



UFBA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA INDUSTRIAL - PEI

MESTRADO EM ENGENHARIA INDUSTRIAL

GABRIELA NASCIMENTO ANDRADE

Síntese e Estabilização de Nanopartículas de Ouro
com Aminoácidos



SALVADOR
2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA INDUSTRIAL

Gabriela Nascimento Andrade

**SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS
DE OURO COM AMINOÁCIDOS**

Salvador

2024

GABRIELA NASCIMENTO ANDRADE

**SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO
COM AMINOÁCIDOS**

Dissertação de Mestrado Acadêmico apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Industrial, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Industrial.

Orientadores:

Prof. Dr. Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo

Profa. Dra. Ariana Farias Melo

Coorientadora:

Profa. Dra. Claudilene Ribeiro Chaves

Salvador

2024

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Bernadete
Sinay Neves, Escola Politécnica – UFBA.

A554 Andrade, Gabriela Nascimento.

Síntese e estabilização de nanopartículas de ouro com aminoácidos /
Gabriela Nascimento Andrade. – Salvador, 2024.

90f.: il. color.

Orientadores: Prof. Dr. Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo.

Profa. Dra. Ariana Farias Melo.

Coorientadora: Profa. Dra. Claudilene Ribeiro Chaves.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Industrial, Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, 2024.

1. Nanopartículas. 2. Aminoácidos. 3. Ouro. 4. Síntese verde. I. Melo,
Silvio Alexandre Beisl Vieira de. II. Melo, Ariana Farias III. Chaves,
Claudilene Ribeiro. IV. Universidade Federal da Bahia. V. Título.

CDD: 620.115

SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO COM AMINOÁCIDOS.

GABRIELA NASCIMENTO ANDRADE

Dissertação submetida ao corpo docente do programa de pós-graduação em Engenharia Industrial da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de mestre em Engenharia Industrial.

Examinada por:

Documento assinado digitalmente
 **SILVIO ALEXANDRE BEISL VIEIRA DE MELO**
Data: 31/07/2024 14:46:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo
Doutor em Engenharia Química, pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.

Documento assinado digitalmente
 **ELAINE CHRISTINE DE MAGALHAES CABRAL ALE**
Data: 23/07/2024 16:29:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Elaine Christine de Magalhães Cabral Albuquerque
Doutora em Engenharia Química, pela Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2005.



Prof. Dr. Marcos Malta dos Santos
Doutor em Química, pela Universidade de São Paulo, Brasil, 2004.

Documento assinado digitalmente
 **FABIO ROCHA FORMIGA**
Data: 30/07/2024 19:02:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Fábio Rocha Formiga
Doutor em Farmacologia, pela Universidade de Navarra, Espanha, 2011.

Salvador, BA - BRASIL

Julho/2024

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, por todos ensinamentos e pelo fundamental apoio ao longo deste trabalho. À minha família, em especial minha mãe, pelo amor incondicional e por todo suporte nos momentos mais desafiadores. Ao meu amor, pelo companheirismo e encorajamento constante durante todo o processo. Às minhas amigas, por estarem ao meu lado ao longo dessa jornada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Nanopartículas de ouro (AuNPs) são promissoras para aplicações em materiais eletrônicos e biossensores. Porém, os métodos de síntese das AuNPs envolvem substâncias químicas tóxicas, com riscos ambientais e biológicos. Alternativamente, no presente trabalho, investigou-se a síntese verde de AuNPs utilizando-se aminoácidos tanto como agentes redutores dos íons de ouro, quanto como agentes estabilizadores das superfícies metálicas. Estudou-se o efeito da concentração dos reagentes (razão molar do aminoácido para o precursor dos íons de ouro) e do pH do meio na síntese de nanopartículas. Os aminoácidos utilizados nesse estudo foram ácido aspártico, arginina, cisteína, histidina, tirosina e triptofano. As amostras foram caracterizadas por espectroscopia de absorção UV-visível, potencial zeta, espalhamento dinâmico de luz (DLS) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). A partir das análises das espectroscopias UV-Vis, os aminoácidos que apresentaram espectros de absorção promissores em termos de intensidade foram ácido aspártico, cisteína e tirosina, nas razões molares ([aminoácido]/[HAuCl₄]) 10, 0,25 e 0,5, respectivamente. Nas amostras contendo os aminoácidos arginina e histidina observou-se uma menor capacidade de redução dos íons de ouro, o que pode estar relacionado com o fato de serem carregados positivamente, entre outros fatores. O triptofano também não apresentou bons resultados em termos de formação de AuNPs, o que pode estar associado ao seu caráter apolar e hidrofóbico. Através da obtenção de imagens por MET e medidas de DLS foi possível confirmar a formação de AuNPs aproximadamente esféricas, com diâmetros médios na faixa entre 10 e 50 nm. A partir das análises de potencial zeta, observou-se maior estabilidade coloidal nas amostras contendo ácido aspártico, cisteína e tirosina, com valores acima de |30 mV|, enquanto que nas amostras contendo histidina e triptofano, os valores foram abaixo de |30 mV|, indicando menor estabilidade. Na tentativa de promover uma melhoria na formação das nanopartículas, realizou-se um ajuste de pH nas sínteses com arginina, histidina e triptofano. No entanto, tais ajustes não levaram a melhorias significativas em termos de absorção óptica, embora picos mais intensos tenham sido observados nas sínteses com triptofano. Os resultados desse estudo revelaram que é possível obter AuNPs, sob certas condições experimentais, com base nos princípios da química verde, utilizando aminoácidos como estabilizadores e redutores dos íons de ouro.

Palavras-chaves: nanopartículas; aminoácidos; síntese verde; ouro.

ABSTRACT

Gold nanoparticles (AuNPs) are promising for electronic materials and biosensors applications. However, the synthesis methods of AuNPs involve toxic chemicals, posing environmental and biological risks. Alternatively, in the present study, green synthesis of gold nanoparticles was investigated using amino acids both as reducing agents for gold ions and as stabilizers of the metallic surfaces. The effect of reagent concentration (molar ratio of amino acid to gold ion precursor) and pH of the medium on nanoparticle synthesis was studied. The amino acids used in this study were aspartic acid, arginine, cysteine, histidine, tyrosine and tryptophan. The samples were characterized by UV-visible absorption spectroscopy, zeta potential, dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM). Based on UV-Vis spectroscopy analyses, aspartic acid, cysteine and tyrosine showed promising absorption spectra in terms of intensity at molar ratios ($[\text{amino acid}]/[\text{HAuCl}_4]$) of 10, 0,25 and 0,5, respectively. Samples containing arginine and histidine exhibited lower ability to reduce gold ions, possibly due to their positive charge, among other factors. Tryptophan also showed poor results in terms of AuNP formation, which may be associated with its nonpolar and hydrophobic nature. TEM images and DLS measurements confirmed the formation of quasi-spherical gold nanoparticles with average diameters ranging from 10 to 50 nm. Zeta potential analysis revealed higher colloidal stability in samples containing aspartic acid, cysteine and tyrosine, with values above $|\text{30 mV}|$. In comparison, samples containing histidine and tryptophan had zeta potentials below $|\text{30 mV}|$, indicating lower stability. In an attempt to improve nanoparticle formation, pH adjustments were made to the synthesis with arginine, histidine, and tryptophan. However, these adjustments did not lead to significant improvements in terms of optical absorption, although more intense peaks were observed in the syntheses with tryptophan. The results of this study revealed that it is possible to obtain AuNPs under certain experimental conditions, based on principles of green chemistry, using amino acids as stabilizers and reducers of gold ions.

Keywords: nanoparticles; amino acids; green synthesis; gold.

Lista de Figuras

Figura 1 – Abordagens “top-down” e “bottom-up” para preparação de nanopartículas.	19
Figura 2 – Representação gráfica da dupla camada elétrica.....	22
Figura 3 – Oscilação coletiva dos elétrons na superfície de nanopartículas metálicas. .	24
Figura 4 – Mecanismo geral de síntese de AuNP.....	25
Figura 5 – Mudança da coloração de uma dispersão de AuNPs devido ao processo de agregação.	26
Figura 6 – Esquema da síntese de AuNPs através do método de Turkevich.....	27
Figura 7 – Mecanismo de formação de nanopartículas monodispersas com base na clássica abordagem de LaMer.	30
Figura 8 – Estrutura geral dos aminoácidos.	33
Figura 9 – Influência do pH do meio nos grupos funcionais dos aminoácidos.....	35
Figura 10 – Forma zwitteriônica dos aminoácidos que ocorre em valores fisiológicos de pH.	35
Figura 11 – Fórmulas estruturais dos 20 aminoácidos comuns de proteínas.	38
Figura 12 – Aspecto das amostras após as sínteses com ácido aspártico (Asp) a razões molares de 0,5; 1; 5 e 10, respectivamente.....	45
Figura 13 – Parâmetros da banda de absorção de nanopartículas de ouro.	46
Figura 14 – Espectros de absorção (UV-Vis) de AuNPs sintetizadas com ácido aspártico a diferentes razões molares ([Asp]/[HAuCl ₄]) a) realizados no dia da síntese e b) 2 meses após a síntese.	46
Figura 15 – Representação esquemática da interação do ácido aspártico com a AuNP.	48
Figura 16 – Fórmula estrutural da arginina no pH 7.	49
Figura 17 – Aspecto das amostras após as sínteses com cisteína (Cys) a razões molares de 0,125; 0,25; 0,5; 1 e 5, respectivamente.	50
Figura 18 – Espectros de absorção (UV-Vis) de AuNPs sintetizadas com cisteína a diferentes razões molares ([Cys]/[HAuCl ₄]) a) realizados no dia da síntese e b) 2 meses após a síntese.	50
Figura 19 – Representação esquemática da interação da cisteína com a AuNP.....	51
Figura 20 – Formação de uma ligação dissulfeto pela oxidação de duas moléculas de cisteína.	51
Figura 21 – Aspecto das amostras após as sínteses com histidina (His) a razões molares de 0,125; 0,25; 0,5; 1; 5 e 10, respectivamente.	52
Figura 22 – Espectros de absorção (UV-Vis) de AuNPs sintetizadas com histidina a diferentes razões molares ([His]/[HAuCl ₄]) a) realizados no dia da síntese e b) 2 meses após a síntese.	52
Figura 23 – Imidazol na forma protonada e na forma não protonada.	53
Figura 24 – Representação esquemática da interação da histidina com o ouro.	54

Figura 25 – Aspecto das amostras após as sínteses com tirosina (Tyr) a razões molares de 0,125; 0,25; 0,5; 1; 5 e 10, respectivamente.	54
Figura 26 – Espectros de absorção (UV-Vis) de AuNPs sintetizadas com tirosina a diferentes razões molares ([Tyr]/[HAuCl ₄]) a) realizados no dia da síntese e b) 2 meses após a síntese.	55
Figura 27 – Representação esquemática da interação da tirosina com a AuNP.....	56
Figura 28 – Aspecto das amostras após as sínteses com triptofano (Trp) a razões molares de 0,125; 0,25; 0,5; 1; 5 e 10, respectivamente.	56
Figura 29 – Espectros de absorção (UV-Vis) de AuNPs sintetizadas com triptofano a diferentes razões molares ([Trp]/[HAuCl ₄]) a) realizados no dia da síntese e b) 2 meses após a síntese.	57
Figura 30 – Representação de subprodutos da oxidação do triptofano.	58
Figura 31 – Representação esquemática da interação do triptofano com o ouro.	58
Figura 32 – Microscopia eletrônica de transmissão das AuNPs obtidas com ácido aspártico (razão molar 10).	60
Figura 33 – Microscopia eletrônica de transmissão das AuNPs obtidas com cisteína (razão molar 0,25).	60
Figura 34 – Microscopia eletrônica de transmissão das AuNPs obtidas com tirosina (razão molar 0,5).	61
Figura 35 – Espectro de absorção de AuNPs sintetizadas com Asp (razão molar 10), Cys (razão molar 0,25) e Tyr (razão molar 0,5).	62
Figura 36 – Distribuição de tamanho das partículas sintetizadas com ácido aspártico (razão molar 10). Diâmetro médio = 31,13 nm e PdI = 0,1.	63
Figura 37 – Distribuição de tamanho das partículas sintetizadas com cisteína (razão molar 0,25). Diâmetro médio = 20,79 nm e PdI = 0,5.	63
Figura 38 – Distribuição de tamanho das partículas sintetizadas com tirosina (razão molar 0,5). Diâmetro médio = 48,57 nm e PdI = 0,2.	64
Figura 39 – Potencial zeta das AuNPs sintetizadas com diferentes aminoácidos.	66
Figura 40 – Representação da substituição dos ligantes cloretos (esquerda) por hidroxilas (direita) no reagente precursor.	67
Figura 41 – Estados de ionização da arginina em função do pH.	69
Figura 42 – Espectro de absorção da síntese de AuNPs com arginina em diferentes pHs.	70
Figura 43 – Estados de ionização da histidina em função do pH.	71
Figura 44 – Coloração das amostras após as sínteses de AuNPs com histidina ajustada para pH 1, 4 e 11, respectivamente.	72
Figura 45 – Espectro de absorção da síntese de AuNPs com histidina em diferentes pHs.	72
Figura 46 – Estados de ionização do triptofano em função do pH.	73
Figura 47 – Coloração das amostras após as sínteses de AuNPs com triptofano ajustado para pH 1 e 11, respectivamente.	74

Figura 48 – Espectro de absorção da síntese de AuNPs com triptofano em diferentes
pHs..... 74

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Valores de pK_a e pontos isoelétricos dos aminoácidos.....	34
Tabela 2 – Parâmetros avaliados para a síntese de nanopartículas de ouro.	42
Tabela 3 – Valores de concentração final dos aminoácidos.....	42
Tabela 4 – Diâmetros médios das AuNPs das sínteses mais promissoras.....	61
Tabela 5 – Valores de pHs dos reagentes medidos antes e após a síntese.	67
Tabela 6 – Valores de pK_a da arginina.	69
Tabela 7 – Valores de pK_a da histidina.	71
Tabela 8 – Valores de pK_a do triptofano.	73

Lista de Siglas

ARG	Arginina
ASP	Ácido Aspártico
AuNPs	Nanopartículas de Ouro
CYS	Cisteína
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz
HIS	Histidina
NPs	Nanopartículas
PdI	Índice de Polidispersão
SPR	Ressonância Plasmônica de Superfície
TYR	Tirosina
TRP	Triptofano
UV-Vis	Ultravioleta-visível

Sumário

Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	xii
Lista de Siglas	xiii
CAPÍTULO 1. Introdução	16
CAPÍTULO 2. Fundamentação Teórica e Estado da Arte	18
2.1 Nanociência e Nanotecnologia	18
2.2 Nanopartículas Metálicas	20
2.2.1 Estabilidade coloidal.....	21
2.2.2 Ressonância plasmônica de superfície (SPR).....	23
2.2.3 Nanopartículas de ouro (AuNPs).....	25
2.2.4 Síntese de AuNPs	27
2.2.5 Cinética de formação das nanopartículas	28
2.3 Síntese Verde de Nanopartículas Metálicas	31
2.3.1 Aminoácidos	33
2.3.2 Síntese de AuNPs com aminoácidos	39
CAPÍTULO 3. Materiais e Métodos	41
3.1 Reagentes.....	41
3.2 Procedimentos	41
3.2.1 Síntese e estabilização de AuNPs com aminoácidos.....	41
3.3 Caracterização	42
3.3.1 Espectroscopia de absorção óptica no UV-Vis.....	42
3.3.2 Potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz (DLS)	43
3.3.3 Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	43
CAPÍTULO 4. Resultados e Discussão	44
4.1 Análise da Formação de AuNPs e dos Espectros de Absorção no UV-Vis ...	44
4.1.1 Ácido Aspártico (Asp).....	44
4.1.2 Arginina (Arg)	49
4.1.3 Cisteína (Cys)	49
4.1.4 Histidina (His)	52
4.1.5 Tirosina (Tyr)	54
4.1.6 Triptofano (Trp).....	56
4.1.7 Considerações gerais sobre a formação de AuNPs com aminoácidos	59
4.2 Análise da Morfologia e do Tamanho das AuNPs por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	60
4.3 Análise do Tamanho das AuNPs por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS).....	63
4.4 Análise da Carga Superficial por Potencial Zeta.....	65

4.5	Análise do pH.....	66
4.5.1	Arginina.....	69
4.5.2	Histidina.....	70
4.5.3	Triptofano.....	72
CAPÍTULO 5. Conclusões e Sugestões.....		75
5.1	Conclusões.....	75
5.2	Sugestões de Trabalhos Futuros.....	78
Referências.....		79
Apêndices.....		87

CAPÍTULO 1. Introdução

A nanotecnologia emerge como um campo promissor que integra diversas áreas da ciência, da engenharia e tecnologia. Os rápidos avanços científicos nesse campo resultaram no desenvolvimento de uma variedade de nanoestruturas funcionais, cujo tamanho encontra-se entre 1 e 100 nanômetros.^{1 2}

Os nanomateriais apresentam ampla aplicação em áreas como química, física, engenharias, eletrônica, meio ambiente, além das áreas biológicas e da saúde. Atualmente, existem vários tipos de nanomateriais, que podem ser classificados de acordo com sua composição química, dimensões e morfologia. Exemplos incluem os nanomateriais de carbono e as nanopartículas metálicas e semicondutoras.³

Apesar da existência de uma variedade de materiais nanoestruturados, as nanopartículas metálicas apresentam um potencial bastante atrativo devido às diversas aplicações tecnológicas, facilidade de síntese e características físicas e químicas peculiares.

As nanopartículas de ouro (AuNPs) têm se destacado devido às suas propriedades únicas de ressonância plasmônica de superfície, síntese simples, controle de tamanhos e formatos, além das características multifuncionais.^{1 2} As AuNPs são nanoestruturas versáteis, relativamente inertes, biocompatíveis e geralmente estáveis. Além disso, podem ser facilmente conjugadas com diferentes moléculas, como proteínas, anticorpos, enzimas, etc.⁴

As AuNPs podem ser obtidas através de diversos métodos e sob diferentes condições. Entretanto, as técnicas mais tradicionais utilizadas para a obtenção de AuNPs normalmente envolvem agentes redutores fortes e geração de resíduos nocivos para a saúde e o meio ambiente. Embora os métodos químicos sejam a forma mais comum de sintetizar nanomateriais metálicos, o emprego de reagentes tóxicos como redutores e estabilizadores limita suas aplicações. Além disso, essas nanopartículas podem apresentar efeitos negativos em aplicações biomédicas.⁵

Devido à geração de resíduos tóxicos, é de suma importância o desenvolvimento de estratégias mais eficazes e ecologicamente sustentáveis para a produção de AuNPs, com o uso de produtos químicos não tóxicos, tornando os processos menos prejudiciais ao meio ambiente. Diante desse contexto e dos efeitos nocivos dos métodos de síntese tradicionais, a utilização de aminoácidos na síntese de AuNPs surge como uma abordagem promissora, oferecendo um caminho alternativo e ecologicamente mais adequado.

Embora a literatura contenha uma quantidade considerável de estudos sobre o uso de aminoácidos na produção de AuNPs, há relativamente poucos trabalhos que investigam a capacidade desses compostos de atuarem simultaneamente como agentes redutores e estabilizadores durante o processo de síntese. Em geral, os estudos tendem a focar no uso de biomoléculas para a estabilização e funcionalização da superfície das nanopartículas, enquanto a redução dos íons de ouro ainda depende predominantemente de reagentes dos métodos mais convencionais, como citrato de sódio e borohidreto de sódio.

Com isso, o presente trabalho buscou avaliar a utilização de diferentes aminoácidos como agentes redutores e estabilizadores para a síntese de AuNPs. Para isso, analisou-se o impacto específico de cada aminoácido nesse processo, avaliando suas capacidades distintas de modular o tamanho, a forma e a estabilidade das AuNPs resultantes.

Este estudo teve como objetivo geral o desenvolvimento de uma metodologia simples, rápida e ecologicamente viável, para a síntese de AuNPs utilizando aminoácidos como agentes redutores e estabilizadores.

Como objetivos específicos, buscou-se:

1. Testar a utilização de seis aminoácidos com características diferentes na síntese de AuNPs e avaliar o potencial de cada um na redução dos íons de ouro.
2. Determinar a melhor razão molar entre o aminoácido e o precursor dos íons de ouro ($[\text{Aminoácido}]/[\text{HAuCl}_4]$).
3. Caracterizar as nanopartículas através das técnicas de espectroscopia de absorção no UV-visível, potencial zeta, espalhamento dinâmico de luz (DLS) e microscopia eletrônica de transmissão (MET).
4. Analisar a influência do ajuste de pH nas sínteses.

CAPÍTULO 2. Fundamentação Teórica e Estado da Arte

2.1 Nanociência e Nanotecnologia

Entende-se como nanociência o estudo dos fenômenos e a manipulação de materiais em escala atômica e molecular. Nessa escala, as propriedades do material distinguem-se consideravelmente daquelas apresentadas em dimensões maiores. Já o conceito de nanotecnologia está relacionado com o controle da forma, tamanho e propriedades de materiais em escala nanométrica, visando o *design*, a caracterização, a produção e a aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas.⁶

O desenvolvimento de materiais com propriedades inovadoras e aprimoradas é a maior motivação da nanociência e nanotecnologia, o que gera impacto em praticamente todas as áreas das ciências físicas, químicas, biológicas e da saúde, entre outros campos interdisciplinares da ciência e engenharia.⁷

Na escala nanométrica, novas propriedades dos materiais podem ser alcançadas devido à grande área superficial em relação ao volume, ou seja, alta razão superfície/volume. À medida que as dimensões do material são reduzidas para a faixa nanométrica, a área superficial aumenta consideravelmente. Com isso, a fração de átomos expostos na superfície, em relação ao número total de átomos, se torna muito maior. Como resultado, os nanomateriais apresentam elevada reatividade química, uma vez que os átomos na superfície são geralmente mais reativos do que os átomos internos, apresentando maior energia média de ligação. Por esta razão, os nanomateriais exibem uma significativa atividade catalítica. Além disso, devido à maior disponibilidade de sítios ativos na superfície, diversas funcionalidades podem ser adicionadas aos nanomateriais.^{8 9}

Além da grande área superficial, a ocorrência de efeitos quânticos na escala nanométrica também contribui para as propriedades distintas dos nanomateriais em comparação com materiais de dimensões maiores. Esses efeitos derivam da limitação do movimento dos elétrons, conhecida como confinamento quântico.^{8 9}

Por abranger as mais diversas áreas do conhecimento, em razão do seu potencial multidisciplinar, a nanotecnologia vem proporcionando um grande desenvolvimento de produtos como medicamentos, materiais mais resistentes, avanços no diagnóstico de doenças, descontaminação de água, processamento de alimentos, armazenagem e produção de energia, entre outros exemplos de avanços tecnológicos.^{10 11}

Os diversos métodos empregados para a síntese de nanopartículas geralmente são divididos em dois grupos: “top-down” (de cima para baixo) e “bottom-up” (de baixo para cima), como está ilustrado na Figura 1. A abordagem “top-down” consiste na fragmentação do material em sua escala macro, em unidades menores através da redução de tamanho, até se obter o material nanoestruturado desejado. Técnicas como a moagem mecânica e a ablação a laser são exemplos de métodos que utilizam a abordagem “top-down”. Esta abordagem tem sido, por décadas, o método mais utilizado pela indústria de semicondutores para a produção de microeletrônicos e outros dispositivos, através da técnica litográfica (fotolitografia ou litografia eletrônica). Exemplo disso ocorre na obtenção de circuitos integrados a partir de um pequeno fragmento de um substrato semicondutor, comumente chamado de "chip".^{12 13 14}

Na abordagem “bottom-up” ocorre o inverso. As nanoestruturas são formadas a partir dos átomos e/ou moléculas individuais, por automontagem, ou seja, é considerada uma abordagem construtiva. Com a abordagem “bottom-up”, é possível obter tamanho e forma desejados para as nanopartículas, através do controle da deposição ou parâmetros reacionais. A técnica de redução química e o processo sol-gel são exemplos de métodos que utilizam a abordagem “bottom-up”, incluindo a síntese verde.^{13 14 15}

