o estudo de automontagem, foram empregadas as seguintes condições: i) nanopartículas de ouro com diferentes formas (esfera e bastão); e ii) diferentes concentrações dos diferentes ligantes utilizados no processo de funcionalização das NPs.

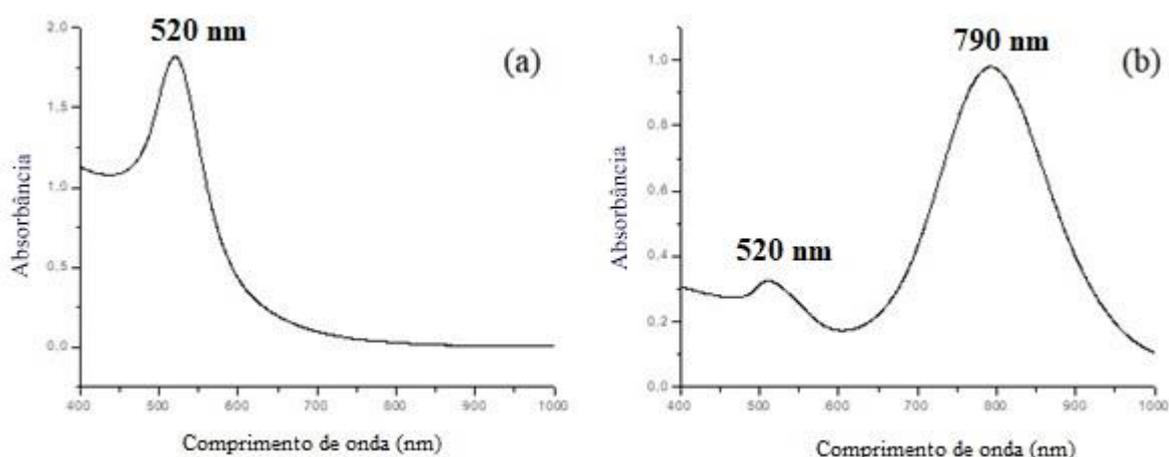
### 5.1 Síntese e caracterização das nanopartículas de ouro

Os nanobastões foram sintetizados mediante a metodologia de El-Sayed e colaboradores (NIKOOBAKHT; EL-SAYED, 2003) e adaptada por Meneghetti e colaboradores (DA SILVA et al, 2013). Esta síntese dá-se em dois estágios, o primeiro é a formação de pequenas nanopartículas quase esféricas de ouro, denominadas de sementes (*seeds*) com diâmetro médio de 4,5 nm, já o segundo estágio envolve o crescimento específico destas sementes na presença de agentes direcionadores de crescimento, i.e. o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) e ácido ascórbico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ), tudo em meio aquoso. O CTAB é essencial para a síntese controlada em forma de nanobastões, devido ao fenômeno de ligação preferencial a determinadas facetas cristalinas dos bastões em crescimento (HUANG; NERETINA; EL-SAYED, 2009; ALAALDIN et al, 2012; FERREIRA et al, 2017). Além do papel exercido pelo CTAB, os íons  $\text{Ag}^+$  são importantes no controle da síntese, pois sua principal função é aumentar a seletividade na produção de nanobastões e reduzir a dispersão de tamanho dos nanobastões produzidos (HUANG; NERETINA; EL-SAYED, 2009; ALAALDIN et al, 2012; FERREIRA et al, 2017).

Já o método de obtenção de nanoesferas de ouro foi baseado na síntese de Tukervich (TURKEVICH; STEVENSON; HILLERE, 1951). O processo de formação das nanoesferas acontece com uma nucleação rápida seguida de crescimento difusional controlado. Em suma, a síntese se baseia na mistura do sal de ouro com o citrato de sódio em meio aquoso sob refluxo, e uma vez formadas as AuNSs, obtém-se uma solução coloidal estável de coloração avermelhada. O citrato, neste caso, também atua como agente redutor e estabilizante (VILAIN et al, 2007).

A caracterização de todos os sistemas coloidais e das AuNPs preparados deu-se através de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta visível (UV-Vis), por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e por espalhamento de luz dinâmico (DLS). As nanopartículas de ouro apresentaram uma única banda de absorção plasmônica na região do espectro visível, em torno de 520 nm. Por outro lado, os nanobastões exibiram duas bandas típicas de absorção, 520 e 790 nm, devido as possíveis ressonâncias plasmônicas de superfície (SPR) (ALAALDIN et al, 2012). A distância entre as duas bandas de absorção plasmônicas varia de acordo com sua razão comprimento/largura (C/L) (FERREIRA et al, 2017; SANTOS et al, 2016). Estas observações podem ser vistas nos espectros representados na Figura 21.

**Figura 21. Espectros de UV-Vis característicos de (a) nanopartículas e de (b) nanobastões**

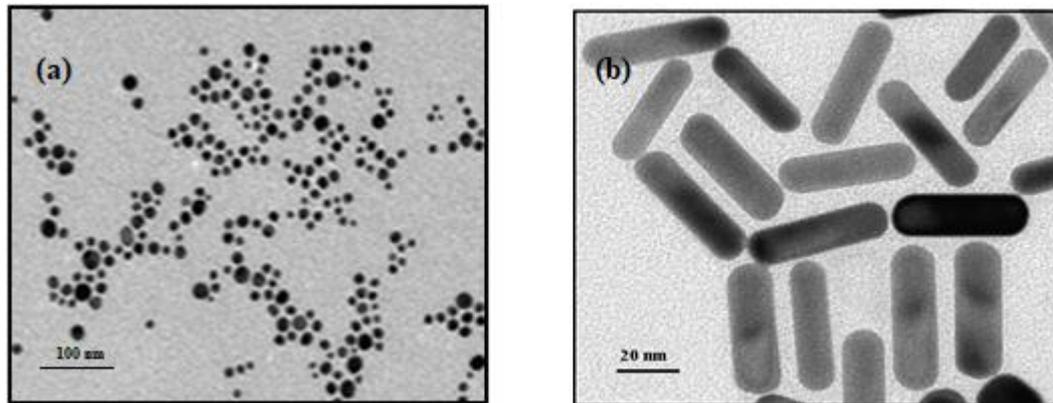


Fonte: dados da pesquisa

Para elucidar tal ponto, foi utilizada uma outra técnica para caracterizar as nanopartículas, A técnica de Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) foi utilizada para a visualização das nanopartículas formadas e dispersas nos colóides.

As imagens por TEM das nanopartículas podem ser visualizadas na Figura 22. Esta visualização mais detalhada da morfologia é confirmada com a formação de nanopartículas (Figura 22a) e nanobastões (Figura 22b), respectivamente. O tamanho médio dessas nanopartículas é de 20 nm para as esferas e de 40 nm de comprimento e 11,35 nm de espessura para os bastões.

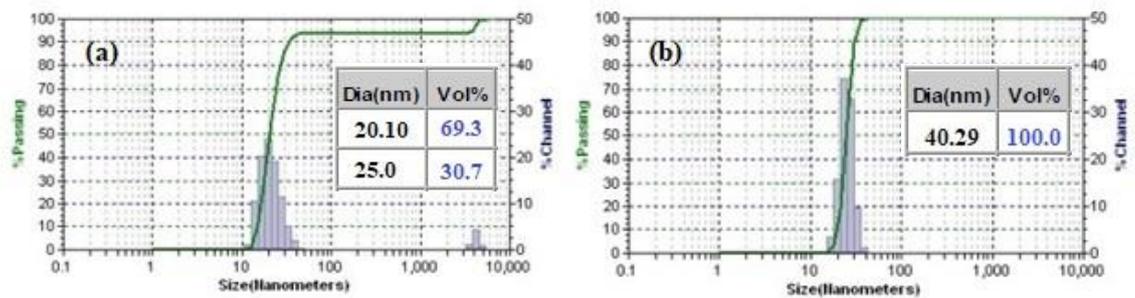
**Figura 22.** (a) Imagem TEM de nanoesferas com tamanho médio de 20 nm e (b) Imagem TEM de nanobastões de ouro com tamanho médio de 40 nm (comprimento) e 15 nm (largura).



Fonte: dados da pesquisa

Para medir o tamanho médio das nanopartículas no sistema coloidal foi utilizado espalhamento de luz dinâmico (DLS), conforme pode ser observado na Figura 23.

**Figura 23.** Histogramas de tamanho de partícula por espalhamento de luz (DLS) das soluções contendo (a) AuNSs e (b) AuNRs



Fonte: dados da pesquisa

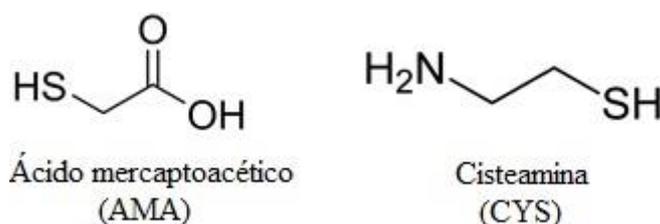
Conforme apresentado na Figura 23, verificou-se que as nanoesferas e os nanobastões sintetizadas possuem diâmetro giro médio de 20 e 25 nm, respectivamente. Vale salientar que, por DLS, no caso dos bastões, é obtido um valor médio do tamanho (40 nm) e não um valor para comprimento e outro para largura.

## 5.2 Estudo das concentrações dos ligantes utilizados na funcionalização das nanopartículas

Um dos principais desafios deste trabalho foi a determinação da concentração adequada de ligantes (ou conectores) a ser empregada no processo de funcionalização das

nanopartículas. Inicialmente, buscou-se empregar uma elevada concentração de conectores para garantir a ampla funcionalização da superfície das partículas. Contudo, foi observado que o emprego de uma concentração muito elevada de conector provocava o colapso do sistema coloidal, i.e. a agregação não controlada das partículas, o que levava a uma rápida formação de um precipitado ou dissolução das nanopartículas (MIRZA; SHAMSHAD, 2013). Os conectores utilizados neste experimento têm suas estruturas químicas representadas na Figura 24.

**Figura 24. Representação das estruturas dos conectores**



Fonte: dados da pesquisa

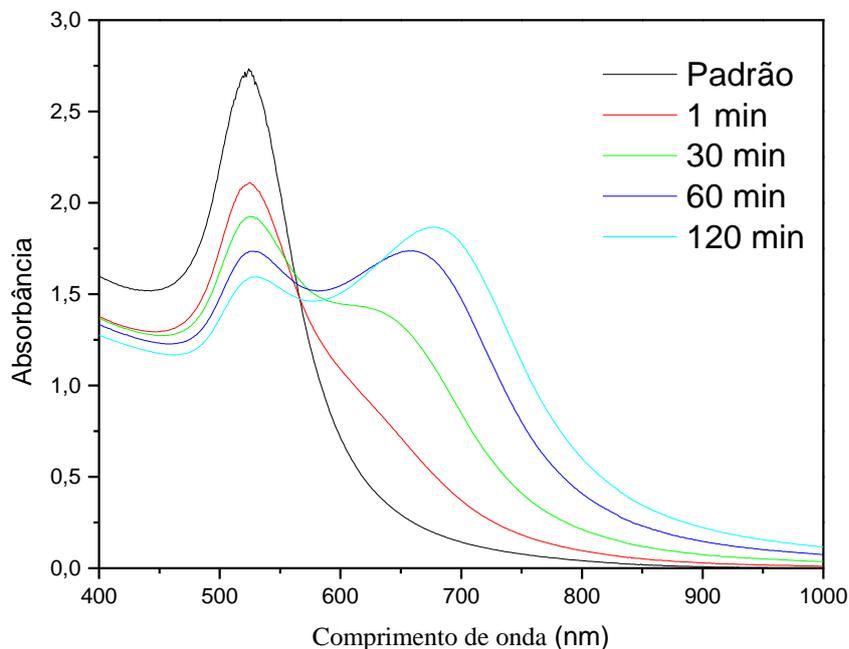
Dessa forma, foi necessário realizar um estudo para encontrar a concentração “ideal” de conectores para que as nanopartículas tivessem sua funcionalização garantida sem colapso do sistema coloidal.

## 5.2.1 Estudos das concentrações dos ligantes nas nanoesferas de ouro (AuNSs)

### 5.2.1.1 Concentrações de ácido mercaptoacético (AMA)

Conforme abordagem na seção 5.2, foi adicionado 1,0 mL solução de AMA ( $5,0 \times 10^{-2}$  M) a 4,0 mL da solução de AuNSs. Após alguns minutos de contato, foi possível notar o aparecimento de bolhas em solução e uma pequena variação na sua coloração, que foi acentuando-se no decorrer do tempo. Após o período de 2 h, percebeu-se que a solução passou a ter uma coloração roxa, muito diferente da solução antes da adição do AMA, que possuía coloração vermelha. Na Figura 25 é apresentada os espectros de UV-Vis das nanoesferas funcionalizadas como o AMA durante o período de interação por 2h.

**Figura 25. Espectros de UV-Vis da solução de AuNSs funcionalizada com 1,0 mL de uma solução de AMA  $5,0 \times 10^{-2} M$**



Fonte: dados da pesquisa

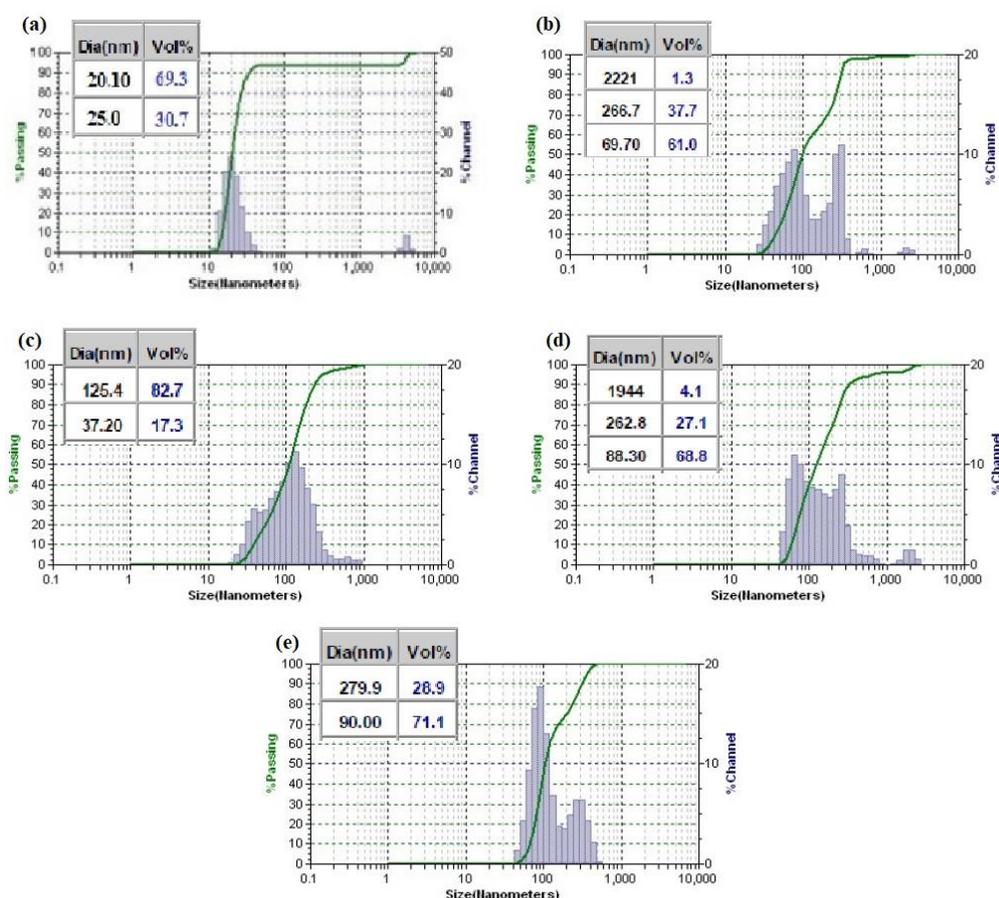
Com a análise da Figura 25, percebe-se que, ao ter adicionado a solução do conector AMA à solução coloidal de AuNSs, os espectros de absorção apresentaram uma mudança significativa durante o período da análise, como o aparecimento de uma nova banda no espectro próximo a 700 nm. Este fato pode ser atribuído pela interação das moléculas do ligante à superfície do ouro da nanopartícula, provocando um deslocamento para comprimentos de ondas maiores (MIRZA; SHAMSHAD, 2013; FERREIRA et al, 2017).

Destaca-se que, a diminuição da absorção na banda original das nanoesferas (representada na Figura 25 pela linha cor preto) pode ser atribuída pelo efeito diluição, quando é adicionada a solução de AMA, ou pela formação de uma segunda banda, indicando interação entre as nanopartículas já funcionalizadas e o aparecimento de nanoestruturas (FERREIRA et al, 2017).

O efeito causado pela interação entre ligante-nanopartícula também foi avaliado por técnica de DLS. Observou-se que, assim que foi adicionado à solução de conector (Figura 26b), um aumento no diâmetro aparente das nanopartículas foi observado - sabendo que o diâmetro médio dos sistemas coloidais antes da adição dos ligantes foi de 20nm para AuNS e

de 40 nm para AuNR (vide Figura 23) - o que pode ser verificado pelos histogramas do acompanhamento na Figura 26. Esse aumento no diâmetro das nanopartículas pode ser explicado pela interação que provavelmente ocorreu entre estas em solução, uma vez que as nanopartículas estando tão próximas umas das outras que o aparelho de espalhamento de luz acaba detectando este conjunto de nanopartícula como apenas um. Perante os demais histogramas, percebe-se que o tamanho aparente das partículas em solução vai aumentando de acordo com o tempo e torna-se praticamente constante após duas horas da adição do conector, corroborando com os resultados de UV-Vis obtidos.

**Figura 26. Histogramas de tamanho de partícula por DLS após a adição da solução de AMA  $5,0 \times 10^{-2}$  M à solução coloidal contendo AuNSs. (a) Padrão (0 min), tempo de contato entre as AuNSs e AMA a (b) 1 min, (c) 30 min, (d) 60 min e (e) 120 min.**

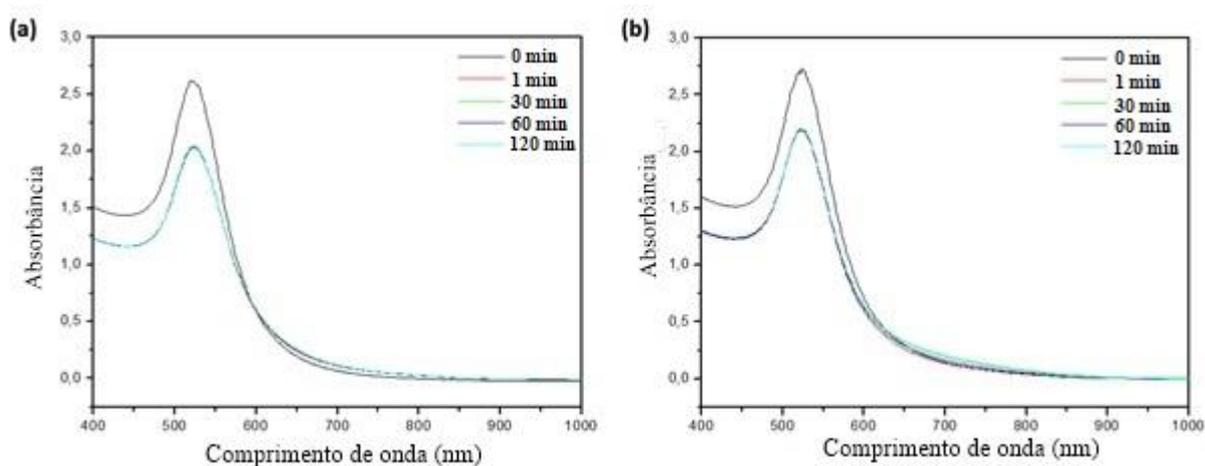


Fonte: dados da pesquisa

Os espectros de UV-Vis das outras concentrações ( $5,0 \times 10^{-4}$  M e  $5,0 \times 10^{-6}$  M) do ligante AMA com as nanoesferas (vide Figura 27) mostram que estas menores concentrações

não influenciam para mudanças no espectro de forma significativa tão quanto as moléculas do conector não são suficientes para acoplarem na superfície das partículas.

**Figura 27.** Solução de AuNSs funcionalizadas com AMA a partir de 1,0 mL de soluções com concentração de (a)  $5,0 \times 10^{-4}$  M e (b)  $5,0 \times 10^{-6}$  M.



