

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA

RAFAELA DAIANE DE OLIVEIRA

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE FILMES LbL COM
NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS EM AMIDO**

PONTA GROSSA

2014

RAFAELA DAIANE DE OLIVEIRA

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE FILMES LbL COM
NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS EM AMIDO**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Química Aplicada no Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Christiana Andrade Pessôa

PONTA GROSSA

2014

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

Oliveira, Rafaela Daiane de
046 Preparação, caracterização e aplicação
de filmes LbL com nanopartículas de prata
estabilizadas em amido/ Rafaela Daiane de
Oliveira. Ponta Grossa, 2014.
94f.

Dissertação (Mestrado em Química
Aplicada - Área de Concentração: Química),
Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientadora: Prof^a Dr^a Christiana
Andrade Pessoa.

1.Nanopartículas de prata. 2.Filmes
Layer-by-Layer.
3.3-n-propilpiridínio-silsesquioxano.
4.Iodo. 5.Sensores eletroquímicos.
I.Pessoa, Christiana Andrade. II.
Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Mestrado em Química Aplicada. III. T.

CDD: 547

TERMO DE APROVAÇÃO

RAFAELA DAIANE DE OLIVEIRA

**“PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE FILMES
LbL COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS EM
AMIDO.”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

Orientadora:



Prof.^a Dr.^a Christiana Andrade Pessôa
UEPG/PR



Prof.^a Dr.^a Eryza Guimarães Castro
UNICENTRO/PR



Prof. Dr. César Ricardo Tarley
UEL/PR

Ponta Grossa, 22 de agosto de 2014.

Dedico este trabalho aos meus
pais, Rosilda e Miguel, e ao
meu amor Bruno.

AGRADECIMENTOS

Agradeço sinceramente as pessoas que foram importantes e contribuíram durante o desenvolvimento desta dissertação. À Deus por ter proporcionado oportunidades e bons acontecimentos em minha vida.

À minha família por sempre estar presente. Especialmente aos meus pais, Rosilda e Miguel, meu alicerce e modelo. Muito obrigado pelo carinho e dedicação em toda a minha vida.

Ao Bruno pelo incentivo, paciência, confiança, auxílio nas discussões científicas, além do apoio emocional. Por compartilhar de meus sonhos e perspectivas.

À Prof. Dra. Christiana Andrade Pessoa pela oportunidade, orientação e aprendizado que me proporcionou, além da amizade durante o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Sérgio Toshio Fugiwara por fornecer o polieletrólito SiPy^+Cl^- .

Ao grupo de desenvolvimento de eletrodos modificados (GDEM), especialmente Monalisa, Cleverson, Rosana, Cristiane, Giselle, Bianca e Dhésmon pelo auxílio nas discussões e práticas de laboratório para o desenvolvimento deste trabalho. E pelos momentos de descontração e amizade que me proporcionaram.

Às minhas amigas, especialmente Jéssica e Cynthia que estiveram presentes em momentos importantes nesses anos, me apoiando e incentivando. Saynne, Caroline e Keyla que me incentivaram e auxiliaram com as demais atividades acadêmicas nesse período. À Lilian, que mesmo distante, sempre me proporcionou palavras de incentivo e apoio.

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho. Muito obrigada.

“O maior inimigo do conhecimento não é a ignorância, mas a ilusão de conhecimento.”