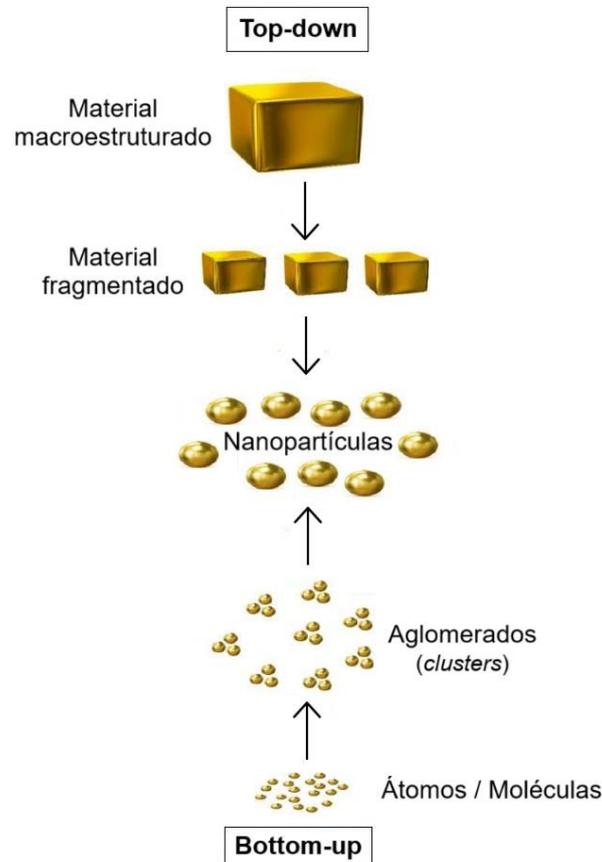


Figura 1 – Abordagens “top-down” e “bottom-up” para preparação de nanopartículas. [adaptado de 4]

A nanotecnologia tem o potencial de beneficiar diversas áreas e, em razão disso, tem atraído investimentos cada vez maiores de governos e empresas de todo o mundo. A magnitude do investimento global em pesquisa e desenvolvimento em nanotecnologia, por parte dos órgãos e agências de fomento, beira a ordem de bilhões de dólares em todo o mundo. Potências como os Estados Unidos, Japão, China e Coréia do Sul lideram a lista de países que mais investem em programas e geram patentes em nanotecnologia.^{16 17}

2.2 Nanopartículas Metálicas

Nanopartículas (NPs) metálicas se destacam por apresentarem propriedades ópticas, eletrônicas e catalíticas exclusivas, despertando grande interesse científico.¹⁸ Essas propriedades podem ser significativamente moduladas por meio de ajustes no tamanho ou na forma das NPs. Portanto é possível otimizar o desempenho das NPs para uma variedade de aplicações.^{19 20}

Atualmente, os estudos das NPs metálicas têm sido voltados de forma mais aprofundada para suas potenciais aplicações em dispositivos optoeletrônicos, sensores químicos e biológicos ultrasensíveis e como catalisadores em reações químicas e fotoquímicas.¹⁸ Devido ao seu potencial para aplicações em diversas áreas e à possibilidade de aprimorar ou personalizar seu desempenho, NPs metálicas de diversos tamanhos, formas e composições, têm sido objeto de intensas e promissoras pesquisas.²⁰

Na maioria das aplicações médicas, as NPs metálicas são compostas principalmente por prata, ouro, níquel, cobalto, ferro, e alguns de seus óxidos correspondentes (como magnetita e ferrita de cobalto). Essas NPs podem ser sintetizadas e modificadas com produtos químicos funcionais que possuem grupos versáteis, possibilitando sua combinação com diversas moléculas, incluindo agentes terapêuticos e biomoléculas como proteínas, peptídeos e DNA.⁵

Metais nobres, especialmente prata e ouro, têm atraído bastante atenção de pesquisadores em diversos ramos da ciência e tecnologia, como catálise, e na área médica, como agentes anticâncer e antimicrobianos.²¹ As NPs de ouro exibem notável atividade catalítica e são utilizadas em uma variedade de reações químicas. Além disso, também são utilizadas como veículos de entrega de medicamentos (*drug delivery*). NPs de prata são conhecidas por suas potentes propriedades antimicrobianas e são amplamente empregadas em diversas aplicações médicas. Quando comparadas a outras NPs metálicas ou de óxidos metálicos, as NPs de prata

e ouro geralmente se destacam por sua estabilidade e pela possibilidade de ajuste em sua química de superfície. NPs de óxido de ferro são frequentemente usadas em clínicas como agentes de contraste para ressonância magnética. NPs de níquel podem ser utilizadas em pastas condutoras para eletrônicos, materiais para baterias, entre outras aplicações.^{5 21 22 23}

De fato, os nanomateriais metálicos têm revolucionado diversas áreas da nanociência. Suas aplicações abrangem campos como plasmônica, catálise, eletrônica, fotônica, armazenamento de informações, medicina, conversão de energia, cosméticos, entre outros.²⁰

De modo geral, a preparação química das NPs é realizada na presença de agentes estabilizadores que se ligam aos átomos superficiais promovendo a estabilização. Dessa forma, o crescimento descontrolado pode ser evitado, impedindo a agregação das NPs, seja por repulsão eletrostática ou estérica promovida pelo ligante utilizado.^{18 24}

2.2.1 Estabilidade coloidal

Coloides podem ser definidos como uma classe intermediária de materiais, que se encontra entre sistemas macroscópicos e sistemas molecularmente dispersos. Sistemas coloidais são constituídos por uma fase dispersa em um meio contínuo, também chamado de fase dispersante. Aspectos cruciais a serem considerados em relação ao comportamento das partículas coloidais incluem o tamanho, a forma, a área superficial e a densidade de carga superficial.²⁵

Sabe-se que as partículas de um sistema disperso tendem a se associar em estruturas maiores conhecidas como agregados. A força de van der Waals entre partículas em uma dispersão é geralmente atrativa e se torna especialmente forte a curtas distâncias interparticulares. Assim, na ausência de interações repulsivas entre as partículas, a dispersão tende a se tornar instável, resultando em agregação.²⁶

A utilização de agentes estabilizadores permite a modificação das propriedades de superfície das NPs, promovendo a estabilização através das interações na interface partícula-líquido do sistema. A estabilidade das NPs, ou seja, a proteção contra as forças atrativas de van der Waals, pode ser alcançada, basicamente, através de dois mecanismos: a estabilização eletrostática e a estabilização estérica.

As interações eletrostáticas desempenham um papel crucial em muitos sistemas coloidais. A formação de uma carga líquida na superfície da partícula afeta a distribuição de íons na região interfacial circundante, resultando em uma concentração maior de contra-íons (íons de carga oposta à da partícula) próximos à superfície. A carga superficial da partícula, junto com os

contra-íons, forma uma dupla camada elétrica (Figura 2), que pode ser dividida em camada de Stern (uma região interna onde os íons estão fortemente ligados) e camada difusa (uma região externa e difusa, onde os íons estão ligados de maneira mais fraca). Portanto, a dupla camada elétrica atua como uma nuvem de íons ao redor das partículas coloidais, provocando a repulsão eletrostática, o que conseqüentemente evita a agregação das partículas. Na camada difusa, existe um limite teórico dentro do qual os íons se mantêm estáveis. Por exemplo, quando uma partícula se movimenta, os íons dentro desse limite movem-se com ela, mas quaisquer íons que estejam além desse limite, não acompanham a partícula. Este limite é chamado de plano de cisalhamento e é nesta região que se mede a estabilidade do sistema coloidal através do potencial elétrico médio, conhecido como potencial-zeta (ζ).^{19 27 28 29}

A determinação do potencial zeta fornece uma indicação do potencial de estabilidade do sistema coloidal. Valores menores, em módulo, desse potencial, podem indicar instabilidade coloidal, o que pode levar à agregação das NPs. Por outro lado, valores mais altos de potencial zeta, tanto negativos quanto positivos, indicam uma dispersão mais estável, sem tendência a agregação, pois as partículas tenderão a se repelir.²⁹

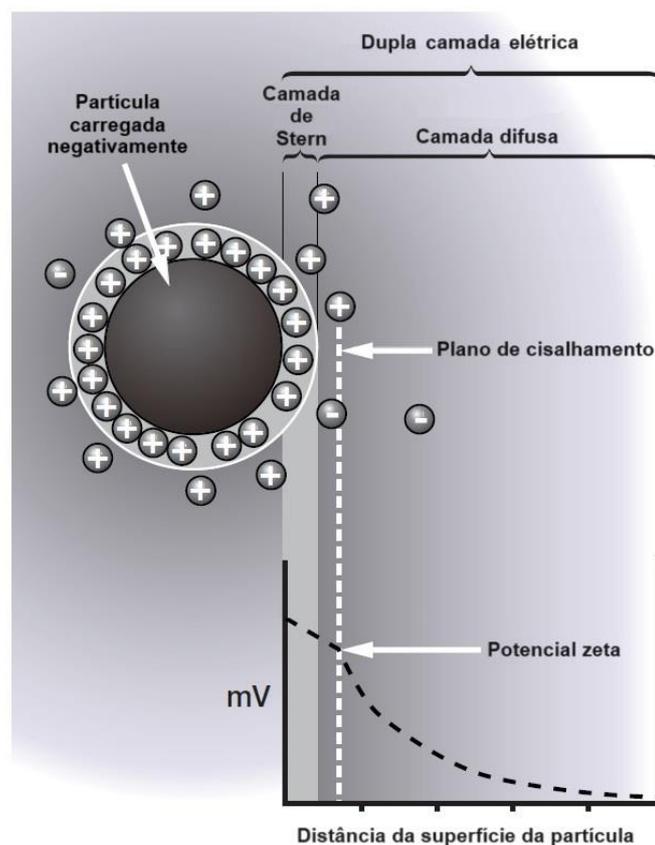


Figura 2 – Representação gráfica da dupla camada elétrica. [adaptado de 29]

A primeira teoria sobre estabilidade de dispersões coloidais é conhecida como teoria DLVO e foi proposta inicialmente de forma independente em 1941 por Derjaguin e Landau, e em 1948 por Verwey e Overbeek. Apesar desta teoria apresentar algumas falhas ao explicar determinados aspectos da estabilidade coloidal, de uma forma geral, ela fornece uma estrutura útil que possibilita a compreensão da estabilidade em sistemas coloidais.^{19 26}

A teoria DLVO explica as mudanças de energia que ocorrem quando duas partículas se aproximam. De acordo com esta teoria, a estabilidade eletrostática das NPs é determinada pelo balanço entre as forças de atração de van der Waals e as forças repulsivas de Coulomb (eletrostáticas). Portanto, o potencial total de interação entre duas NPs é o resultado da soma dessas forças. Se a intensidade da força eletrostática repulsiva for superior à da força atrativa de van der Waals, as NPs permanecem estáveis, sem apresentar sinais de agregação, devido à uma densidade de carga suficiente na superfície.^{19 27 28 30}

Na estabilização estérica, moléculas (geralmente de origem polimérica) são adsorvidas na superfície das partículas, formando uma espécie de camada de proteção ao redor delas. Essas moléculas atuam como agentes de repulsão física, impedindo mecanicamente a aproximação das partículas, evitando assim, a agregação. Os requisitos para a estabilização estérica incluem que a camada de polímero adsorvido seja densa, espessa e cubra completamente as partículas, a fim de evitar que elas se aproximem a ponto de as forças atrativas de van der Waals se tornarem significativas.^{19 26}

2.2.2 Ressonância plasmônica de superfície (SPR)

A ressonância plasmônica de superfície (SPR) é um fenômeno óptico que ocorre quando a luz (radiação eletromagnética) incide sobre a superfície de um metal, excitando os elétrons livres. Esse fenômeno envolve a oscilação coletiva dos elétrons na superfície do metal em resposta à luz incidente. À medida que ocorre a interação com a luz, a densidade de elétrons na partícula se polariza. Com o deslocamento da nuvem eletrônica, uma força restauradora surge da atração de Coulomb entre os elétrons e núcleos, resultando na oscilação da nuvem de elétrons em relação à estrutura nuclear (Figura 3). Quando a frequência da luz incidente coincide com a frequência natural de oscilação dos elétrons na superfície do metal, ocorre a ressonância.^{31 32}

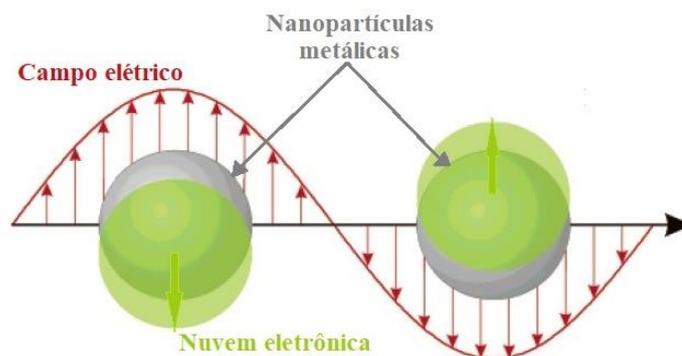


Figura 3 – Oscilação coletiva dos elétrons na superfície de nanopartículas metálicas. [adaptado de 32]

Pesquisas envolvendo esse fenômeno começaram com o trabalho de Michael Faraday (1857)³³, investigando propriedades ópticas em soluções coloidais de ouro, o que levou à descoberta das NPs de ouro de cor vermelho-rubi, que se tornaram a base da nanotecnologia moderna. Em 1908, o físico alemão Gustav Mie³⁴ se tornou um dos contribuintes mais importantes ao estudo da ressonância plasmônica de superfície, ao apresentar uma resolução das equações de Maxwell para pequenas partículas esféricas interagindo com um campo eletromagnético. Por isso, seu trabalho foi considerado um dos grandes triunfos da física clássica. O trabalho de Mie continua despertando grande interesse até os dias atuais, pois representa a única solução simples e exata para as equações de Maxwell, com relevância para as partículas. No entanto, a nanociência moderna, incluindo todas as suas aplicações, tem apresentado novos desafios para a solução de Mie, demandando novas formulações sobre o tema.^{31 32}

Uma banda de plasmon de superfície pode ser observada no espectro de absorção UV-visível de NPs metálicas, indicando a condição de ressonância. Sabe-se que, em comparação a outros metais, o ouro, a prata e o cobre exibem bandas de plasmon de superfície mais intensas, o que explica, em parte, juntamente com a facilidade de síntese e robustez desses materiais, o sucesso das NPs de ouro e prata nesse campo.³⁵

A condição de ressonância depende de alguns fatores como morfologia, tamanho e constantes dielétricas do metal e do meio dispersante. Conforme o tamanho ou a forma da nanopartícula muda, a geometria da superfície se modifica, causando um deslocamento na densidade do campo elétrico e, conseqüentemente, uma alteração na frequência de oscilação dos elétrons.³¹

2.2.3 Nanopartículas de ouro (AuNPs)

Entre as NPs metálicas, as nanopartículas de ouro (AuNPs) são, provavelmente, as que possuem maior destaque devido à sua biocompatibilidade e aplicação na saúde.^{36 37} AuNPs possuem propriedades físicas, químicas e ópticas únicas devido à sua morfologia e tamanho (<100 nm). Além disso, podem ser sintetizadas por diferentes métodos e conjugadas com pequenas biomoléculas. Tais características permitem que as AuNPs possam atuar como, por exemplo, biossensores, agentes citotóxicos e agentes de transporte de fármacos (*drug delivery*).³⁸

Em razão das suas propriedades fotônicas, as AuNPs despertam grande interesse para aplicações em materiais, bem como para o uso bioquímico ou biomédico. Portanto, são necessários protocolos de síntese, que forneçam formatos e tamanhos bem definidos, para as aplicações das AuNPs. Existem diversas classes de rotas de síntese de AuNPs, permitindo produtos finais com diferentes características. Tanto o agente redutor dos íons metálicos, quanto a ação de um estabilizador são fatores determinantes para a obtenção das NPs e controle da sua morfologia.³⁹ A Figura 4 ilustra o mecanismo de síntese de AuNPs.

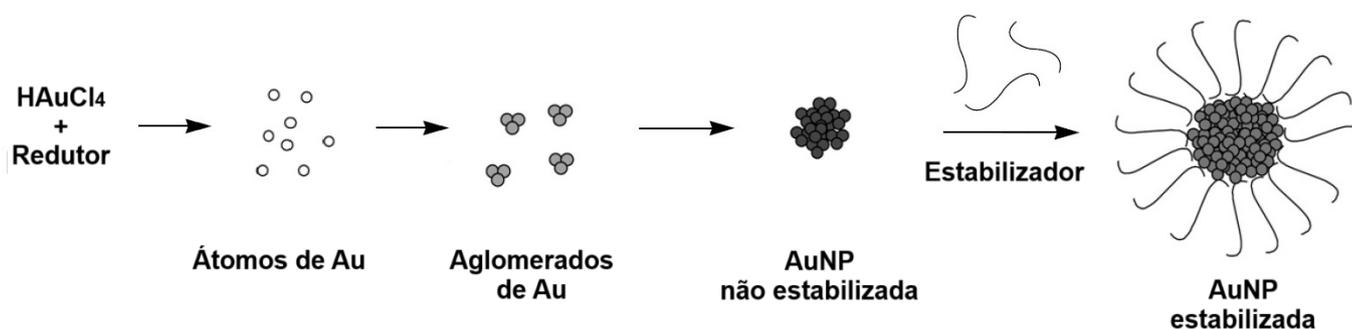


Figura 4 – Mecanismo geral de síntese de AuNP. [adaptado de 40]

Estudos mostram que é possível controlar a estabilidade dos coloides de ouro através de diversas formas, como, por exemplo, ajustando o pH da solução, adicionando diferentes sais inorgânicos, elevando a concentração de eletrólitos, alterando o meio de dispersão ou o agente

estabilizador. No entanto, ao aplicar esses métodos para controlar a estabilidade, altera-se consideravelmente o meio e demais características do sistema coloidal.⁴¹

Sabe-se que os colóides de ouro absorvem uma faixa específica de luz devido à ressonância plasmônica de superfície (SPR).⁴² A coloração vermelha das AuNPs de menores dimensões é causada por intensa absorção da luz em torno de 520 nm, correspondendo à frequência em que a ressonância plasmônica ocorre com o ouro.⁷ Essa absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) em torno de 520 nm, normalmente está relacionada à AuNPs de diâmetros de aproximadamente 20 nm.^{43 44}

Com o aumento do tamanho das partículas, a absorção máxima muda para comprimentos de onda mais longos, fazendo com que o colóide apresente cores que tendam ao azul.⁴⁵ Sabe-se que a alteração da coloração das dispersões coloidais de ouro de vermelha para o roxo ou azul, é um fenômeno resultante da agregação e está relacionado às propriedades ópticas dependentes das distâncias das AuNPs.^{7 46} Tal processo ocorre quando as distâncias entre as partículas são menores que aproximadamente o diâmetro médio das mesmas.⁴⁷

A Figura 5 ilustra a mudança de coloração de uma dispersão coloidal de ouro em decorrência do processo de agregação das partículas.

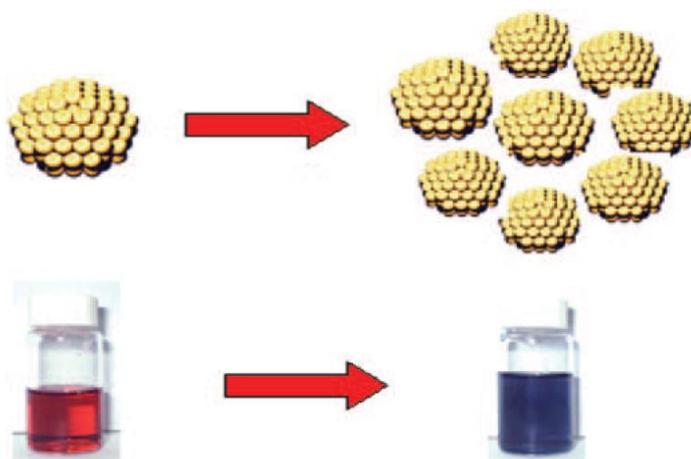


Figura 5 – Mudança da coloração de uma dispersão de AuNPs devido ao processo de agregação.^[48]

2.2.4 Síntese de AuNPs

O processo de preparação química das AuNPs envolve duas etapas: a redução e a estabilização química da superfície das partículas. A redução química das AuNPs pode ser realizada por vários agentes, tais como borohidretos, hidrazina, formaldeído, hidroxilamina, ácido cítrico, ácido oxálico, álcoois saturados e insaturados, peróxido de hidrogênio, monóxido de carbono, acetileno, polióis e sulfitos. A estabilização de AuNPs pode ser efetuada através de agentes como citrato de sódio, ligantes de enxofre (em particular, tiolatos), ligantes de fósforo, ligantes à base de nitrogênio, ligantes à base de oxigênio, dendrímeros, polímeros e surfactantes (em particular, brometo de cetiltrimetilamônio, abreviado como CTAB).³⁶

De todos os métodos para a síntese de AuNPs disponíveis, o mais popular foi descrito por Turkevich (1951)⁴⁹ e tornou-se uma espécie de protocolo padrão para o procedimento, utilizando citrato de sódio como redutor e estabilizador das AuNPs. O experimento baseia-se na adição de citrato de sódio em uma solução de ácido tetracloroáurico (HAuCl_4) em temperatura de ebulição. Após alguns minutos de constante e vigorosa agitação, é obtida uma dispersão coloidal de coloração vermelha/vinho contendo AuNPs de tamanho médio de 20 nm. Basicamente, o que ocorre é a redução dos íons de ouro por ação do citrato, que também atua na estabilização das AuNPs, devido à sua elevada densidade de carga negativa proporcionada pelos grupos carboxilato, evitando assim, a agregação. A Figura 6 ilustra o mecanismo de síntese e estabilização de AuNPs a partir do método de Turkevich.

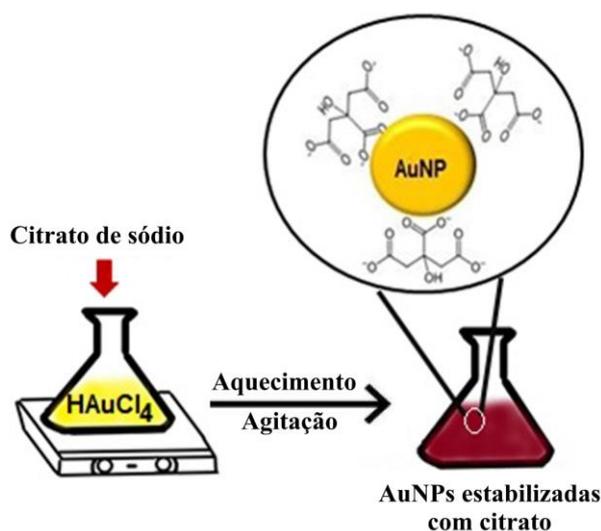


Figura 6 – Esquema da síntese de AuNPs através do método de Turkevich. [adaptado de 50]

O método de Turkevich foi aprimorado por Frens em 1973 ⁵¹, permitindo a obtenção de AuNPs com uma ampla faixa de diâmetro (de 15 a 150 nm), através do controle da proporção de citrato para o ouro. Entretanto, partículas maiores que 20 nm apresentaram polidispersão.