Fonte: dados da pesquisa

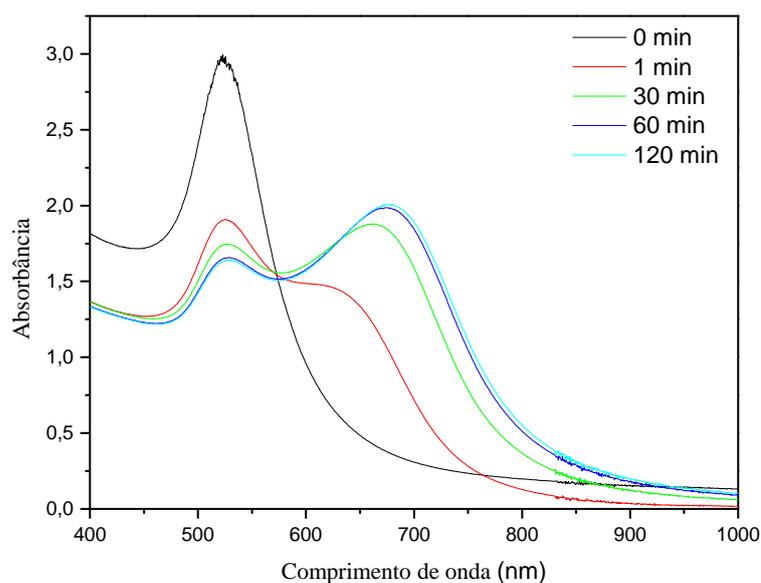
### 5.2.1.2 Concentrações de cisteamina (CYS)

Os estudos com as concentrações de CYS adicionadas às AuNSs também tiveram tendências similares aos resultados realizados com AMA. Seguindo o protocolo da seção 5.2, foi adicionado 1,0 mL da solução de CYS com concentração de  $5,0 \times 10^{-2}$  M a 4 mL da solução de AuNS, o sistema coloidal apresentou mudança de coloração, passando do tom vermelho para um tom azul escuro, que de acordo com a literatura disponível, indica que houve interação do conector com a partícula, podendo até ocorrer aglomeração entre as nanopartículas (MIRZA; SHAMSHAD, 2013). Após as duas horas de acompanhamento pela técnica de UV-Vis, observa-se que a coloração passa de avermelhada para azul escuro e em seguida para roxo, indicando que o processo de interação entre as nanopartículas continua em andamento.

De forma similar ao observado quando da funcionalização das AuNSs com AMA (Figura 25), a adição de CYS (Figura 28) na solução das AuNSs, uma nova banda no espectro de UV-Vis surgiu. Também, as análises obtidas pelo espalhamento de luz indicaram um

aumento aparente do tamanho das nanopartículas após a adição das moléculas dos ligantes na superfície daquelas.

**Figura 28. Espectros de UV-Vis da solução de AuNSs funcionalizada com 1,0 mL de uma solução de CYS  $5,0 \times 10^{-2}$  M**



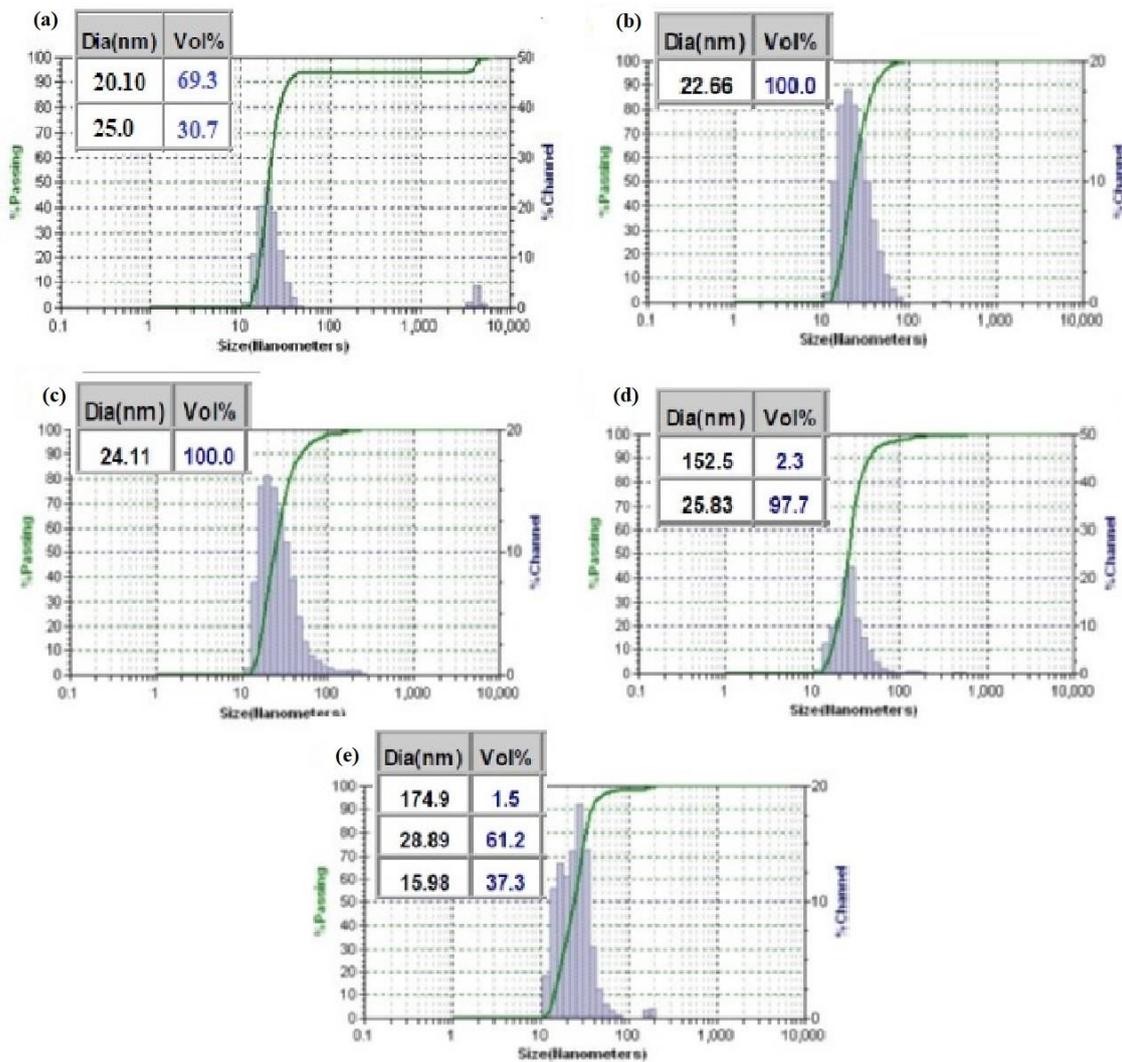
Fonte: dados da pesquisa

A interação entre ligante-nanopartícula também foi estudada através da análise de DLS. Observou-se que, assim que foi adicionado à solução de conector (Figura 29b), aparentemente, não houve alteração significativa no diâmetro das nanopartículas. Porém, no decorrer da análise (tempos de 30 e 60 min), o diâmetro das nanopartículas passa a aumentar (vide histogramas das Figuras 29b, 29c e 29d) de tamanho. Esta atribuição, assim como para o estudo das concentrações do AMA com AuNSs, também pode ser explicados pela interação que provavelmente ocorreu entre estas em solução. Outrossim, as nanopartículas estando tão próximas umas das outras que o aparelho de espalhamento de luz acaba detectando este conjunto de nanopartícula como apenas um.

Assim como observado nos experimentos com AMA (Figura 27) quando também as concentrações menores ( $5,0 \times 10^{-4}$  M e  $5,0 \times 10^{-6}$  M) de CYS foram empregadas, as mudanças nos espectros de UV-Vis foram menos pronunciadas quando do emprego da concentração de

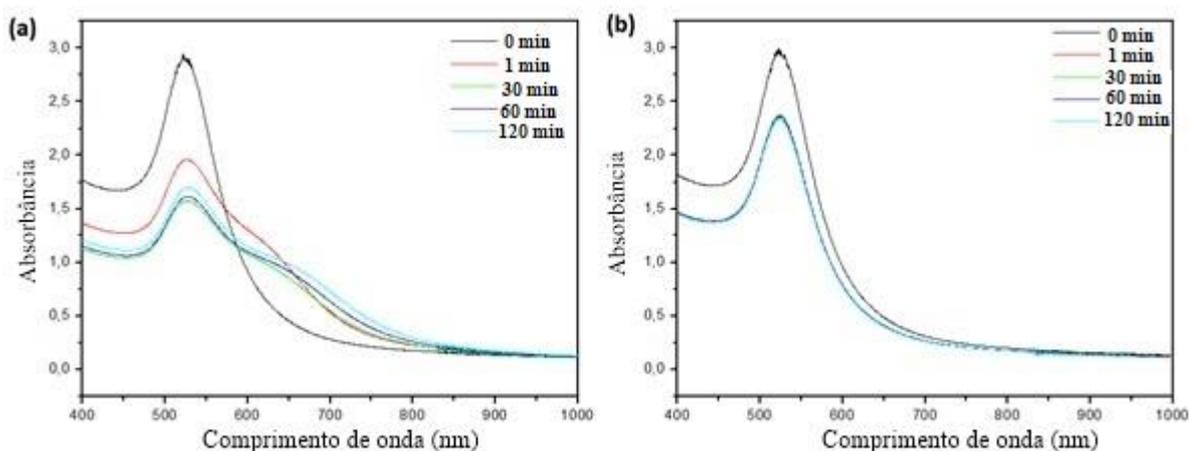
$5,0 \times 10^{-4}$  M e não significativa quando do emprego da concentração de  $5,0 \times 10^{-6}$  M de AMA. Essa elucidação pode ser vista na Figura 30.

**Figura 29.** Histogramas de tamanho de partícula por DLS após a adição da solução de CYS  $5,0 \times 10^{-2}$  M à solução coloidal contendo AuNSs. (a) Padrão (0 min), tempo de contato entre AuNS e CYS a (b) 1 min, (c) 30 min, (d) 60 min e (e) 120 min.



Fonte: dados da pesquisa

Figura 30. Espectros de UV-vis de soluções coloidais de AuNSs funcionalizadas com 1,0 mL de CYS nas concentrações de (a)  $5,0 \times 10^{-4}$  M e (b)  $5,0 \times 10^{-6}$  M



Fonte: dados da pesquisa

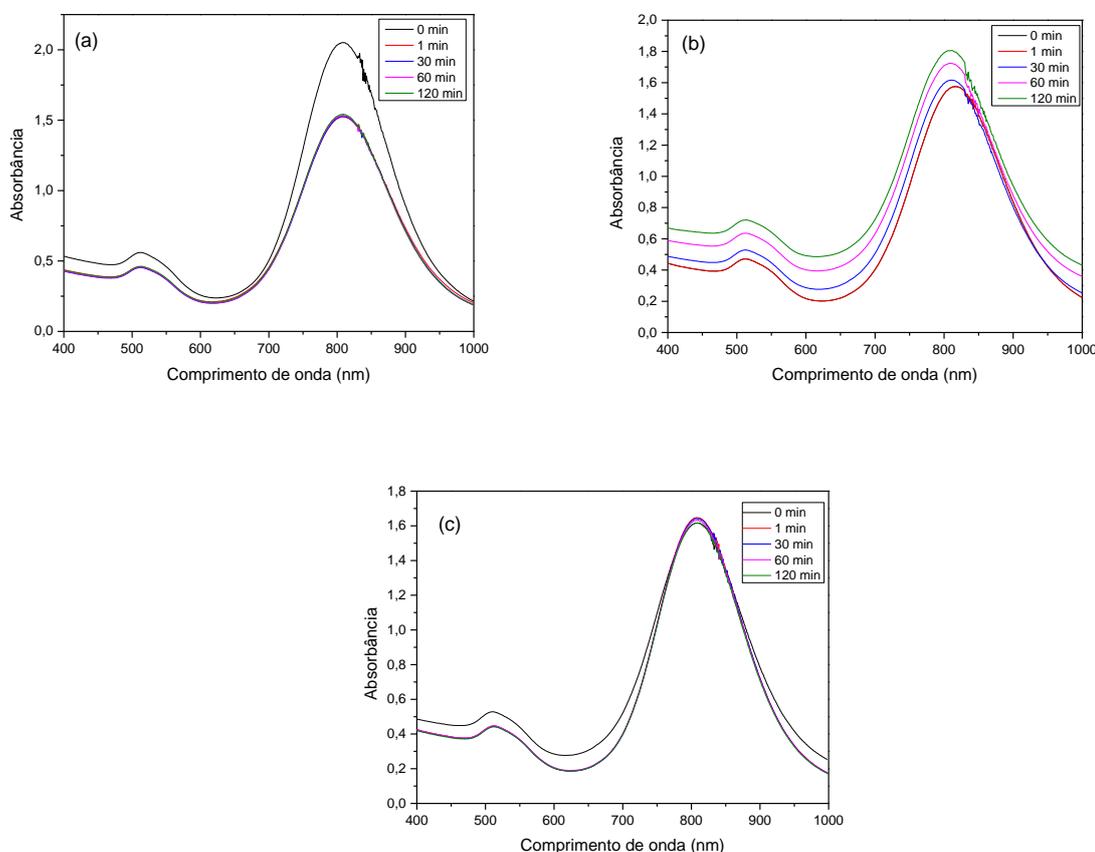
### 5.2.2 Estudos das concentrações dos ligantes nos nanobastões (AuNRs)

Ressalta-se que, para estes estudos, seguiram-se os mesmos protocolos adotados nos estudos das concentrações dos ligantes nas soluções contendo AuNSs descritos na seção 5.2.1.

#### 5.2.2.1 Concentrações de ácido mercaptoacético (AMA)

Foi adicionado 1,0 mL da solução de AMA com concentração de  $5,0 \times 10^{-2}$  M a 4,0 mL da solução de AuNR. Após esta mistura, não foi observada mudança significativa na coloração da solução dos nanobastões, tão quanto nos respectivos espectros de absorção de UV-Vis. Como esperado, não houve mudanças significativas quando da adição das soluções de AMA com concentração  $5,0 \times 10^{-4}$  e  $5 \times 10^{-6}$  M à soluções dos nanobastões, conforme pode ser observado na Figura 31.

**Figura 31. Espectros de UV-Vis das soluções contendo AuNRs funcionalizadas com AMA 1,0 mL nas concentrações de (a)  $5,0 \times 10^{-2}$  M, (b)  $5,0 \times 10^{-4}$  M e (c)  $5,0 \times 10^{-6}$  M.**



Fonte: dados da pesquisa

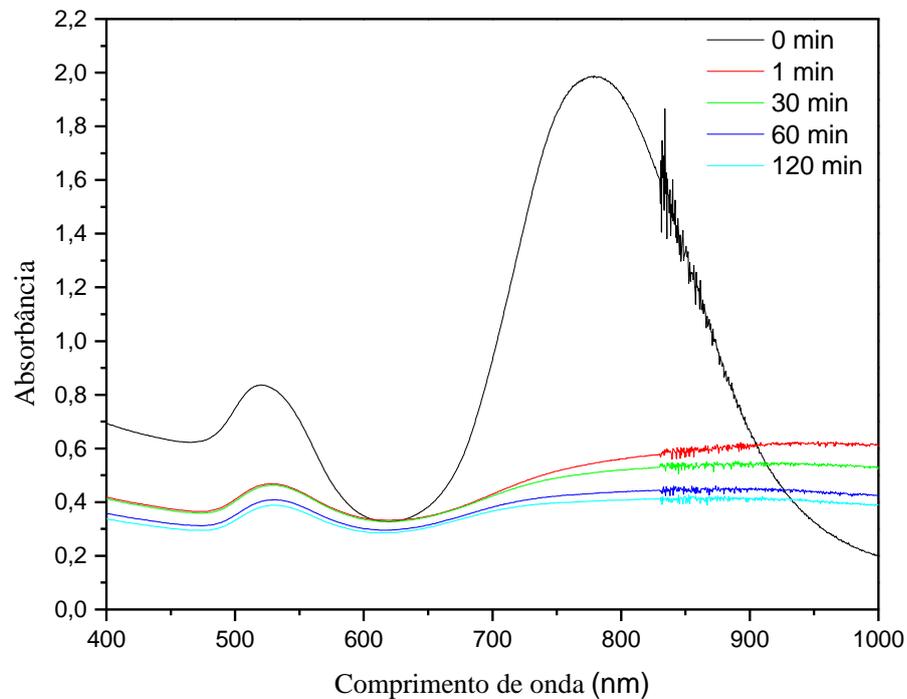
Nota-se que a única mudança reside na diminuição da absorbância dos espectros característicos de soluções coloidais contendo AuNRs, mas, como mencionado, este fenômeno pode ser explicado pelo efeito da diluição quando foi adicionado a solução de conector à solução destas nanopartículas (FERREIRA et al, 2017).

Diante do exposto, foi feito um estudo com concentração de AMA de  $5 \times 10^{-1}$  M, como pode ser observado na Figura 32. Percebe-se a distinção na mudança dos espectros da solução de AuNRs funcionalizados quando do uso desta concentração de AMA como solução estoque. Nessa condição de contração mais elevada de AMA no meio, o espectro de absorção típico de uma solução coloidal contendo AuNRs não se observa. E, como esperado, a coloração da solução alterou-se significativamente, passando do marrom característico para um roxo claro (FERREIRA et al, 2017).

Também, a interação entre ligante-nanopartícula foi estudada através da análise de DLS (Figura 33). Pela análise dos resultados, pondera-se que, transcorridos duas horas após a

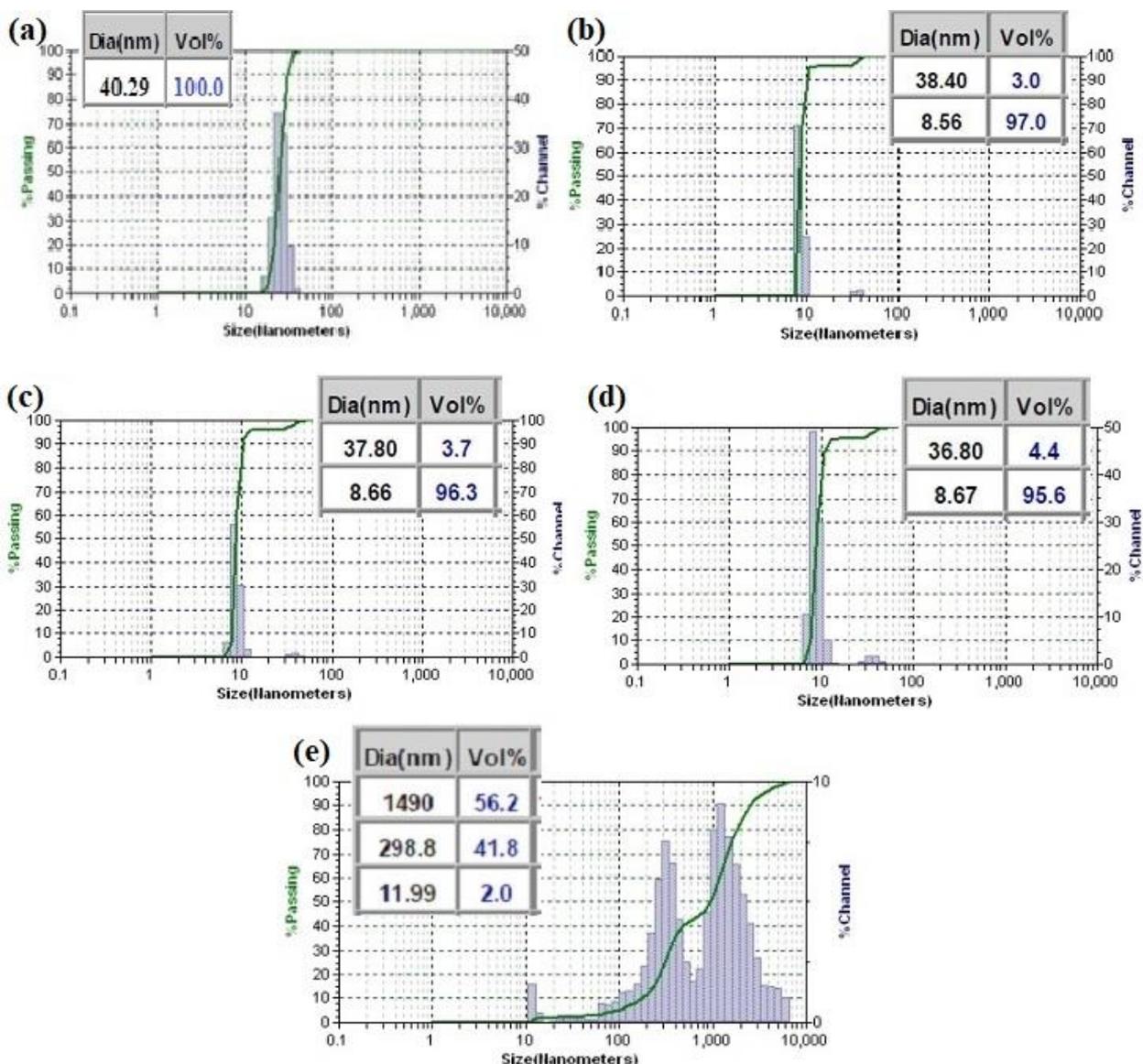
adição da solução de conector AMA (Figura 33d), o diâmetro aparente da nanopartícula começou a aumentar. Esse aumento aparente deve estar ocorrendo devido à desestabilização do sistema coloidal, visto que o AMA em si não é uma bom agente estabilizante como o CTAB que com essa alta concentração de ter sido majoritariamente substituído por moléculas de AMA.

**Figura 32. Espectros de UV-Vis da solução contendo AuNRs funcionalizadas com a solução de AMA  $5,0 \times 10^{-1} \text{ M}$**



Fonte: dados da pesquisa

Figura 33. Histogramas de tamanho de partícula por DLS após a adição da solução de AMA 5,0 x 10<sup>-1</sup> M à solução coloidal contendo AuNRs.(a) Padrão (0 min) tempo de contato entre AuNR e AMA (b) 1 min, (c) 30 min, (d) 60 min e (e) 120 min.