Stephen Hawking

RESUMO

Neste trabalho foram sintetizadas nanopartículas de prata estabilizadas em amido (AgNPs-Am). A síntese foi realizada por redução do sal AgNO_3 utilizando o NaBH_4 . A temperatura de síntese e concentração dos reagentes foram otimizadas, a formação das AgNPs-Am foi monitorada por espectroscopia na região do UV-Vis e medidas de espalhamento dinâmico da luz (DLS). As condições ótimas encontradas para síntese de AgNPs-Am foram amido 0,6 % (m/v), $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 , $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 e síntese em banho de gelo. O tamanho médio das AgNPs-Am foi entre 21 e 77 nm. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) confirmaram que houve formação das AgNPs no interior e fora das cadeias de amido, sendo os menores tamanhos referentes às NPs estabilizadas pelo amido. Medidas de Potencial zeta indicaram estabilidade das NPs, confirmada por acompanhamento DLS que demonstrou baixa aglomeração em um período de 115 dias. Para caracterização das AgNPs-Am utilizou-se também espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e difração de raios X (XRD). As AgNPs-Am foram utilizadas como poliânion para construção de filmes pela técnica Layer-by-Layer (LbL), alternando com polycation 3-n-propilpiridínio-silsesquioxano (SiPy^+Cl^-). Para construção dos filmes, pH e tempo de imersão dos polieletrólitos foram otimizados, assim como concentração de SiPy^+Cl^- , monitorando a deposição por UV-Vis. Os parâmetros ótimos foram tempo de imersão 240 segundos, solução de 2 mg/mL de SiPy^+Cl^- pH 6,5 e AgNPs-Am pH 9,0. Imagens de microscopia de força atômica (AFM) mostram que a espessura dos filmes aumenta linearmente e a rugosidade decresce com o número de bicamadas. Espectros FTIR e Raman confirmaram a interação entre os polieletrólitos na montagem dos filmes. Os filmes LbL com configuração $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_n$ (n = número de bicamadas) foram aplicados como eletrodos modificados para detecção de iodo, utilizando-se voltametria de pulso diferencial (VPD). Verificou-se que a interação dos componentes no filme LbL melhorou a intensidade de corrente. O filme $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_n$ ($n=5$) apresentou melhor resposta de corrente em eletrólito suporte tampão fosfato salino (PBS) $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH 7,0. Os parâmetros instrumentais E_{pulso} , v e t_{pulso} foram otimizados por planejamento fatorial 2^3 . Verificou-se efeito significativo para interação de terceira ordem para intensidade de corrente do pico de redução do iodo, portanto os parâmetros instrumentais foram avaliados em conjunto. Os resultados da otimização foram $t_{\text{pulso}} = 0,05 \text{ s}$, $v = 40 \text{ mV/s}$ e $E_{\text{pulso}} = 50 \text{ mV}$. Nestas condições, o eletrodo modificado obteve resposta linear para concentrações de iodo que variam de $4,34 \cdot 10^{-5}$ a $3,47 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ ($R=0,9936$) e de $4,40 \cdot 10^{-4}$ a $4,24 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ($R=0,9938$). Respectivamente, obteve-se limite de detecção $5,56 \cdot 10^{-6}$ e $1,51 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ e para o limite de quantificação $1,85 \cdot 10^{-5}$ e $5,04 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. As AgNPs-Am sintetizadas neste trabalho também atuaram como sensor colorimétrico de iodo, com três regiões de linearidade. Duas curvas analíticas foram construídas para concentrações de iodo de $2,40 \cdot 10^{-7}$ a $9,50 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ e de $2,40 \cdot 10^{-6}$ a $1,60 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Obteve-se LD de $1,71 \cdot 10^{-8}$ e $1,06 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ e LQ de $5,69 \cdot 10^{-8}$ e $3,55 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$, respectivamente para cada intervalo. As variações de cores obtidas nestas concentrações correspondem a interação entre o iodo e a prata, as quais foram acompanhadas pela banda UV-Vis apresentada em 410 nm. Em concentrações acima de $5,50 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ observa-se o aparecimento de coloração azul, absorvância em 600 nm, correspondente a interação entre amido e iodo. Obteve-se linearidade para concentrações de $5,50 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ a $9,50 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Para este intervalo de concentração, os LD e LQ são respectivamente $1,37 \cdot 10^{-6}$ e $4,58 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$. Os resultados apresentados confirmam a potencialidade do uso das AgNPs-Am para detecção de iodo, tanto na modificação de eletrodos para determinação eletroquímica, quanto o uso como sensor colorimétrico.