No início da década de 80, foi publicado o conceituado estudo sobre o *cluster* de Au₅₅ estabilizado por fosfina [Au₅₅(PPh₃)₁₂Cl₆], amplamente conhecido como o “*cluster* de Schmid”, que apresentava uma estreita distribuição de tamanho ($1,4 \pm 0,4$ nm). ^{36 52}

Mulvaney e Giersing ⁵³ foram os primeiros a relatar a síntese e estabilização de AuNPs com tiolatos. Mas foi em 1994 que foi publicado o ilustre relatório do método bifásico de Brust-Schiffrin ⁵⁴, sendo o primeiro método capaz de preparar AuNPs estabilizadas com tiolato através de síntese *in situ*, o que lhe conferiu grande sucesso. Entre as características que permitiram que o método de Brust-Schiffrin tivesse um impacto tão significativo estão o controle do pequeno tamanho das partículas (menores que 5 nm), a estabilidade térmica e ao ar relativamente alta das AuNPs preparadas através deste método, e a facilidade no mecanismo de funcionalização e modificação por substituição dos ligantes. As AuNPs preparadas através deste método são reduzidas a partir da ação do borohidreto de sódio (NaBH₄) na presença de ligantes de enxofre e em solvente orgânico, produzindo ligações relativamente fortes de Au-S. Quando comparado ao método de Turkevich, o método de Brust-Schiffrin mostrou-se capaz de produzir AuNPs com tamanhos bem menores. A razão disto é a força do agente redutor utilizado no método de Brust-Schiffrin, que é muito maior que a do citrato usado no método de Turkevich, e a taxa de reação que é muito maior na síntese de AuNPs usando o NaBH₄. Na última década, os métodos citados passaram por diversos aprimoramentos, possibilitando assim, algumas aplicações promissoras. Ligantes à base de oxigênio e nitrogênio contendo grupos eletronegativos, como grupos amina (ou amino), carboxila, carbonila e fenol, também são opções para se utilizar na síntese de AuNPs. ³⁶

2.2.5 Cinética de formação das nanopartículas

Para se alcançar um elevado controle de tamanho, distribuição de tamanho e forma na síntese de NPs monodispersas, é imprescindível o domínio das teorias de nucleação e crescimento das partículas. A teoria de LaMer ⁵⁵ é conhecida na literatura por explicar os fundamentos de síntese e discutir o mecanismo de nucleação e de crescimento na formação de partículas coloidais. Segundo os estudos de LaMer, a premissa básica da formação de partículas

coloidais monodispersas consiste principalmente na divisão entre as seguintes fases: primeiramente uma rápida nucleação e posteriormente, o crescimento das partículas, sendo que, durante a etapa de crescimento deve ser evitada a iniciação de novos processos de nucleação. Com isso, muitos núcleos são gerados quase simultaneamente, e esses núcleos começam a crescer sem nucleação adicional. Isso permite que as partículas tenham históricos de crescimento quase idênticos e, portanto, apresentem os mesmos tamanhos. Caso contrário, se a nucleação ocorrer ao longo do processo de formação das partículas, os históricos de crescimento das partículas se tornam muito diferentes uns dos outros e, conseqüentemente, o controle da distribuição de tamanho se torna muito difícil. Para a obtenção da homogeneidade na distribuição de tamanho, a dinâmica dos fenômenos de nucleação e crescimento deve ser minuciosamente controlada, pois a tendência é que os núcleos sejam formados em momentos diferentes da síntese, apresentando ao final tamanhos variados. Uma das formas de se alcançar a uniformidade das partículas é através do controle da concentração inicial do monômero precursor.^{56 57}

De acordo com o modelo de LaMer, o processo se inicia com o aumento da concentração dos monômeros, como é representado na Figura 7 pela fase I. Nesta primeira fase, a barreira de energia para nucleação é consideravelmente alta. A fase II é conhecida como etapa da nucleação e se inicia após a concentração dos monômeros na etapa anterior atingir um certo patamar de concentração, a supersaturação crítica (S_c). Nesta etapa, o grau de supersaturação é alto o suficiente para superar a barreira de energia para a nucleação, resultando na formação e acumulação de núcleos estáveis. Com isso, muitos núcleos são formados num período muito curto de tempo. Como a taxa de consumo de monômeros excede a taxa de fornecimento, a concentração de monômeros é reduzida até atingir o nível no qual a taxa líquida de nucleação (o número de núcleos formados por unidade de tempo) é zero. Abaixo desse nível, o sistema entra na fase de crescimento (fase III), na qual a nucleação é efetivamente interrompida e as partículas continuam a crescer enquanto a solução estiver em condições supersaturadas.^{55 56 57}

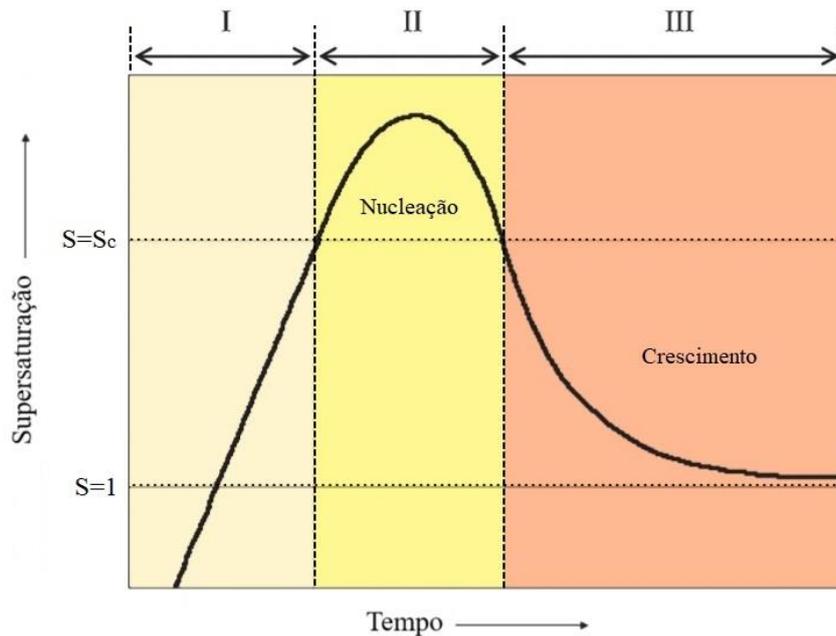


Figura 7 – Mecanismo de formação de nanopartículas monodispersas com base na clássica abordagem de LaMer. ^[adaptado de 56]

A abordagem de LaMer é uma das mais conhecidas e amplamente citadas na literatura, devido à relevância da sua contribuição. O mecanismo proposto, ou seja, a separação temporal da nucleação (formação simultânea dos núcleos) e do crescimento dos núcleos, desempenha um papel fundamental na obtenção de partículas monodispersas. ^{20 55 56}

Além da variação da concentração inicial do precursor, outra maneira de controlar os mecanismos de nucleação e crescimento é a aplicação de um agente passivador, que evita o crescimento descontrolado dos núcleos formados e previne a aglomeração das NPs.

Nesse contexto, vale detalhar um pouco mais o processo com foco na cinética de formação das AuNPs. A síntese se dá inicialmente a partir da redução dos íons Au^{3+} a Au^0 elevando a concentração dos átomos Au^0 até alcançar a saturação. Em seguida, os núcleos são formados devido à ocorrência de colisões entre átomos Au^0 . Após a nucleação, átomos de ouro se ligam à superfície dos núcleos formados anteriormente, promovendo o crescimento das AuNPs. Para controlar o crescimento das NPs, adicionam-se estabilizantes.

2.3 Síntese Verde de Nanopartículas Metálicas

O desenvolvimento de metodologias eficientes para a síntese de NPs metálicas, alinhadas aos princípios da química verde, tem sido um grande foco entre os pesquisadores nos últimos anos. Basicamente, o conceito de química verde está relacionado com o desenvolvimento de produtos e processos químicos que reduzam ou eliminem o uso e a geração de substâncias perigosas.^{58 59} Atualmente, a maioria dos métodos utilizados na síntese e modificação da superfície das NPs metálicas envolve o uso de substâncias químicas tóxicas e perigosas, que podem representar potenciais riscos ambientais e biológicos. Além da geração de resíduos nocivos para a saúde e o meio ambiente, a utilização dessas substâncias tóxicas resulta em um elevado consumo de energia em rotas geralmente complexas e com múltiplos passos. Por esta razão, torna-se cada vez mais necessária a substituição das metodologias tradicionais de obtenção de NPs metálicas por protocolos de síntese que não envolvam produtos químicos tóxicos. Uma alternativa promissora é o uso de diversos recursos biológicos disponíveis na natureza por meio da chamada síntese verde. Síntese verde é o termo usado para descrever as rotas que utilizam produtos químicos relativamente atóxicos, biodegradáveis e de baixo custo para a produção de nanomateriais. Nessas sínteses, a fonte primária ou iniciador do processo possui origem biológica, como biomoléculas.^{46 60 61}

No contexto atual, de crescente preocupação com questões relacionadas à sustentabilidade, a nanotecnologia verde representa uma rota alternativa, ao utilizar metodologias e materiais que possibilitam a geração de produtos com impacto ambiental reduzido, além de ganhos econômicos e sociais atrelados. A aplicação de biomoléculas ou metabólitos em rotas de síntese verde de NPs metálicas pode representar boas oportunidades, pois estes materiais, quando nanoestruturados, revelam novas características que permitem uma variedade de aplicações inovadoras, além de apresentar, em geral, características desejáveis no que diz respeito à biodegradabilidade e a biocompatibilidade.⁶⁰

De uma forma geral, a síntese verde de NPs metálicas envolve a redução química de sais metálicos na presença de um agente redutor, que muitas vezes também atua como agente estabilizante, revestindo as NPs durante o processo. Diversas biomoléculas podem desempenhar o papel de agentes redutores em rotas de síntese verde, incluindo polissacarídeos, vitaminas, ácidos nucleicos, proteínas, peptídeos e aminoácidos.⁶⁰

Estudos mostram que AuNPs podem ser sintetizadas usando o polissacarídeo heparina como agente redutor e estabilizante. Kemp et al. (2009)⁶² relataram o uso de heparina para obter AuNPs, resultando em partículas estáveis e com distribuição de tamanho uniforme.

Conhecida por sua ação anticoagulante, a heparina mantém sua atividade mesmo quando conjugada ao ouro. As AuNPs sintetizadas com heparina também demonstraram propriedades anti-inflamatórias, tornando-as bastante úteis em diversas aplicações biológicas e biomédicas. Rodríguez-Torres et al. (2014)⁶³ descreveram que a redução dos íons de ouro pela heparina, com irradiação UV como catalisador, é um método simples e econômico, com biofuncionalização direta dos produtos. Além disso, o trabalho de Kim et al. (2013)⁶⁴ constatou que AuNPs sintetizadas com heparina apresentaram uma melhoria na atividade anticoagulante, demonstrando seu promissor potencial para aplicações farmacêuticas e biomédicas.

O ácido ascórbico (vitamina C) é amplamente reconhecido por suas propriedades antioxidantes, biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade e alta solubilidade em água. Devido a essas características, o ácido ascórbico é empregado na síntese de NPs metálicas.⁶⁰ Tyagi et al. (2011)⁶⁵ relataram que as AuNPs sintetizadas usando o ácido ascórbico têm uma distribuição de tamanho estreita e podem ser facilmente estabilizadas apenas ajustando as condições iniciais de pH do meio reacional. No estudo de Nadagouda e Varma (2006)⁶⁶, a riboflavina (vitamina B2) foi utilizada como agente redutor e estabilizante para a formação de nanoesferas, nanofios e nanobastões de ouro, à temperatura ambiente.

Estudos demonstraram que ácidos nucleicos (DNA e RNA) e suas unidades estruturais, os nucleotídeos, são capazes de modular o tamanho e propriedades físico-químicas das NPs metálicas. Kunoh et al. (2018)⁶⁷ descreveram o uso de ácidos nucleicos para a redução dos íons de ouro, resultando na formação de AuNPs esféricas, em condições ambientais, sem a necessidade de produtos químicos ou tratamentos físicos adicionais.

Goswami, Saha e Pal (2011)⁶⁸ relataram um método de síntese utilizando proteínas para preparar AuNPs. Observou-se que a nucleação das NPs em ambientes proteicos, resultado da transferência de elétrons da proteína para os íons metálicos, é dependente da temperatura de fusão da proteína. Constatou-se que o tempo necessário para iniciar a nucleação (tempo de indução) pode aumentar conforme a temperatura de fusão da proteína aumenta, sugerindo que baixas temperaturas de fusão podem ser importantes para o processo de nucleação e crescimento das NPs.

Tan, Lee e Wang (2010)⁶⁹ descreveram o uso de peptídeos como agentes redutores na formação de NPs metálicas. De acordo com esse estudo, a capacidade redutora de um peptídeo depende da presença de certos resíduos de aminoácidos redutores. Em seu estudo, Otari et al. (2016)⁷⁰ relataram que o peptídeo antimicrobiano nisina atuou como agente redutor para formar AuNPs. Altas temperaturas foram aplicadas para facilitar a reação de redução, permitindo que o peptídeo convertesse Au^{3+} em Au^0 em apenas 15 minutos. Por ser um peptídeo altamente

termoestável, a nisina manteve sua atividade antimicrobiana mesmo após a síntese. As AuNPs obtidas apresentaram formato esférico e diâmetro inferior a 25 nm.

Os aminoácidos, constituintes das proteínas, são amplamente conhecidos por se ligarem às AuNPs. ⁷¹ Diversos estudos recentes têm explorado uma variedade de compostos com a funcionalidade amina para serem utilizados na síntese de nanomateriais, incluindo aminas primárias simples, aminas aromáticas e aminoácidos. ⁴⁶

2.3.1 Aminoácidos

Os aminoácidos são as unidades estruturais fundamentais que compõem as proteínas. ⁷² Existem vinte tipos diferentes de aminoácidos que são comumente encontrados nas proteínas. Todos esses aminoácidos são classificados como α -aminoácidos, pois, com exceção da prolina, possuem um grupo carboxila ($-\text{COOH}$) e um grupo amina primário ($-\text{NH}_2$) ligados ao mesmo átomo de carbono (o carbono α) (Figura 8). O que diferencia um aminoácido do outro são suas cadeias laterais (ou grupos R), que variam em estrutura, tamanho e carga elétrica, e que influenciam a solubilidade dos aminoácidos em água. ⁷³ A ampla variação dessas cadeias laterais é o que proporciona às proteínas sua grande diversidade estrutural e, conseqüentemente, sua grande diversidade funcional. ⁷⁴

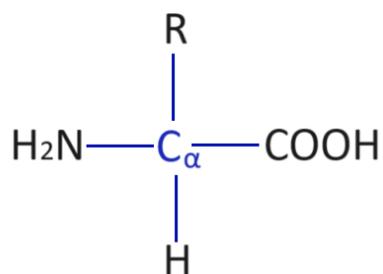


Figura 8 – Estrutura geral dos aminoácidos.

Devido à presença de quatro substituintes diferentes (um grupo carboxila, um grupo amino, um grupo R e um átomo de hidrogênio), o átomo de carbono α dos aminoácidos comuns (exceto a glicina) é considerado assimétrico, ou seja, um centro quiral. Os aminoácidos com um centro quiral possuem dois estereoisômeros possíveis, com as configurações L e D. Vale ressaltar que os α -aminoácidos que constituem as proteínas apresentam configuração estereoquímica L.⁷³

Os grupos carboxila e amino dos aminoácidos podem atuar tanto como ácidos (doadores de prótons), tanto como bases (receptores de prótons), a depender do pH da solução em que o aminoácido estiver dissolvido. Por esta razão, os aminoácidos são considerados anfóteros.^{73 74} Os valores de pK_a (constante de dissociação ácida) dos aminoácidos comuns encontrados em proteínas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de pK_a e pontos isoelétricos dos aminoácidos. [adaptado de 73]

Aminoácido	Abreviação	Valores de pK_a			Ponto Isoelétrico
		pK_1 (-COOH)	pK_2 (-NH ₃ ⁺)	pK_R (grupo R)	
Grupos R alifáticos, apolares					
Glicina	Gly	2,34	9,60		5,97
Alanina	Ala	2,34	9,69		6,01
Prolina	Pro	1,99	10,96		6,48
Valina	Val	2,32	9,62		5,97
Leucina	Leu	2,36	9,60		5,98
Isoleucina	Ile	2,36	9,68		6,02
Metionina	Met	2,28	9,21		5,74
Grupos R aromáticos					
Fenilalanina	Phe	1,83	9,13		5,48
Tirosina	Tyr	2,20	9,11	10,07	5,66
Triptofano	Trp	2,38	9,39		5,89
Grupos R polares, não carregados					
Serina	Ser	2,21	9,15		5,68
Treonina	Thr	2,11	9,62		5,87
Cisteína	Cys	1,96	10,28	8,18	5,07
Asparagina	Asn	2,02	8,80		5,41
Glutamina	Gln	2,17	9,13		5,65
Grupos R carregados positivamente					
Lisina	Lys	2,18	8,95	10,53	9,74
Histidina	His	1,82	9,17	6,00	7,59
Arginina	Arg	2,17	9,04	12,48	10,76
Grupos R carregados negativamente					
Aspartato	Asp	1,88	9,60	3,65	2,77
Glutamato	Glu	2,19	9,67	4,25	3,22

Observa-se que os valores de pK_a dos grupos carboxila ($-\text{COOH}$) dos aminoácidos são aproximadamente 2, enquanto que para os grupos amino protonados ($-\text{NH}_3^+$) os valores de pK_a situam-se próximos de 9. Isso significa que em uma solução muito ácida ($\text{pH} \sim 0$), os dois grupos funcionais se apresentarão em suas formas ácidas, enquanto que em uma solução fortemente básica ($\text{pH} \sim 11$), ambos os grupos estarão em suas formas básicas. No entanto, na faixa de pH fisiológico (~ 7), nota-se que o pH da solução é superior ao pK_a do grupo carboxila, porém inferior ao pK_a do grupo amino protonado.⁷⁴ Dessa maneira, o grupo carboxila estará em sua forma básica e o grupo amino estará em sua forma ácida, ou seja, ambos os grupamentos encontram-se ionizados, como é ilustrado na Figura 9.

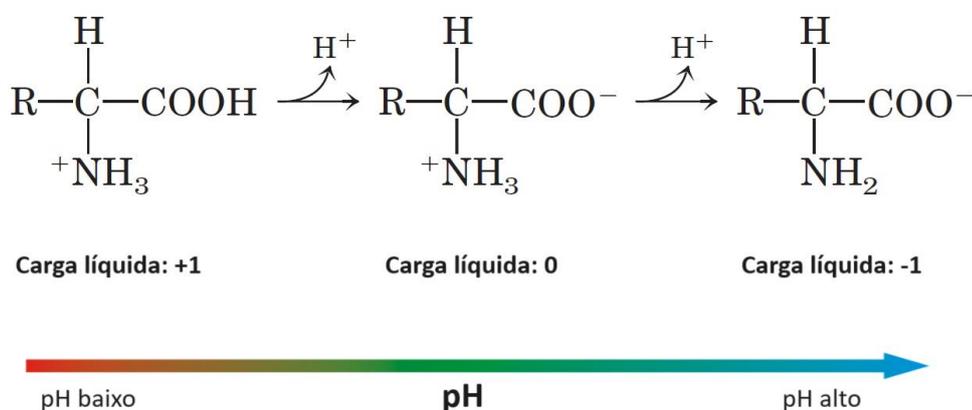


Figura 9 – Influência do pH do meio nos grupos funcionais dos aminoácidos. [adaptado de 73]

Portanto, em valores fisiológicos de pH , um aminoácido existe como um íon dipolar, ou “*zwitterion*” (do alemão, íon híbrido), que pode ser entendido como um composto químico que apresenta grupos com cargas elétricas opostas (Figura 10).^{72 74}

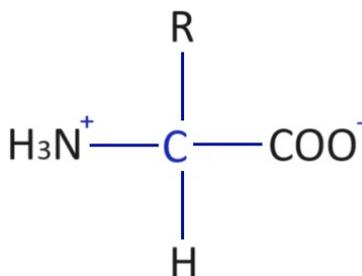


Figura 10 – Forma zwitteriônica dos aminoácidos que ocorre em valores fisiológicos de pH .

Alguns aminoácidos possuem hidrogênios ionizáveis em suas cadeias laterais (grupo R). Para esta cadeia lateral ionizável, também existe um valor de pK_a associado, como já mostrado na Tabela 1.

O ponto isoelétrico (pI) de um aminoácido é o valor de pH no qual a quantidade de cargas positivas se iguala à quantidade de cargas negativas e, portanto, se anulam. Logo, a carga do aminoácido é zero. O ponto isoelétrico de um aminoácido que não possui uma cadeia lateral ionizável é determinado pela média aritmética de seus dois valores de pK_a . No caso de um aminoácido que possui uma cadeia lateral ionizável, o ponto isoelétrico é determinado pela média dos valores de pK_a dos grupos similarmente ionizantes.⁷⁴

A grande variedade de propriedades das proteínas se deve à diversidade das propriedades físico-químicas que os aminoácidos podem apresentar. Tais aminoácidos podem variar em relação à polaridade, basicidade, acidez, tamanho, aromaticidade, capacidade de formar ligações de hidrogênio e reatividade química.⁷²

Normalmente, os aminoácidos são classificados de acordo com as propriedades de suas cadeias laterais (grupo R), principalmente com base na sua polaridade ou na tendência para interagir com a água em pH biológico, que é próximo do pH 7. A polaridade dos grupos R apresenta uma ampla variação, indo desde apolar e hidrofóbico (não solúvel em água) até altamente polar e hidrofílico (solúvel em água). Alguns aminoácidos são um tanto desafiadores de caracterizar ou não se enquadram perfeitamente em nenhum grupo específico. Suas atribuições a determinados grupos resultam de avaliações ponderadas, em vez de serem absolutas.⁷³ Os aminoácidos podem ser categorizados da seguinte maneira:

Aminoácidos com grupos R apolares, alifáticos: Possuem cadeias laterais apolares e hidrofóbicas. Fazem parte deste grupo a glicina, a alanina, a valina, a leucina, a isoleucina, a metionina e a prolina.

Aminoácidos com grupos R aromáticos: Possuem cadeias laterais aromáticas e são relativamente apolares (hidrofóbicos). Essa classe de aminoácidos inclui a fenilalanina, a tirosina e o triptofano. Todos esses aminoácidos têm a capacidade de participar em interações hidrofóbicas. Comparativamente, a tirosina e o triptofano demonstram uma polaridade significativamente maior em relação à fenilalanina, devido à presença do grupo hidroxila na tirosina e ao nitrogênio do anel indol do triptofano. De acordo com algumas fontes da literatura, a tirosina é classificada como um aminoácido com cadeia lateral polar.

Aminoácidos com grupos R polares, não carregados: Possuem cadeias laterais polares eletricamente neutras e mais hidrofílicas (mais solúveis em água) do que aquelas dos

aminoácidos apolares, devido à presença de grupos funcionais capazes de formar ligações de hidrogênio com a água. Fazem parte deste grupo a treonina, a cisteína, a asparagina, a glutamina e a serina. Devido ao seu grupo sulfidril, a polaridade da cisteína é considerada bastante modesta.

Aminoácidos com grupos R carregados positivamente (básicos): Os grupos R mais hidrofílicos são aqueles carregados positivamente ou negativamente. Quando os aminoácidos possuem seus grupos R com uma carga positiva significativa em pH 7, são considerados aminoácidos básicos. Fazem parte deste grupo a lisina, a arginina e a histidina.

Aminoácidos com grupos R carregados negativamente (ácidos): Quando os aminoácidos apresentam grupos R com carga final negativa em pH 7, são considerados aminoácidos ácidos e apresentam um outro grupo carboxila em sua molécula, além daquele comum a todos os aminoácidos. Fazem parte deste grupo o ácido aspártico e ácido glutâmico, que, em estado ionizado, são frequentemente chamados de aspartato e glutamato, respectivamente.^{72 73}

As fórmulas estruturais apresentadas na Figura 11 evidenciam o estado de ionização dos aminoácidos, predominante em pH 7.

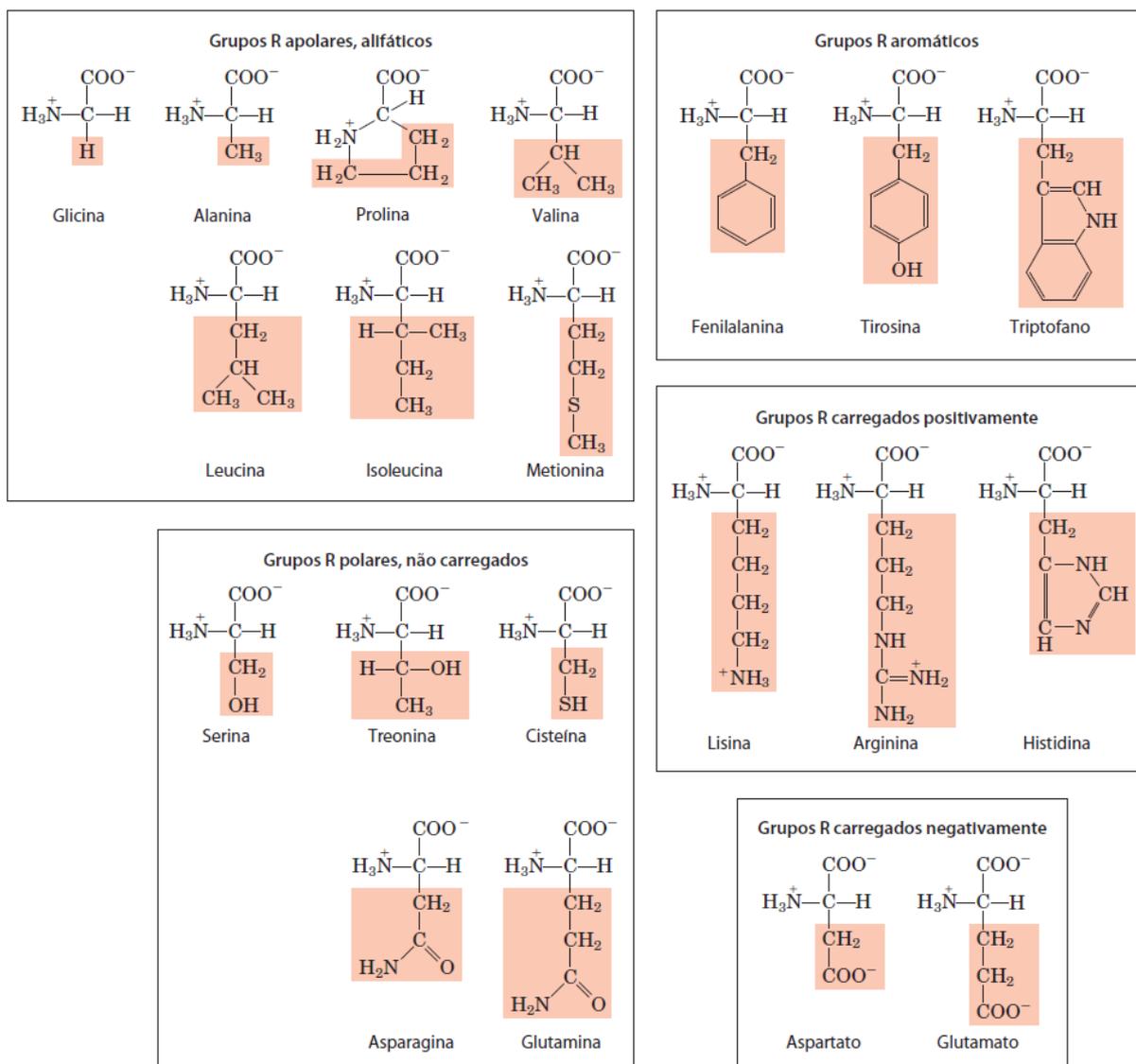


Figura 11 – Fórmulas estruturais dos 20 aminoácidos comuns de proteínas. ^[73]

As partes não sombreadas da Figura 11 são compartilhadas por todos os aminoácidos, enquanto as partes sombreadas de cor rosa representam os grupos R. Apesar do grupo R da histidina ser mostrado sem carga, uma fração pequena, porém significativa, desses grupos R apresenta carga positiva em pH 7, uma vez que o seu pK_a é 6 (ver Tabela 1).