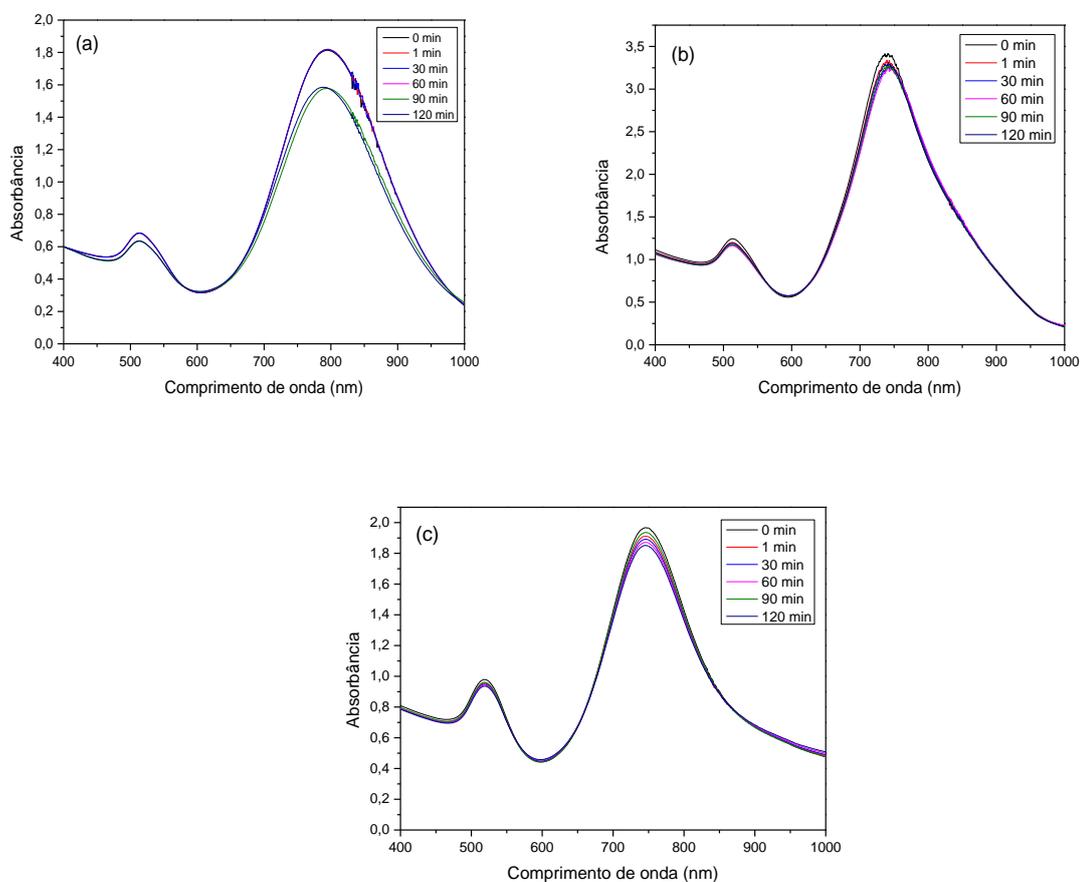
Fonte: dados da pesquisa

#### 5.2.2.2 Concentrações de cisteamina (CYS)

Os estudos de funcionalização com diferentes concentrações da CYS em sistemas coloidais contendo AuNRs mostraram que a baixas concentrações, não se observam mudanças significativas nos espectros da absorção na região do UV-Vis (Figura 34). Entretanto, a partir de concentrações de CYS de 5 x 10<sup>-1</sup> M (Figura 35), observa-se um deslocamento nos valores de absorção máxima. Há um deslocamento na banda com absorção

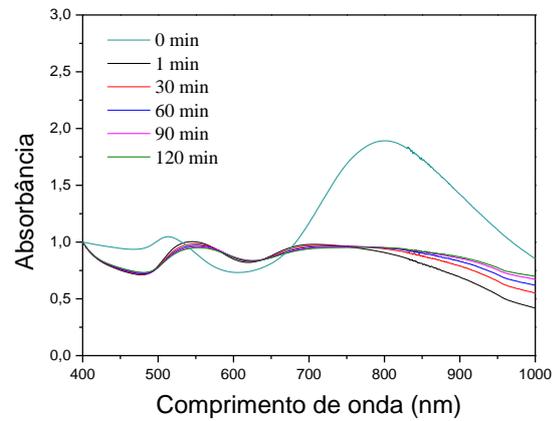
máxima próximo a 520 nm para valores de maior comprimentos de onda, indicando possível interação entre as nanopartículas (FERREIRA et al, 2017). Esse fato é também confirmado pela mudança da coloração da solução que passa do marrom característico para um tom de roxo.

**Figura 34. Espectros de UV-Vis das soluções contendo AuNRs funcionalizados com 1,0 mL de uma solução de CYS com concentração de (a)  $5,0 \times 10^{-2}$  M, (b)  $5,0 \times 10^{-4}$  M e (c)  $5,0 \times 10^{-6}$  M**



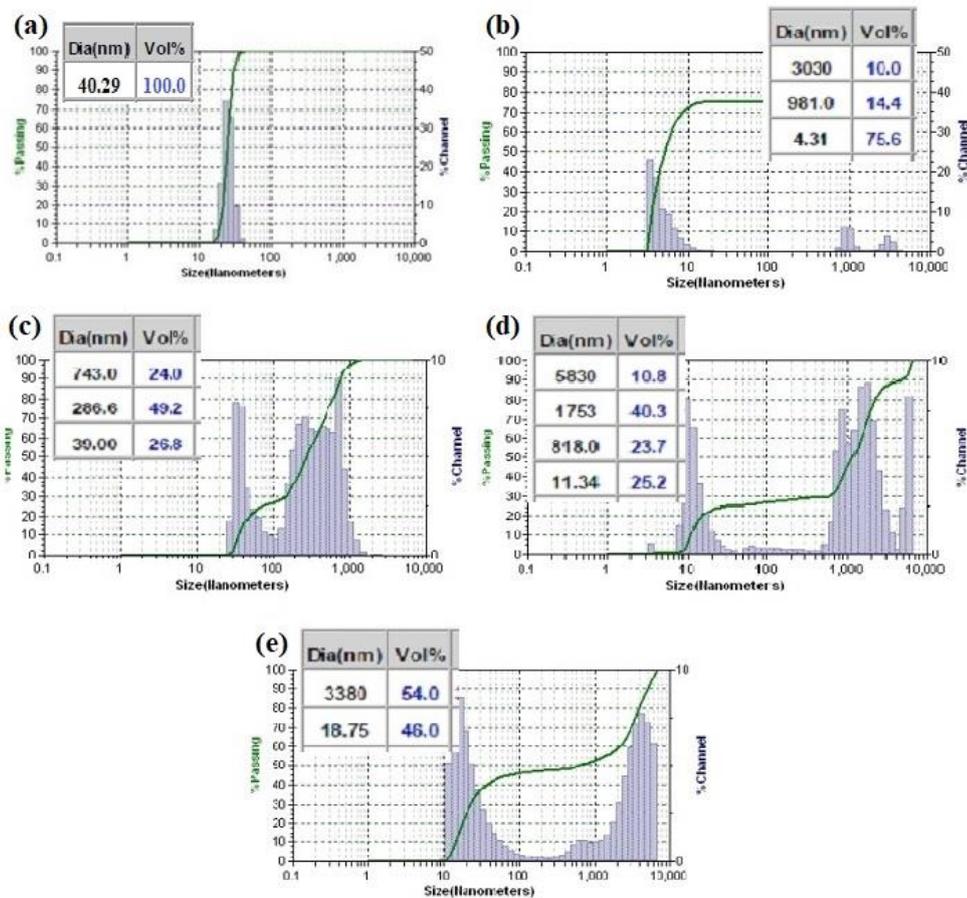
Fonte: dados da pesquisa

Figura 35. Espectros de UV-Vis das AuNRs funcionalizadas com a solução de CYS  $5,0 \times 10^{-1} \text{M}$



Fonte: dados da pesquisa

Figura 36. Histogramas de tamanho de partícula por após a adição da solução de CYS  $5,0 \times 10^{-1} \text{M}$  à solução coloidal contendo AuNRs. (a) Padrão (0 min), tempo de contato entre AuNR e CYS (b) 1 min, (c) 30 min, (d) 60 min e (e) 120 min.



Fonte: dados da pesquisa

A partir dos resultados obtidos pela análise do espalhamento de luz (Figura 36), cogita-se que, transcorrido o tempo de contato entre os bastões e a solução de conector CYS, o diâmetro aparente da nanopartícula começou a aumentar, induzindo uma agregação entre as partículas.

Em suma, comparando os sistemas contendo AuNSs e AuNRs, pode-se afirmar que o sistema coloidal AuNSs necessita de uma menor concentração de AMA ou CYS para modificações serem detectadas. Isso pode estar relacionado com a natureza do agente estabilizante já presente sobre as nanopartículas, neste caso, citrato sobre as AuNSs e CTAB sobre os AuNRs. O citrato é uma molécula pequena em comparação ao CTAB, assim poucas substituições dos agentes estabilizantes por agentes funcionalizantes podem desestabilizar o sistema.

Portanto, os melhores resultados de concentração para serem utilizados na funcionalização das nanopartículas foram:

**Tabela 4. Concentrações ideais dos conectores para funcionalização das nanopartículas**

<b>Nanopartícula</b>	<b>AMA</b>	<b>CYS</b>
AuNS	0,05 M	0,05 M
AuNR	0,50 M	0,50 M

Fonte: dados da pesquisa

A partir destes resultados, pode-se dar continuidade ao trabalho para os processos de automontagem, com ênfase na busca de melhores condições e/ou estratégias para proceder a reação de conexão (leia-se, *self-assembly*) entre as partículas, ou seja, formação da ligação C-N, com formação da amida.

### **5.3 Automontagem das nanopartículas**

Após determinação das concentrações ideais dos conectores para funcionalização das nanopartículas, estratégias foram planejadas a fim de permitir a interação controlada entre as partículas com diferentes agentes funcionalizantes e assim se obter sistemas nanoestruturados via automontagem de modo organizado e controlado. Contudo, um processo de

automontagem conta com muitas variáveis que podem influenciar o processo principalmente se buscarmos observar efeitos da automontagem de partículas em fase líquida e em fase sólida (após secagem do solvente). A seguir, algumas das condições empregadas para a geração de sistemas automontados a partir da interação seletiva entre AuNSs e AuNRs.

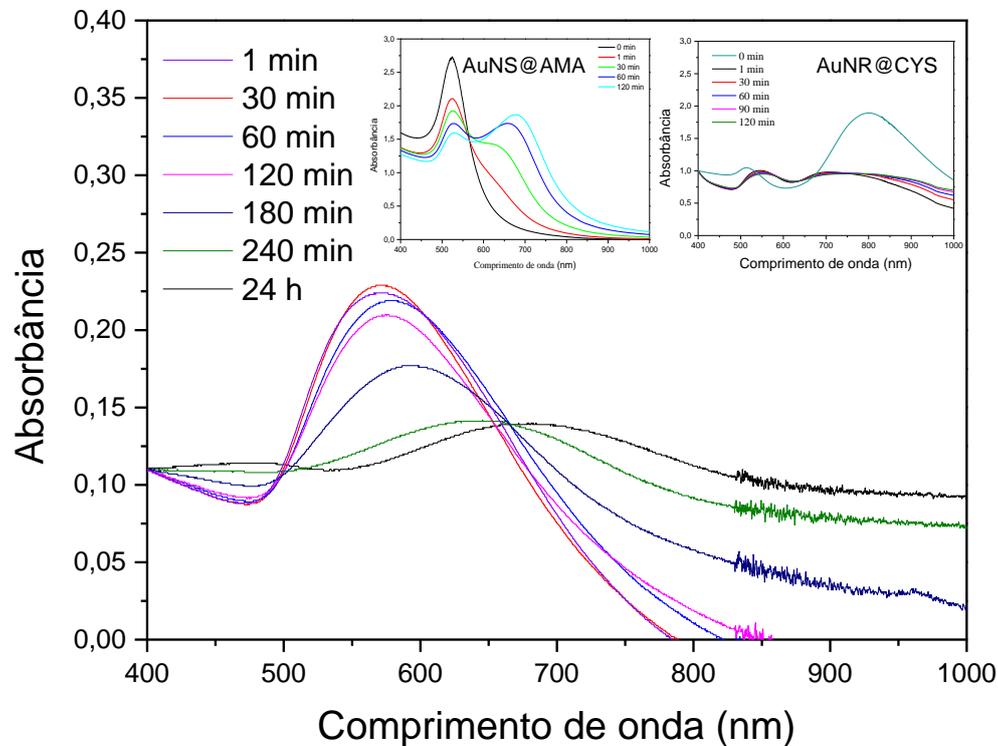
### 5.3.1 Sem adição dos agentes de *crosslinking*

#### Sistema 1: AuNS@AMA / AuNR@CYS

Neste estudo buscou-se investigar as interações entre partículas já tratadas com diferentes conectores sem a adição dos agentes de *crosslinking*. Contudo, ressalta-se que, mesmo na ausência dos agentes de *crosslinking*, as partículas, na mistura, já funcionalizadas, poderão interagir entre si. Ressalta-se que os nanobastões de ouro (AuNRs) antes da etapa da funcionalização, passaram pelos Procedimentos 1 e 2 descritos na subseção 4.5, já as nanoesferas de ouro (AuNRs) apenas pelo Procedimento 2.

Nesse sistema, as AuNSs são funcionalizadas com o ligante ácido mercaptoacético (AuNS@AMA) e os AuNRs são funcionalizados com o ligante cisteamina (AuNR@CYS). Após 2 h do processo da etapa de funcionalização, os coloides foram misturados, deixando em leve agitação durante 24 h. No decurso deste período, houve monitoramento do sistema por análises de espectroscopia na região do ultravioleta até o infravermelho próximo e DLS. A espectroscopia óptica mostra que as nanopartículas tiveram as bandas de absorção alteradas. Isso mostra que houve algum tipo de interação, visto que se observa uma mudança significativa as absorções dos plásmons de superfície (Figura 37) (GÜZEL et al, 2010).

**Figura 37. Espectros de UV-Vis da simples mistura de AuNS@AMA / AuNR@CYS (Sistema 1). Valores normalizados.**

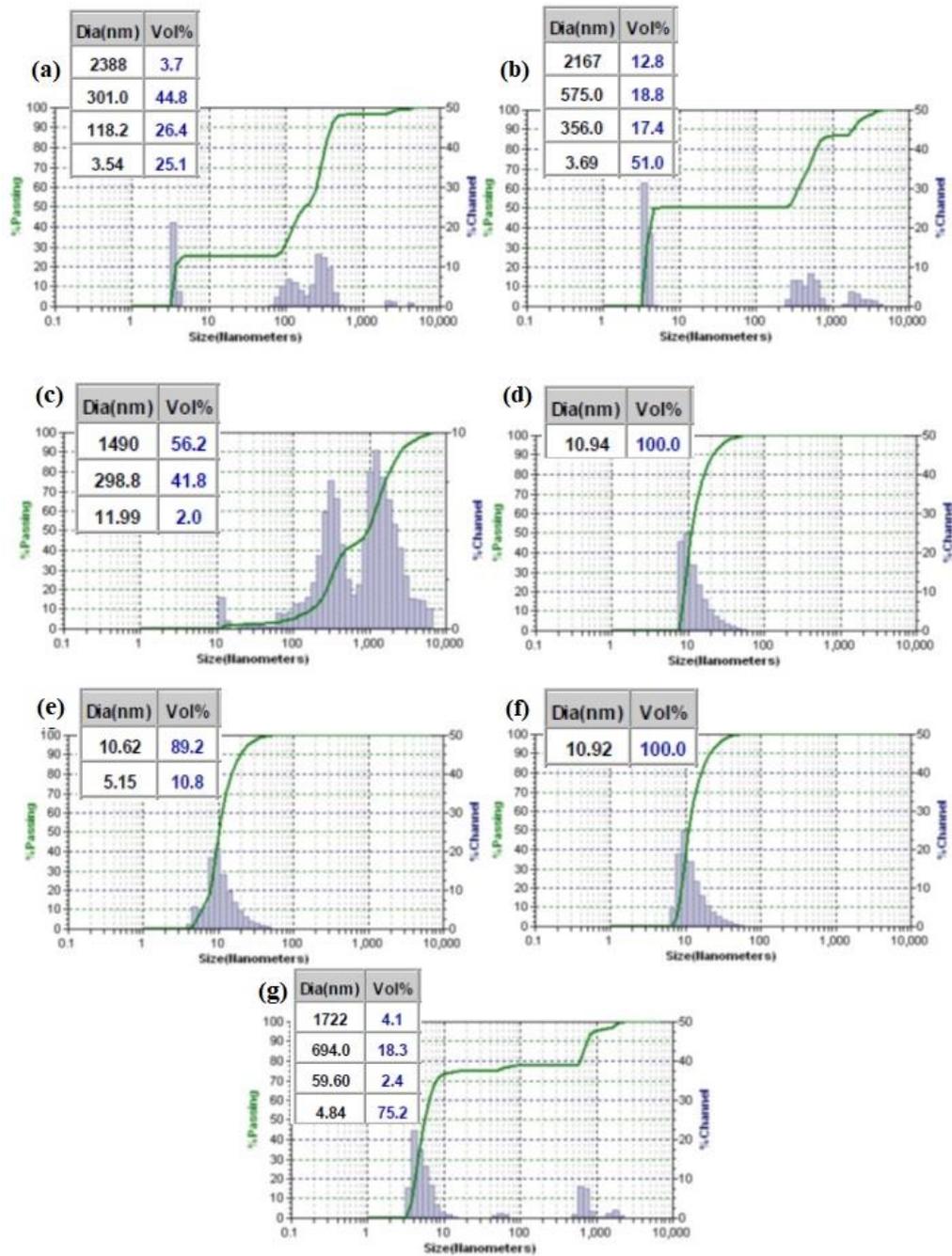


Fonte: dados da pesquisa

Observa-se que a mistura entre os dois grupos de nanopartículas funcionalizadas gerou um deslocamento para comprimentos de onda maiores, monitorado durante 24 h, o que corrobora quando uma nanopartícula tem a superfície modificada. Nota-se que, ressonância plasmônica da superfície muda para energias mais baixas, provavelmente devido à formação de agregados (NANOCOMPOSIX, 2019). A mistura AuNS@AMA - AuNR@CYS (Sistema 1) foi também analisada por DLS, sendo confirmada a formação de agregados em suspensão (BINGHAM et al, 2009). Estes resultados podem ser vistos na Figura 38.

Nota-se que há tamanhos bem diferentes durante os diferentes períodos da análise, no intervalo de 1 min (Figura 38a) a 60 min (Figura 38c), mostrando que há a formação de agregados com tamanhos crescentes. Em contrapartida, no intervalo de 120 min (Figura 38d) a 24h (Figura 38g), o tamanho destes sistemas diminui provavelmente a precipitação dos aglomerados maiores, deixando apenas os agregados menores em suspensão.

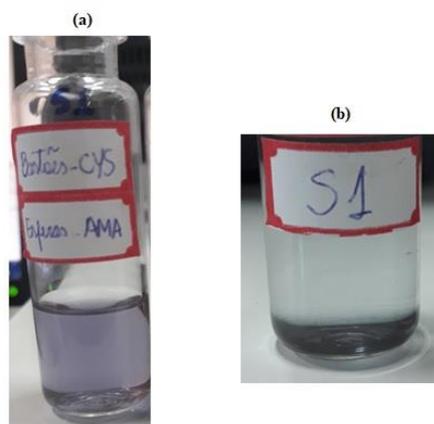
Figura 38. Acompanhamento por DLS da simples mistura de AuNS@AMA - AuNR@CYS (Sistema 1). a) 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min, (f) 240 min e (g) 24 h



Fonte: dados da pesquisa

É importante referir que o sistema teve sua cor alterada durante o período de análises. No início do estudo (1 min – Figura 39a) a cor da solução era uma tonalidade roxo claro, passando-se 24 h (Figura 39b), o sistema passou a ter um tom cinza claro, apresentando a formação de um precipitado.

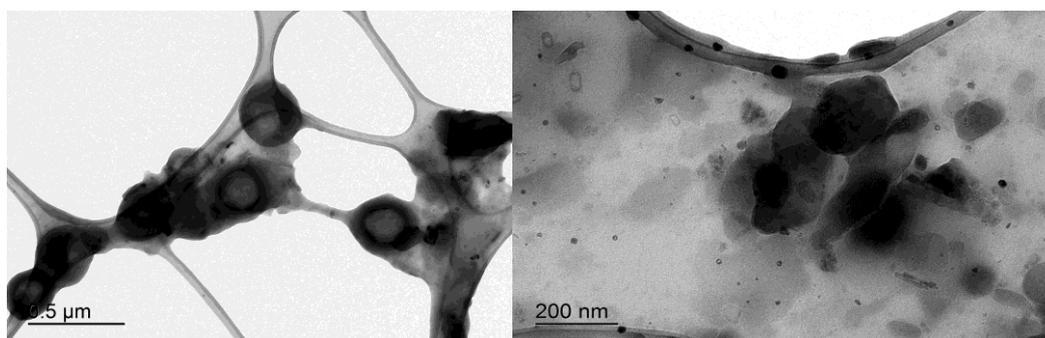
**Figura 39.** Imagens da solução coloidal do Sistema 1 (AuNRs-CYS/AuNSs-AMA) no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h



Fonte: dados da pesquisa

Com o propósito verificar o arranjo dessas nanopartículas após evaporação do solvente, análises de Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) foram realizadas (Figura 40).