Palavras-chave: nanopartículas de prata, filmes *Layer-by-Layer*, 3-n-propilpiridínio-silsesquioxano, iodo, sensores eletroquímicos.

ABSTRACT

In this work, starch-stabilized silver nanoparticles (AgNPs-Am) were synthesized by reduction of AgNO_3 using the NaBH_4 . The temperature and concentration of reagents of the synthesis were optimized. The formation of AgNPs-Am was monitored by UV-Vis spectroscopy and dynamic light scattering (DLS). The optimum conditions found for the AgNPs-Am synthesis were starch 0.6 % (w/v), $3.6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ NaBH_4 , $0.9 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AgNO_3 and synthesis in bath ice. The average size of the AgNPs-Am was between 21 and 77 nm. Transmission electron microscopy (TEM) confirmed the AgNPs-Am formation inside and outside of the starch chains, however the smaller sizes were referred to the NPs stabilized by starch. Measurements of Potential zeta indicated stability of the particles, confirmed by DLS monitoring that demonstrated low agglomeration of NPs in a period of 115 days. For the characterization of AgNPs-Am it was also used infrared spectroscopic (FTIR) and X-ray diffraction (XRD). The AgNPs-Am were applied as polyanion for the construction of films by Layer-by-Layer technique (LbL), alternating with polycation 3-n-propylpyridinium-silsesquioxane (SiPy^+Cl^-). In order to obtain the films, pH and immersion time of the polyelectrolytes were optimized, as well as the concentration of SiPy^+Cl^- , monitoring the deposition by UV-Vis. The optimum parameters were immersion time 240 seconds, 2 mg/mL SiPy^+Cl^- pH 6.5 and AgNPs-Am pH 9.0. Atomic force microscopy (AFM) images showed that film thickness increases linearly and the roughness decrease with the bilayers number. FTIR spectra and Raman confirmed the interaction between the polyelectrolytes in the assembly of LbL films. The LbL films with architecture $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_n$ (n = bilayers number) were applied as modified electrodes for iodine detection, using differential pulse voltammetry (DPV). It was verified that interaction of the components in the LbL films improved the current intensity. The film $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_n$ ($n=5$) showed better current response in phosphate buffered saline (PBS) 0.1 mol L^{-1} pH 7.0. The instrumental parameters E_{pulse} , ν and t_{pulse} were optimized by 2^3 factorial design. It was verified a significant effect for third order interaction for the intensity of iodine redox peak currents, so the instrumentals parameters were evaluated together. The results of optimization were $t_{\text{pulse}} = 0.05 \text{ s}$, $\nu = 40 \text{ mV/s}$ e $E_{\text{pulse}} = 50 \text{ mV}$. Accordingly, the modified electrode obtained a linear response for iodine concentrations ranging from 4.34×10^{-5} to $3.47 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($R=0,9936$) and from 4.40×10^{-4} to $4.24 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($R=0,9938$). It was obtained limit of detection (LOD) 5.56×10^{-6} and $1.51 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ and for limit of quantification (LOQ) 1.85×10^{-5} and $5.04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, respectively. The AgNPs-Am synthesized in this work also acted as colorimetric sensor for iodine, with three regions of linearity. Two analytical curves were obtained for iodine concentration range from 2.40×10^{-7} to $9.50 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ and from $2.40 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ to $1.60 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. It was obtained a LOD of 1.71×10^{-8} and $1.06 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ and LOQ of 5.69×10^{-8} to $3.55 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectively for each range. Color variations obtained in these concentrations correspond to interaction between iodine and silver, which were monitored by UV-Vis band showed in 410 nm. At concentrations above $5.50 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ there is the appearance of blue color, absorbance in 600 nm, corresponding to the interaction between starch and iodine. It was also obtained a linear relationship for iodine concentration from $5.50 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ to $9.50 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. For this concentration range, LOD and LOQ were respectively 1.37×10^{-6} and $4.58 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. The results presented confirm the potential use of AgNPs-Am for iodine detection, both for the modification of electrodes for electrochemical determination as a colorimetric sensor.