2.3.2 Síntese de AuNPs com aminoácidos

Nos últimos anos, diversos estudos exploraram a capacidade que vários compostos orgânicos têm de se conjugarem às NPs metálicas. Foi constatada a efetiva ligação do grupo funcional amina (NH_2) com as AuNPs, e, por esta razão, os aminoácidos têm sido bastante utilizados como agentes redutores e estabilizadores na síntese destas. Além de representar um método “verde”, a utilização dos aminoácidos nas sínteses de AuNPs se destaca pela sua biocompatibilidade, uma vez que as AuNPs conjugadas com biomoléculas podem ser usadas em aplicações biomédicas e em dispositivos biossensores. Além dos aminoácidos, diversas biomoléculas, como as proteínas, também podem atuar como agentes redutores em rotas de síntese verde.^{71 75}

Em 2014, Wangoo et al.⁴⁶ publicaram um estudo detalhado sobre uma síntese verde de AuNPs esféricas e monodispersas, utilizando todos os 20 aminoácidos naturais, como agentes redutores e estabilizadores. Nos experimentos, variou-se a proporção dos íons de ouro para o aminoácido, a fim de se obter o controle do tamanho das NPs. Foi relatado que, dos 20 aminoácidos estudados, o ácido glutâmico, o ácido aspártico, a asparagina, a serina, a treonina, a isoleucina, a leucina, a tirosina e a valina revelaram um bom rendimento para a formação de AuNPs.

Maruyama et al. (2015)⁷⁵ também demonstraram que vários aminoácidos podem atuar como agente estabilizador e redutor dos íons de ouro. As AuNPs foram sintetizadas a partir de uma solução de ácido tetracloroáurico (HAuCl_4) com aminoácido, em incubação a 80 °C por 20 minutos. Foram obtidas AuNPs de 4 a 7 nm de diâmetro. Foi observado que as concentrações dos reagentes e o pH do meio reacional influenciaram nos rendimentos da reação e na morfologia das AuNPs obtidas. Entre os 20 aminoácidos estudados, vários produziram AuNPs. No entanto, alguns não resultaram em ouro coloidal, como a arginina, e outros tiveram seus produtos facilmente precipitados, como o triptofano.

Também alinhados com os princípios da química verde, Courrol et al. (2016)⁷⁶ relataram a elevada capacidade de redução e estabilização dos aminoácidos, ao realizar a síntese de AuNPs utilizando apenas água Milli-Q, HAuCl_4 e os aminoácidos, na presença de luz branca de uma lâmpada de xenônio. O uso da radiação eletromagnética nesta síntese teve como finalidade facilitar e/ou acelerar o processo de oxidação dos aminoácidos, ou seja, a luz atuou como um catalisador para a formação de AuNPs. Foi possível obter AuNPs esféricas de tamanhos variados (5 a 100 nm) com 18 dos 21 aminoácidos que foram avaliados, sendo que os melhores

rendimentos foram alcançados com o ácido aspártico, a arginina, a treonina, o triptofano e a valina.

Em um estudo mais recente, Figat et al. (2023)⁷⁷ também investigaram 20 aminoácidos, em analogia ao citrato de sódio, como agentes redutores e estabilizadores na síntese de AuNPs, aplicando as condições do tradicional método de Turkevich. De todos os aminoácidos investigados, apenas quatro não foram capazes de produzir AuNPs nas condições utilizadas: prolina, cisteína, glutamina e arginina.

Theodosiou et al. (2024)⁷⁸ realizaram um estudo comparativo sobre o potencial de 17 aminoácidos para serem usados como agentes redutores e estabilizantes, sob as mesmas condições de reação, em uma abordagem modificada do clássico método de Turkevich (invertendo a ordem de adição de reagentes). De acordo com os resultados obtidos, os autores relataram que AuNPs foram sintetizadas com sucesso usando os diferentes aminoácidos como agentes redutores. A caracterização comparativa das AuNPs revelou variação no tamanho e na morfologia, o que se supõe estar relacionada com a estereoquímica e reatividade de cada aminoácido empregado. A maioria das AuNPs sintetizadas com aminoácidos demonstrou boa estabilidade coloidal, validada por distribuições de tamanho hidrodinâmico estreitas e valores de potencial zeta altamente negativos.

Embora existam diversos relatórios disponíveis na literatura, abordando o uso dos aminoácidos na síntese ou estabilização de AuNPs, são relativamente escassos os estudos que exploram o potencial redutor e ao mesmo tempo estabilizador dos aminoácidos, durante os processos de sínteses.

CAPÍTULO 3. Materiais e Métodos

3.1 Reagentes

Para os experimentos foram utilizados o precursor cloreto de ouro (III) trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 0,1 M e os seguintes aminoácidos: arginina, ácido aspártico, cisteína, histidina, triptofano e tirosina. Além disso, foram preparadas soluções de HCl e NaOH (0,1 M). Os reagentes foram utilizados sem purificação adicional. Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade de 18,2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25 °C).

3.2 Procedimentos

3.2.1 Síntese e estabilização de AuNPs com aminoácidos

Inicialmente foram preparadas soluções estoque (50 mM) de cada um dos aminoácidos. A síntese das AuNPs prosseguiu com a adição de ácido tetracloroáurico (HAuCl_4) 0,1 mM em um béquer com água ultrapura, em temperatura próxima à ebulição, sob agitação constante por aproximadamente 2 minutos. Após a homogeneização da solução aquosa de HAuCl_4 , a solução do aminoácido foi adicionada ao béquer (com concentração final de acordo com os valores a serem avaliados). A reação continuou sob agitação magnética constante por mais 5 minutos. Após a adição do agente redutor (solução do aminoácido), esperava-se que, em poucos instantes, a dispersão coloidal mudasse de coloração para vermelho. Tal coloração é um indicativo de formação das AuNPs. Nos experimentos, foi avaliada a variação dos seguintes parâmetros: razão molar do aminoácido para o precursor dos íons de ouro (0,125 a 10) e o pH do meio (1 a 13), conforme é mostrado na Tabela 2. O ajuste de pH foi realizado utilizando soluções aquosas de HCl e NaOH, ambas 0,1 M. Toda a vidraria utilizada nos experimentos foi lavada com água régia (3:1, HCl:HNO₃) e enxaguada com água ultrapura.

Tabela 2 – Parâmetros avaliados para a síntese de nanopartículas de ouro.

Parâmetros avaliados	Faixa de Valores
Razão molar ([Aminoácido]/[HAuCl ₄])	0,125 – 10
pH	Ácido (pH ~ 1) – Básico (pH ~ 13)

Na Tabela 3 estão descritos os valores de concentração final do aminoácido na mistura reacional, adotados nos experimentos.

Tabela 3 – Valores de concentração final dos aminoácidos.

Razão molar	Concentração do aminoácido
0,125	0,0125 mM
0,25	0,025 mM
0,5	0,05 mM
1	0,1 mM
5	0,5 mM
10	1 mM

3.3 Caracterização

As amostras de AuNPs deste trabalho foram caracterizadas através das técnicas de espectroscopia de absorção ultravioleta visível (UV-Vis), potencial zeta, espalhamento dinâmico de luz (DLS) e microscopia eletrônica de transmissão (MET).

3.3.1 Espectroscopia de absorção óptica no UV-Vis

As amostras de AuNPs foram analisadas por espectroscopia de absorção óptica UV-Vis a fim de verificar a estabilidade e a tendência à aglomeração das NPs. Os espectros de absorção das amostras foram registrados pelo espectrofotômetro modelo Genesys 10S UV-Vis (Thermo Fisher Scientific), no Laboratório de Nanotecnologia Supercrítica (LNS), localizado no Centro Interdisciplinar de Energia e Ambiente (CIEnAm) da Universidade Federal da Bahia. As

medições foram realizadas em temperatura ambiente, utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 10 mm. A faixa de comprimentos de onda utilizada foi de 400 até 700 nm, tendo sido empregada água ultrapura como branco de leitura.

3.3.2 Potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz (DLS)

As medições do potencial zeta foram realizadas no equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern), que se encontra localizado no LNS-CIEnAm-UFBA. O equipamento opera com um laser He-Ne a 632,8 nm, potência de 4mW, e um detector fixo a 90°. A amostra foi acondicionada em uma célula capilar (DTS1070) para medidas de mobilidade eletroforética. Nessa técnica um campo elétrico é aplicado à amostra em análise, e a velocidade das partículas é medida usando o efeito Doppler. Esse procedimento permite calcular a mobilidade eletroforética das partículas (valor médio), e com isso, obter seu potencial de superfície, também conhecido como potencial zeta. O equipamento Zetasizer Nano ZS também foi utilizado para medição da distribuição de tamanho das partículas, através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (do inglês, *Dynamic Light Scattering*, DLS), que analisa as flutuações de intensidade da luz espalhada.

3.3.3 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As imagens das AuNPs foram obtidas através do microscópio eletrônico de transmissão de alta resolução (JEM-2800, JEOL, 200kV) no Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica (LAMUME), localizado no Instituto de Física da Universidade Federal da Bahia. O procedimento de preparação da amostra para a análise no MET consiste em aplicar, com o auxílio de uma micropipeta, uma única gota da solução amostral em uma grade de níquel (diâmetro 3mm) de malha 400 mesh, revestida com filme de formvar/carbono. Após sua preparação, as amostras foram mantidas num dessecador por aproximadamente 24 horas, até o momento da realização das medições.

CAPÍTULO 4. Resultados e Discussão

Para a síntese das AuNPs foram utilizados 6 aminoácidos com propriedades físico-químicas distintas que são definidas pela cadeia lateral que cada aminoácido possui.

- Arginina e histidina – aminoácidos básicos com carga líquida positiva no pH 7.
- Ácido aspártico – aminoácido ácido com carga líquida negativa no pH 7.
- Cisteína – aminoácido sem carga.
- Tirosina e triptofano – aminoácidos com cadeias laterais aromáticas.

Foram considerados como resultados mais promissores aqueles que levaram à formação de AuNPs esféricas e estáveis, a partir do mecanismo de redução dos íons metálicos (Au^{3+}) em solução, por ação do aminoácido. Para analisar a influência da razão molar ($[\text{Aminoácido}]/[\text{HAuCl}_4]$) na formação de AuNPs, foram realizados testes com a concentração de HAuCl_4 fixada em 0,1 mM e amostras que foram aquecidas a aproximadamente 100° C. Todos os valores de concentração testados, tanto para o HAuCl_4 quanto para os aminoácidos, foram baseados em valores encontrados na literatura. Os resultados apresentados a seguir foram obtidos em triplicata.

4.1 Análise da Formação de AuNPs e dos Espectros de Absorção no UV-Vis

A espectrofotometria de absorção óptica UV-Vis é uma das técnicas mais eficientes para o estudo de estruturas atômicas e moleculares. Essa técnica é capaz de medir a quantidade de luz ultravioleta ou radiação visível absorvida por uma substância em solução.⁷⁹

4.1.1 Ácido Aspártico (Asp)

Para as sínteses usando ácido aspártico como agente redutor, foram testadas razões molares entre 0,5 e 10. Não foi necessário testar razões molares menores que 0,5, pois, nessa concentração de reagentes, as amostras já apresentaram sinais de agregação. As demais amostras apresentaram a típica coloração rosa/avermelhada³⁴ (Figura 12).

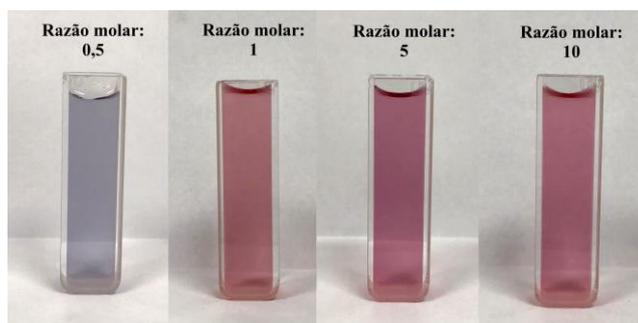


Figura 12 – Aspecto das amostras após as sínteses com ácido aspártico (Asp) a razões molares de 0,5; 1; 5 e 10, respectivamente.

Além de influenciar a formação das AuNPs, a concentração de ácido aspártico também pode influenciar o tamanho das partículas, sendo assim possível ajustar suas dimensões ao controlar a quantidade desse agente redutor. Tais aspectos podem ser monitorados utilizando técnicas analíticas, como espectroscopia de absorção UV-Vis, para acompanhamento da concentração (através da intensidade da absorbância) e tamanho (através da posição da banda de absorção) das NPs.

Para analisar adequadamente os espectros de absorção óptica das AuNPs é importante compreender alguns parâmetros principais (Figura 13). Um destes parâmetros é a intensidade de absorção ou absorbância máxima, que está relacionado com a concentração da amostra, indicando a quantidade de luz absorvida pelas NPs. Quanto maior a absorbância, maior a concentração de AuNPs na dispersão. Outro parâmetro importante é o comprimento de onda (λ) de absorção da amostra. De acordo com a teoria de Mie ³⁴, o comprimento de onda de absorção é um indicativo do tamanho das NPs, sugerindo dimensões maiores à medida que a posição da banda se encontra em comprimentos de onda maiores no espectro. Por fim, a largura da banda à meia altura (nm) indica a homogeneidade do tamanho das NPs dispersas. Quanto menor é a largura à meia altura da banda de absorção (bandas mais estreitas), mais homogêneas em relação ao seu tamanho serão as partículas formadas, ou seja, há menos polidispersão. A polidispersidade é evidenciada por bandas de absorção mais largas. ^{80 81}

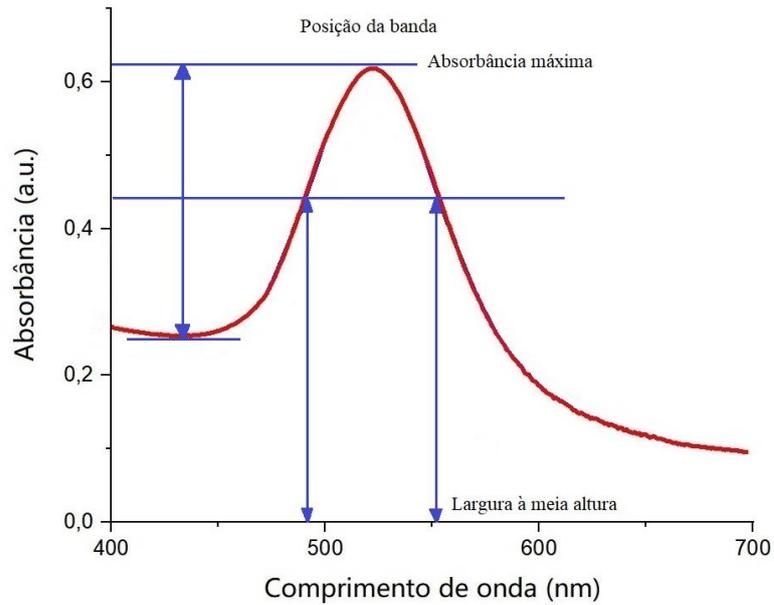


Figura 13 – Parâmetros da banda de absorção de nanopartículas de ouro.

A Figura 14 mostra os espectros de absorção das amostras obtidas com ácido aspártico.

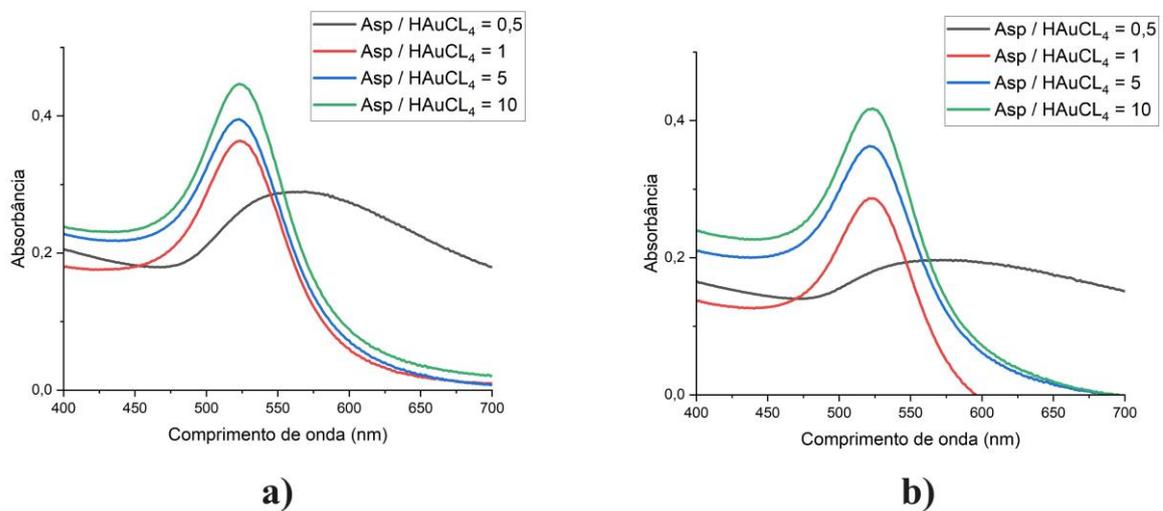


Figura 14 – Espectros de absorção (UV-Vis) de AuNPs sintetizadas com ácido aspártico a diferentes razões molares ($[Asp]/[HAuCl_4]$) a) realizados no dia da síntese e b) 2 meses após a síntese.

Observa-se que os espectros das amostras sintetizadas com ácido aspártico nas razões molares 1, 5 e 10, apresentam bandas de absorção (largura da banda à meia altura) relativamente estreitas e comprimento de onda de absorção máxima (λ_{max}) em torno de 520 nm, o que é consistente com a coloração avermelhada das amostras. Tais resultados estão em boa concordância com outros estudos da literatura, como os de Figat et al. (2023)⁷⁷ e Theodosiou et al. (2024)⁷⁸. Em contrapartida, a síntese com razão molar 0,5 apresentou baixa absorção e um alargamento da banda à meia altura, com deslocamento da absorção máxima para comprimentos de onda maiores, o que sugere formação de partículas com diâmetros maiores e provável agregação. Outros estudos já relataram que sínteses de AuNPs com ácido aspártico em baixas concentrações (~ 0,05 mM) são menos promissoras, pois resultam em partículas maiores e com formas altamente irregulares, o que indica considerável aglomeração das AuNPs devido à cobertura incompleta da superfície metálica pelas moléculas de ácido aspártico estabilizadoras. Em concentrações maiores de ácido aspártico, uma maior taxa de nucleação resulta na formação de NPs menores com cobertura uniforme do aminoácido, favorecendo a modispersão.^{82 83}

Por demonstrar maior absorbância e boa estabilidade coloidal ao longo de dois meses, os resultados deste estudo sugerem que, entre as sínteses de AuNPs com ácido aspártico, a síntese realizada com o parâmetro razão molar ($[\text{Asp}]/[\text{HAuCl}_4]$) igual a 10 é a mais promissora para se obter NPs.

O ácido aspártico (que em sua forma iônica é conhecido como aspartato) é um aminoácido ácido, o que significa que possui um grupo carboxila ($-\text{COOH}$) em sua cadeia lateral, além daquele presente na estrutura básica de todos os aminoácidos. Por possuir dois grupos carboxila, cada um tem seu próprio pK_a . O grupo carboxila que consta na estrutura básica, geralmente possui um pK_a em torno de 2, enquanto o grupo carboxila da cadeia lateral possui um pK_a em torno de 4. Esses valores indicam que, em soluções aquosas em condições fisiológicas (pH neutro), ambos os grupos carboxila se encontram predominantemente ionizados, conferindo ao aminoácido uma carga líquida negativa.

Em comparação com as sínteses realizadas com os demais aminoácidos testados neste estudo, a síntese utilizando ácido aspártico foi a que apresentou uma mudança de coloração mais rápida, ocorrendo em menos de 1 minuto após a adição do aminoácido. Theodosiou et al. (2024) também destacaram uma mudança de cor relativamente rápida na síntese com ácido aspártico em comparação a outros aminoácidos. Isso pode ser explicado pelas características dos aminoácidos ácidos que possuem uma cadeia lateral rica em elétrons prontamente disponíveis, favorecendo a redução dos íons Au^{3+} .⁷⁸

As NPs de ouro recém-formadas são altamente reativas e tendem a se aglomerar. Neste contexto, o ácido aspártico também desempenha um papel na estabilização (estérica ou por carga) das NPs, ao adsorver em suas superfícies, evitando assim, a aglomeração.

A interação entre AuNPs e os aminoácidos pode ocorrer de várias maneiras, dependendo das condições experimentais, tamanho e carga superficial das AuNPs, bem como das propriedades específicas do aminoácido. Porém, não há muitos dados experimentais reais na literatura atual, que descrevam a nível molecular, tal interação.

No caso do ácido aspártico, que é um aminoácido carregado negativamente, o estudo de Ramezani et al. (2014)⁸⁴ sugere que as interações com a superfície das AuNPs ocorrem através do grupo carboxila da cadeia lateral (Figura 15), o qual mantém o aminoácido próximo à superfície metálica, contribuindo para a estabilização coloidal. Tal estudo concluiu também que a taxa de adsorção do ácido aspártico nas AuNPs é significativamente maior, quando comparada a outros aminoácidos.

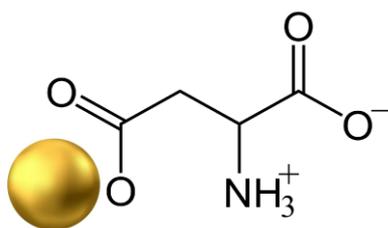


Figura 15 – Representação esquemática da interação do ácido aspártico com a AuNP. [elaboração própria]

Para a síntese de AuNPs, o ácido aspártico demonstrou excelentes habilidades de redução e estabilização. O bom desempenho dos aminoácidos com cadeias laterais ácidas já foi relatado em outros estudos, alguns dos quais destacam as propriedades semelhantes entre as AuNPs sintetizadas com ácido aspártico e aquelas sintetizadas com citrato de sódio, o protocolo padrão para as NPs plasmônicas.^{46 78}

4.1.2 Arginina (Arg)

Para as sínteses de AuNPs usando a arginina como agente redutor, foram testadas razões molares numa faixa de 0,125 a 10, mas nenhuma das sínteses resultou em formação de AuNPs, uma vez que não houve nenhuma alteração de coloração durante o processo (amostra incolor). Por essa razão, não foi necessária a realização de análises de espectroscopia, nem outro método de caracterização.

A arginina pertence ao grupo dos aminoácidos básicos, possuindo uma cadeia lateral que contém um grupo guanidino. Em pH fisiológico, esse grupo se encontra predominantemente protonado (Figura 16). É possível que a não formação de AuNPs ao usar a arginina como redutor seja resultado do fato desse aminoácido apresentar a sua cadeia lateral positivamente carregada, o que pode dificultar a sua oxidação e, como consequência, impossibilitar a redução dos íons de ouro.

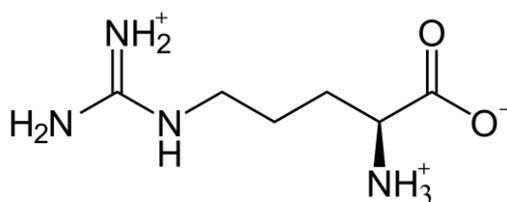


Figura 16 – Fórmula estrutural da arginina no pH 7.

Estudos como os de Wangoo et al. (2014), Maruyama et al. (2015) e Figat et al. (2023) também não obtiveram êxito ao utilizar a arginina como agente redutor, resultando em ausência de redução^{46 75} ou rápida agregação dos produtos de reação formados⁷⁷.

4.1.3 Cisteína (Cys)

Para o aminoácido cisteína foram testadas as razões molares 0,125; 0,25; 0,5; 1 e 5. Não foi necessário testar razões molares maiores que 5, pois nesta razão molar a amostra já não apresentou formação de NPs. As colorações resultantes das amostras demonstraram que as sínteses com menores razões molares foram melhores, como é mostrado na Figura 17. Pela coloração vermelha da amostra de razão molar 0,25, é possível concluir que a síntese de AuNPs

com a cisteína como redutor apresenta uma faixa ótima de concentração desse aminoácido para a formação de AuNPs. A amostra de maior razão molar (5) apresentou aspecto esbranquiçado, quase incolor, indicando a ausência de AuNPs.