**Figura 40.** Imagens de TEM das nanopartículas presentes na mistura AuNS@AMA / AuNR@CYS (Sistema 1)



Fonte: dados da pesquisa

Pelas imagens de TEM da Figura 40 pode-se verificar que a partir da suspensão não se obtém um número de nanopartículas que possam ser avaliadas. Isso porque boa parte do sistema precipitou, impedindo a detecção de nanopartículas em interação controlada. Outro fator que deve-se observar é o modo de preparo da amostra para a análise de TEM, pois essa sempre pode influenciar a maneira com que as partículas se arranjam durante a secagem.

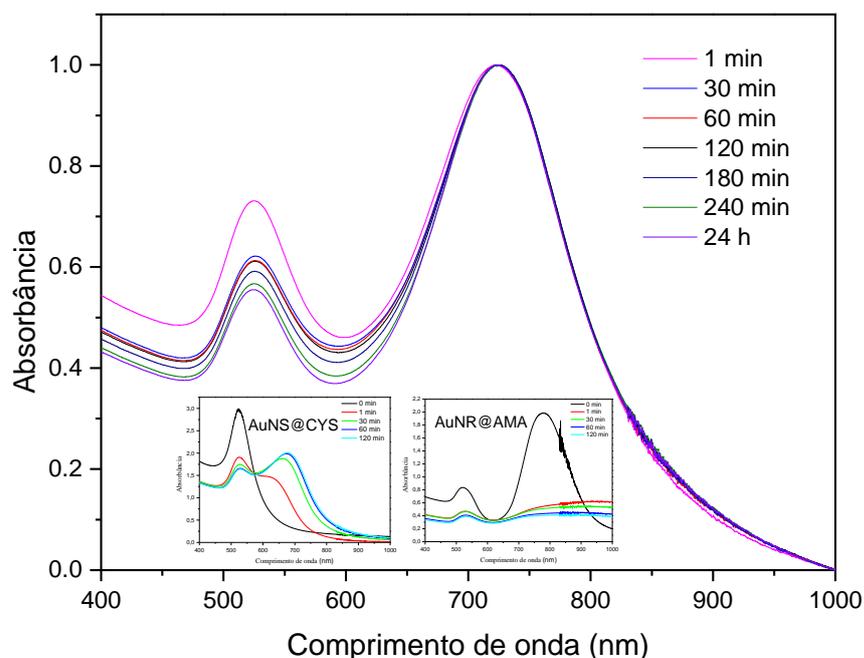
### Sistema 2: AuNS@CYS / AuNR@AMA

Em comparação ao Sistema 1, no Sistema 2 temos uma alternância dos agentes de funcionalização. No Sistema 2 as AuNSs são tratadas com CYS e os AuNRs tratados com AMA. Da mesma forma que no Sistema 1, foi feita apenas a mistura dos coloides contendo as partículas funcionalizadas, sem a adição dos agentes de *crosslinking* EDC e NHS.

Após 2 h do início do processo de funcionalização das partículas, realizou-se a mistura destes dois coloides e deixou-se o sistema em agitação durante 24 h. Durante este período, houve monitoramento do sistema, analisando-o por espectroscopia na região do ultravioleta até o infravermelho próximo e por DLS.

Os espectros de UV-Vis e infravermelho próximo das misturas, Sistema 2: AuNS@CYS e AuNR@AMA, das soluções coloidais dos dois grupos de nanopartículas funcionalizadas, com relação ao tempo, são apresentados na Figura 41. Percebe-se que não houve mudanças nos espectros de absorção do Sistema 2 de forma significativa como o tempo.

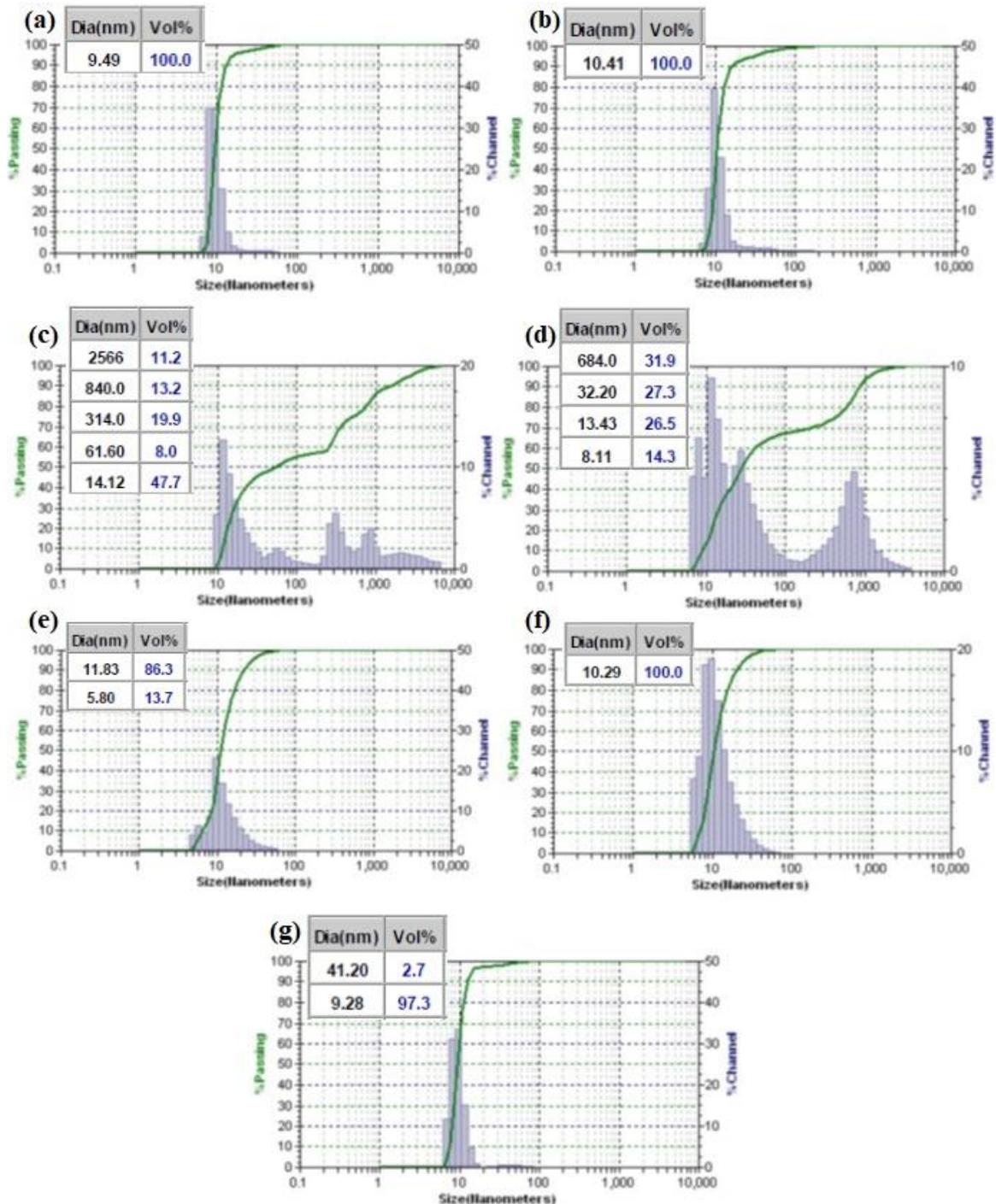
**Figura 41. Espectros de UV-Vis da simples mistura de AuNS@CYS / AuNR@AMA (Sistema 2). Valores das absorbâncias normalizados**



Fonte: dados da pesquisa

Também, diferentemente do Sistema 1, o Sistema 2 não teve a coloração alterada durante o curso da análise. Consoante à Figura 43, a cor da solução coloidal foi marrom desde o início do experimento (1 min) até fim do mesmo (24 h) e, em nenhum momento dentro do período analisado, observou-se a formação de precipitado.

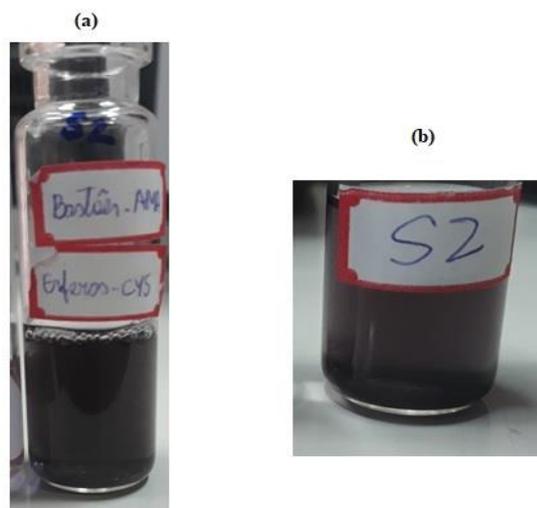
**Figura 42. Acompanhamento por DLS da simples mistura de AuNS@CYS / AuNR@AMA (Sistema 2). a) com 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min, (f) 240 min e (g) 24 h**



Fonte: dados da pesquisa

O tamanho médio hidrodinâmico das partículas presentes na mistura AuNS@CYS / AuNR@AMA (Sistema 2), obtido por análise de DLS, em relação ao tempo, é mostrado na Figura 42. O Sistema 2 contém partículas com tamanho médio de 10 nm, tamanhos estes estranhamente inferiores aos tamanhos das nanopartículas utilizadas antes da funcionalização.

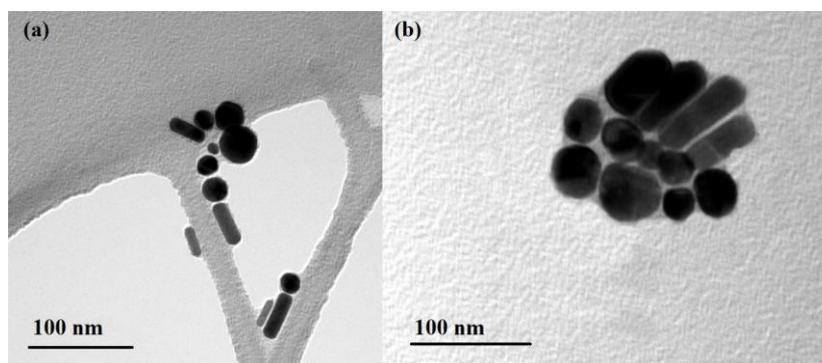
**Figura 43. Imagens da solução coloidal do Sistema 2 no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h**



Fonte: dados da pesquisa

Com o intuito de verificar se houve a interação seletiva interpartículas em meio seco, foi realizada a análise por TEM de uma alíquota previamente seca da solução coloidal do Sistema 2 (Figura 44).

**Figura 44. Imagens TEM das nanopartículas presentes no Sistema 2**



Fonte: dados da pesquisa

Nas imagens obtidas das NPs através da técnica de TEM pode-se observar agregados de NPs. Em linhas gerais, não foi observada uma automontagem seletiva entre as NPs (Figura 44).

### 5.3.2. Com adição dos agentes de *crosslinking* nas misturas AuNRs e AuNSs funcionalizadas

Na literatura são descritos alguns trabalhos sobre reações de automontagem entre AuNPs com o emprego de variados ligantes para funcionalizar a superfície das mesmas. Por exemplo, ácidos carboxílicos, álcoois, hidratos de carbono, polímeros, aminoácidos, ácidos nucleicos, peptídeos e proteínas etc (BIJU, 2014; FERREIRA et al, 2017). AuNPs contendo as funções ácido carboxílico (-COOH) e tiol (-SH) podem ser conjugados com qualquer ácido, peptídeo, proteína, anticorpo ou outra NP que possua um grupo amino primário ou secundário em sua superfície, desde que se utilize um agente de ligação – carbodiimida – para que ocorra a reação química de acoplamento entre as partes (BIJU, 2014). Esta reação é, também, chamada de *crosslinking*, e os agentes mais utilizados para estes processos são 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) (BART et al, 2009; MIRZA, SHAMSHAD, 2013; NIMSE, 2014; BIJU, 2014).

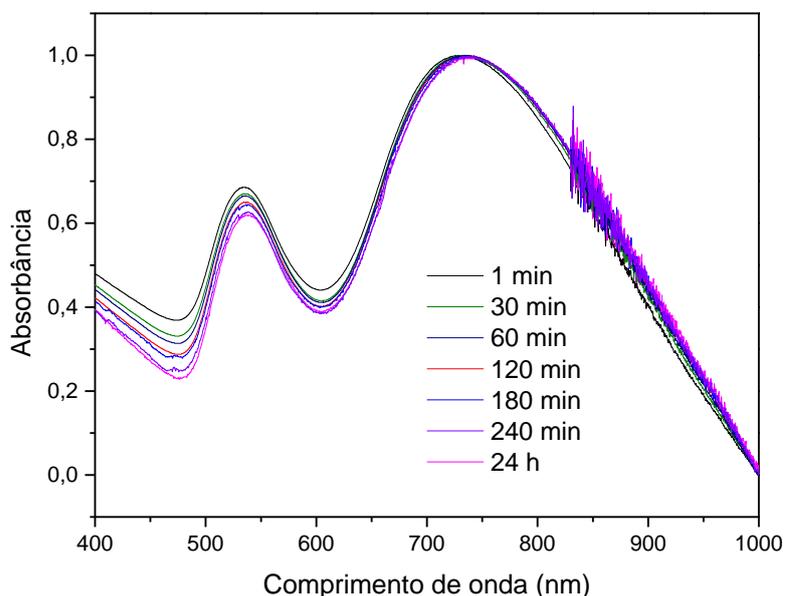
#### Sistema 3: AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC

Neste estudo buscou-se conjugar as nanopartículas funcionalizadas com os respectivos ligantes utilizando o agente de *crosslinking* EDC. Ressalta-se que as AuNSs passaram apenas pelo Procedimento 2. Já os AuNRs antes da etapa da funcionalização passaram pelos Procedimento 1, antes do Procedimento 2 e Procedimento 3. Estes procedimentos estão detalhados na subseção 4.5.

Ao coloide AuNR@AMA, adicionou-se o agente de *crosslinking* EDC, após 30 min, fez-se a mistura dos sistemas com a adição do sistema coloidal AuNS@CYS sobre a solução AuNR@AMA + EDC, deixando-se a mistura em leve agitação por 24 h. Durante este período, houve monitoramento do sistema, analisando-o por espectroscopia óptica, conforme mostrado na Figura 45.

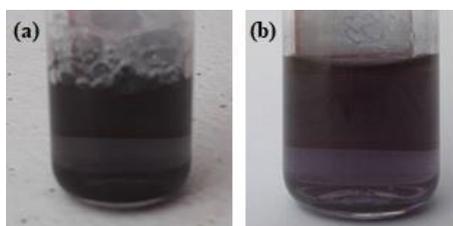
Frente aos resultados apresentados na Figura 45, percebe-se que houve apenas sutis mudanças nos espectros de absorção do Sistema 3, no período de 24 h. Isso indica que não houve grandes alterações nas interações das NPs presentes no sistema, o que pode indicar que não está havendo processos de aglomeração ou de automontagem controlada. Corroborando com isso, a solução coloidal do Sistema 3 não teve sua cor alterada durante o período de análises (24 h), esta permaneceu uniforme e sem a formação de precipitado (Figura 46).

**Figura 45. Espectros de UV-Vis do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC, Sistema 3. Os espectros de absorbância têm seus valores normalizados.**



Fonte: dados da pesquisa

**Figura 46. Imagens da solução coloidal do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC (Sistema 3) no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h**



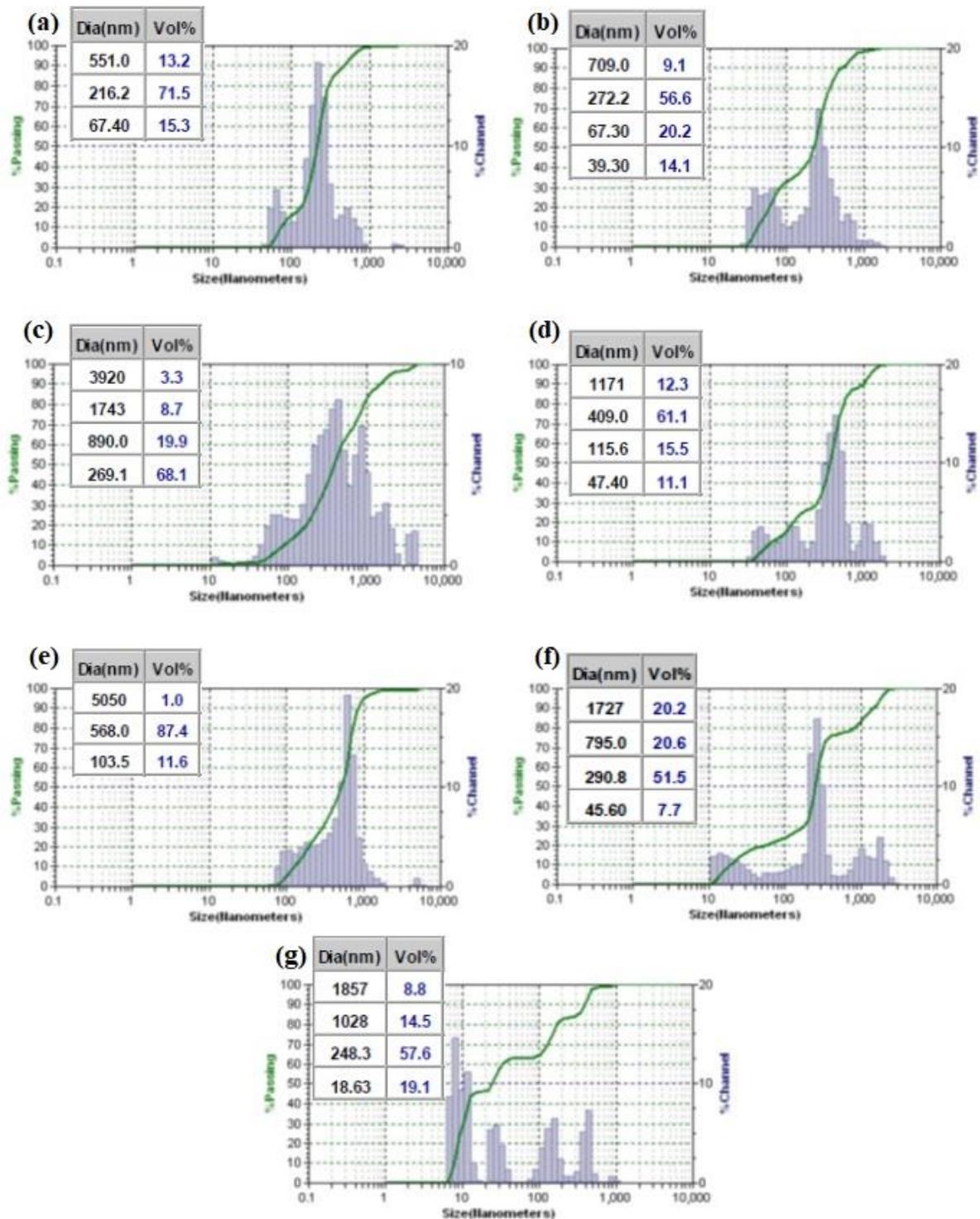
Fonte: dados da pesquisa

As análises de DLS (Figura 47) mostram que o tamanho hidrodinâmico das partículas desse sistema tende a ficar maiores com o tempo (de 100 a 800 nm nas primeiras horas), o que podem sinalizar alguma interação no decorrer do tempo.

Para comprovar a formação do sistema automontado e corroborar com as demais técnicas realizadas, imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão foram obtidas.

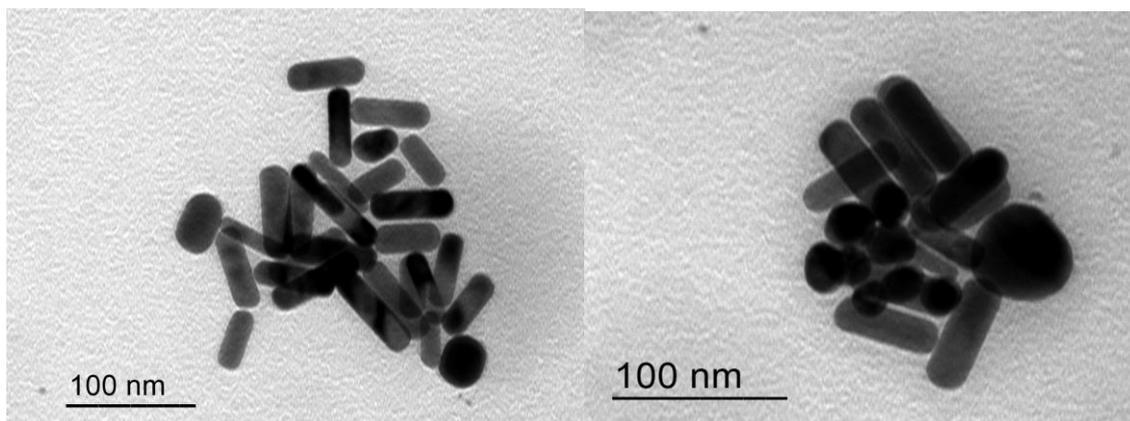
A Figura 48 mostra imagens de TEM das partículas contidas no Sistema 3. Os aglomerados de NPs não estão organizados de forma seletiva. Outro fato que se destaca nas imagens é a predominância de AuNRs. Isso pode estar relacionado, em boa parte, a um processo de lavagem das AuNSs (no Procedimento 2), e assim, tendo poucas nanoesferas para a reação de acoplamento.