Keywords: silver nanoparticles, Layer-by-Layer films, 3-n-propylpyridinium-silsesquioxane, iodine, electrochemical sensors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espaço médio entre os estados de energia (ΔE).....	18
Figura 2 - Bulk de material e suas possíveis estruturas quânticas.....	19
Figura 3 - Função de onda	20
Figura 4 - Representação do comportamento do éxciton em confinamento com dimensões (a) maiores que r_{ex} e (b) menores que r_{ex}	21
Figura 5 - Curral Quântico IBM.....	22
Figura 6 - Estrutura química da (a) amilose e (b) amilopectina. Possível conformação das AgNPs nas estruturas de (c) amilose e (d) amilopectina.	24
Figura 7 - Esquema ilustrativo da técnica LbL.....	26
Figura 8 - Distribuição de tamanho de AgNPs em sínteses com diferentes agentes redutores.....	31
Figura 9 - Representação esquemática do potencial Zeta.	32
Figura 10 - Representação esquemática da preparação de filmes LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am)	40
Figura 11 - Adsorção de íons borohidreto na superfície das AgNPs.....	47
Figura 12 - Espectro de absorção na região do UV-Vis das sínteses de AgNPs-Am realizadas em diferentes temperaturas (5°C e 25°C). Parâmetros utilizados: $2,2 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ de NaBH ₄ , $1,1 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ de AgNO ₃ e 0,2 % (m/v) de amido.....	49
Figura 13 - Resultados de DLS para distribuição de tamanho das AgNPs-Am em sínteses com concentração de amido (a) 0,1 %, (b) 0,6 % e (c) 1,3 % (m/v). Parâmetros utilizados: $3,6 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ de NaBH ₄ e $0,9 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ de AgNO ₃	51
Figura 14 - Resultados de DLS para distribuição de tamanho das AgNPs-Am em sínteses com concentração de (a) $3,0 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ , (b) $3,6 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ e (c) $4,1 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ de NaBH ₄ . Parâmetros utilizados: $0,9 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ de AgNO ₃ e 0,6 % (m/v) de amido.	52
Figura 15 - Resultados de DLS para distribuição de tamanho das AgNPs-Am em sínteses com concentração de (a) $0,2 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ , (b) $0,4 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ e (c) $0,9 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ de AgNO ₃	54
Figura 16 - (a) Espectro na região do UV-Vis e (b) distribuição de tamanho das AgNPs-Am otimizada	56

Figura 17 - Imagens de TEM para AgNps-Am. (a) Aproximação das AgNPs imobilizadas no amido. (b) AgNPs dentro e fora das cadeias de amido.	58
Figura 18 - Espectros FTIR das AgNPs-Am e seus reagentes.....	59
Figura 19 - Difratoogramas das AgNPs-Am: (a) liofilizadas e (b) calcinadas	60
Figura 20 - Cinética de deposição para filmes LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) ₅	61
Figura 21 - Espectro UV-Vis de filmes LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) ₅ alterando o pH das soluções	62
Figura 22 - Voltamogramas cíclicos de filmes LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) ₅ alterando o pH das soluções.....	63
Figura 23 - Espectro UV-Vis de filmes LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) ₅ em diferentes concentrações de SiPy ⁺ Cl ⁻	63
Figura 24 - Voltamogramas cíclicos de filmes LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) ₅ em diferentes concentrações de SiPy ⁺ Cl ⁻ . Parâmetros utilizados: v= 50mV/s, ER: Ag/AgCl, CE: Platina, Eletrólito suporte PBS 0,1 mol.L ⁻¹ pH 7,0	64
Figura 25 - Espectro FTIR dos filmes <i>drop-coated</i> SiPy ⁺ Cl ⁻ , AgNPs-Am e SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am.....	65
Figura 26 - Espectro Raman filmes <i>drop-coated</i> AgNPs-Am, SiPy ⁺ Cl ⁻ e SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am.....	67
Figura 27 - Imagens AFM para FTO e filmes LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) _n . n = 2, 4, 6, 8 e 10 bicamadas. Janela de varredura de 1 x 1 µm.....	69
Figura 28 - Relação entre a espessura dos filmes LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) _n com o número de bicamadas, onde n = 4, 5, 6, 8 e 10 bicamadas.....	70
Figura 29 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado com LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) ₅	71
Figura 30 - Voltamogramas de pulso diferencial em diferentes eletrólitos suporte: tampão PBS, NaH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄ e tampão Britton-Robinson, com concentração 0,1 mol.L ⁻¹ e pH 7,0, na presença de solução de iodo ([iodo]= 1.10 ⁻³ mol.L ⁻¹). E _{step} = 0,005V, v = 50mV/s, E _{pulso} = 0,05V e t _{pulso} = 0,05s.....	72
Figura 31 - Voltamogramas de pulso diferencial para FTO, SiPy ⁺ Cl ⁻ , AgNPs-Am, amido, filme LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) ₅ e AgNPs sintetizadas em SiPy ⁺ Cl ⁻ . Condições: eletrólito suporte PBS 0,1 mol.L ⁻¹ pH 7,0 e iodo 1,0.10 ⁻³ mol.L ⁻¹	73
Figura 32 - Relação entre a corrente de pico e o número de bicamadas para filme LbL configuração (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) _n . n = 1 a 10 bicamadas. Condições:	