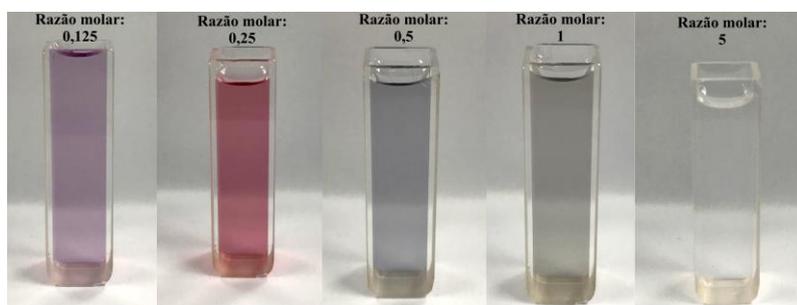


Figura 17 – Aspecto das amostras após as sínteses com cisteína (Cys) a razões molares de 0,125; 0,25; 0,5; 1 e 5, respectivamente.

Como pode-se observar através dos espectros (Figura 18), a síntese de razão molar 0,25 foi a mais promissora, pois revelou maior absorbância e mais estabilidade ao longo de dois meses. Todas as demais sínteses apresentaram pouca ou nenhuma absorção. A síntese de razão molar 0,125 apresentou uma discreta absorção. Entretanto, sua banda apresenta um alargamento e sua absorção máxima se encontra deslocada para comprimentos de onda maiores, indicando polidispersão.

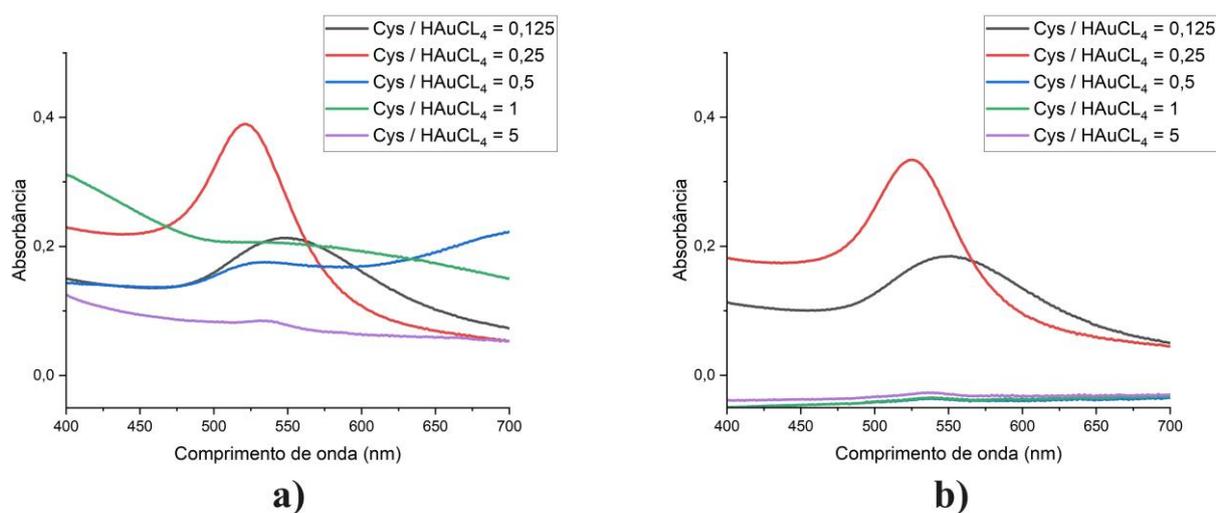


Figura 18 – Espectros de absorção (UV-Vis) de AuNPs sintetizadas com cisteína a diferentes razões molares ($[Cys]/[HAuCl_4]$) a) realizados no dia da síntese e b) 2 meses após a síntese.

A cisteína faz parte da classe de aminoácidos que possuem cadeia lateral sem carga elétrica (neutra). É um aminoácido que se diferencia dos outros por possuir o grupo tiol em sua cadeia lateral, que é composto por um átomo de enxofre ligado a um átomo de hidrogênio (-SH). Estudos relatam que a cisteína pode se ligar à nanopartícula covalentemente através do seu átomo de enxofre em sua cadeia lateral (S-Au), como representado na Figura 19.^{84 85 86}

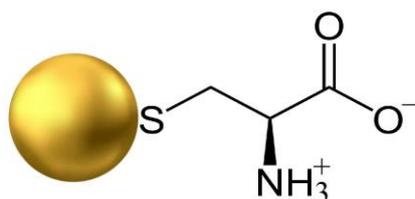


Figura 19 – Representação esquemática da interação da cisteína com a AuNP. [elaboração própria]

Além de atuar como agente redutor para sintetizar AuNPs, a cisteína pode sofrer dimerização e formar a cistina através da oxidação de dois grupos tiol (Figura 20). A cistina é adsorvida quimicamente na superfície das AuNPs produzidas e desempenha o papel de estabilizá-las. Portanto, a cisteína atua como agente redutor, enquanto as moléculas de cistina formadas atuam como agentes de cobertura, ligando-se à superfície das AuNPs através de grupos amino.⁸⁷

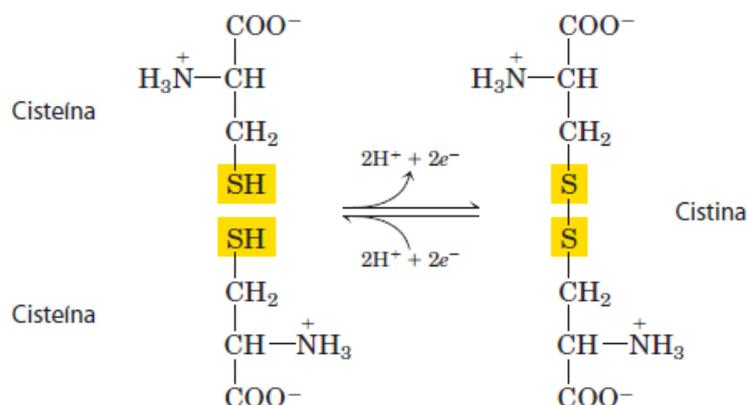


Figura 20 – Formação de uma ligação dissulfeto pela oxidação de duas moléculas de cisteína.^[73]

4.1.4 Histidina (His)

Nas sínteses com histidina como redutor, foram testadas as razões molares 0,125; 0,25; 0,5; 1; 5 e 10. De uma forma geral, nenhuma das amostras sintetizadas com histidina apresentaram as propriedades ópticas (aspecto visual) esperadas para formação de AuNPs (Figura 21), revelando a baixa capacidade redutora do aminoácido.

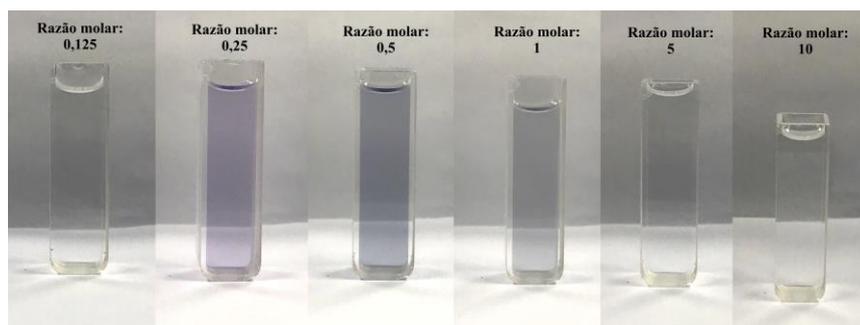


Figura 21 – Aspecto das amostras após as sínteses com histidina (His) a razões molares de 0,125; 0,25; 0,5; 1; 5 e 10, respectivamente.

Foram obtidos os espectros de absorção das amostras de razões molares 0,25; 0,5 e 1, por serem as únicas que não se apresentaram incolores. Como esperado, nenhuma das amostras demonstrou elevada absorção, como pode ser observado na Figura 22.

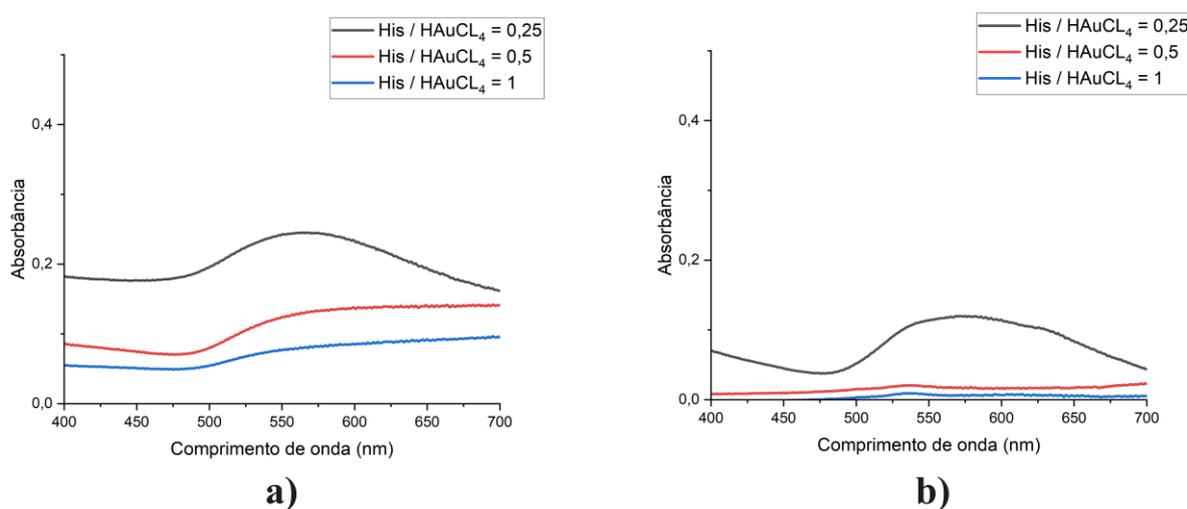


Figura 22 – Espectros de absorção (UV-Vis) de AuNPs sintetizadas com histidina a diferentes razões molares ([His]/[HAuCl₄]) a) realizados no dia da síntese e b) 2 meses após a síntese.

De acordo com a Figura 22, pode-se observar uma possível formação de AuNPs na razão molar de 0,25. Apesar disso, o espectro revela uma banda bem larga para tal amostra, além do deslocamento para maiores comprimentos de onda (em torno de 550 nm), o que sugere maiores diâmetros das AuNPs. Isso significa que a dispersão coloidal provavelmente apresenta grande polidispersão e tendência à agregação.

Assim como a arginina, a histidina também é classificada como um aminoácido básico. A histidina possui na sua cadeia lateral um grupo imidazol, o que a diferencia de outros aminoácidos. Dos vinte aminoácidos comuns, apenas a histidina apresenta uma cadeia lateral ionizável com pK_a próximo à neutralidade (pK_a do grupo R = 6). Portanto, a histidina pode existir tanto em sua forma protonada (positivamente carregada) quanto em sua forma não carregada em pH 7 (Figura 23).^{72 73 74}

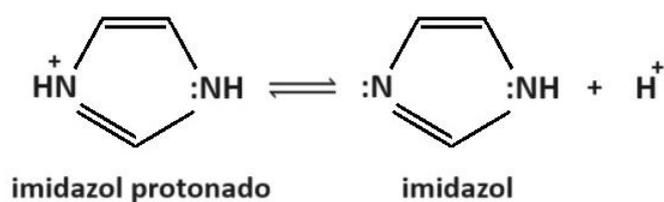


Figura 23 – Imidazol na forma protonada e na forma não protonada. [adaptado de 74]

A síntese de AuNPs utilizando histidina como agente redutor foi relatada detalhadamente por Maruyama et al. (2015)⁷⁵ e os resultados experimentais revelaram amostras de coloração roxa.

É relatado que a adsorção da histidina na superfície da AuNP se dá através do átomo de nitrogênio do anel imidazol da sua cadeia lateral (interação Au-N)^{84 86}, como representado na Figura 24.

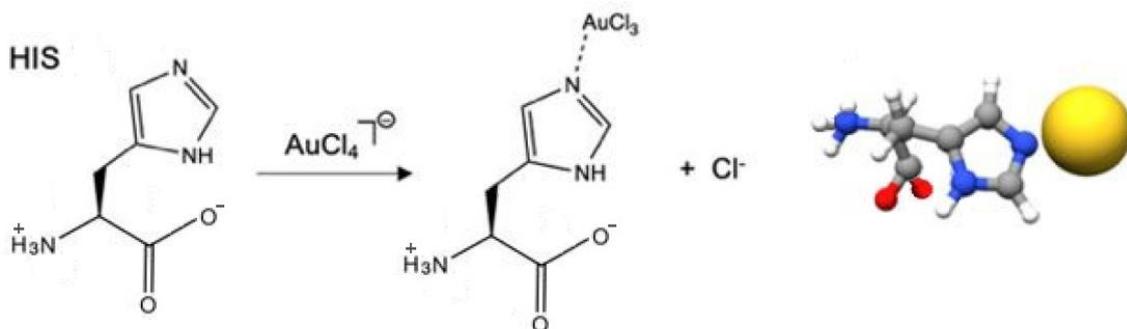


Figura 24 – Representação esquemática da interação da histidina com o ouro. [adaptado de 86]

Estudos sobre a adsorção da histidina em ouro descrevem que, além da interação através do átomo de nitrogênio imino do anel imidazol, o aminoácido também pode interagir com a superfície do ouro através dos átomos de oxigênio do grupo carboxilato (COO^-).^{88 89}

De uma forma geral, os resultados experimentais demonstraram que a redução dos íons de ouro com a histidina não foi promissora. O fato de a histidina ser um aminoácido de caráter básico pode influenciar a baixa taxa de redução dos íons de ouro, resultando em uma precária formação de AuNPs, assim como ocorreu com a arginina, que também é um aminoácido básico.

4.1.5 Tirosina (Tyr)

As sínteses realizadas com tirosina como redutor apresentaram alguns resultados promissores. Nesse experimento também foram testadas razões molares na faixa de 0,125 a 10. A Figura 25 mostra uma coloração diferenciada (faixa de cor vermelha) nas amostras com razão molar 0,25 e 0,5, sugerindo maior formação de AuNPs nessa faixa, o que pode ser confirmado através dos espectros de absorção (Figura 26).

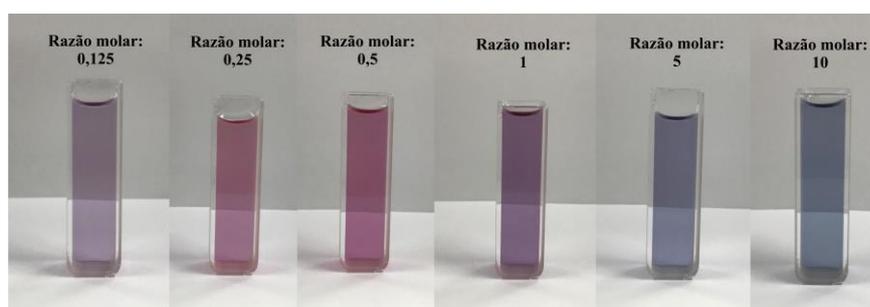


Figura 25 – Aspecto das amostras após as sínteses com tirosina (Tyr) a razões molares de 0,125; 0,25; 0,5; 1; 5 e 10, respectivamente.

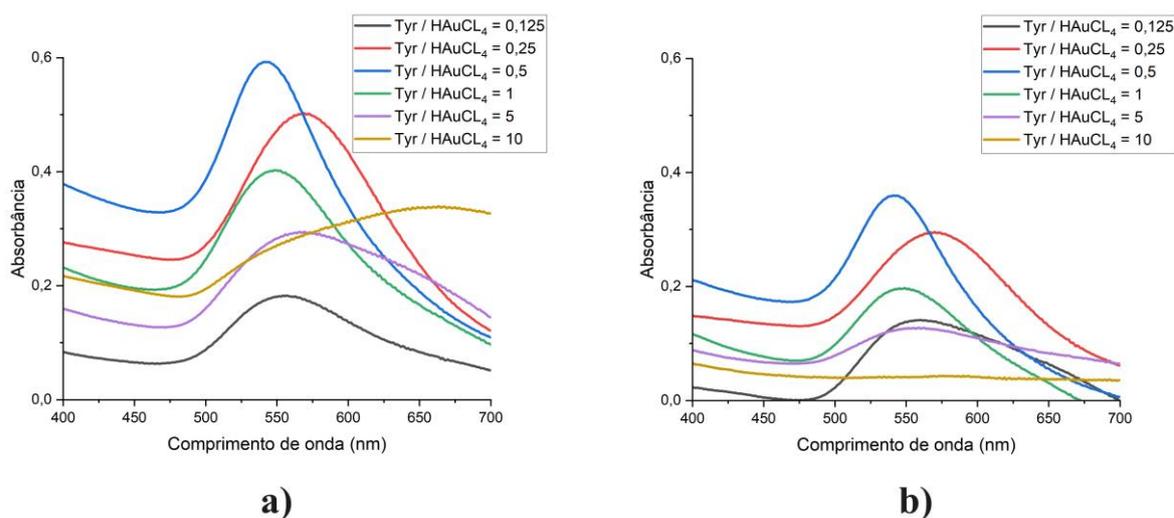


Figura 26 – Espectros de absorção (UV-Vis) de AuNPs sintetizadas com tirosina a diferentes razões molares ($[Tyr]/[HAuCl_4]$) a) realizados no dia da síntese e b) 2 meses após a síntese.

Com base nos espectros de absorção UV-Vis, é possível observar que a amostra com razão molar 0,5 se destacou em relação às demais, tanto em intensidade de absorção, quanto em estabilidade ao longo de dois meses. Pode-se inferir que o aminoácido apresenta uma capacidade de formação de AuNPs que é favorecida em uma determinada proporção de concentração dos reagentes (Tyr 0,05 mM / HAuCl₄ 0,1 mM). Isso significa que concentrações menores do aminoácido podem não ser suficientes para provocar a redução dos íons de ouro, ou podem resultar em uma baixa taxa de redução. Por outro lado, concentrações maiores podem provocar uma saturação do aminoácido na superfície das AuNPs, resultando na agregação das partículas. A tirosina demonstrou ser um aminoácido promissor para ser utilizado como agente redutor dos íons metálicos, produzindo amostras com boas propriedades de absorção óptica.

A tirosina é um aminoácido com cadeia lateral aromática contendo um anel benzênico ligado à uma hidroxila (fenol). Relata-se que a reatividade da tirosina com íons de ouro seja regida pela presença do grupo fenólico em sua cadeia lateral, que é conhecido por se oxidar facilmente em quinona.⁷⁷ Foi descrito que o grupo hidroxila (–OH) presente na cadeia lateral da tirosina tende a se orientar em direção à superfície do ouro, de modo que o anel aromático fique paralelo à superfície da nanopartícula, indicando interações Au–OH.⁸⁴ Sabe-se que a tirosina possui muitos átomos doadores, capazes de reduzir íons de ouro e se coordenar bem nas superfícies das AuNPs. Além das interações com o grupo fenólico, a literatura aponta que os grupos –COOH e –NH₂ também estão ativamente envolvidos na redução dos íons Au³⁺ a

Au^0 para formar as AuNPs ⁹⁰ (Figura 27). O bom desempenho da tirosina no processo de formação de AuNPs é corroborado pelo trabalho de Wangoo et al. (2014). ⁴⁶

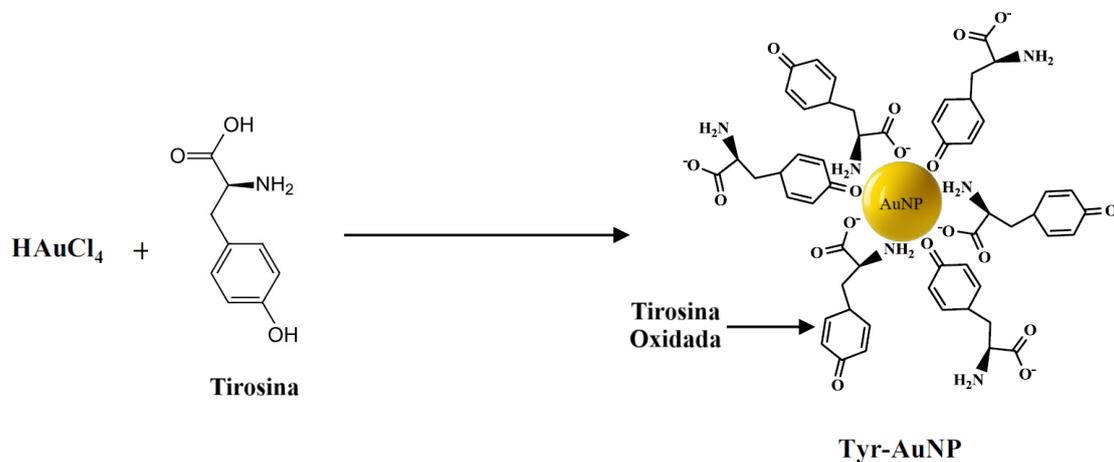


Figura 27 – Representação esquemática da interação da tirosina com a AuNP. [adaptado de 90]

4.1.6 Triptofano (Trp)

Nas sínteses com o triptofano, foram testadas razões molares de 0,125 a 10, mas nenhuma das amostras apresentou a aparência esperada para a formação de AuNPs, com algumas apresentando precipitados, o que influencia as propriedades ópticas das amostras (Figura 28).

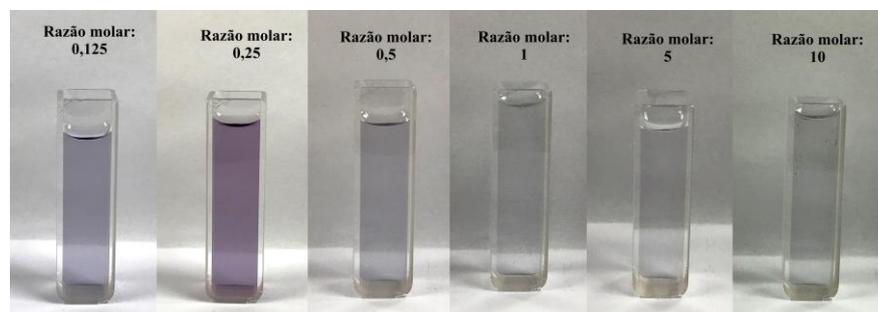


Figura 28 – Aspecto das amostras após as sínteses com triptofano (Trp) a razões molares de 0,125; 0,25; 0,5; 1; 5 e 10, respectivamente.

Os espectros de absorção UV-Vis (Figura 29) revelaram o que já era esperado de acordo com a aparência das amostras: todas as sínteses apresentaram alargamento da banda de absorção, indicando uma baixa estabilidade e/ou uma polidispersão. Apesar disso, a amostra de razão molar 0,25, quando comparada às outras, demonstrou uma absorção maior.

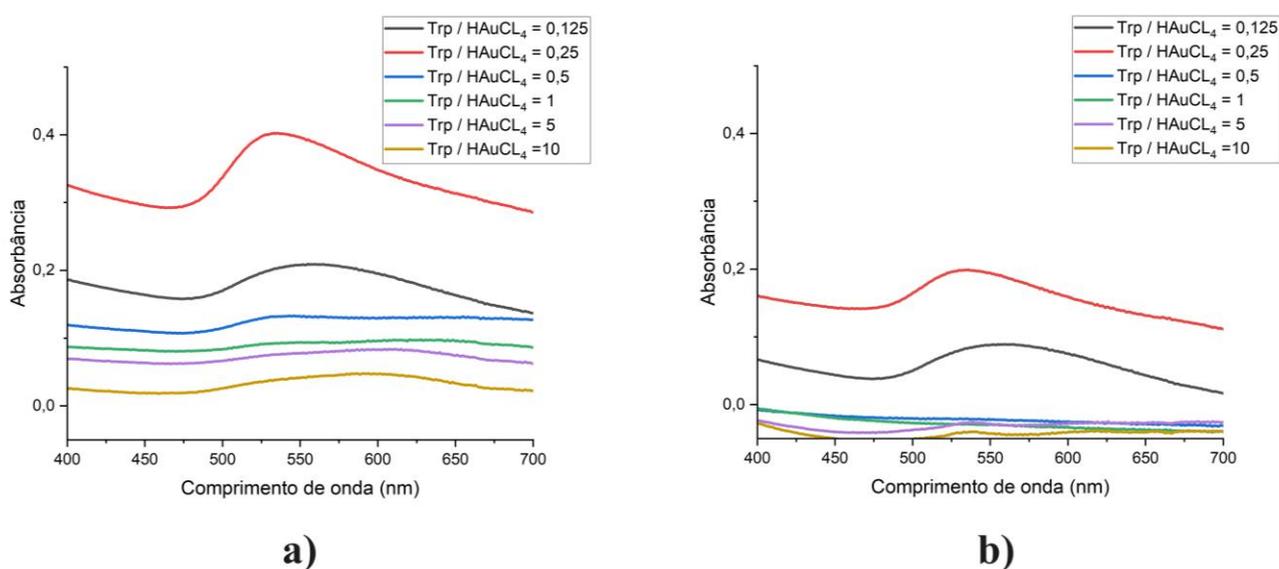


Figura 29 – Espectros de absorção (UV-Vis) de AuNPs sintetizadas com triptofano a diferentes razões molares ($[\text{Trp}]/[\text{HAuCl}_4]$) a) realizados no dia da síntese e b) 2 meses após a síntese.