Figura 47. Acompanhamento por DLS do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC, Sistema 3. a) com 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min, (f) 240 min e (g) 24 h



Fonte: dados da pesquisa

**Figura 48. Imagens TEM das nanopartículas presentes no Sistema 3**



Fonte: dados da pesquisa

#### Sistema 4: AuNS@AMA + EDC / AuNR@CYS

Uma outra condição análoga ao Sistema 3 foi realizada. Nesta, houve a troca dos ligantes entre as nanopartículas perante ao processo de funcionalização, ou seja, as nanoesferas foram funcionalizadas com o AMA (AuNS@AMA, seguido da adição do EDC para posterior reação de acoplamento) e os nanobastões com a CYS (AuNR@CYS). Enfatiza-se que todas as condições experimentais durante este processo foram iguais ao anterior, apenas houve inversão dos agentes de funcionalização sobre as nanopartículas. Os espectros de UV-Vis deste sistema, com relação ao tempo, são apresentados na Figura 49.

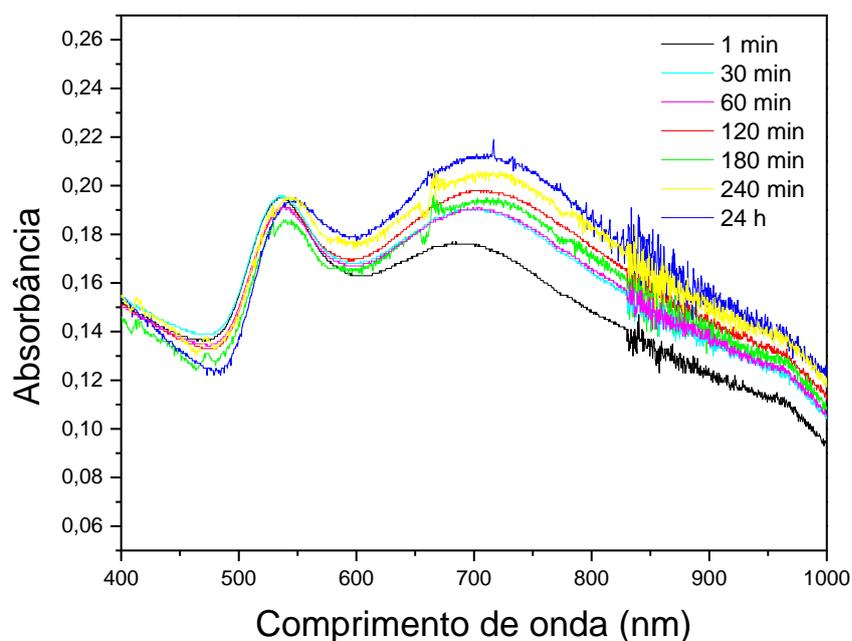
Via monitoramento por espectroscopia óptica, observou-se uma diminuição da intensidade da absorbância e leve deslocamento da banda de absorção próxima a 720 nm e o surgimento de uma segunda banda de absorção durante o processo, indicando que houve alguma interação entre os grupos de nanopartículas ou a obtenção do sistema por automontagem. É sugerido que deslocamento da segunda banda de absorção para a direita (*red-shift*) está relacionado com o aumento do índice de refração do ambiente circundante ao das AuNPs (ABBAS et al, 2012; FERREIRA et al, 2017).

Também analisou a evolução com o tempo do Sistema 4 pela técnica de DLS com o objetivo de avaliar o tamanho médio de raio de giro deste sistema (Figura 50).

Os tamanhos apresentados são bem diferentes e oscilam durante o acompanhamento da reação. Nos primeiros tempos de análises, por exemplo, 1 min (Figura 50a) e 30 min (Figura 50b) são bem grandes. Estes resultados do espalhamento de luz corroboram com o deslocamento do espectro, pois, durante o experimento, o diâmetro aparente das

nanopartículas em solução aumentou. Nos demais tempos, os tamanhos dos sistemas são bem discrepantes. Importa referir dois fatores: i) a presença de agregados pode afetar o espectro de dispersão do sistema alterando os resultados (BINGHAM *et al*, 2009) e; ii) apesar do EDC favorecer a formação da ligação amídica na reação de acoplamento, este agente durante o *crosslinking* reage com os grupos carboxílicos (do AMA) e forma um intermediário instável, o *O-acylisourea*, que é insolúvel e sofre reação de hidrólise em soluções aquosas (LI *et al*, 2007; VALEUR; BRADLEY, 2009; THERMOFISHER, 2012; STONES *et al*, 2015; BUGIEL *et al*, 2015).

**Figura 49. Espectros de UV-Vis do sistema AuNS@AMA + EDC / AuNR@CYS, Sistema 4. Os valores das absorbâncias foram normalizados.**



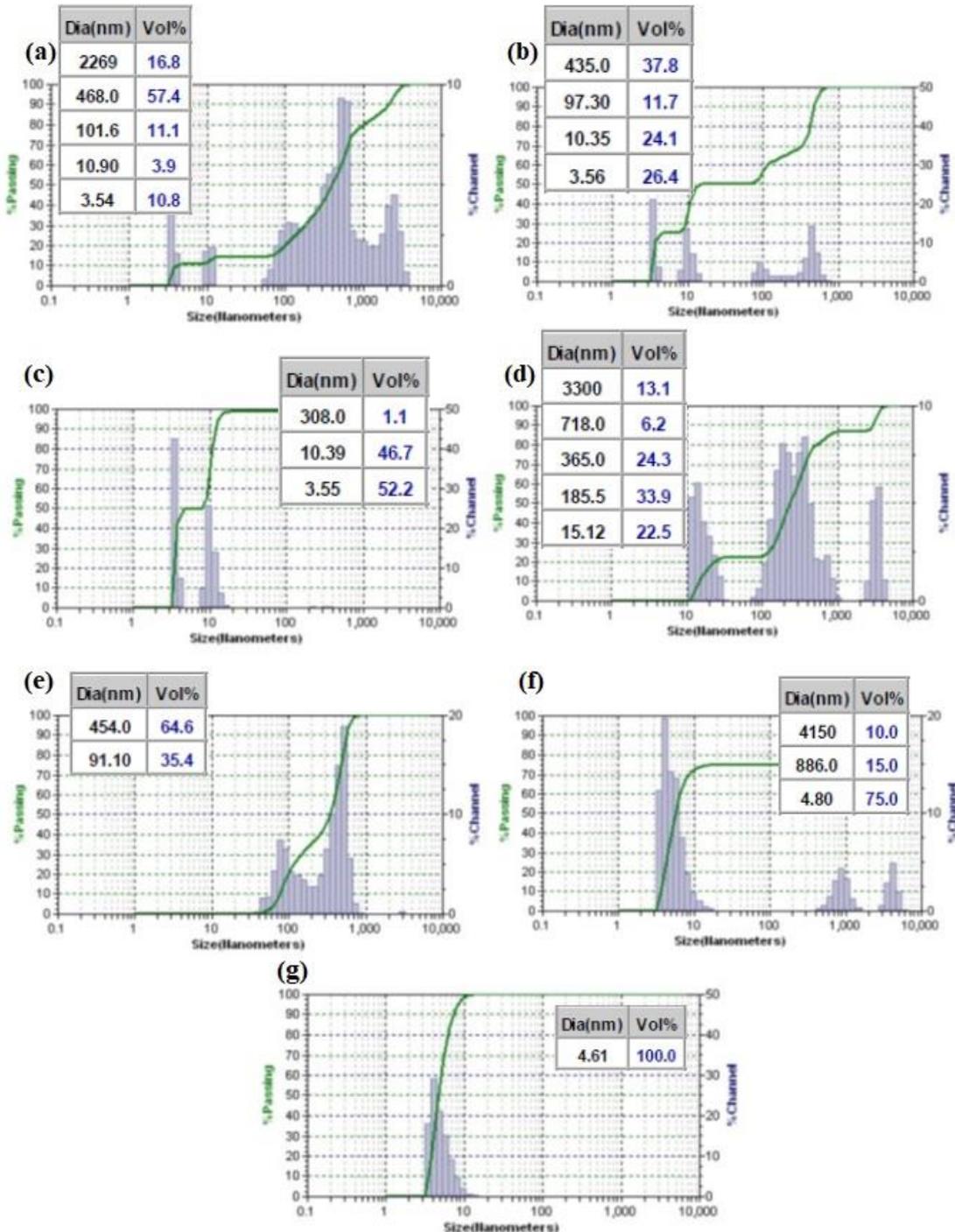
Fonte: dados da pesquisa

Na solução coloidal do Sistema 4 percebeu-se a formação de um precipitado desde início do monitoramento, 1 min (Figura 51a). Nota-se que a cor do sistema permanece a mesma até 24 h. Na Figura 51b o sistema foi agitado, porém o precipitado depositou-se lentamente depois de alguns segundos.

O precipitado formado neste sistema pode ser oriundo da reação de hidrólise ou a origem da agregação (seletiva ou aleatória) das NPs. Para fins, foram realizadas análises de TEM, sendo que as imagens obtidas podem ser visualizadas na Figura 52.

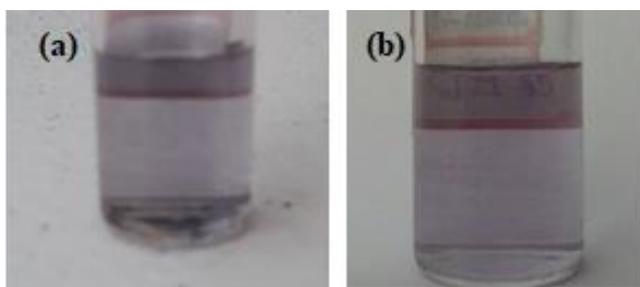
Por essa análise, é possível notar que, diferentemente ao Sistema 3, a presença de AuNSs e AuNRs. Neste caso, apesar da condição mostrada ainda não ser a ideal, pode-se observar mais interações entre AuNRs e AuNSs. (YANG; CUI, 2008; HUANG; NERETINA; EL-SAYED, 2009; FERREIRA et al, 2017).

**Figura 50. Acompanhamento por DLS do sistema AuNS@AMA + EDC / AuNR@CYS, Sistema 4. a) 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min, (f) 240 min e (g) 24 h**



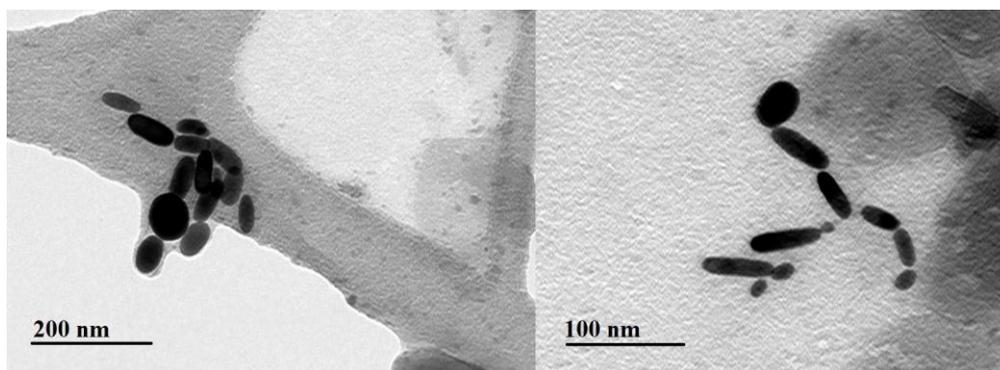
Fonte: dados da pesquisa

**Figura 51. Imagens da solução coloidal do sistema AuNS@AMA + EDC / AuNR@CYS, Sistema 4, no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h**



Fonte: dados da pesquisa

**Figura 52. Imagens TEM das nanopartículas presentes no Sistema 4**



Fonte: dados da pesquisa

A reação da formação de amida, obtida através do processo de *crosslinking*, normalmente tem resultados mais promissores, cerca de 95% de rendimento, se não houver água no meio reacional. Porém, a existência de água na reação favorece a hidrólise do composto intermediário do EDC impossibilitando a formação da ligação carbono-nitrogênio e assim, o rendimento é considerado desprezível ou poderá não haver formação da ligação amídica (MIRZA, SHAMSHAD, 2013). Logo, é comum utilizar um agente estabilizante, *N*-hidroxissuccinimida (NHS) na reação de acoplamento, pois a reação entre o EDC e o NHS forma um éster com menor probabilidade de sofrer hidrólise, aumentando a probabilidade da reação entre o carbono terminal ativado e a amina primária da cisteamina (FERREIRA et al, 2017; JOOS; KUSTER; CONE, 1997; MIRZA, SHAMSHAD, 2013). A representação deste processo reacional pode ser visualizado na Figura 20.

Diante do exposto, foi adicionado o agente NHS aos sistemas transcritos a seguir com o intuito de obter a reação de acomplamento e assim obter sistemas por heteromontagem. Nos casos, o EDC com o NHS tiveram tempos de contatos diferentes de 5 min, 30 min e 1 h.

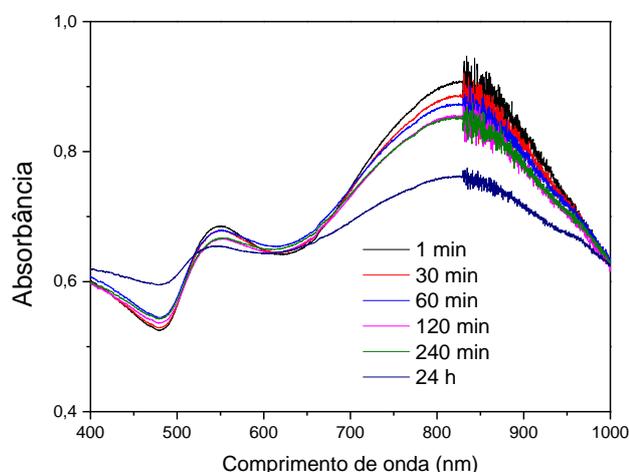
**Sistema 5:** AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 5 min

Neste sistema, buscou-se conjugar as nanopartículas funcionalizadas com os respectivos ligantes, utilizando os agentes de *crosslinking*, EDC e NHS. Ressalta-se que, o tempo de contato entre estes dois agentes foi de 5 min.

Para este sistema, as AuNSs foram funcionalizadas com o ligante CYS (AuNR@CYS) e os AuNRs foram funcionalizados com o ligante AMA (AuNS@AMA) e seguido, neste último, da adição do EDC e NHS, por 5 min. Em seguida, foi realizada a mistura dos dois sistemas que permaneceu sob leve agitação por 24 h. Nesse período o sistema foi monitorado por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis e infravermelho próximo (Figura 53), e por DLS (Figura 54).

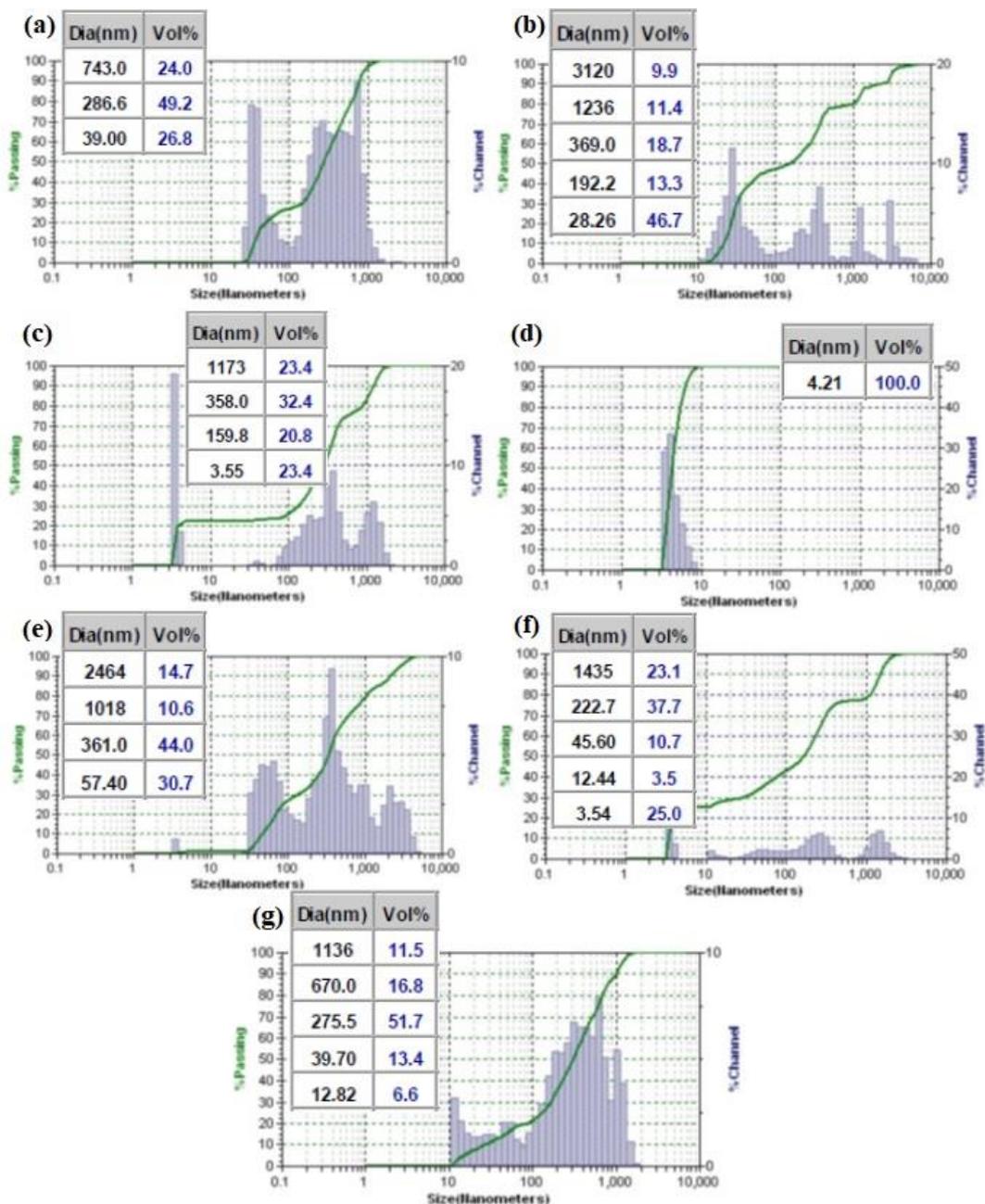
Através do acompanhamento por espectroscopia óptica observou-se a diminuição das intensidades das absorbâncias e um deslocamento da banda de absorção próxima a 520 nm. Sugere-se que este deslocamento para a esquerda (*blue-shift*) está relacionado com o aumento do índice de refração do ambiente circundante ao das nanopartículas (ABBAS et al, 2012; FERREIRA et al, 2017).

**Figura 53. Espectros de UV-Vis do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 5 min, Sistema 5. Os espectros de absorbância tiveram seus valores normalizados.**



Fonte: dados da pesquisa

Figura 54. Acompanhamento por DLS do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 5 min, Sistema 5. a) 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min, (f) 240 min e (g) 24 h



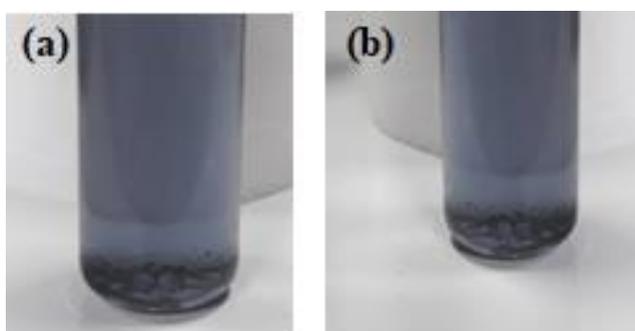
Fonte: dados da pesquisa

A partir dos resultados de tamanho de partícula, obtidos através da análise do espalhamento de luz (DLS), cogita-se que, transcorrido o tempo de contato entre as nanopartículas com os respectivos ligantes, o diâmetro aparente do sistema começou a aumentar, induzindo que houve algum tipo de interação ou aglomeração entre as partículas

(Figura 54). Entretanto, a formação de uma reação de acoplamento pela ação do EDC/NHS pode não ter sido favorecida devido o curto tempo de contato entre estes dois agentes para efetivar seu papel no meio reacional (BINGHAM et al, 2009).

Em termos de coloração, a solução coloidal do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 5 min (Sistema 5) permaneceu a mesma durante todo o período de análise (Figura 55). A cor da solução foi roxa durante todo o tempo de análise (24 h), mas com a presença de precipitado, o que comprova a formação de aglomerados que, sem a presença de NHS, não foram observados.

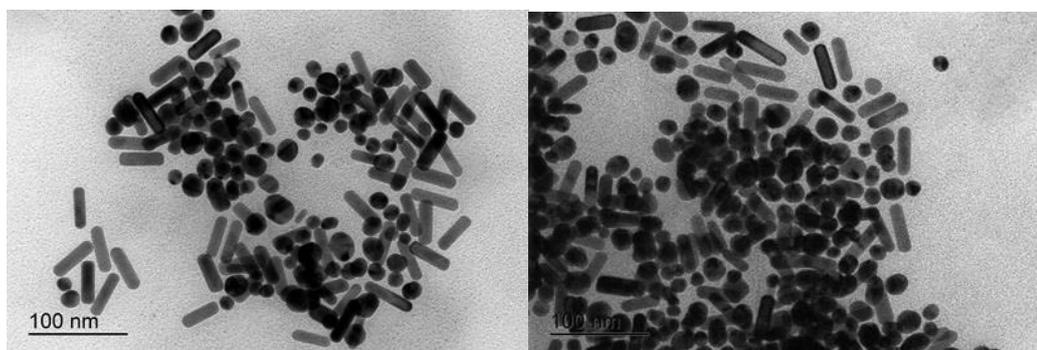
**Figura 55. Imagens da solução coloidal do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 5 min, Sistema 5, no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h**



Fonte: dados da pesquisa

Com o objetivo de verificar se se houve a formação de aglomerados organizados de nanopartículas (automontagem), foi feita análise por TEM, sendo algumas das imagens mostradas na Figura 56. É possível verificar através da análise das imagens que, nas condições utilizadas, não se observa uma aglomeração de partículas com um certo padrão de organização.