Eletrólito suporte PBS 0,1 mol.L ⁻¹ pH 7,0 e iodo 1,0.10 ⁻³ mol.L ⁻¹ . Parâmetros instrumentais: $v = 50$ mV/s, $E_{\text{step}} = 5$ mV, $E_{\text{pulso}} = 0,05$ V, $t_{\text{pulso}} = 0,05$ s	74
Figura 33 - Interpretação geométrica para os efeitos de interação de terceira ordem ($E_{\text{pulso}} \times v \times t_{\text{pulso}}$) para os parâmetros de VPD na detecção de iodo.....	77
Figura 34 - Curvas de calibração para detecção de iodo. (a) curva 1 e (b) curva 2	78
Figura 35 - (a) Espectros UV-Vis para AgNPs-Am com adição de iodo ([iodo] 0,24 a 0,95 $\mu\text{mol.L}^{-1}$). (b) Relação entre a absorbância e a concentração de iodo. (c) Imagens das soluções com diferentes concentrações de iodo.	80
Figura 36 - (a) Espectros UV-Vis para AgNPs-Am com adição de iodo ([iodo] de 2,4 a 16 $\mu\text{mol.L}^{-1}$). (b) Relação entre a absorbância e a concentração de iodo. (c) Imagens das soluções com diferentes concentrações de iodo.	81
Figura 37 - (a) Espectros UV-Vis para AgNPs-Am com adição de iodo ([iodo] de 55 a 95 $\mu\text{mol.L}^{-1}$). (b) Relação entre a absorbância e a concentração de iodo. (c) Imagens das soluções com diferentes concentrações de iodo.	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Potencial Zeta de AgNPs sintetizadas com diferentes velocidades de agitação.....	34
Tabela 2 - Concentrações utilizadas para otimização dos parâmetros da síntese ...	37
Tabela 3 - pH das soluções utilizadas na construção dos filmes LbL	41
Tabela 4 - Variáveis e níveis estudados para otimização dos parâmetros instrumentais na VPD.....	45
Tabela 5 - Ensaios experimentais para planejamento fatorial completo 2^3	45
Tabela 6 - Resultados de DLS para otimização da concentração do amido na síntese de AgNPs-Am	50
Tabela 7 - Resultados de DLS para otimização da concentração de redutor na síntese de AgNPs-Am	51
Tabela 8 - Resultados de DLS para otimização da concentração de AgNO_3 na síntese de AgNPs-Am	53
Tabela 9 - Comparação das condições de síntese com as da literatura.....	55
Tabela 10 - Resultados DLS para distribuição de tamanho AgNPs-Am durante o armazenamento.	57
Tabela 11 - Atribuições dos grupos funcionais do espectro FTIR das AgNPs-Am e seus reagentes.....	59
Tabela 12 - Atribuições dos grupos funcionais do espectro FTIR dos filmes <i>drop-coated</i>	66
Tabela 13 - Relação do número de bicamadas e a rugosidade.....	68
Tabela 14 - Respostas eletroquímicas para otimização dos parâmetros instrumentais da VPD via planejamento fatorial 2^3	75
Tabela 15 - Efeitos calculados para otimização via planejamento fatorial 2^3 dos parâmetros instrumentais da VPD para detecção de iodo.	76
Tabela 16 - Resultados para ensaio de recuperação de iodo em PBS $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH 7,0	79
Tabela 17 - Comparação entre os resultados voltamétricos e colorimétricos obtidos e os descritos na literatura para detecção de iodo	85