O triptofano pertence a classe de aminoácidos que possuem cadeias laterais aromáticas. No caso do triptofano, essa cadeia lateral é um indol, grupo que possui um par de elétrons livres no seu átomo de nitrogênio, essencial para que a substância apresente aromaticidade. Além disso, o triptofano é um aminoácido relativamente apolar, apresentando geralmente um caráter hidrofóbico.^{73 74 84} Foi descrito que o grupo indol no triptofano é responsável pela redução dos íons de ouro em solução aquosa. A redução dos íons metálicos é acompanhada pela polimerização oxidativa do grupo indol das moléculas de triptofano.⁹¹ Relata-se que a oxidação do triptofano resulta na formação de diversos subprodutos, como ditriptofano (forma dimerizada) e quinurenina (Figura 30), entre outros.⁹²

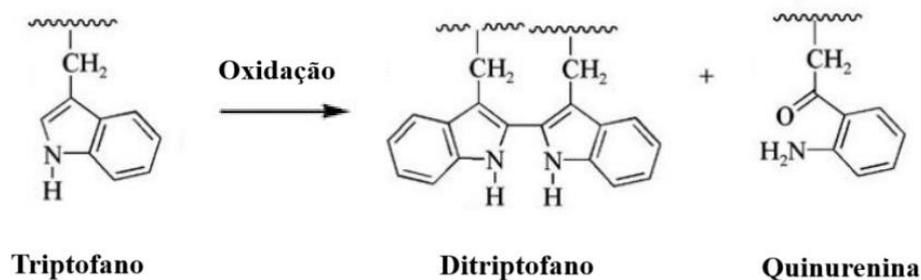


Figura 30 – Representação de subprodutos da oxidação do triptofano. [adaptado de 93]

Aminoácidos que apresentam anéis aromáticos em suas cadeias laterais são adsorvidos de maneira semelhante, de forma que o anel esteja orientado paralelamente à superfície do ouro.⁸⁴ Foi relatado que, em aminoácidos aromáticos como o triptofano, ainda que pares livres estejam disponíveis devido à presença de heteroátomos nas cadeias laterais, o ouro tende a interagir preferencialmente com os átomos de carbono do anel aromático.⁸⁶ A Figura 31 ilustra a interação do triptofano com o ouro a partir do anel aromático do aminoácido. De acordo com Figat et al. (2023)⁷⁷, o produto da reação de triptofano e HAuCl_4 sofre polimerização com a formação de uma camada orgânica ao redor das AuNPs. Essa camada altera o ambiente dielétrico local e provoca a aglomeração das NPs. Selvakannan et al. (2004)⁹¹ também relataram a formação de AuNPs ligeiramente agregadas ao utilizar triptofano como redutor.

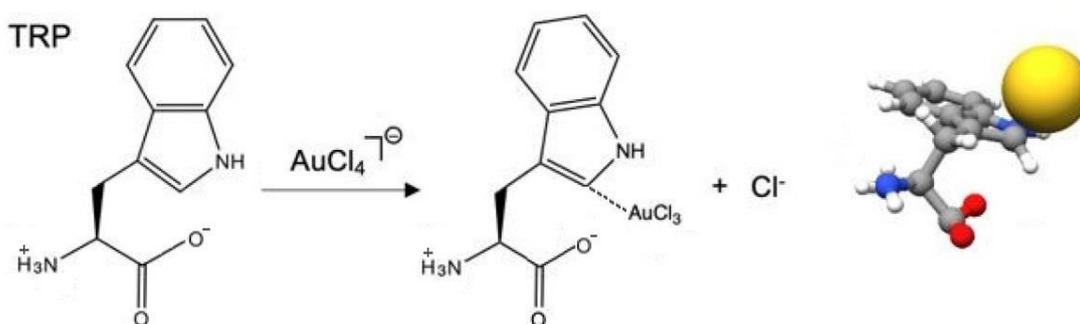


Figura 31 – Representação esquemática da interação do triptofano com o ouro. [adaptado de 86]

4.1.7 Considerações gerais sobre a formação de AuNPs com aminoácidos

Em resumo, com base nos aspectos físicos das amostras, pode-se observar que alguns aminoácidos são mais promissores que outros, quando se trata de formação de AuNPs. Ácido aspártico, cisteína e tirosina demonstraram uma maior capacidade nesse quesito, pois conseguiram produzir amostras com a coloração indicativa de formação de AuNPs, sem sinais de agregação. Em contrapartida, a histidina e o triptofano demonstraram um potencial bem menor, pois suas sínteses apresentaram colorações entre tons de roxo a cinza, indicando agregação das partículas, além das amostras que nem apresentaram mudança de cor. Além disso, algumas amostras apresentaram alguns precipitados. Tais observações visuais foram comprovadas pelos espectros de absorção. A arginina não conseguiu formar NPs em nenhuma das condições testadas, uma vez que todas as amostras se apresentaram incolores.

A tendência de um aminoácido em oxidar e, conseqüentemente, sua capacidade de reduzir os íons metálicos, também pode estar relacionada com o tamanho da sua molécula e disposição espacial dos átomos, entre outros fatores. Cadeias laterais mais volumosas podem gerar impedimentos estéricos, dificultando tanto a nucleação quanto o crescimento das partículas de ouro.^{76 78} Esses aspectos podem ter contribuído para os resultados menos promissores de algumas sínteses, como as realizadas com os aminoácidos triptofano e arginina.

A explicação para os resultados obtidos pode estar associada a uma série de fatores, incluindo a complexação de íons metálicos, a afinidade de ligação dos aminoácidos à superfície do metal, e a decomposição dos intermediários, que pode ou não facilitar a formação posterior de AuNPs.⁷⁷

Alguns resultados observados no presente trabalho diferem daqueles relatados em estudos anteriores. Essas diferenças provavelmente se devem às distintas condições de reação empregadas. Por exemplo, no caso da cisteína, as condições de síntese adotadas neste estudo proporcionaram melhores resultados do que os observados em pesquisas anteriores, como o estudo de Figat et al. (2023)⁷⁷, que relatou a ausência de formação de AuNPs ao usar esse aminoácido como agente redutor.

4.2 Análise da Morfologia e do Tamanho das AuNPs por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

No presente estudo, a técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foi utilizada com o objetivo de obter um conhecimento mais detalhado da morfologia e tamanho das AuNPs.

Foram obtidas imagens de MET das amostras dos aminoácidos que demonstraram os melhores resultados em termos de intensidade de absorção e estabilidade ao longo dos dias, como já discutido nesse estudo (seção 4.1). Assim, recebem destaque as amostras contendo os aminoácidos: ácido aspártico (razão molar 10) (Figura 32), cisteína (razão molar 0,25) (Figura 33) e tirosina (razão molar 0,5) (Figura 34), pois foram esses aminoácidos, e suas respectivas concentrações em solução, que se revelaram as condições de reação mais promissoras para a formação de AuNPs.

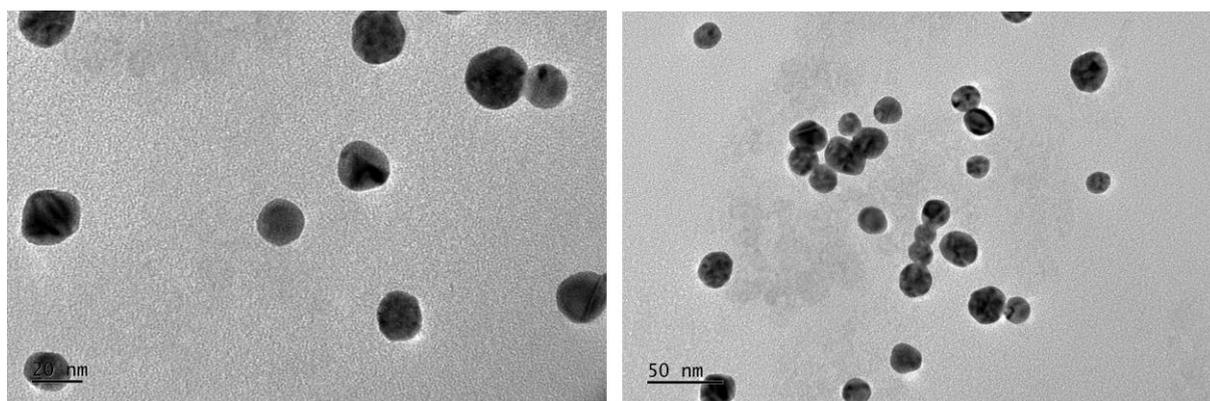


Figura 32 – Microscopia eletrônica de transmissão das AuNPs obtidas com ácido aspártico (razão molar 10).

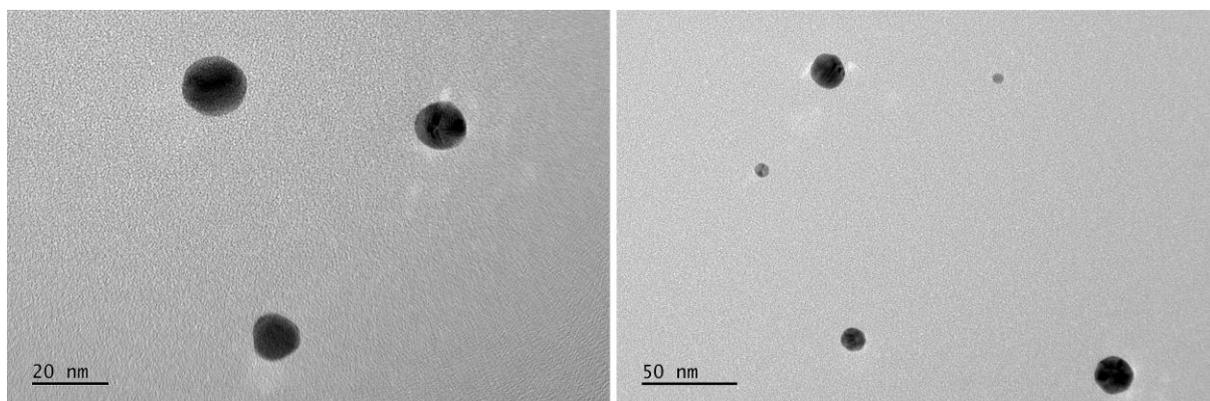


Figura 33 – Microscopia eletrônica de transmissão das AuNPs obtidas com cisteína (razão molar 0,25).

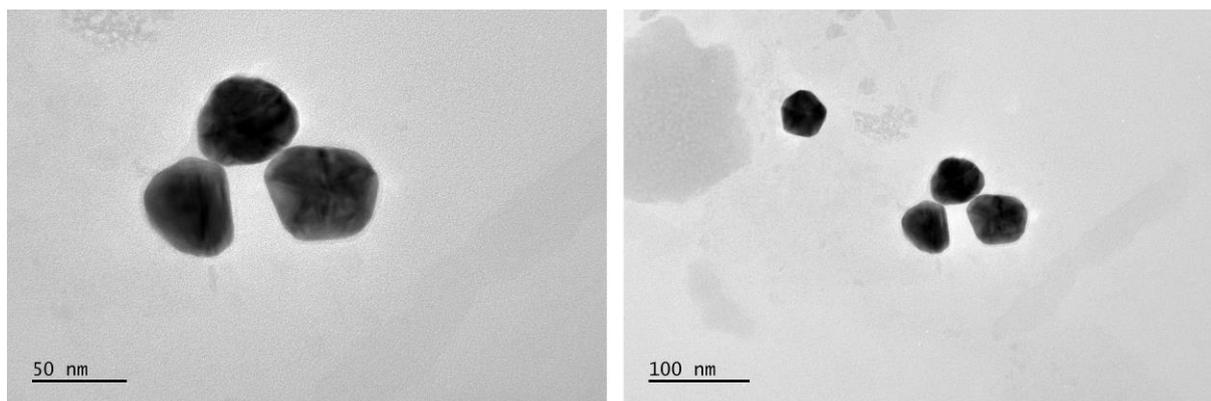


Figura 34 – Microscopia eletrônica de transmissão das AuNPs obtidas com tirosina (razão molar 0,5).

Como pode ser observado, as análises de microscopias confirmam a formação de AuNPs aproximadamente esféricas com tais aminoácidos, nas respectivas condições citadas.

Dados sobre os tamanhos das AuNPs foram obtidos com o auxílio do software *Gatan Microscopy Suite* (GMS 3), que realiza análises das micrografias geradas no MET. Com isso, foi possível calcular o tamanho médio das partículas, conforme mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 – Diâmetros médios das AuNPs das sínteses mais promissoras.

ASP (Razão = 10)	19,9 nm
CYS (Razão = 0,25)	12,7 nm
TYR (Razão = 0,5)	48,01 nm

De acordo com a teoria de Mie (1908)³⁴, a posição da banda de absorção no espectro UV-Vis está relacionada ao tamanho das NPs. Assim, quanto menor o comprimento de onda do pico de absorção máxima, menor é o diâmetro das NPs. Em contraste, quando o pico de absorção está em comprimentos de onda maiores (mais à direita no espectro UV-Vis), as partículas apresentam diâmetros maiores.

Ao analisar mais detalhadamente, na Figura 35, as espectroscopias UV-Vis dos aminoácidos ácido aspártico (razão molar 10), cisteína (razão molar 0,25) e tirosina (razão molar 0,5), observa-se que a curva correspondente à tirosina apresenta o pico de absorção máxima deslocado para um comprimento de onda um pouco maior (543 nm), em comparação

com os picos de absorção máxima dos aminoácidos ácido aspártico e cisteína, que estão localizados em 524 e 520 nm, respectivamente.

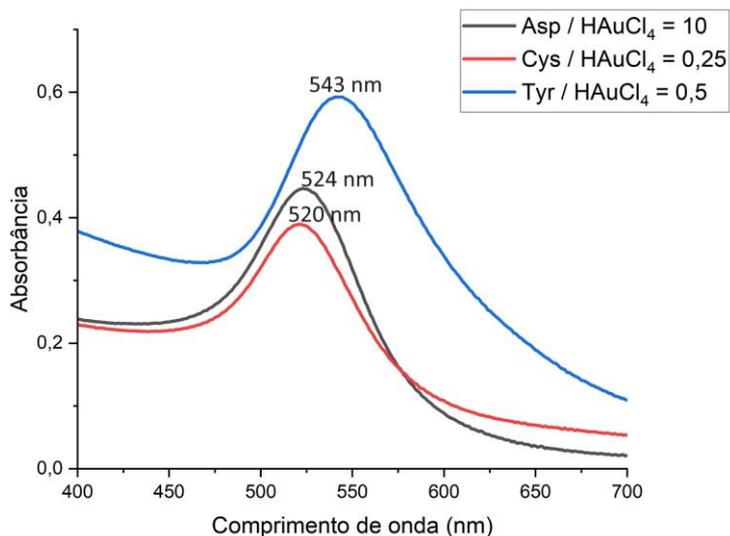


Figura 35 – Espectro de absorção de AuNPs sintetizadas com Asp (razão molar 10), Cys (razão molar 0,25) e Tyr (razão molar 0,5).

Os resultados sobre o tamanho médio das partículas obtidos pelas análises por MET estão coerentes com os resultados obtidos através das espectroscopias UV-Vis, uma vez que o diâmetro médio das partículas formadas com tirosina é maior em comparação com os diâmetros médios das partículas formadas a partir do ácido aspártico e cisteína. Esse resultado está em concordância com o trabalho de Wangoo et al. (2014)⁴⁶, que demonstrou que o uso de tirosina levou à síntese de partículas relativamente maiores em comparação com os demais aminoácidos estudados.

4.3 Análise do Tamanho das AuNPs por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

Foi realizada uma análise da distribuição de tamanho das partículas através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) nas amostras contendo os aminoácidos ácido aspártico (razão molar 10) (Figura 36), cisteína (razão molar 0,25) (Figura 37), e tirosina (razão molar 0,5) (Figura 38), assim como foram analisadas por MET. Para a análise de DLS foi considerada a distribuição de tamanho das partículas em função da intensidade de espalhamento de luz.

Os dados de DLS mostraram que o tamanho médio das partículas sintetizadas com ácido aspártico foi de 31,13 nm e o valor do índice de polidispersão (PdI) foi de 0,1. Para as partículas sintetizadas com cisteína, o diâmetro médio foi de 20,79 nm e o PdI = 0,5; e para as partículas sintetizadas com tirosina, o diâmetro médio foi de 48,57 nm e o PdI = 0,2.

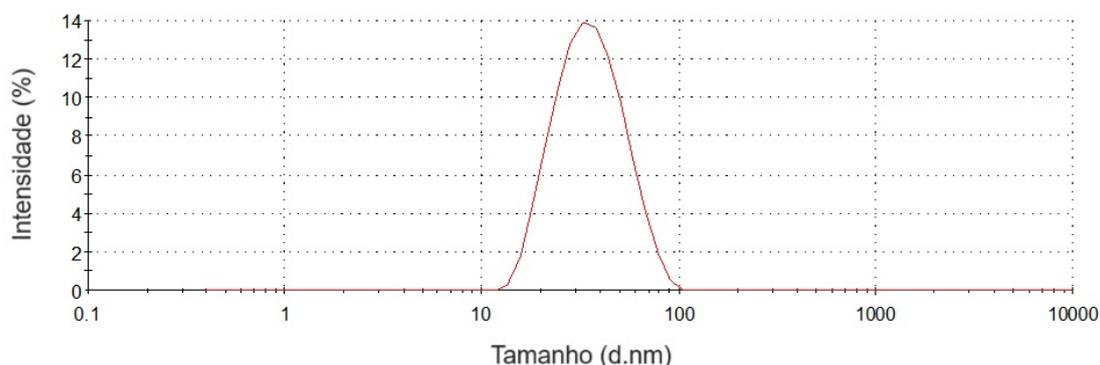


Figura 36 – Distribuição de tamanho das partículas sintetizadas com ácido aspártico (razão molar 10).
Diâmetro médio = 31,13 nm e PdI = 0,1.

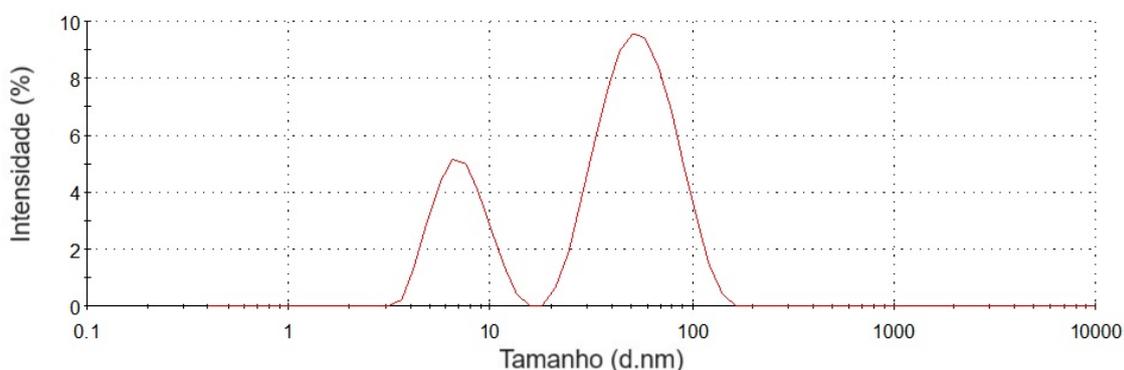


Figura 37 – Distribuição de tamanho das partículas sintetizadas com cisteína (razão molar 0,25).
Diâmetro médio = 20,79 nm e PdI = 0,5.

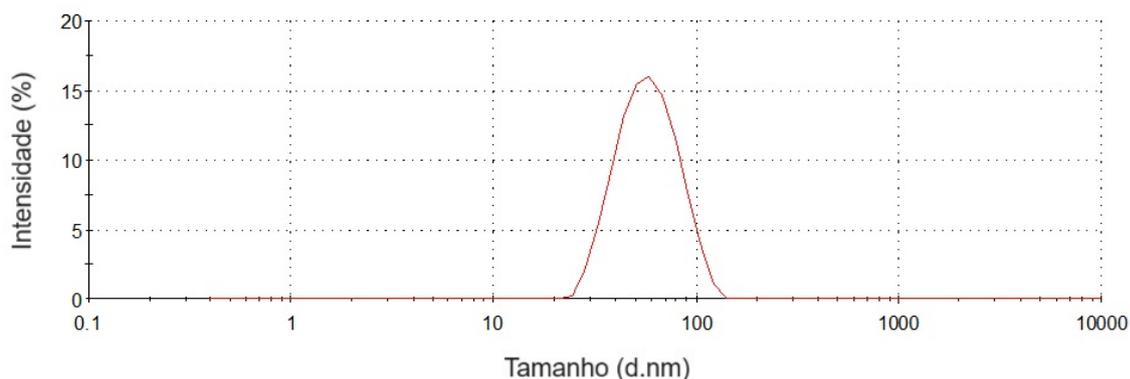


Figura 38 – Distribuição de tamanho das partículas sintetizadas com tirosina (razão molar 0,5).
Diâmetro médio = 48,57 nm e PdI = 0,2.

Os índices de polidispersão (PdI) variam de 0 a 1 e indicam a homogeneidade do sistema coloidal. Valores mais próximos de zero indicam maior grau de homogeneidade da amostra. O menor valor de PdI obtido na análise de DLS corresponde à síntese com ácido aspártico, indicando uma maior homogeneidade no tamanho das partículas sintetizadas com esse aminoácido em comparação com as outras sínteses.

Os dados de DLS revelaram tamanhos médios de NPs que se encontram dentro da faixa de diâmetros médios obtidos por MET. No entanto, ao analisar individualmente cada aminoácido, observam-se algumas diferenças entre os dados obtidos por ambas as técnicas. Para o ácido aspártico, o diâmetro médio das partículas obtido por DLS foi de 31,13 nm, enquanto o diâmetro médio obtido por MET foi de 19,9 nm (ver Tabela 4). Para a cisteína, o diâmetro médio obtido por DLS foi de 20,79 nm, enquanto o diâmetro médio obtido por MET foi de 12,7 nm. Portanto, para as NPs sintetizadas com os aminoácidos ácido aspártico e cisteína, as imagens obtidas por MET mostraram tamanhos médios inferiores aos valores obtidos por DLS.

Apesar das diferenças entre os resultados de MET e DLS para as amostras com ácido aspártico e cisteína, os resultados para a amostra com tirosina foram bastante semelhantes. Para a tirosina, o diâmetro médio das partículas obtido por DLS foi de 48,57 nm, enquanto o diâmetro médio obtido por MET foi de 48,01 nm, indicando uma consistência significativa dos dados e comprovando que é possível utilizar aminoácidos para a obtenção de materiais nanométricos.

Assim como os resultados de diâmetro médio das partículas obtidos pelas análises por MET, os resultados por DLS também são coerentes com as análises por espectroscopia UV-Vis (Figura 35).

É importante destacar que a análise por DLS é adequada para a estimativa dos tamanhos, pois é quantitativa, diferente da MET, que fornece uma análise qualitativa. Portanto, uma comparação direta entre as duas técnicas pode não ser totalmente apropriada. Além disso, nas medições realizadas por MET as partículas estavam muito dispersas, o que dificultou as análises. As amostras não estavam concentradas o suficiente para a visualização e medição de muitas partículas por imagem. Esse resultado pode ser complementado com a realização de novas imagens de amostras mais concentradas.

4.4 Análise da Carga Superficial por Potencial Zeta

Um estudo da estabilidade das dispersões coloidais foi realizado pela determinação do potencial zeta, que estima a carga superficial das NPs. Em geral, considera-se que sistemas com potencial zeta superior a $|30 \text{ mV}|$ são estáveis, pois isso significa que há mais cargas ao redor das partículas, o que causa maior repulsão entre elas, evitando a agregação. No entanto, se as partículas apresentarem valores de potencial zeta menores que $|30 \text{ mV}|$, significa que não haverá força para impedir que as partículas se juntem e floculem.²⁹

A análise foi feita para todos os aminoácidos, com exceção da arginina, pois não houve indícios da formação de NPs usando esse aminoácido. Para a determinação do potencial zeta de cada aminoácido, foram escolhidas as amostras que se apresentaram mais promissoras, com maior intensidade de absorção, estabilidade e menor polidispersão, como discutido nas seções anteriores.