**Figura 56. Imagens TEM das nanopartículas presentes no Sistema 5**

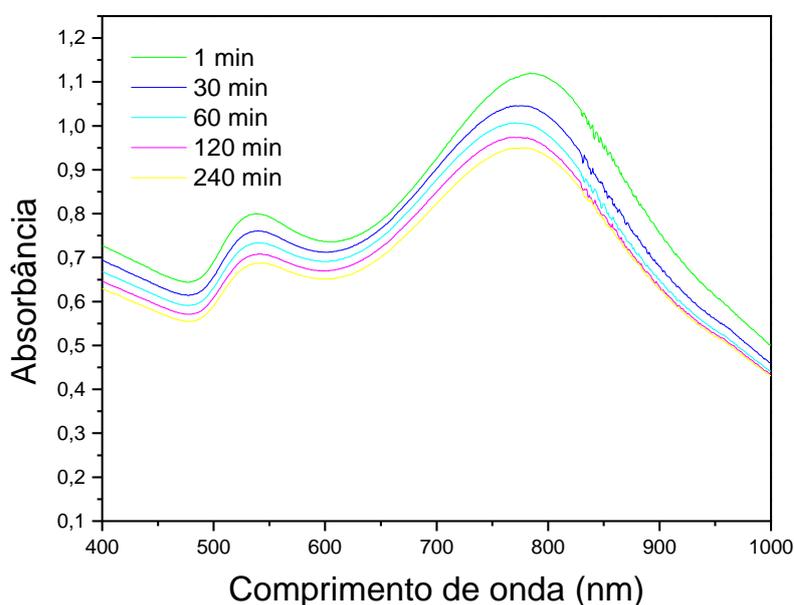


Fonte: dados da pesquisa

Sistema 6: AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 30 min

Este sistema é análogo ao Sistema 5, diferindo apenas no tempo de contato entre os agentes EDC e NHS que foi de 30 min. Os dois sistemas foram misturados e a evolução do Sistema 6 foi monitorada por 24 h, fazendo uso da espectroscopia óptica (Figura 57) e DLS (Figura 58).

**Figura 57. Espectros de UV-Vis do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 30 min, Sistema 6**



Fonte: dados da pesquisa

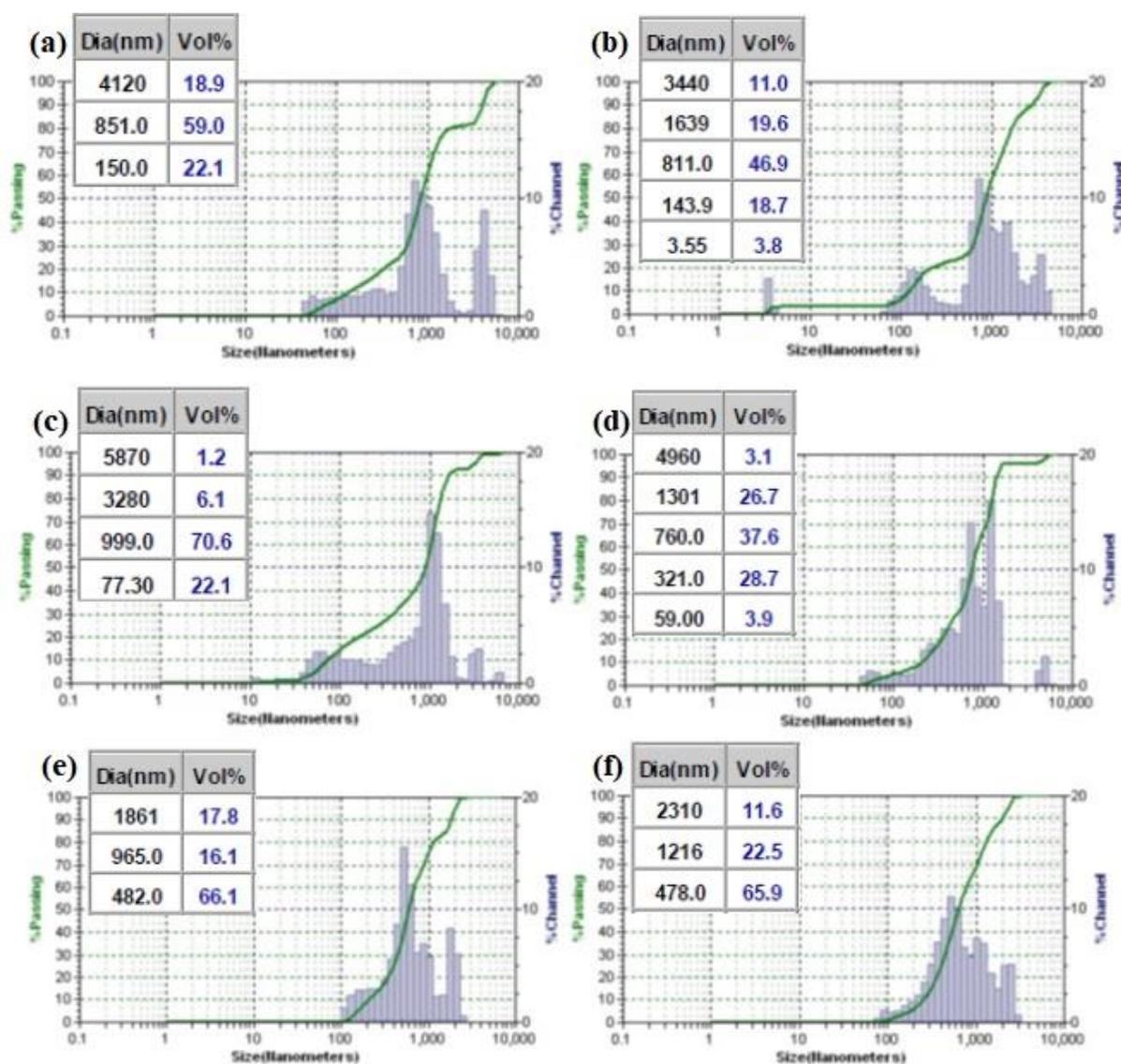
Os espectros de absorção na região do UV-Vis e infravermelho próximo do Sistema 6, em relação ao tempo não apresentaram deslocamentos das bandas de absorção. Nota-se a diminuição de intensidade daquelas que pode estar relacionado com formação de um sistema heteromontado (GÜZEL et al, 2010). De acordo com a Figura 59, o monitoramento do tamanho médio deste sistema pela técnica do DLS pode ser observado.

Os resultados obtidos pela análise do DLS mostram um aumento do diâmetro aparente das nanopartículas em solução com o tempo (de 1 min a 4 h). Entretanto, a coloração da solução do Sistema 6 permaneceu praticamente constante durante todo o decorrer do experimento, percebendo-se um pouco de precipitado após 24 h de reação (Figura 59).

Com o objetivo de verificar se se houve a formação de aglomerados organizados de nanopartículas (automontagem), foi feita análise por TEM, sendo algumas das imagens mostradas na Figura 60.

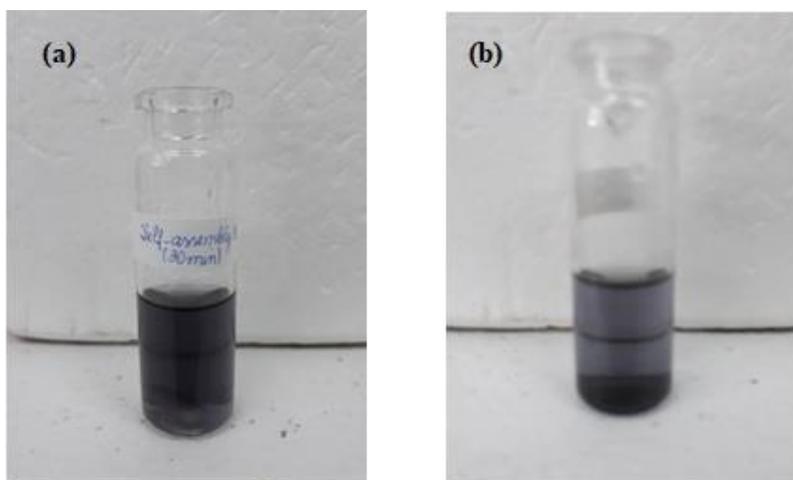
De acordo com as imagens de TEM, foi possível observar interações específicas entre AuNRs e AuNSs de pequeno tamanho (< 5 nm) entorno dos AuNRs com comprimento de aproximadamente 30 nm. Assim, aparentemente, com um tempo maior de contato entre os agentes de conexão EDC/NHS permitiu de um certo modo algum tipo de interação AuNR-AuNS. Assim, decidiu-se aumentar mais o tempo de reação entre AuNR@AMA + EDC/NHS por 1 h.

**Figura 58. Acompanhamento por DLS do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 30 min, Sistema 6. a) 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min e (f) 240 min**



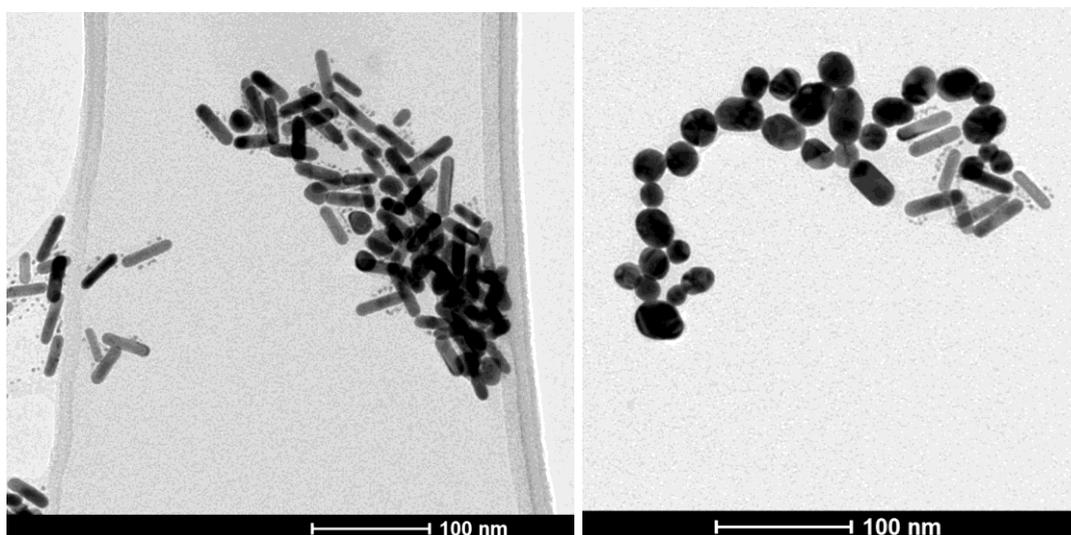
Fonte: dados da pesquisa

**Figura 59.** Imagens da solução coloidal do Sistema 6 no início do processo (a) 1 min e (b) após 24h



Fonte: dados da pesquisa

**Figura 60.** Imagens TEM das nanopartículas presentes no Sistema 6



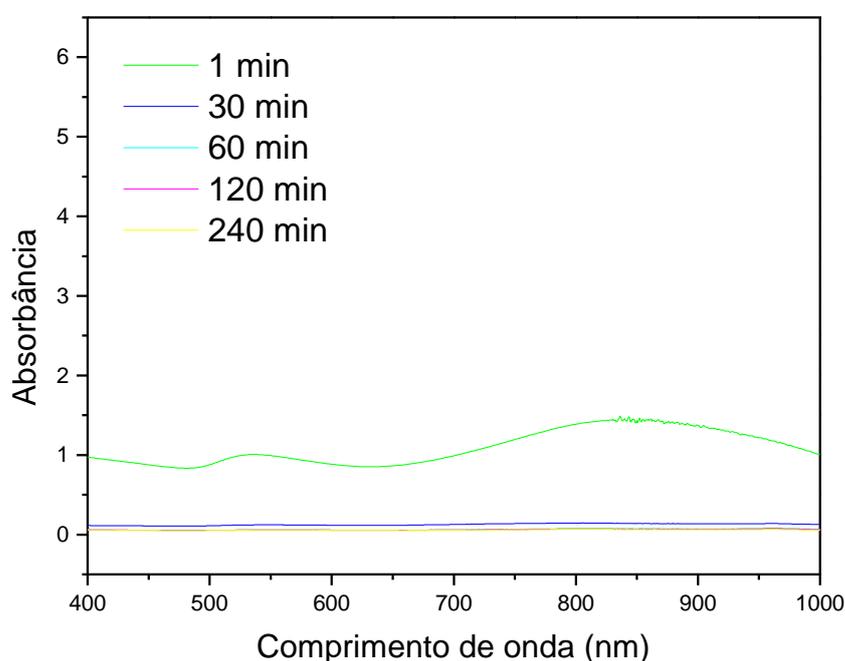
Fonte: dados da pesquisa

Sistema 7: AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 1 h

Este sistema é análogo aos Sistema 5 e 6, porém, o tempo de contato entre o EDC e NHS foi de 1 h. A Figura 61 mostra os espectros de absorção na região do UV-Vis do Sistema 7 em relação ao tempo. Claramente é possível observar o rápido desaparecimento das bandas de absorção na região em estudo, isto é, em menos de 30 min. Isso se deve, muito

provavelmente, a desestabilização do sistema na condição empregada; talvez ocasionado pela presença dos produtos de hidrólise gerados com a decomposição das moléculas de EDC, NHS e seus derivados dentro do tempo de 1 h (BARTCZAK; KANARAS, 2011), provocando o “colapso” do coloide (THERMOFISCHER, 2019).

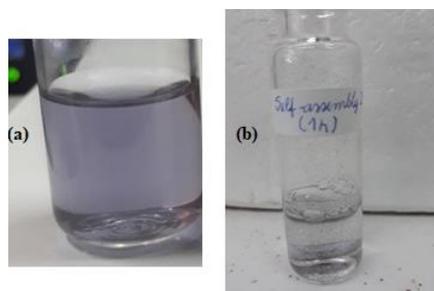
**Figura 61. Espectros de UV-Vis do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 1 h, Sistema 7**



Fonte: dados da pesquisa

Corroborando com a análise de espectroscopia óptica, a cor da solução coloidal do Sistema 7 alterou-se já a partir dos primeiros momentos da mistura dos dois sistemas coloidais. A solução que, inicialmente, era roxa claro ficou incolor e com a formação de um precipitado, decorrentes da aglomeração das partículas presentes (Figura 62).

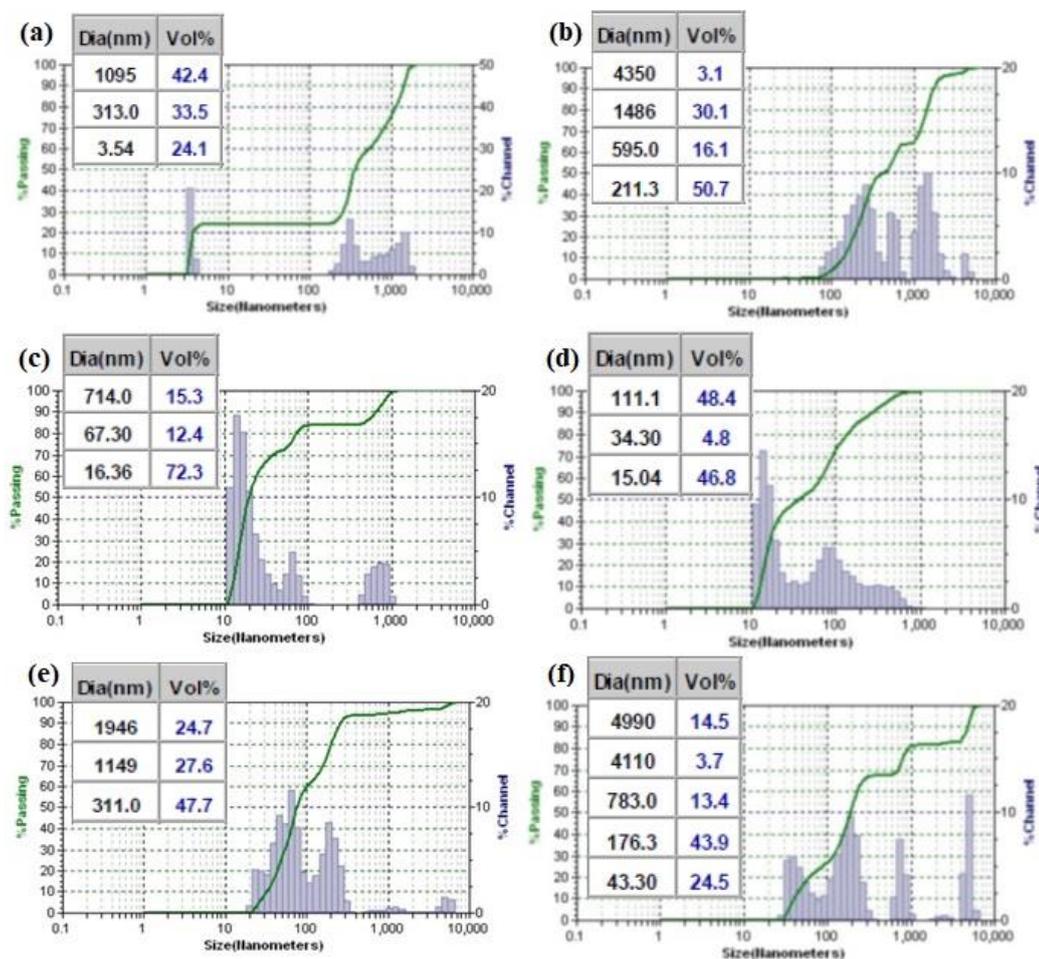
Figura 62. Imagens da solução coloidal do Sistema 7 no início do processo (a) 0 min e (b) após 24h



Fonte: dados da pesquisa

Os resultados obtidos pela análise do DLS mostram um rápido aumento do diâmetro aparente das nanopartículas em solução com o tempo (Figura 63). Os elevados diâmetros hidrodinâmicos são compatíveis com a observação do processo de precipitação.

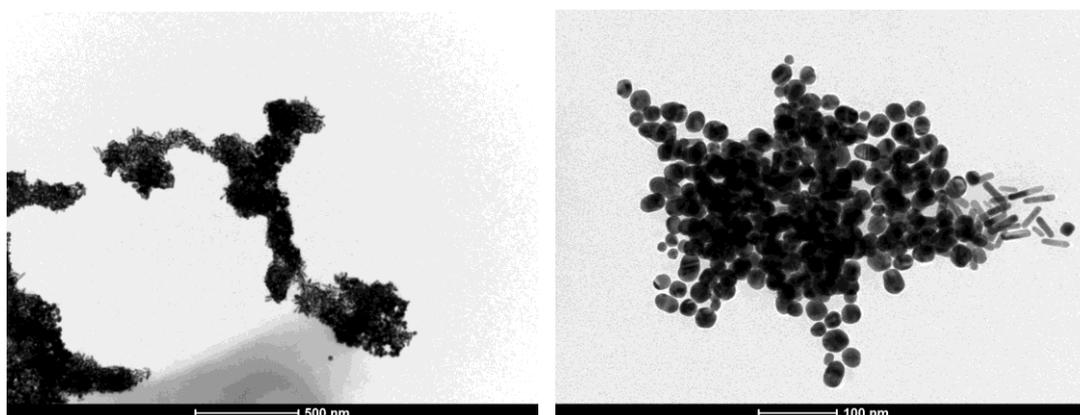
Figura 63. Acompanhamento por DLS do sistema AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 1 h, Sistema 7. a) 1 min, (b) 30 min, (c) 60 min, (d) 120 min, (e) 180 min e (f) 240 min



Fonte: dados da pesquisa

Com o objetivo de verificar se houve a formação de aglomerados organizados de nanopartículas (automontagem), foi feita análise por TEM, sendo algumas das imagens das partículas e arranjo das mesmas são mostradas na Figura 64. A partir das imagens de TEM, é possível verificar que uma maior tempo de reação (1 h) dos reagentes EDC e NHS, não proporcionou qualquer tipo de organização ou interação entre AuNRs e AuNSs. De fato, como mencionado anteriormente, um maior tempo de reação deve estar permitindo a decomposição dos derivados gerados com a ativação do grupo -COOH do agente funcionalizante AMA sobre os AuNRs, não permitindo a formação da ligação amídica (C-N) entre as moléculas ancoradas de CYS e AMA.

**Figura 64. Imagens TEM do Sistema 7**



Fonte: dados da pesquisa

Em suma, após avaliação dos sete sistemas planejados para a geração de automontagem específica entre AuNRs e AuNSs, acredita-se que mais estudos devem ser realizados, buscando-se otimizar os tempos próximos a 30 min, pois nesse tempo verifica-se interações entre AuNRs e AuNSs.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma série de experimentos foram realizados para previsão, identificação e compreensão de processos de automontagem de nanopartículas com morfologias e tamanhos diferentes. A funcionalização das nanopartículas assim como processos de automontagem ocorreu, sendo favorável na condição presente no Sistema 6 (AuNS@CYS / AuNR@AMA + EDC/NHS – 30 min) foi possível observar interações específicas entre AuNSs e AuNRs através da análise por TEM. Cabe lembrar que essas interações específicas podem estar presentes em solução, mas não se repetem na condição sem solvente como na preparação das amostras para a realização das análises de TEM. Vários fatores podem estar contribuindo para ainda não alcançarmos a condição ideal para a observação do sistema automontado a ser observado em condição sem solvente (seca), como planejado. Por exemplo: i) o tipo de ligantes utilizados para sintetizar e estabilizar as NPs (citrato e CTAB); ii) o tamanho da cadeia agente funcionalizante. Essas condições devem ser mais estudadas para o planejamento estratégico do estudo; e iii) a condição de prepara da amostra para análise de TEM.