LISTA DE SIGLAS

AFM – Microscopia de força atômica

AgNPs – Nanopartículas de prata

AgNPs-Am – Nanopartículas de prata estabilizadas em amido

BC – Banda de condução

BV – Banda de valência

CE – Contra eletrodo

CFC – Cúbica de face centrada

CV – Voltametria cíclica

DLS – Espalhamento dinâmico da luz

E_{pulso} – Potencial de pulso

ER – Eletrodo de referência

FTIR – Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

FTO – Substrato de vidro recoberto com óxido de estanho dopado com flúor

ICPOES - Espectroscopia de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado

LbL – *Layer-by-Layer*

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

MNPs – Nanopartículas metálicas

NPs – Nanopartículas

PBS – Tampão fosfato-salino

Rq – Rugosidade média quadrática

r_{ex} – Raio éxciton

SiPy⁺Cl⁻ – Cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano

TEM – Microscopia eletrônica de transmissão

t_{pulso} – Tempo de pulso

UV-Vis – Ultravioleta visível

v – Velocidade de varredura

VPD – Voltametria de pulso diferencial

XPS – Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X

XRD – Difração de raios X

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	NANOPARTÍCULAS	17
2.2	MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS	21
2.3	SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS EM POLISSACARÍDEOS	23
2.4	FILMES OBTIDOS PELA TÉCNICA LbL	25
2.5	FILMES FINOS COM NANOPARTÍCULAS E POLÍMEROS	26
2.6	iodo	27
3	DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA	29
4	TÉCNICAS E FUNDAMENTOS	30
4.1	ESPALHAMENTO DINÂMICO DA LUZ (DLS)	30
4.2	POTENCIAL ZETA	31
5	OBJETIVOS	35
5.1	OBJETIVOS GERAIS	35
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
6	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	36
6.1	REAGENTES	36
6.2	SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA	36
6.3	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA	38
6.3.1	<i>Espectroscopia na região do UV-Vis</i>	38
6.3.2	<i>Espalhamento dinâmico da luz (DLS)</i>	38
6.3.3	<i>Potencial Zeta</i>	38
6.3.4	<i>Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)</i>	39
6.3.5	<i>Difração de raios X (XRD)</i>	39
6.3.6	<i>Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)</i>	39
6.4	CONSTRUÇÃO DE FILMES LbL COM SiPy ⁺ Cl ⁻ E AgNPs-Am	39
6.4.1	<i>Limpeza do substrato</i>	39
6.4.2	<i>Preparação dos filmes Layer-by-Layer (LbL)</i>	40
6.4.3	<i>Estudo da cinética de deposição</i>	40
6.4.4	<i>Otimização do pH dos polieletrólitos na construção dos filmes LbL</i>	41
6.4.5	<i>Otimização da concentração de SiPy⁺Cl⁻ na construção dos filmes LbL</i>	41
6.4.6	<i>Voltametria cíclica para otimização dos parâmetros do filme LbL</i>	42
6.5	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LbL	42
6.5.1	<i>Espectroscopia na região do UV-Vis</i>	42
6.5.2	<i>Espectroscopia na Região do Infravermelho (FTIR)</i>	42