Apesar das sínteses com histidina e triptofano não serem consideradas promissoras, foram analisadas aquelas amostras que apresentaram maior intensidade de absorção, quando comparadas às demais sínteses. As amostras selecionadas não passaram por ajuste de pH. Os resultados do potencial zeta são exibidos na Figura 39.

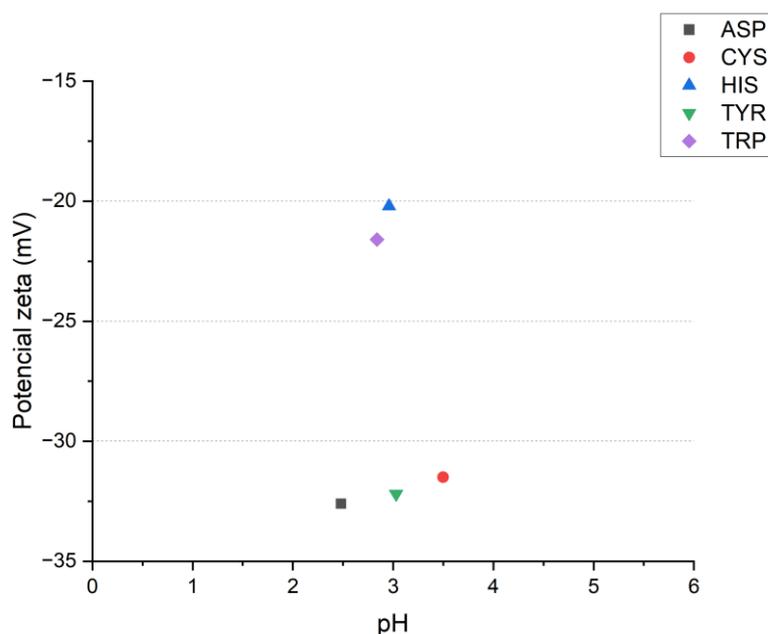


Figura 39 – Potencial zeta das AuNPs sintetizadas com diferentes aminoácidos.

Os resultados apresentados revelam que as amostras com os aminoácidos ácido aspártico (razão molar 10), cisteína (razão molar 0,25) e tirosina (razão molar 0,5) apresentaram melhores valores de potencial zeta (mV), ou seja, valores acima de 30 mV, em módulo, o que indica uma razoável estabilidade coloidal dessas dispersões. Em contrapartida, as sínteses obtidas com os aminoácidos histidina (razão molar 0,25) e triptofano (razão molar 0,25) demonstraram estabilidades inferiores, o que pode ser observado pelos valores de potencial zeta menores do que |30 mV|.

4.5 Análise do pH

Sabe-se que o pH desempenha um papel crucial no processo de formação das AuNPs, influenciando propriedades como tamanho, forma e estabilidade. Quando o HAuCl_4 , precursor dos íons de ouro, é diluído em água ultrapura, os ligantes cloretos são gradualmente substituídos por hidroxilas da água (Figura 40). Esse processo resulta na formação de um complexo com OH^- , tornando-o mais reativo e facilitando a sua redução.^{76 94}

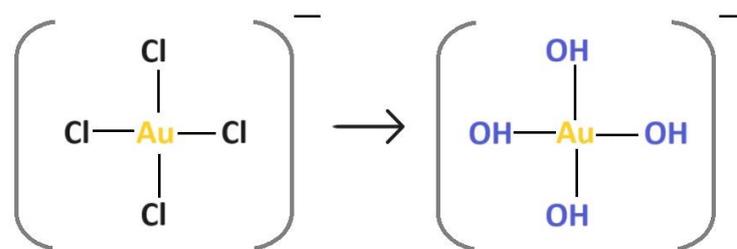


Figura 40 – Representação da substituição dos ligantes cloretos (esquerda) por hidroxilas (direita) no reagente precursor. ^[elaboração própria]

Durante esse processo, também ocorre a liberação de íons H^+ devido à hidrólise da água ($H_2O \rightarrow H^+ + OH^-$), o que contribui para a redução do pH, como observado experimentalmente (pH 2,5). Observou-se que, após a realização das sínteses, as soluções coloidais resultantes apresentaram uma acidez maior em comparação com as soluções dos aminoácidos antes das sínteses, conforme pode ser verificado na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores de pHs dos reagentes medidos antes e após a síntese.

	pH (antes da síntese) - solução estoque	pH (após a síntese) - solução resultante
ASP	2,81	2,48
ARG	10,59	7,47
CYS	5,28	3,5
HIS	7,66	2,96
TYR	5,63	3,03
TRP	5,82	2,84

Os valores dos pHs das soluções estoque dos aminoácidos, medidos antes das sínteses, são valores que coincidem com os pontos isoelétricos desses aminoácidos mostrados na Tabela 1. Isso ocorre porque, como não foi adicionado nenhum ácido ou base que pudesse interferir, o pH da reação é o pH da água utilizada como solvente para a diluição do aminoácido, ou seja, em torno de 6,5 a 7. Nesse pH todos os aminoácidos estão em seu estado zwitteriônico ou forma isoelétrica, o que representa a forma cuja carga elétrica líquida de um aminoácido é nula, isto é, quando as cargas positiva e negativa estão equilibradas. ⁷⁷

Para as AuNPs sintetizadas com aminoácidos, o ajuste de pH pode ocorrer tanto antes como após a síntese, e cada abordagem serve a propósitos diferentes. O ajuste de pH após a síntese é geralmente realizado para otimizar ou modificar características específicas das NPs já formadas. Pode ser feito adicionando ácidos ou bases à dispersão coloidal. O ajuste pós-síntese pode influenciar a estabilidade coloidal das NPs, a carga superficial, a funcionalização da superfície e a interação com outros componentes da dispersão.

No caso do ajuste prévio de pH, o procedimento ocorre antes de iniciar a síntese, ajustando a solução que contém o agente redutor (nesse caso, o aminoácido) para um valor específico. Esse ajuste do pH é realizado para criar condições favoráveis para a redução eficiente dos íons de ouro e para otimizar as propriedades desejadas das AuNPs, pois pode afetar a cinética da reação, o tamanho médio das partículas e a estabilidade coloidal. Além disso, pode influenciar a eficácia do agente redutor na redução dos íons de ouro.

Devido ao baixo potencial redutor da arginina, histidina e triptofano, revelado nos experimentos, foi proposto um ajuste de pH para as sínteses com esses aminoácidos, na tentativa de promover uma melhor formação de NPs. Para o ajuste, foram utilizadas soluções de HCl e NaOH (0,1 M), e a metodologia escolhida foi a de ajuste prévio, uma vez que esses aminoácidos não foram eficientes para a formação de AuNPs. Foi escolhida a razão molar de 0,25 para todas as sínteses, pois, para esse valor de razão molar, os aminoácidos mencionados (com exceção da arginina, que nada formou) revelaram, apesar do rendimento geral ser baixo, os resultados menos desfavoráveis para formação de AuNPs.

Para entender a escolha dos pHs para o ajuste, é preciso retomar o conceito dos diferentes estados de ionização de um aminoácido em solução, uma vez que sua estrutura depende do pH. Quando um aminoácido é colocado em uma solução de pH abaixo do valor do pK_a da carboxila, esse grupo funcional permanece predominantemente na forma COOH. Isso ocorre porque, em ambientes bastante ácidos ($pH \sim 0$), onde há um excesso de H^+ no meio, o grupo carboxila tende a manter o próton. Nessas condições, o grupo amino também permanece protonado (NH_3^+). Em valores de pH acima do pK_a da carboxila, ocorre a perda do próton do grupo carboxila, tornando-se íon carboxilato (COO^-). Quando um aminoácido é colocado em uma solução de pH acima do valor do pK_a do grupo amino protonado, ocorre a desprotonação desse grupo, resultando em NH_2 . Assim, em soluções bastante alcalinas, os grupos acidobásicos do aminoácido se encontram predominantemente em suas formas NH_2 e COO^- . Para aminoácidos que possuem cadeia lateral ionizável, o valor do pK_a deste grupo descreve a sua desprotonação. É importante lembrar que, no ponto isoelétrico, o aminoácido se encontra predominantemente na forma de íon dipolar (*zwitterion*), apresentando carga líquida igual a zero.

4.5.1 Arginina

Para a arginina, os valores de pK_a dos seus grupos funcionais ionizáveis se encontram na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de pK_a da arginina.

ARG	Grupo R	pK_1 (pK_a -COOH)	pK_2 (pK_a - NH_3^+)	pK_R (pK_a grupo R)	Ponto Isoelétrico (média de pK_2 e pK_R)
	Carga + (básico)	2,17	9,04	12,48	10,76

Uma representação gráfica dos estados de ionização que o aminoácido se encontra em diferentes pHs é mostrada na Figura 41.

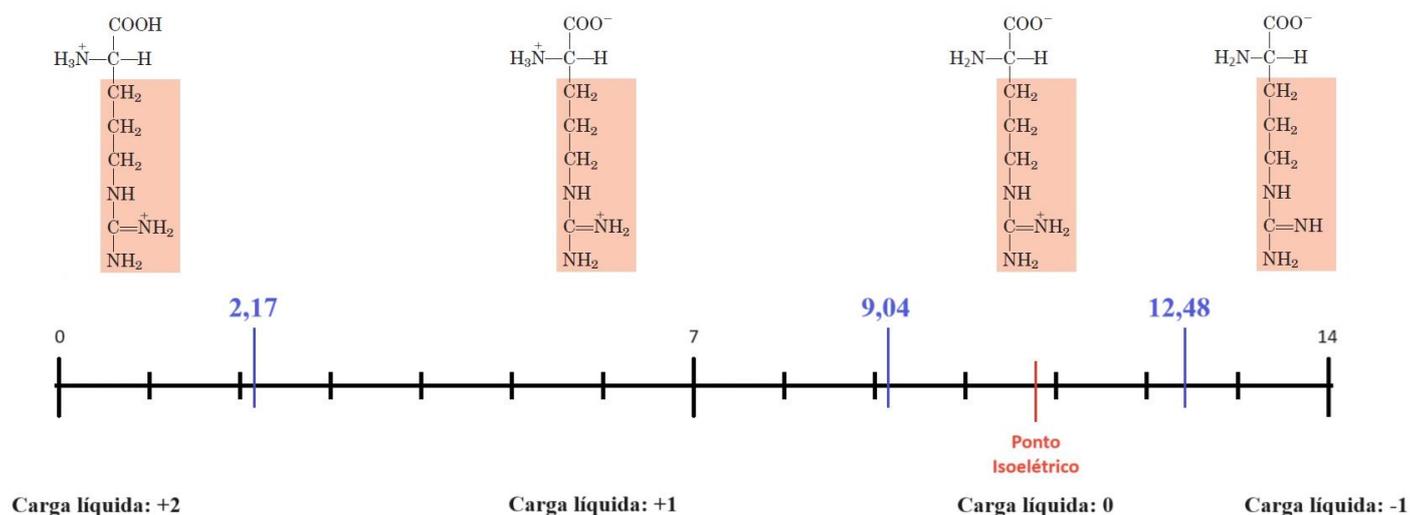


Figura 41 – Estados de ionização da arginina em função do pH. [elaboração própria]

Para a arginina, foram escolhidos os pHs 1, 6 e 13 para o ajuste, pois tais valores se situam em regiões distintas dos valores de pK_a , possibilitando analisar as diferentes estruturas do aminoácido. Mas, mesmo com o ajuste, a arginina continuou não apresentando nenhuma capacidade redutora, pois nenhuma das sínteses resultou em dispersão coloidal de ouro, como observado no espectro de absorção da Figura 42.

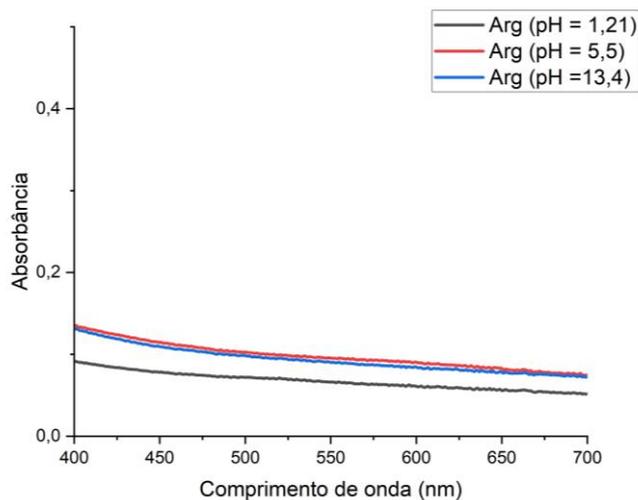


Figura 42 – Espectro de absorção da síntese de AuNPs com arginina em diferentes pHs.

Os resultados são consistentes com aqueles obtidos em outros estudos da literatura, como o de Maruyama et al. (2015)⁷⁵, porém os autores não explicam os motivos da incapacidade de formação de AuNPs utilizando a arginina. Embora a literatura não forneça uma explicação clara para o fenômeno, os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a arginina possivelmente possui uma baixa afinidade de ligação à superfície do metal, além de apresentar uma cadeia lateral relativamente volumosa, o que pode dificultar a nucleação e o crescimento eficiente das AuNPs.

4.5.2 Histidina

Os valores de pK_a dos grupos funcionais ionizáveis da histidina se encontram na Tabela 7 e a representação dos estados de ionização deste aminoácido em diferentes pHs é mostrada na Figura 43. É importante lembrar que a histidina pode se apresentar tanto em sua forma protonada (com carga positiva), quanto em sua forma neutra no pH 7, devido ao valor do pK_a de sua cadeia lateral estar próximo da neutralidade.

Tabela 7 – Valores de pK_a da histidina.

HIS	Grupo R	pK ₁ (pK _a -COOH)	pK ₂ (pK _a -NH ₃ ⁺)	pK _R (pK _a grupo R)	Ponto Isoelétrico (média de pK ₂ e pK _R)
		Carga + (básico)	1,82	9,17	6,0

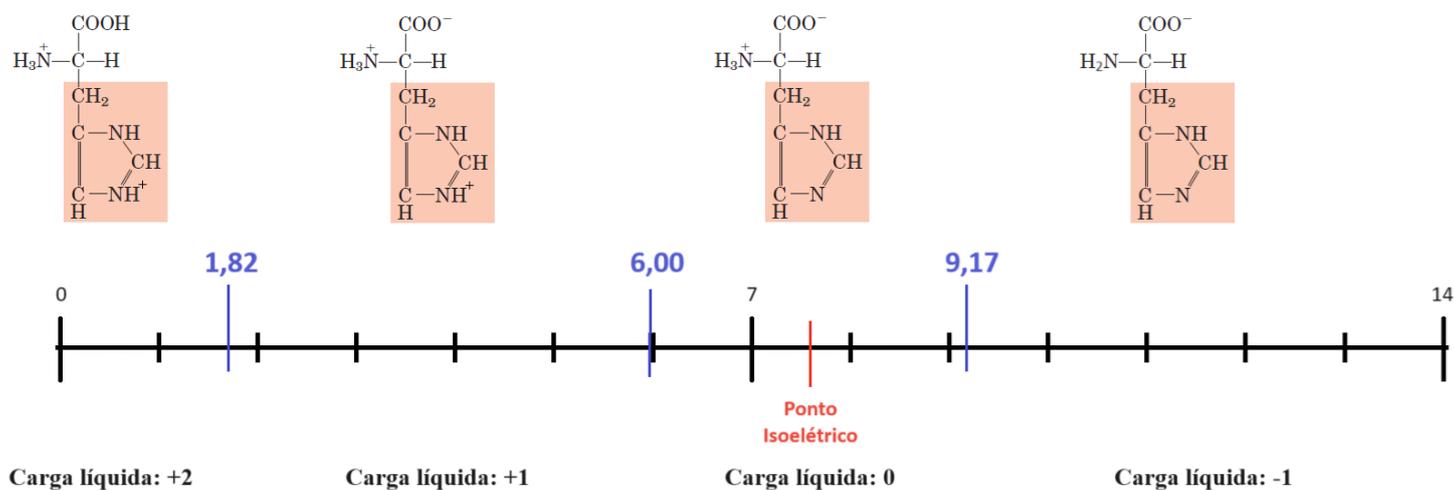


Figura 43 – Estados de ionização da histidina em função do pH. [elaboração própria]

No caso da histidina, foram escolhidos os pHs 1, 4 e 11 para o ajuste. O aspecto visual das amostras após as sínteses é revelado na Figura 44, e os resultados dos espectros, mostrados na Figura 45. Os resultados obtidos indicaram que não houve nenhuma melhoria significativa em termos de absorção entre as sínteses com ajuste de pH e a síntese sem ajuste de pH.

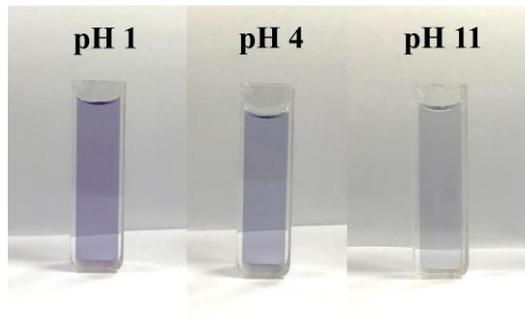


Figura 44 – Coloração das amostras após as sínteses de AuNPs com histidina ajustada para pH 1, 4 e 11, respectivamente.

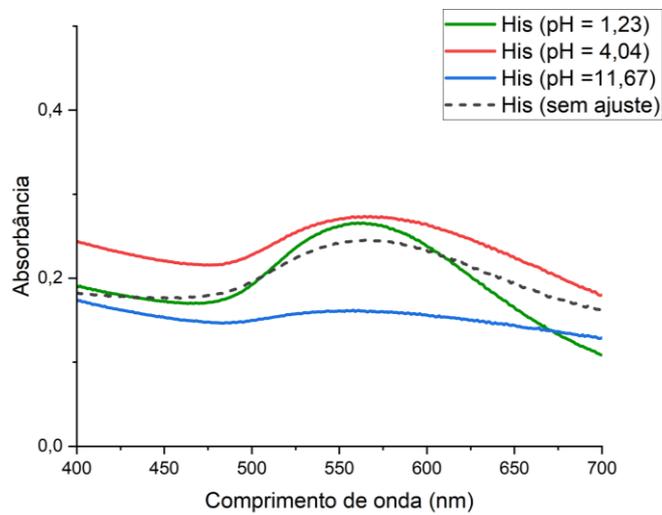


Figura 45 – Espectro de absorção da síntese de AuNPs com histidina em diferentes pHs.

4.5.3 Triptofano

Na Tabela 8, encontram-se os valores de pK_a dos grupos funcionais ionizáveis do triptofano. Observa-se que o grupo R deste aminoácido não apresenta nenhum valor de pK_a , pois a cadeia lateral do triptofano não é um grupamento ionizável. A Figura 46 contém a representação gráfica dos estados de ionização do aminoácido em função de diferentes pHs.

Tabela 8 – Valores de pK_a do triptofano.

TRP	Grupo R	pK ₁ (pK _a -COOH)	pK ₂ (pK _a -NH ₃ ⁺)	pK _R (pK _a grupo R)	Ponto Isoelétrico (média de pK ₁ e pK ₂)
	Aromático	2,38	9,39	–	5,89

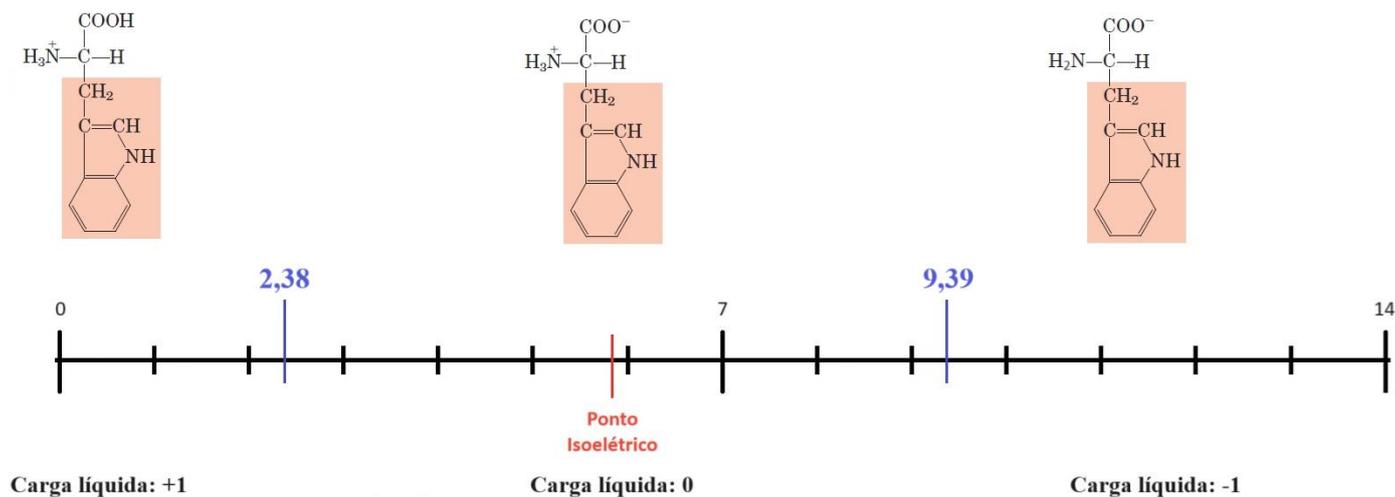


Figura 46 – Estados de ionização do triptofano em função do pH. [elaboração própria]

Para o triptofano ajustou-se o pH em 1 e 11. O aspecto das amostras após as sínteses é revelado na Figura 47 e os espectros de absorção, mostrados na Figura 48. Percebe-se que a alteração de pH para o triptofano promoveu maior absorbância e bandas mais estreitas do que a síntese realizada sem ajuste de pH. Ao comparar os ajustes de pH realizados (ácido x básico), pode-se inferir que um ajuste para um pH mais básico se destacou um pouco mais, o que pode significar que o triptofano no seu estado desprotonado, com carga líquida negativa, foi mais eficiente no processo de formação de AuNPs.

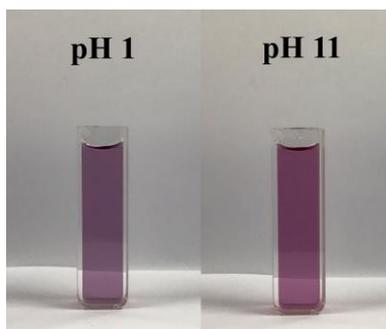


Figura 47 – Coloração das amostras após as sínteses de AuNPs com triptofano ajustado para pH 1 e 11, respectivamente.

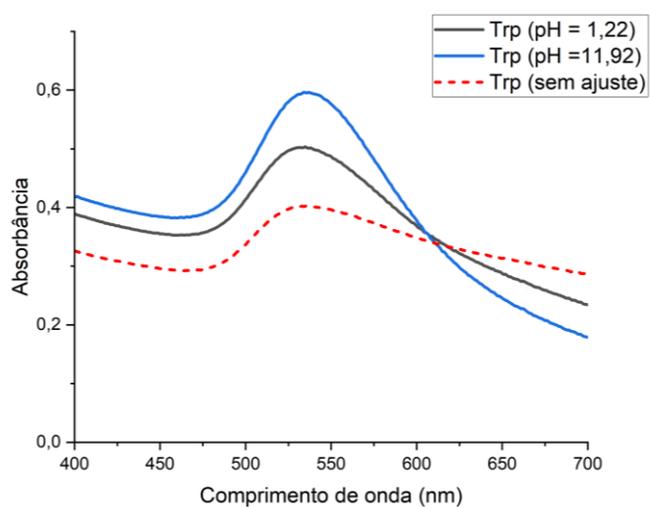


Figura 48 – Espectro de absorção da síntese de AuNPs com triptofano em diferentes pHs.

CAPÍTULO 5. Conclusões e Sugestões

5.1 Conclusões

Nesse estudo, foram selecionados os melhores aminoácidos para a síntese de AuNPs, bem como as condições reacionais mais adequadas. Isso envolveu a avaliação dos parâmetros razão molar dos reagentes (proporção molar entre o aminoácido e o precursor dos íons de ouro) e o pH do meio. Os resultados mais promissores foram aqueles que conduziram à formação de AuNPs esféricas e estáveis.

A formação das NPs exigiu a redução dos íons de ouro (Au^{3+}) em solução, seguida por nucleação e crescimento do cristal metálico. Entretanto, para que essa redução ocorra, é necessária a oxidação (doação de elétrons) da outra espécie, no caso, o aminoácido, em um processo conhecido como reação redox.