Neste trabalho, gostaríamos de destacar que o processo de centrifugação para a “lavagem” das NPs é uma das etapas importante antecessora à funcionalização, uma vez que a retirada dos surfactantes/agentes estabilizantes (leia-se, CTAB e citrato de sódio) que estejam em excesso na solução coloidal é fundamental para evitar reações paralelas não desejadas. Contudo, sucessivas lavagens com água deionizada podem provocar a desestabilização do sistema, não permitindo um redispersão adequada das AuNPs.

Vale comentar novamente que o preparo da amostra para análise por TEM é importante, pois a secagem rápida e outros fatores como deposição da amostra podem não favorecer o arranjo desejado das NPs sobre o grid.

O intuito deste trabalho foi buscar estratégias para a fabricação de sistemas nanoestruturado via *self-assembly* (automontagem), utilizando AuNPs funcionalizadas de forma planejada como blocos de construção. Contudo, apesar dos resultados alcançados não serem aqueles inicialmente esperados, foi possível reconhecer os principais gargalos que métodos de heteromontagem de AuNPs podem apresentar e espera-se que com base nessa pesquisa, resultados mais promissores sejam obtidos pelo grupo de pesquisa.

## **7 PERSPECTIVAS**

Um dos aspetos mais interessantes deste trabalho foi a elaboração de estratégias e tentativas para a obtenção de sistemas nanoestruturados, tendo nanopartículas de ouro como bloco de construção. Foi possível observar que sistemas nanoestruturais foram obtidos, entretanto, não de forma controlada e organizada. Diante dos preâmbulos transcorridos, sugere-se que, alternativas sejam realizadas para que se compreenda melhor o mecanismo e demais fatores que influenciam na reação de acoplamento entre as nanopartículas, assim como adotar outros tipos de estratégias e até mudança do meio reacional.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, Abdennour; TIAN, Limei; KATTUMENU, Ramesh; *et al.* Freezing the self-assembly process of gold nanocrystals. **Chem. Commun.**, v. 48, n. 11, p. 1677–1679, 2012.
- ABBAS, M. N. *et al.* A cysteine sensor based on a gold nanoparticle–iron phthalocyanine modified graphite paste electrode. **Analytical Methods**, v. 7, n. 6, p. 2529–2536, 2015.
- ADAMS, F. C.; BARBANTE, C. Nanoscience, nanotechnology and spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 86, p. 3–13, 2013.
- AIZENBERG, J.; BLACK, A. J.; WHITESIDES, G. M. Control of crystal nucleation by patterned self-assembled monolayers. **Nature**, v. 398, n. 6727, p. 495–498, 1999.
- ALAALDIN, M. A., *et al.* Gold nanorods: Their potential for photothermal therapeutics and drug delivery, tempered by the complexity of their biological interactions. **Adv. Drug Delivery Reviews**, v. 64, p.190-199, 2012.
- ALEX, S.; TIWARI, A. Functionalized Gold Nanoparticles: Synthesis, Properties and Applications—A Review. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 3, p. 1869–1894, 2015.
- ALIVISATOS, A. Paul; JOHANSSON, Kai P.; PENG, Xiaogang; *et al.* Organization of “nanocrystal molecules” using DNA. **Nature**, v. 382, n. 6592, p. 609–611, 1996.
- ALVES, E. D.; BELLUCCI, F. S. Nanociência e nanotecnologia aplicadas à área das ciências da saúde: desenvolvimento de metodologias multidisciplinares de ensino no ambiente EaD. **Revista Eletronica Gestão & Saúde**, v. 4, n. 4, 2016.
- BALL, P. **The self-made tapestry: pattern formation in nature**. [2] Reprinted ed. Oxford: Oxford Univ. Press, 2004.
- BART, Jacob; TIGGELAAR, Roald; YANG, Menglong; *et al.* Room-temperature intermediate layer bonding for microfluidic devices. **Lab on a Chip**, v. 9, n. 24, p. 3481, 2009.
- BARTCZAK, Dorota; KANARAS, Antonios G. Preparation of Peptide-Functionalized Gold Nanoparticles Using One Pot EDC/Sulfo-NHS Coupling. **Langmuir**, v. 27, n. 16, p. 10119–10123, 2011.
- BIJU, Vasudevanpillai. Chemical modifications and bioconjugate reactions of nanomaterials for sensing, imaging, drug delivery and therapy. **Chem. Soc. Rev.**, v. 43, n. 3, p. 744–764, 2014.
- BINGHAM, Julia M.; WILLETS, Katherine A.; SHAH, Nilam C.; *et al.* Localized Surface Plasmon Resonance Imaging: Simultaneous Single Nanoparticle Spectroscopy and Diffusional Dynamics. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 113, n. 39, p. 16839–16842, 2009.
- BOISSELIER, E.; ASTRUC, D. Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 6, p. 1759, 2009.

BONABEAU, E.; DORIGO, M.; THERAULAZ, G. Inspiration for optimization from social insect behaviour. **Nature**, v. 406, n. 6791, p. 39–42, 2000.

BRUST, M. et al. Synthesis and reactions of functionalised gold nanoparticles. **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, p.1655-1656, 1995.

BRUST, M. et al. Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in two-phase liquid-liquid system. **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, p. 801-802, 1994.

BUGIEL, Michael; FANTANA, Horatiu; BORMUTH, Volker; *et al.* Versatile microsphere attachment of GFP-labeled motors and other tagged proteins with preserved functionality. **Journal of Biological Methods**, v. 2, n. 4, p. 30, 2015.

CAO, G.; WANG, Y. Nanostructures & nanomaterials: synthesis, properties, and applications. World Scientific, 2011, v. 2, 2ª edição, 581 p.

CAO, Jie; GALBRAITH, Ewan K.; SUN, Tong; *et al.* Effective surface modification of gold nanorods for localized surface plasmon resonance-based biosensors. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 169, p. 360–367, 2012.

CHANG, Jia-Yaw; WU, Huimeng; CHEN, Hui; *et al.* Oriented assembly of Au nanorods using biorecognition system. **Chemical Communications**, n. 8, p. 1092, 2005.

CHANG, W.-S. et al. Radiative and Nonradiative Properties of Single Plasmonic Nanoparticles and Their Assemblies. **Accounts of Chemical Research**, v. 45, n. 11, p. 1936–1945, 2012.

CHEN, Gang; GIBSON, Kyle J.; LIU, Di; *et al.* Publisher Correction: Regioselective surface encoding of nanoparticles for programmable self-assembly. **Nature Materials**, v. 18, n. 2, p. 186–186, 2019.

CHEN, H.; ZHOU, K.; ZHAO, G. Gold nanoparticles: From synthesis, properties to their potential application as colorimetric sensors in food safety screening. **Trends in Food Science & Technology**, v. 78, p. 83–94, 2018.

COLOMBO, M. et al. Biological applications of magnetic nanoparticles. **Chem Soc Rev**, v. 41, n. 11, p. 4306 – 4334, 2012.

COURA, Mariana; ARROYOS, Guilherme; CORREIA, Lilian; *et al.* COMO OBTER NANOPARTÍCULAS DE OURO USANDO SUCO DE LIMÃO? **Química Nova**, 2018.

Disponível em: <

[http://quimicanova.sbq.org.br/audiencia\\_pdf.asp?aid2=6754&nomeArquivo=AR20170486.pdf](http://quimicanova.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=6754&nomeArquivo=AR20170486.pdf)  
>. Acesso em: 24 jan 2019.

DA SILVA, M. G. A. da. Síntese, dinâmica da formação, caracterização e propriedades ópticas de nanobastões de ouro dispersos em meio aquoso e matrizes orgânicas. 2010. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

DA SILVA, M. G. A. et al. New aspects of gold nanorod formation via seed-mediated method. **Comptes Rendus Chimie**, v. 16, n. 7, p. 640–650, 2013.

DANIEL, Marie-Christine; ASTRUC, Didier. Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 1, p. 293–346, 2004.

DE ROSA, C. et al. Microdomain patterns from directional eutectic solidification and epitaxy. **Nature**, v. 405, n. 6785, p. 433–437, 2000.

DISNER, G. R.; CESTARI, M. M. NANOCIÊNCIA & NANOTECNOLOGIA. **Evidência - Ciência e Biotecnologia**, v. 16, n. 1, p. 71–76, 2016.

DUE-HANSEN, Maria E.; PANDEY, Sunil K.; CHRISTIANSEN, Elisabeth; *et al.* A protocol for amide bond formation with electron deficient amines and sterically hindered substrates. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 14, n. 2, p. 430–433, 2016.

DURÁN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. Nanotecnologia: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação. Artliber: São Paulo, 2006, 208 p.

ELAHI, Narges; KAMALI, Mehdi; BAGHERSAD, Mohammad Hadi. Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. **Talanta**, v. 184, p. 537–556, 2018.

EUSTIS, S.; EL-SAYED, M. A. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **Chem. Soc. Rev.**, v. 35, n. 3, p. 209–217, 2006.

FAITH-AZARBAYJANI, A., et al. Novel Vitamin and Gold-Loaded Nanofiber Facial Mask for Topical Delivery. **Pharm. Sci. Tech.**, v. 11, n. 3, p. 1164-1170, 2010.

FAN, M. et al. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) from Au:Ag bimetallic nanoparticles: the effect of the molecular probe. **Chem. Sci.**, v. 4, p. 509-515, 2013.

FANG, F. et al. A Review on Colloidal Self-Assembly and their Applications. **Current Nanoscience**, n. 12, p.725-746, 2016.

FARADAY, M. The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 147, n. 0, p. 145–181, 1857.

FELDHEIN, D. L.; FOSS, C. A. Jr. Metal Particles: Synthesis, Characterization and Applications. Marcel Dekker: Nova Iorque, 2002, 352 p.

FERNANDES, R. et al. Ligand-mediated self-assembly of polymer-enveloped gold nanoparticle chains and networks. **Chemical Communications**, v. 46, n. 40, p. 7602, 2010.

FERREIRA, C. S. et al. Uso de nanobastões de ouro para o desenvolvimento de aulas práticas de nanotecnologia. **Química Nova**, 2017.

FERREIRA, J. et al. Enhanced electrochromic properties of a polypyrrole–indigo carmine–gold nanoparticles nanocomposite. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 17, p. 1234–1240, 2015.

FILHO, P. C. S., SERRA, O. A. Metodologia de síntese em fase líquida para a obtenção de nanomateriais inorgânicos à base de terras raras. **Química Nova**, v. 38, n. 5, p. 679–696, 2015.

FORTES, L. M. et al. Processing optimization and optical properties of 3-D photonic crystals. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 355, n. 18–21, p. 1189–1192, 2009.

FURST, E. M. Directed self-assembly. **Soft Matter**, v. 9, n. 38, p. 9039, 2013.

GRÖSCHEL, A. H.; MÜLLER, A. H. E. Self-assembly concepts for multicompartment nanostructures. **Nanoscale**, v. 7, n. 28, p. 11841–11876, 2015.

GRUMEZESCU, Alexandru Mihai. **Fabrication and self assembly of nanobiomaterials: applications of nanobiomaterials**. Boston, MA: Elsevier, 2016.

GRZELCZAK, M. et al. Directed Self-Assembly of Nanoparticles. **ACS Nano**, n.4, v. 7, p. 3591–3605, 2010.

GRZELCZAK, M.; SÁNCHEZ-IGLESIAS, A.; LIZ-MARZÁN, L. M. Solvent-induced division of plasmonic clusters. **Soft Matter**, v. 9, n. 38, p. 9094, 2013.

GRZYBOWSKI, B. A. et al. Modeling of Menisci and Capillary Forces from the Millimeter to the Micrometer Size Range. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 105, n. 2, p. 404–412, 2001.

GÜZEL, Remziye; ÜSTÜNDAĞ, Zafer; EKŞİ, Haslet; *et al.* Effect of Au and Au@Ag core–shell nanoparticles on the SERS of bridging organic molecules. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 351, n. 1, p. 35–42, 2010.

GWO, Shangjr; CHEN, Hung-Ying; LIN, Meng-Hsien; *et al.* Nanomanipulation and controlled self-assembly of metal nanoparticles and nanocrystals for plasmonics. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 20, p. 5672–5716, 2016.

HAGHI, A. (ED.). **Nanostructure, Nanosystems, and Nanostructured Materials: Theory, Production and Development**. [s.l.] Apple Academic Press, 2013.

HÄKKINEN, Hannu. The gold–sulfur interface at the nanoscale. **Nature Chemistry**, v. 4, n. 6, p. 443–455, 2012.

HER, S.; JAFFRAY, D. A.; ALLEN, C. Gold nanoparticles for applications in cancer radiotherapy: Mechanisms and recent advancements. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 109, p. 84–101, 2017.

HESS, B. Periodic patterns in biology. **Naturwissenschaften**, v. 87, n. 5, p. 199–211, 2000.

HOMBERGER, M.; SIMON, U. On the application potential of gold nanoparticles in nanoelectronics and biomedicine. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 368, n. 1915, p. 1405–1453, 2010.

HU, C.; DOU, W.; ZHAO, G. Enzyme immunosensor based on gold nanoparticles electroposition and Streptavidin-biotin system for detection of *S. pullorum* & *S. gallinarum*. **Electrochimica Acta**, v. 117, p. 239–245, 2014.

HUANG, Xiaohua; EL-SAYED, Mostafa A. Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. **Journal of Advanced Research**, v. 1, n. 1, p. 13–28, 2010.

HUANG, Xiaohua; NERETINA, Svetlana; EL-SAYED, Mostafa A. Gold Nanorods: From Synthesis and Properties to Biological and Biomedical Applications. **Advanced Materials**, v. 21, n. 48, p. 4880–4910, 2009.

HUANG, Xiaohua; JAIN, Prashant K.; EL-SAYED, Ivan H.; *et al.* Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles. **Lasers in Medical Science**, v. 23, n. 3, p. 217–228, 2008.

HULTEEN, J. C.; TREICHEL, D. A.; SMITH, M. T.; *et al.* Nanosphere lithography: Size-tunable silver nanoparticle and surface cluster arrays. **Journal of Physical Chemistry B**, v.103, p.3854–3863, 1999.

JACKMAN, J. A.; RAHIM FERHAN, A.; CHO, N.-J. Nanoplasmonic sensors for biointerfacial science. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 12, p. 3615–3660, 2017.

JAZAYERI, Mir Hadi; AMANI, Hamed; POURFATOLLAH, Ali Akbar; *et al.* Various methods of gold nanoparticles (GNPs) conjugation to antibodies. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 9, p. 17–22, 2016.

JONES, M. N.; CHAPMAN, D. **Micelles, monolayers, and biomembranes**. New York: Wiley-Liss, 1995.

JOOS, Beda; KUSTER, Herbert; CONE, Richard. Covalent Attachment of Hybridizable Oligonucleotides to Glass Supports. **Analytical Biochemistry**, v. 247, n. 1, p. 96–101, 1997.

JUNQUEIRA, J. S. S.; SILVA, P. P.; GUERRA, W. Ouro. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 45–46, 2012.

KHANAL, Bishnu P.; ZUBAREV, Eugene R. Rings of Nanorods. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 13, p. 2195–2198, 2007.

KINNEAR, Calum; CADUSCH, Jasper; ZHANG, Heyou; *et al.* Directed Chemical Assembly of Single and Clustered Nanoparticles with Silanized Templates. **Langmuir**, v. 34, n. 25, p. 7355–7363, 2018.

KITCHING, H. *et al.* Self-assembly of metallic nanoparticles into one dimensional arrays. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 1, n. 24, p. 6985, 2013.

KOTOV, Nicholas A. Self-assembly of inorganic nanoparticles: Ab ovo. **EPL (Europhysics Letters)**, v. 119, n. 6, p. 66008, 2017.

LAMER, V. K., DENEGAR, R. H. Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 72, n. 11, p. 4847 – 4854, 1950.

LEE, Won Chul; KIM, Byung Hyo; CHOI, Sun; *et al.* Liquid Cell Electron Microscopy of Nanoparticle Self-Assembly Driven by Solvent Drying. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 8, n. 3, p. 647–654, 2017.

LEUNG, Frankie Chi-Ming; LEUNG, Sammual Yu-Lut; CHUNG, Clive Yik-Sham; *et al.* Metal–Metal and  $\pi$ – $\pi$  Interactions Directed End-to-End Assembly of Gold Nanorods. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 9, p. 2989–2992, 2016.

LI, Di; QI, Limin. Self-assembly of inorganic nanoparticles mediated by host-guest interactions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 35, p. 59–67, 2018.

LI, Dongxiang; HE, Qiang; CUI, Yue; *et al.* Immobilization of glucose oxidase onto gold nanoparticles with enhanced thermostability. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 355, n. 2, p. 488–493, 2007.

LI, Fangyuan; LU, Jingxiong; KONG, Xueqian; *et al.* Dynamic Nanoparticle Assemblies for Biomedical Applications. **Advanced Materials**, v. 29, n. 14, p. 1605897, 2017.

LI, N.; ZHAO, P.; ASTRUC, D. Anisotropic Gold Nanoparticles: Synthesis, Properties, Applications, and Toxicity. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 53, n. 7, p. 1756–1789, 2014.

LIU, J. *et al.* Stable silica-coated self-assembly of gold nanorods: synthesis and plasmonic properties. **Superlattices and Microstructures**, v. 110, p. 191–197, 2017.

LOGUERCIO, L. F. *et al.* Enhanced electrochromic properties of a polypyrrole–indigo carmine–gold nanoparticles nanocomposite. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 2, p. 1234–1240, 2015.

LOUDET, J.-C.; BAROIS, P.; POULIN, P. Colloidal ordering from phase separation in a liquid- crystalline continuous phase. **Nature**, v. 407, n. 6804, p. 611–613, 2000.

LUKMAN, A. I. *et al.* Facile synthesis, stabilization, and anti-bacterial performance of discrete Ag nanoparticles using *Medicago sativa* seed exudates. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 353, n. 2, p. 433–444, 2011.

MA, Y. *et al.* Colorimetric sensing strategy for mercury(ii) and melamine utilizing cysteamine-modified gold nanoparticles. **The Analyst**, v. 138, n. 18, p. 5338, 2013.

MADHAVAN, G. Book Review: Introduction to Nanotechnology. By Charles P. Poole Jr. and Frank J. Owens. Wiley-Interscience, New York. 2003. 400 p.

MARISCA, O. T. *et al.* Comparison of the *in vitro* uptake and toxicity of collagen- and synthetic polymer-coated gold nanoparticles. **Nanomaterials**, v. 5, p. 1418–1430, 2015.

MARTINS, M. A.; TRINDADE, T. Os nanomateriais e a descoberta de novos mundos na bancada do químico. **Química Nova**, v. 35, n. 7, p. 1434–1446, 2012.

MAXIMINO, F. L. Caracterização de Plasmons de Superfícies em filmes de metais nobres através de tunelamento ótico. 2011. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MAYER, Kathryn M.; HAFNER, Jason H. Localized Surface Plasmon Resonance Sensors. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 6, p. 3828–3857, 2011.

MELO JR., M. A. et al. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872–1878, 2012.

MILLER, D. R.; AKBAR, S. A.; MORRIS, P. A. Corrigendum to “Nanoscale metal oxide-based heterojunctions for gas sensing: A review” [Sens. Actuators B: Chem. 204 (2014) 250–272]. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 211, p. 569–570, 2015.

MIRKIN, C. A., PERSONICK, M. L. Making sense of the mayhem behind shape control in the synthesis of gold nanoparticles. **Jour. Amer. Chem. Soc.**, v. 135, p. 18238 – 18247, 2013.

MIRKIN, Chad A.; LETSINGER, Robert L.; MUCIC, Robert C.; *et al.* A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. **Nature**, v. 382, n. 6592, p. 607–609, 1996.

MIRKIN, Chad A.; LETSINGER, Robert L.; MUCIC, Robert C.; *et al.* A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. **Nature**, v. 382, n. 6592, p. 607–609, 1996.

MIRZA, Agha Zeeshan; SHAMSHAD, Hina. A versatile approach for the functionalization of gold nanorods and nanoparticles. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 15, n. 1, 2013.

MOON, R. J. et al. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 7, p. 3941, 2011.

MURPHY, C. J.; JANA, N. R.; GEARHEART, L. Seeding Growth for Size Control of 5–40 nm Diameter Gold Nanoparticles. **Langmuir**, v. 17, n. 22, p. 6782–6786, 2001.

NANOCOMPOSIX. **Gold Nanoparticles: Optical Properties**. nanoComposix. Disponível em: <<https://nanocomposix.com/pages/gold-nanoparticles-optical-properties>>. Acesso em: 29 abr. 2019.

NIE, Z.; PETUKHOVA, A.; KUMACHEVA, E. Properties and emerging applications of self-assembled structures made from inorganic nanoparticles. **Nature Nanotechnology**, v. 5, n. 1, p. 15–25, 2010.

NIETZOLD, C.; LISDAT, F. Fast protein detection using absorption properties of gold nanoparticles. **The Analyst**, v. 137, n. 12, p. 2821, 2012.

NIKOBAKHT, Babak; EL-SAYED, Mostafa A. Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 10, p. 1957–1962, 2003.

- NIMSE, Satish; SONG, Keumsoo; SONAWANE, Mukesh; *et al.* Immobilization Techniques for Microarray: Challenges and Applications. **Sensors**, v. 14, n. 12, p. 22208–22229, 2014.
- OLIVEIRA, M. C. et al. Interface dependent plasmon induced enhancement in dye-sensitized solar cells using gold nanoparticles. **J. Nanomater**, v. 16, n. 1, 2015, p. 9 -29, 2015.
- PARVEEN, R. Síntese de nanopartículas de ouro com forma e tamanho controlados utilizando glycerol como agente de redução e estabilização ecológico e de baixo custo. 2017. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- PEREIRA, D. A. Síntese e funcionalização de nanopartículas de ouro para a formação de bionanoconjugados para o desenvolvimento de biossensores. 2014. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciência da Universidade do Porto, Porto.
- PEREIRA, F. C. et al. Características ópticas e morfológicas de nanoestruturas de ouro. **Química Nova**, v. 30, n. 7, 2007.
- PRIYADARSHINI, E.; PRADHAN, N. Gold nanoparticles as efficient sensors in colorimetric detection of toxic metal ions: A review. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 238, p. 888–902, 2017.
- RANA, S. et al. Monolayer coated gold nanoparticles for delivery applications. **Adv. Drug Delivery Reviews**, v. 64, p.200-216, 2012.
- RANGEL, M. C., FERREIRA, H. S. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Quim. Nova**, v. 32, n. 7, p. 1860-1870, 2009.
- RAO, C. N. R., MÜLLER, A., CHEETHAM, A. K. Nanomaterials Chemistry: Recent Developments and New Directions. Wiley-VCH, 2007, 420 p.
- REDDY, Narendra; REDDY, Roopa; JIANG, Qiuran. Crosslinking biopolymers for biomedical applications. **Trends in Biotechnology**, v. 33, n. 6, p. 362–369, 2015.
- SANTOS, J. F. L. et al. Ressonância de Plamon de Superfície Localizado e Aplicação em Biossensores e Células Solares. **Química Nova**, v. 39, n. 9, p. 1098-1111, 2016.
- SCHULZ, F. et al. Little Adjustments Significantly Improve the Turkevich Synthesis of Gold Nanoparticles. **Langmuir**, v. 30, n. 35, p. 10779–10784, 2014.
- SEMPIONATTO, J. R. et al. Polymer Brush Modified Electrode with Switchable Selectivity Triggered by pH Changes Enhanced by Gold Nanoparticles. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2014.
- SENGANI, M.; GRUMEZESCU, A. M.; RAJESWARI, V. D. Recent trends and methodologies in gold nanoparticle synthesis – A prospective review on drug delivery aspect. **OpenNano**, v. 2, p. 37–46, 2017.

SHAW, C. P. et al. Statistical Correlation Between SERS Intensity and Nanoparticle Cluster Size. **J. Phys. Chem**, v. 117, p. 16596–16605, 2013.

SILVA, E. Z. DA. Nanociência: a próxima grande ideia? **Revista USP**, v. 0, n. 76, p. 78-87, 2008.

SILVA, F. O. et al. O estado da arte da síntese de semicondutores nanocristalinos coloidais. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1933–1939, 2010.

SIMONS, R. L. Jack R. Anderson, MD (1917-1992). **Archives of Facial Plastic Surgery**, v. 2, n. 4, p. 288–289, 1 out. 2000.

SINGAMANENI, S. et al. Magnetic nanoparticles: recent advances in synthesis, self-assembly and applications. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, n. 42, p. 16819, 2011.

SOARES, L. R. P. D. Nanopartículas de ouro anisométricas como nanossondas para a identificação do polimorfismo de DNA associado à Intolerância à Lactose. 2016. Tese (Doutorado em Química Sustentável) – Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade de Nova de Lisboa, Portugal.

SOBCZAK, I. et al. The role of chlorine in the generation of catalytic active species located in Au-containing MCM-41 materials. **Journal of Catalysis**, v. 245, n. 2, p. 259–266, 2007.

SONIA; KOMAL; KUKRETI, Shrikant; *et al.* Exploring the DNA damaging potential of chitosan and citrate-reduced gold nanoparticles: Physicochemical approach. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, p. 801–810, 2018.

SPERLING, R. A.; PARAK, W. J. Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 368, n. 1915, p. 1333–1383, 2010.

SRINIVASAN, U.; LIEPMANN, D.; HOWE, R. T. Microstructure to substrate self-assembly using capillary forces. **Journal of Microelectromechanical Systems**, v. 10, n. 1, p. 17–24, 2001.

STONES, Daniel H.; AL-SAEDI, Fitua; VAZ, Diana; *et al.* Biomimetic Materials to Characterize Bacteria-host Interactions. **Journal of Visualized Experiments**, n. 105, 2015.

SUTTER, Eli; ZHANG, Bo; SUTTER, Stephan; *et al.* *In situ* electron microscopy of the self-assembly of single-stranded DNA-functionalized Au nanoparticles in aqueous solution. **Nanoscale**, v. 11, n. 1, p. 34–44, 2019.

TALLURY, P. et al. Nanobioimaging and sensing of infectious diseases. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 62, p. 424 – 437, 2010.

TAN, Junjun; LIU, Ruigang; WANG, Wen; *et al.* Controllable Aggregation and Reversible pH Sensitivity of AuNPs Regulated by Carboxymethyl Cellulose. **Langmuir**, v. 26, n. 3, p. 2093–2098, 2010.

TEIXEIRA, P. R. Estrutura e propriedades de nanopartículas de ouro sintetizadas na presença de polímeros. 2016. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Químicas e Biológicas) — Universidade de Brasília, Brasília.

Thermofisher. **Thermo Scientific Crosslinking Technical Handbook**. Disponível em: <[https://www.thermofisher.com/content/dam/LifeTech/Images/integration/1602163\\_CrosslinkingHB\\_lores.pdf](https://www.thermofisher.com/content/dam/LifeTech/Images/integration/1602163_CrosslinkingHB_lores.pdf)> Acesso em: 30 mar. 2019.

THORKESSON, K.; BAI, P.; XU, T. Self-assembly and applications of anisotropic nanomaterials: A review. **Nano Today**, v. 10, n. 1, p. 48–66, 2015.

TISCHER, C. A., TISCHER-FARIA, P. C. S. Nanobiotechnology: platform technology for biomaterials and biological applications the nanostructures. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 1, n. 1, p. 32-53, 2012.

TRONCI, G. et al. Wet-spinnability and crosslinked fibre properties of two collagen polypeptides with varied molecular weight. **Inter. Journ. of Biological Macromolecules**, v. 81, p.112–120, 2015.

TURKEVICH, J., STEVENSON, P. C., HILLERE, J. A Study of the Nucleation and Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold. **Discuss. Faraday Soc**, v. 11, p. 55–75, 1951. USKOKOVIC, V. *Nanotechnologies: What we do not know*. **Technology in Society**, v. 29, n.1, p. 43-61, 2007.

VALEUR, Eric; BRADLEY, Mark. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. **Chem. Soc. Rev.**, v. 38, n. 2, p. 606–631, 2009.

VEPREK, R. G. et al. Erratum to “Non-linear finite element constitutive modeling of mechanical properties of hard and superhard materials studied by indentation”. **Materials Science and Engineering: A**, v. 448, n. 1–2, p. 366–378, 2007.

VILAIN, Claire; GOETTMANN, Frédéric; MOORES, Audrey; *et al.* Study of metal nanoparticles stabilised by mixed ligand shell: a striking blue shift of the surface-plasmon band evidencing the formation of Janus nanoparticles. **Journal of Materials Chemistry**, v. 17, n. 33, p. 3509, 2007.

WANG, C.-H.; CHANG, C.-W.; PENG, C.-A. Gold nanorod stabilized by thiolated chitosan as photothermal absorber for cancer cell treatment. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 13, n. 7, p. 2749–2758, 2011.

WANG, D. H. et al. Enhancement of Donor-Acceptor Polymer Bulk Heterojunction Solar Cell Power Conversion Efficiencies by Addition of Au Nanoparticles. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 24, p. 5519–5523, 2011.

WANG, J. et al. Localized surface plasmon resonance of gold nanorods and assemblies in the view of biomedical analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 429–443, 2016.

WANG, L., FAN, J. Nanofluids research: key issues. **Nanoscale Research Letters**, v. 5, n. 8, p. 1241–1252, 2010.

WANG, W. et al. Role of thiol-containing polyethylene glycol (thiol-PEG) in the modification process of gold nanoparticles (AuNPs): Stabilizer or coagulant? **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 404, p. 223–229, 2013.

WANG, Y.; LEE, K.; IRUDAYARAJ, J. SERS aptasensor from nanorod–nanoparticle junction for protein detection. **Chem. Commun.**, v. 46, n. 4, p. 613–615, 2010.

WANGOO, N. et al. Synthesis and capping of water-dispersed gold nanoparticles by an amino acid: Bioconjugation and binding studies. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 323, n. 2, p. 247–254, 2008.

WEI, Jinjian; NIKURA, Kenichi; HIGUCHI, Takeshi; *et al.* Yolk/Shell Assembly of Gold Nanoparticles by Size Segregation in Solution. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 10, p. 3274–3277, 2016.

WELCH, C.M., COMPTON, R.G. *The use of nanoparticles in electroanalysis: a review.* **Anal. Bioanal. Chem**, v. 384, p. 601–619, 2006.

WHITESIDES, G. M., GRZYBOWSKI, B. A. Self-Assembly at All Scales. **Science**, v. 295, n. 5564, p. 2418–2421, 2002.

WONG, Shan S; JAMESON, David M; WONG, Shan S. **Chemistry of protein and nucleic acid cross-linking and conjugation.** Boca Raton: Taylor & Francis/CRC Press, 2012.

XIA, Y. et al. Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanocrystals: Simple Chemistry Meets Complex Physics? **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, n. 1, p. 60–103, 2009.

XU, Z. et al. A Review on Colloidal Self-Assembly and their Applications. **Current Nanoscience**, v. 12, n. 6, p. 725–746, 2016.

XUE, Yurui; LI, Xun; LI, Hongbin; *et al.* Quantifying thiol–gold interactions towards the efficient strength control. **Nature Communications**, v. 5, n. 1, 2014.

YAN, Cong; WANG, Tie. A new view for nanoparticle assemblies: from crystalline to binary cooperative complementarity. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 5, p. 1483–1509, 2017.

YAN, Hao; CHOE, Hwan Sung; NAM, SungWoo; *et al.* Programmable nanowire circuits for nanoprocessors. **Nature**, v. 470, n. 7333, p. 240–244, 2011.

YANG, Da-Peng; CUI, Da-Xiang. Advances and Prospects of Gold Nanorods. **Chemistry - An Asian Journal**, v. 3, n. 12, p. 2010–2022, 2008.

YANG, Xianzhong; LI, Jing; ZHAO, Yuxin; *et al.* Self-assembly of Au@Ag core–shell nanocuboids into staircase superstructures by droplet evaporation. **Nanoscale**, v. 10, n. 1, p. 142–149, 2018.

YIN, D. et al. Gold nanoparticles deposited on mesoporous alumina for epoxidation of styrene: Effects of the surface basicity of the supports. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, 2005.

YIN, Z. et al. Photothermal Therapy: Construction of Stable Chainlike Au Nanostructures via Silica Coating and Exploration for Potential Photothermal Therapy (Small 18/2014). **Small**, v. 10, n. 18, p. 3593–3593, 2014.

YIN, Zhen; ZHANG, Wei; FU, Qiang; *et al.* Photothermal Therapy: Construction of Stable Chainlike Au Nanostructures via Silica Coating and Exploration for Potential Photothermal Therapy (Small 18/2014). **Small**, v. 10, n. 18, p. 3593–3593, 2014.

YU, W., XIE, H. A Review on Nanofluids: Preparation, Stability Mechanisms, and Applications. **Journal of Nanomaterials**, v. 2012, p. 1 – 17, 2012.

ZABARA, Mohammed. **Metallic Nanoparticles, part II (Top- Down and Bottom-Up)**. Disponível em: <<https://nanografi.com/blog/metallic-nanoparticles-part-ii-top-down-and-bottomup/>> Acesso em: 12 out. 2018.

ZANG, W. et al. Catalytic hydrogenation by noble-metal nanocrystals with well-defined facets: a review. **Catalysis Science & Technology**, v. 5, n. 5, p. 2532–2553, 2015.

ZHANG, L. et al. Light-Triggered Reversible Self-Assembly of Gold Nanoparticle Oligomers for Tunable SERS. **Langmuir**, v. 31, n. 3, p. 1164–1171, 2015.

ZHAO, Liang; JIN, Yin; YAN, Zhangwei; *et al.* Novel, highly selective detection of Cr(III) in aqueous solution based on a gold nanoparticles colorimetric assay and its application for determining Cr(VI). **Analytica Chimica Acta**, v. 731, p. 75–81, 2012.

# ANEXOS

## Anexo I

Átomos de ouro presentes nas nanopartículas**1ª PARTE****Nanobastões (com CTAB)**

1º Cálculo da concentração de Au que há na solução padrão.

- Concentração de Au na solução estoque a 1%: 25mM.

- Utiliza-se 2mL da solução estoque.

- Volume final da síntese: 77,8mL (48mL H<sub>2</sub>O, 2mL HAuCl<sub>4</sub>, 25mL CTAB, 0,7mL ácido ascórbico, 0,6mL *seed*).

Logo,

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \rightarrow 25\text{mM } 2\text{mL} = C_2 77,8\text{mL} \rightarrow C_2 = 0,643\text{mM}$$

2º Determinar a quantidade de Au em mol para o volume de 10mL(utilizado para centrifugação) da solução de crescimento.

$$C = n/V, \text{ sendo } n = m/MM. \text{ Logo, } C = n/(MM V) \rightarrow 0,643 \times 10^{-3} \text{M} = n / (197 \times 10^{-2} \text{L})$$

$$n = 1,27 \times 10^{-3} \text{mol de Au}$$

3º Multiplicando pela constante de Avogadro.

$$(1,27 \times 10^{-3} \text{mol}) \times (6,02 \times 10^{23} \text{mol}^{-1}) = 7,645 \times 10^{20} \text{ átomos de Au}$$

**Nanesferas (com citrato)**

1º Cálculo da concentração de Au que há na solução padrão.

- Concentração de Au na solução estoque a 1%: 25mM.

- Utiliza-se 3,5mL da solução estoque.

- Volume final da síntese: 146mL (140mL H<sub>2</sub>O, 2,5mL citrato, 3,5mL HAuCl<sub>4</sub>)

Logo,

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \rightarrow 25\text{mM } 3,5\text{mL} = C_2 146\text{mL} \rightarrow C_2 = 0,5993\text{mM}$$

2º Determinar a quantidade de Au em mol para o volume de 5mL

$$C = n/V, \text{ sendo } n = m/MM. \text{ Logo, } C = n/(MM V) \rightarrow 0,5993 \times 10^{-3} \text{M} = n / (197 \times 0,005 \text{L})$$

$$n = 5,903 \times 10^{-4} \text{mol de Au}$$

3º Multiplicando pela constante de Avogadro.

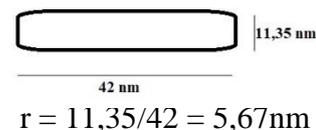
$$(5,903 \times 10^{-4} \text{mol}) \times (6,02 \times 10^{23} \text{mol}^{-1}) = 3,553 \times 10^{20} \text{ átomos de Au}$$

## 2ª PARTE

### Nanobastões

Nota: assumindo que as dimensões são 42x11,35nm

$$V_{\text{cilindro}} = \pi r^2 h \rightarrow 3,14 (5,67)^2 42 = 4239,79 \text{ nm}^3$$



- Determinar o volume do átomo de Au.

Cálculo do raio atômico (calculado) = 174 pm. Se 1 pm =  $10^{-3}$ nm, então: 174 pm = 0,174 nm

$$V_{\text{esfera}} = (4 \pi r^3) / 3 \rightarrow 4 (3,14) (0,174)^3 / 3 \rightarrow 0,022 \text{ nm}^3$$

Para determinar quantos átomos de Au há por nanobastões, divide o  $V_{\text{cilindro}}$  pelo  $V_{\text{esfera}}$ :

$$4239,79 \text{ nm}^3 / 0,022 \text{ nm}^3 = 1,93 \times 10^5 \text{ átomos de Au}$$

### Nanesferas

Nota: assumindo que as esferas tem tamanho médio de 20 nm

$$V_{\text{esfera}} = (4 \pi r^3) / 3 \rightarrow 4 (3,14) (10\text{nm})^3 / 3 \rightarrow 4186,67 \text{ nm}^3$$

Sabendo que, o  $V_{\text{átomo de Au}} = 0,022 \text{ nm}^3$ . Para obter a quantidade de átomos presentes nas nanoesferas, divide-se:

$$4186,67 \text{ nm}^3 / 0,022 \text{ nm}^3 = 1,90 \times 10^5 \text{ átomos de Au}$$

## 3ª PARTE

### Nanobastões

- Determinar a quantidade de nanobastões em 10 mL de solução:

Tem-se, teoricamente,  $7,645 \times 10^{20}$  átomos de Au na solução padrão (vide 1ª PARTE).

Em um nanobastão há, teoricamente,  $1,93 \times 10^5$  átomos de Au (vide 2ª PARTE).

Logo,

$$(7,645 \times 10^{20} \text{ átomos de Au}) / (1,93 \times 10^5 \text{ átomos de Au}) = 3,961 \times 10^{15} \text{ nanobastões}$$

- Precisa-se determinar a quantidade de átomos de Au na superfície de cada nanobastão:

Considerando as duas áreas do cilindro:  $A_L$  e  $A_B$ .

$$A_{\text{total}} = A_L + A_B \rightarrow A_{\text{total}} = (2 \pi r h) + (2 \pi r^2) = 2 \pi r (h + r). \text{ Assim,}$$

$$2 (3,14) (5,67 \text{ nm}) [(42 \text{ nm} + 5,67 \text{ nm})] = 1697,41 \text{ nm}^2$$

- Determinando a área que um átomo de Au ocupa no nanobastão:

$$\text{Sabendo que a } A_{\text{círculo}} = \pi r^2 \rightarrow 3,14 (0,174 \text{ nm})^2 = 0,095 \text{ nm}^2$$

Logo,

$A_{\text{total}} / A_{\text{círculo}} = 1697,41 \text{ nm}^2 / 0,095 \text{ nm}^2 = 17867$  átomos de Au na superfície de um nanobastão

### Nanoesferas

- Determinar a quantidade de nanoesferas em 5 mL de solução:

Tem-se, teoricamente,  $3,553 \times 10^{20}$  átomos de Au na solução padrão (vide 1ª PARTE).

Em um nanoesferas há, teoricamente,  $1,90 \times 10^5$  átomos de Au (vide 2ª PARTE).

Logo,

$$(3,553 \times 10^{20} \text{ átomos de Au}) / (1,90 \times 10^5 \text{ átomos de Au}) = 1868 \times 10^{15} \text{ nanoesferas}$$

- Precisa-se determinar a quantidade de átomos de Au na superfície de cada nanoesferas:

$$A_{\text{esfera}} = 4 \pi r^2 \rightarrow 4 (3,14) (10 \text{ nm})^2 = 1256 \text{ nm}^2$$

- Determinando a área que um átomo de Au ocupa no nanoesfera:

$$\text{Sabendo que a } A_{\text{círculo}} = \pi r^2 \rightarrow 3,14 (0,174 \text{ nm})^2 = 0,095 \text{ nm}^2$$

Logo,

$A_{\text{esfera}} / A_{\text{círculo}} \rightarrow 1256 \text{ nm}^2 / 0,095 \text{ nm}^2 = 13221$  átomos de Au na superfície de cada nanoesfera

## 4ª PARTE

### Nanobastões

Determinar o número de átomo de Au na superfície em todos os nanobastões (volume de 10 mL).

Logo,

$$(3,961 \times 10^{15} \text{ nanobastões}) \times (17867 \text{ átomos de Au}) = 7,075 \times 10^{19} \text{ átomos}$$

### Nanoesferas

Determinar o número de átomo de Au na superfície em todas as nanoesferas (volume de 5 mL).

Logo,

$$(1,868 \times 10^{15} \text{ nanoesferas}) \times (13221 \text{ átomos de Au}) = 2,469 \times 10^{19} \text{ átomos de Au}$$

## Anexo II

## Sistema homomontado

Nesse caso, a banda de absorção dos plasmons de superfície é deslocada de 530 nm (banda característica de esferas de tamanho médio de 20 nm), juntamente com o surgimento de uma nova banda mais larga, centrada em 650 nm, também devido ao aumento de anisotropia das nanopartículas. Logo, denota-se que, a agregação das nanopartículas a partir da funcionalização origina um novo material, uma vez que a segunda banda de absorção se torna cada vez mais larga e com o máximo de absorção deslocado para maiores comprimentos de onda. Essa mudança no perfil do espectro eletrônico é condizente com a interação entre as nanopartículas de ouro, como evidenciado pela imagem de TEM, e, portanto, há a formação de um sistema por auto-organização do tipo homomontagem de nanopartículas de ouro. Através da análise por DLS, o material obtido pela automontagem das nanoesferas funcionalizadas com a CYS possui tamanho médio de 1443 nm, conforme pode ser observado nas figuras abaixo.