Após a redução dos íons de ouro, é fundamental assegurar a estabilidade das dispersões coloidais. Tal estabilidade depende da interação de cada aminoácido com a superfície metálica da nanopartícula, que ocorre, preferencialmente, através de ligações do tipo N-Au, O-Au, S-Au, além de interações anel aromático-Au. A partir dessas interações, os aminoácidos em excesso são adsorvidos na superfície das NPs, conferindo estabilização estérica e, sobretudo, por carga. A estabilização por carga está relacionada ao fato de os aminoácidos serem anfóteros, o que permite a perda ou ganho de elétrons, tornando-os eletricamente carregados. Além de demonstrarem capacidade de reduzir os íons de ouro, os aminoácidos selecionados nesse estudo também se comportaram como estabilizadores, evitando a aglomeração das NPs ao aderirem à superfície.

A mudança de coloração do meio reacional para tons de vermelho durante as sínteses serviu como um indicativo da formação das AuNPs. Apesar disso, após uma observação visual da coloração das amostras, foi feita a caracterização dessas partículas, por meio de técnicas como espectroscopia de absorção no UV-Vis, microscopia eletrônica de transmissão (MET), potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz (DLS).

A espectroscopia de absorção no UV-Vis revelou bandas únicas associadas aos efeitos de SPR do ouro metálico, indicando que as NPs apresentavam uma morfologia predominante esférica. A análise de intensidade de absorção e estabilidade das dispersões coloidais por espectroscopia de absorção no UV-Vis ao longo de dois meses permitiu a seleção dos

aminoácidos que mais se destacaram, incluindo a respectiva razão molar utilizada nas sínteses mais promissoras.

Os aminoácidos que apresentaram melhor desempenho na formação de AuNPs foram ácido aspártico, cisteína e tirosina, nas razões molares 10, 0,25 e 0,5, respectivamente. Os experimentos revelaram uma menor capacidade de redução dos íons de ouro nos aminoácidos classificados como básicos, como a arginina e a histidina. A carga positiva desses aminoácidos, entre outros fatores, pode dificultar a redução dos íons de ouro, resultando em formação precária ou ausência de formação de AuNPs. Apesar do triptofano não ser um aminoácido de caráter básico, este também não apresentou bons rendimentos em termos de formação de AuNPs. Tal dificuldade pode estar associada ao fato de o triptofano ser um aminoácido relativamente apolar, apresentando geralmente um caráter hidrofóbico.

A capacidade de um aminoácido de reduzir íons metálicos também pode estar associada ao tamanho da sua molécula, entre outros fatores. Cadeias laterais mais volumosas podem causar impedimentos estéricos, dificultando a nucleação e o crescimento das partículas de ouro. Tais aspectos podem ter contribuído para alguns resultados menos promissores, como os observados nas sínteses com triptofano e arginina.

Por meio da técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET), foi possível confirmar a formação de partículas aproximadamente esféricas nas amostras selecionadas como mais promissoras, revelando diâmetros médios entre 10 e 50 nm. Esses resultados validam a possibilidade de utilizar aminoácidos nas sínteses de materiais nanoparticulados.

A análise da distribuição de tamanho das partículas por espalhamento dinâmico de luz (DLS) revelou diâmetros médios dentro da mesma faixa observada nas imagens de microscopia.

Através das medidas do potencial zeta, observou-se que as amostras com os aminoácidos ácido aspártico, cisteína e tirosina exibiram valores acima de 30 mV, em módulo, indicando uma razoável estabilidade coloidal nessas dispersões. Por outro lado, as AuNPs sintetizadas com os aminoácidos histidina e triptofano indicaram menor estabilidade, uma vez que os valores de potencial zeta foram abaixo de |30 mV|.

Considerando a baixa eficácia de redução dos íons de ouro observada nos experimentos com arginina, histidina e triptofano, foi proposto um ajuste de pH nas sínteses envolvendo esses aminoácidos, com o objetivo de otimizar a formação das NPs. No entanto, de maneira geral, os ajustes de pH não promoveram melhorias significativas em termos de absorção óptica, embora picos mais intensos tenham sido observados nas sínteses com triptofano.

Em resumo, o uso de aminoácidos como agentes redutores e estabilizadores nas sínteses de AuNPs demonstrou ser um método rápido e simples, representando uma abordagem alternativa

altamente eficiente, propiciando a formação de AuNPs aproximadamente esféricas com relativa estabilidade em solução.

Os resultados deste estudo destacam a importância do controle das condições reacionais para a obtenção eficaz das AuNPs com aminoácidos. Diversos fatores impactam diretamente a eficiência da redução dos íons de ouro, a estabilidade coloidal e as propriedades das AuNPs, incluindo sua forma e distribuição de tamanho. Ao otimizar as condições das sínteses, é possível maximizar a eficiência do processo, obter propriedades desejáveis e garantir a aplicabilidade das NPs em diversas áreas.

Este estudo proporcionou uma melhor compreensão da síntese de NPs de ouro com componentes biológicos, como os aminoácidos, envolvendo a avaliação da capacidade dessas espécies de atuarem como agentes redutores e estabilizadores durante os processos de redução dos íons de ouro.

5.2 Sugestões de Trabalhos Futuros

A síntese verde de nanopartículas de ouro usando aminoácidos é um campo de pesquisa promissor que combina nanotecnologia com biotecnologia, permitindo a fabricação de AuNPs de maneira mais sustentável e controlada. São consideradas algumas sugestões para trabalhos futuros nesta área:

- Otimização do processo de síntese explorando outras condições de reação, tais como temperatura e tempo de reação, buscando maximizar o rendimento e a estabilidade das AuNPs produzidas.
- Estudo da influência dos aminoácidos apolares com grupos R alifáticos (ex.: alanina, leucina, valina, etc) na síntese de AuNPs, uma vez que este tipo de aminoácido não foi explorado no presente estudo.
- Explorar as potenciais aplicações das AuNPs sintetizadas com aminoácidos, por exemplo, em biossensores.
- Estudo avaliando a biocompatibilidade e a toxicidade das AuNPs sintetizadas com aminoácidos, para garantir a segurança em suas aplicações.
- Investigação de métodos para funcionalizar as superfícies das AuNPs sintetizadas com aminoácidos, visando conferir-lhes propriedades específicas.

Referências

- 1 SARFRAZ, N.; KHAN, I. Plasmonic gold nanoparticles (AuNPs): properties, synthesis and their advanced energy, environmental and biomedical applications. **Chemistry–An Asian Journal**, v. 16, n. 7, p. 720-742, 2021. ISSN 1861-4728.
- 2 HAMMAMI, I.; ALABDALLAH, N. M. Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications. **Journal of king Saud university-science**, v. 33, n. 7, p. 101560, 2021. ISSN 1018-3647.
- 3 CAO, G. **Nanostructures & nanomaterials: synthesis, properties & applications**. Imperial college press, 2004. ISBN 1860944809.
- 4 SANTHOSH, P. B.; GENOVA, J.; CHAMATI, H. Green synthesis of gold nanoparticles: An eco-friendly approach. **Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 345-369, 2022. ISSN 2624-8549.
- 5 BURLEC, A. F. et al. Current overview of metal nanoparticles' synthesis, characterization, and biomedical applications, with a focus on silver and gold nanoparticles. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 10, p. 1410, 2023. ISSN 1424-8247.
- 6 PIDGEON, N. et al. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. **The Royal Society, The Royal Academy of Engineering**, v. 29, n. 07, p. 2004, 2004.
- 7 GHOSH, S. K.; PAL, T. Interparticle coupling effect on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles: from theory to applications. **Chemical reviews**, v. 107, n. 11, p. 4797-4862, 2007. ISSN 0009-2665.
- 8 ASHA, A. B.; NARAIN, R. Nanomaterials properties. In: (Ed.). **Polymer science and nanotechnology**: Elsevier, 2020. p.343-359.
- 9 RODUNER, E. Size matters: why nanomaterials are different. **Chemical society reviews**, v. 35, n. 7, p. 583-592, 2006.
- 10 SAHOO, S. K.; PARVEEN, S.; PANDA, J. J. The present and future of nanotechnology in human health care. **Nanomedicine**, v. 3, n. 1, p. 20-31, Mar 2007. ISSN 1549-9634.
- 11 SALAMANCA-BUENTELLO, F. et al. Nanotechnology and the developing world. **PLoS Medicine**, v. 2, n. 5, p. e97, 2005. ISSN 1549-1676.
- 12 KHAN, I.; SAEED, K.; KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian journal of chemistry**, v. 12, n. 7, p. 908-931, 2019. ISSN 1878-5352.
- 13 SULABHA, K. K. **Nanotechnology: Principles and Practices**: Springer 2015.
- 14 TEO, B. K.; SUN, X. H. From top-down to bottom-up to hybrid nanotechnologies: road to nanodevices. **Journal of cluster science**, v. 17, p. 529-540, 2006. ISSN 1040-7278.

- 15 AHMED, S.; IKRAM, S. Biosynthesis of gold nanoparticles: a green approach. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 161, p. 141-153, 2016. ISSN 1011-1344.
- 16 FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. D. C. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química nova**, v. 32, p. 1860-1870, 2009. ISSN 0100-4042.
- 17 GALEMBECK, F.; RIPPEL, M. M. Nanocompósitos poliméricos e nanofármacos: fatos, oportunidades e estratégias. **Revista Parcerias Estratégicas**, n. 18, p. 41-61, 2004.
- 18 MANDAL, S.; PHADTARE, S.; SASTRY, M. Interfacing biology with nanoparticles. **Current Applied Physics**, v. 5, n. 2, p. 118-127, 2005. ISSN 1567-1739.
- 19 GLOMM, W. R. Functionalized gold nanoparticles for applications in bionanotechnology. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 26, n. 3, p. 389-414, 2005. ISSN 0193-2691.
- 20 GEONMONOND, R. S.; SILVA, A. G. M. D. A.; CAMARGO, P. H. C. Controlled synthesis of noble metal nanomaterials: motivation, principles, and opportunities in nanocatalysis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1 Suppl 1, p. 719-744, 2018. ISSN 0001-3765.
- 21 KUMAR, H. et al. Metallic nanoparticle: a review. **Biomed. J. Sci. Tech. Res**, v. 4, n. 2, p. 3765-3775, 2018.
- 22 MODY, V. V. et al. Introduction to metallic nanoparticles. **Journal of Pharmacy and bioallied sciences**, v. 2, n. 4, p. 282-289, 2010. ISSN 0976-4879.
- 23 JAMKHANDE, P. G. et al. Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. **Journal of drug delivery science and technology**, v. 53, p. 101174, 2019. ISSN 1773-2247.
- 24 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. ISSN 0021-9797.
- 25 BIRDI, K. A. S. **Handbook of surface and colloid chemistry**. CRC press, 2008. ISBN 0429127073.
- 26 PAUL HIEMENZ, C.; RAJAGOPALAN, R. **Principles of colloid and surface chemistry**: New York: Marcel Dekker 1997.
- 27 TOMA, H. E. et al. The coordination chemistry at gold nanoparticles. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 1158-1176, 2010. ISSN 0103-5053.
- 28 HORINEK, D. DLVO Theory. In: KREYSA, G.; OTA, K.-I., *et al* (Ed.). **Encyclopedia of Applied Electrochemistry**. New York, NY: Springer New York, 2014. p.343-346. ISBN 978-1-4419-6996-5.

- 29 INSTRUMENTS, M. Zetasizer Nano User Manual MAN0485 Issue 1.1 April 2013 English. **Published online**, 2007.
- 30 VERWEY, E. J. W. Theory of the stability of lyophobic colloids. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 631-636, 1947. ISSN 0022-3654.
- 31 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. **Chemical society reviews**, v. 35, n. 3, p. 209-217, 2006.
- 32 KELLY, K. L. et al. **The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment**: ACS Publications. 107: 668-677 p. 2003.
- 33 FARADAY, M. X. The Bakerian Lecture.—Experimental relations of gold (and other metals) to light. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, n. 147, p. 145-181, 1857. ISSN 0261-0523.
- 34 MIE, G. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. **Annalen der physik**, v. 330, n. 3, p. 377-445, 1908. ISSN 0003-3804.
- 35 MOORES, A.; GOETTMANN, F. The plasmon band in noble metal nanoparticles: an introduction to theory and applications. **New Journal of Chemistry**, v. 30, n. 8, p. 1121-1132, 2006.
- 36 ZHAO, P.; LI, N.; ASTRUC, D. State of the art in gold nanoparticle synthesis. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, n. 3-4, p. 638-665, 2013. ISSN 0010-8545.
- 37 BHATTACHARYA, R.; MUKHERJEE, P. Biological properties of “naked” metal nanoparticles. **Advanced drug delivery reviews**, v. 60, n. 11, p. 1289-1306, 2008. ISSN 0169-409X.
- 38 SHAHRIARI, S. et al. Targeted intracellular heat transfer in cancer therapy: assessment of asparagine-laminated gold nanoparticles in cell model of T cell leukemia. **Iranian journal of public health**, v. 46, n. 3, p. 357, 2017.
- 39 KIMLING, J. et al. Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 32, p. 15700-15707, 2006. ISSN 1520-6106.
- 40 APYARI, V. V. et al. Using gold nanoparticles in spectrophotometry. **Journal of analytical chemistry**, v. 69, p. 1-11, 2014. ISSN 1061-9348.
- 41 ZHOU, J. et al. Functionalized gold nanoparticles: synthesis, structure and colloid stability. **Journal of colloid and interface science**, v. 331, n. 2, p. 251-262, 2009. ISSN 0021-9797.
- 42 ZARABI, M. F. et al. Preparation and characterization of gold nanoparticles with amino acids, examination of their stability. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 29, p. 306-314, 2014. ISSN 0970-1915.

- 43 DANIEL, M.-C.; ASTRUC, D. 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. ISSN 0009-2665.
- 44 NJOKI, P. N. et al. Size correlation of optical and spectroscopic properties for gold nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 111, n. 40, p. 14664-14669, 2007. ISSN 1932-7447.
- 45 HORVATH, H. Gustav Mie and the scattering and absorption of light by particles: Historic developments and basics. **Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer**, v. 110, n. 11, p. 787-799, 2009. ISSN 0022-4073.
- 46 WANGO, N. et al. One pot, rapid and efficient synthesis of water dispersible gold nanoparticles using alpha-amino acids. **Nanotechnology**, v. 25, n. 43, p. 435608, 2014. ISSN 0957-4484.
- 47 ELGHANIAN, R. et al. Selective colorimetric detection of polynucleotides based on the distance-dependent optical properties of gold nanoparticles. **Science**, v. 277, n. 5329, p. 1078-1081, 1997. ISSN 1095-9203.
- 48 TOMA, H. E.; BONIFÁCIO, L. D. S.; ANAISSI, F. J. Da cor à cor inexistente: uma reflexão sobre espectros eletrônicos e efeitos cromáticos. **Química Nova**, v. 28, p. 897-900, 2005. ISSN 0100-4042.
- 49 TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, p. 55-75, 1951.
- 50 AMINA, S. J.; GUO, B. A review on the synthesis and functionalization of gold nanoparticles as a drug delivery vehicle. **International journal of nanomedicine**, p. 9823-9857, 2020. ISSN 1176-9114.
- 51 FRENS, G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. **Nature physical science**, v. 241, n. 105, p. 20-22, 1973. ISSN 0300-8746.
- 52 SCHMID, G. et al. Au₅₅ [P (C₆H₅)₃] 12Cl₆—ein Goldcluster ungewöhnlicher Größe. **Chemische Berichte**, v. 114, n. 11, p. 3634-3642, 1981. ISSN 0009-2940.
- 53 GIERSIG, M.; MULVANEY, P. Preparation of ordered colloid monolayers by electrophoretic deposition. **Langmuir**, v. 9, n. 12, p. 3408-3413, 1993. ISSN 0743-7463.
- 54 BRUST, M. et al. Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 7, p. 801-802, 1994.

- 55 LAMER, V. K.; DINEGAR, R. H. Theory, production and mechanism of formation of monodispersed hydrosols. **Journal of the american chemical society**, v. 72, n. 11, p. 4847-4854, 1950. ISSN 0002-7863.
- 56 PARK, J. et al. Synthesis of monodisperse spherical nanocrystals. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 25, p. 4630-4660, 2007. ISSN 1433-7851.
- 57 POLTE, J. Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles—a new perspective. **CrystEngComm**, v. 17, n. 36, p. 6809-6830, 2015.
- 58 IRAVANI, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green chemistry**, v. 13, n. 10, p. 2638-2650, 2011.
- 59 ANASTAS, P. T.; KIRCHHOFF, M. M. Origins, current status, and future challenges of green chemistry. **Accounts of chemical research**, v. 35, n. 9, p. 686-694, 2002. ISSN 0001-4842.
- 60 SILVA, L. P. et al. **Nanotecnologia verde para síntese de nanopartículas metálicas**: Blucher Open Access. 2017. 967-1012 p.
- 61 BORDIWALA, R. V. Green synthesis and applications of metal nanoparticles.-A review article. **Results in Chemistry**, v. 5, p. 100832, 2023. ISSN 2211-7156.
- 62 KEMP, M. M. et al. Synthesis of gold and silver nanoparticles stabilized with glycosaminoglycans having distinctive biological activities. **Biomacromolecules**, v. 10, n. 3, p. 589-595, 2009. ISSN 1525-7797.
- 63 RODRÍGUEZ-TORRES, M. D. P. et al. UV photochemical synthesis of heparin-coated gold nanoparticles. **Gold Bulletin**, v. 47, p. 21-31, 2014.
- 64 KIM, H.-S. et al. Green synthesis and nanotopography of heparin-reduced gold nanoparticles with enhanced anticoagulant activity. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, v. 13, n. 3, p. 2068-2076, 2013. ISSN 1533-4880.
- 65 TYAGI, H. et al. pH-dependent synthesis of stabilized gold nanoparticles using ascorbic acid. **International Journal of Nanoscience**, v. 10, n. 04n05, p. 857-860, 2011. ISSN 0219-581X.
- 66 NADAGOUDA, M. N.; VARMA, R. S. Green and controlled synthesis of gold and platinum nanomaterials using vitamin B 2: density-assisted self-assembly of nanospheres, wires and rods. **Green Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 516-518, 2006.
- 67 KUNOH, T. et al. Green synthesis of gold nanoparticles coupled with nucleic acid oxidation. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 6, n. 1, p. 364-373, 2018. ISSN 2168-0485.
- 68 GOSWAMI, N.; SAHA, R.; PAL, S. K. Protein-assisted synthesis route of metal nanoparticles: exploration of key chemistry of the biomolecule. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 13, p. 5485-5495, 2011. ISSN 1388-0764.

- 69 TAN, Y. N.; LEE, J. Y.; WANG, D. I. C. Uncovering the design rules for peptide synthesis of metal nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 16, p. 5677-5686, 2010. ISSN 0002-7863.
- 70 OTARI, S. V. et al. A green chemistry approach for synthesizing thermostable antimicrobial peptide-coated gold nanoparticles immobilized in an alginate biohydrogel. **RSC advances**, v. 6, n. 90, p. 86808-86816, 2016.
- 71 ZHONG, Z. et al. The surface chemistry of Au colloids and their interactions with functional amino acids. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 108, n. 13, p. 4046-4052, 2004. ISSN 1520-6106.
- 72 VOET, D.; VOET, J. G. *Bioquímica*, 4ª Edição. **Porto Alegre, Brasil. Artmed editora Ltda**, 2013.
- 73 NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Artmed Editora, 2022. ISBN 6558820706.
- 74 BRUICE, P. Y. **Química orgânica: Paula Yurkanis Bruice. Traduzido por Debora Omena Futuro...[et al.]**. Pearson Prentice Hall, 2006. ISBN 8576050048.
- 75 MARUYAMA, T.; FUJIMOTO, Y.; MAEKAWA, T. Synthesis of gold nanoparticles using various amino acids. **Journal of colloid and interface science**, v. 447, p. 254-257, 2015. ISSN 0021-9797.
- 76 COURROL, L. C.; DE MATOS, R. A. Synthesis of gold nanoparticles using amino acids by light irradiation. **Catalytic application of nano-gold catalysts**, v. 83, 2016.
- 77 FIGAT, A. M. et al. α -Amino acids as reducing and capping agents in gold nanoparticles synthesis using the Turkevich method. **Langmuir**, v. 39, n. 25, p. 8646-8657, 2023. ISSN 0743-7463.
- 78 THEODOSIOU, M. et al. Amino acid driven synthesis of gold nanoparticles: A comparative study on their biocompatibility. **Materials Chemistry and Physics**, v. 319, p. 129260, 2024. ISSN 0254-0584.
- 79 BEHERA, S. et al. UV-visible spectrophotometric method development and validation of assay of paracetamol tablet formulation. **J Anal Bioanal Techniques**, v. 3, n. 6, p. 151-7, 2012.
- 80 JANA, N. R.; GEARHEART, L.; MURPHY, C. J. Seeding growth for size control of 5– 40 nm diameter gold nanoparticles. **Langmuir**, v. 17, n. 22, p. 6782-6786, 2001. ISSN 0743-7463.
- 81 SAU, T. K. et al. Size controlled synthesis of gold nanoparticles using photochemically prepared seed particles. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 3, p. 257-261, 2001. ISSN 1388-0764.

- 82 MANDAL, S. et al. Synthesis of a stable gold hydrosol by the reduction of chloroaurate ions by the amino acid, aspartic acid. **Journal of Chemical Sciences**, v. 114, p. 513-520, 2002. ISSN 0253-4134.
- 83 TAN, Y. N.; LEE, J. Y.; WANG, D. I. C. Aspartic acid synthesis of crystalline gold nanoplates, nanoribbons, and nanowires in aqueous solutions. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n. 14, p. 5463-5470, 2008. ISSN 1932-7447.
- 84 RAMEZANI, F.; AMANLOU, M.; RAFII-TABAR, H. Comparison of amino acids interaction with gold nanoparticle. **Amino Acids**, v. 46, p. 911-920, 2014. ISSN 0939-4451.
- 85 DI FELICE, R.; SELONI, A.; MOLINARI, E. DFT study of cysteine adsorption on Au (111). **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, n. 5, p. 1151-1156, 2003. ISSN 1520-6106.
- 86 MATTIOLI, E. J. et al. Interaction of Au (iii) with amino acids: a vade mecum for medicinal chemistry and nanotechnology. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 12, n. 21, p. 5162-5170, 2024.
- 87 MA, Z.; HAN, H. One-step synthesis of cystine-coated gold nanoparticles in aqueous solution. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 317, n. 1-3, p. 229-233, 2008. ISSN 0927-7757.
- 88 FEYER, V. et al. Adsorption of histidine and histidine-containing peptides on Au (111). **Langmuir**, v. 26, n. 11, p. 8606-8613, 2010. ISSN 0743-7463.
- 89 XU, Z. et al. Adsorption of histidine and histidine-containing peptides on Au (1 1 1): a molecular dynamics study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 380, n. 1-3, p. 135-142, 2011. ISSN 0927-7757.
- 90 RAWAT, K. A. et al. Microwave assisted synthesis of tyrosine protected gold nanoparticles for dual (colorimetric and fluorimetric) detection of spermine and spermidine in biological samples. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 88, p. 71-77, 2017. ISSN 0956-5663.
- 91 SELVAKANNAN, P. R. et al. Water-dispersible tryptophan-protected gold nanoparticles prepared by the spontaneous reduction of aqueous chloroaurate ions by the amino acid. **Journal of colloid and interface science**, v. 269, n. 1, p. 97-102, 2004. ISSN 0021-9797.
- 92 RAI, A. et al. Advances in the design of amino acid and peptide synthesized gold nanoparticles for their applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 318, p. 102951, 2023. ISSN 0001-8686.
- 93 SI, S.; MANDAL, T. K. Tryptophan - based peptides to synthesize gold and silver nanoparticles: a mechanistic and kinetic study. **Chemistry–A European Journal**, v. 13, n. 11, p. 3160-3168, 2007. ISSN 0947-6539.

94

BAATZ, C.; DECKER, N.; PRÜBE, U. New innovative gold catalysts prepared by an improved incipient wetness method. **Journal of Catalysis**, v. 258, n. 1, p. 165-169, 2008. ISSN 0021-9517.

Apêndices

APÊNDICE A – INFORMAÇÕES DOS REAGENTES UTILIZADOS

Reagente precursor	Fórmula molecular	Peso Molecular (g/mol)	CAS	Marca
Cloreto de Ouro	$\text{HAuCl}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$	393,83	16961-25-4	Synth

Aminoácido	Fórmula molecular	Peso Molecular (g/mol)	CAS	Marca
Ácido Aspártico	$\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$	133,1	56-84-8	Synth
Arginina	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$	174,20	74-79-3	Synth
Cisteína	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$	121,16	52-90-4	Inlab
Histidina	$\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$	155,16	71-00-1	Inlab
Tirosina	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$	181,19	60-18-4	Synth
Triptofano	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	204,23	73-22-3	Synth

UFBA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA INDUSTRIAL - PEI

Rua Aristides Novis, 02, 6º andar, Federação, Salvador BA

CEP: 40.210-630

Telefone: (71) 3283-9800

E-mail: pei@ufba.br

Home page: <http://www.pei.ufba.br>