6.5.3	<i>Espectroscopia Raman</i>	43
6.5.4	<i>Microscopia de força atômica (AFM)</i>	43
6.6	ELETRODO MODIFICADO COM LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) PARA DETECÇÃO DE IODO	44
6.7	SENSOR COLORIMÉTRICO DE IODO	46
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
7.1	SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA	47
7.1.1	<i>Parâmetros da síntese</i>	47
7.1.2	<i>Caracterização das nanopartículas de prata</i>	55
7.2	FILMES LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am)	60
7.3	ELETRODO MODIFICADO COM LbL (SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs- Am)	70
7.4	OTIMIZAÇÃO PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL	74
7.5	CURVA DE CALIBRAÇÃO	77
7.6	SENSOR COLORIMÉTRICO DE IODO	79
8	CONCLUSÕES	86
9	TRABALHOS FUTUROS	88
	REFERÊNCIAS	89

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, estudos de materiais em escala nanométrica tem despertado o interesse da comunidade científica. A intensificação das pesquisas em nanociência e nanotecnologia é evidenciada pelos inúmeros artigos publicados na área. Neste contexto, o que atrai pesquisadores de diferentes áreas são as propriedades únicas apresentadas pelos nanomateriais¹⁻¹⁸, as quais proporcionam uma lista crescente das mais diversas aplicações.

As nanopartículas metálicas (MNPs), principalmente de metais nobres, possuem novas propriedades ópticas e eletrônicas diretamente dependentes do tamanho e forma obtidos. Para controlar o tamanho e evitar a coalescência das nanopartículas (NPs), tem sido comum o uso de polímeros como estabilizante devido às vantagens econômicas e ambientais. Dentre estes, destaca-se o amido que, além de estabilizar a dispersão, em alguns casos também possui ação redutora.¹⁰⁻¹⁷ A imobilização de MNPs em filmes finos proporciona aumento da área superficial e, conseqüentemente, aumento da condutividade e eficiência catalítica.^{2,16} Essas características mostram-se promissoras para uso de filmes finos com NPs na modificação da superfície de eletrodos, visando aplicação em sensores eletroquímicos para detecção de analitos específicos. Para construção desses filmes a técnica *Layer-by-Layer* (LbL) destaca-se pela simplicidade e baixo custo. Essa técnica utiliza de interação eletrostática entre as moléculas para montagem de filme organizado de espessura nanométrica.

O presente trabalho consiste inicialmente na síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) por redução química e estabilização em amido. Seguido pela utilização dessas NPs, como poliânion, na construção de filmes finos pela técnica LbL, e o 3-n-propilpiridínio-silsesquioxano (SiPy⁺Cl⁻) como policação. Os filmes LbL obtidos foram utilizados para modificação de eletrodos e seu comportamento eletroquímico foi analisado na presença de iodo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 NANOPARTÍCULAS

A curiosidade por manipular e construir materiais de tamanho extremamente pequeno tem sido explorada há algum tempo.^{18,19} Os primeiros registros da obtenção de NPs possuíam caráter meramente experimental e isolado, sem maior interesse na época. É o caso do copo de Licurgo (datado de 400 a.C.), registro mais antigo de NPs. A coloração peculiar deste copo é resultado do uso de NPs de ouro e prata. Contudo, os primeiros relatos de síntese de NPs datam apenas de 1857, quando Michael Faraday demonstrou que a alteração do tamanho das partículas de ouro influenciava em sua coloração.²⁰ No entanto, pode-se afirmar que o mundo nanométrico passou a ser estudado de maneira científica somente após os questionamentos de Feynman. No ano de 1960, Richard Feynman discursou durante o *American Physical Society*, sobre o título “Há muito espaço lá embaixo”. Feynman referiu-se a redação de textos em pequenas dimensões e a possibilidade de manipulação em escalas admiravelmente pequenas. Historicamente, Feynman impulsionou a comunidade científica em direção a pesquisas em nanotecnologia.^{2,3,10,19,21}

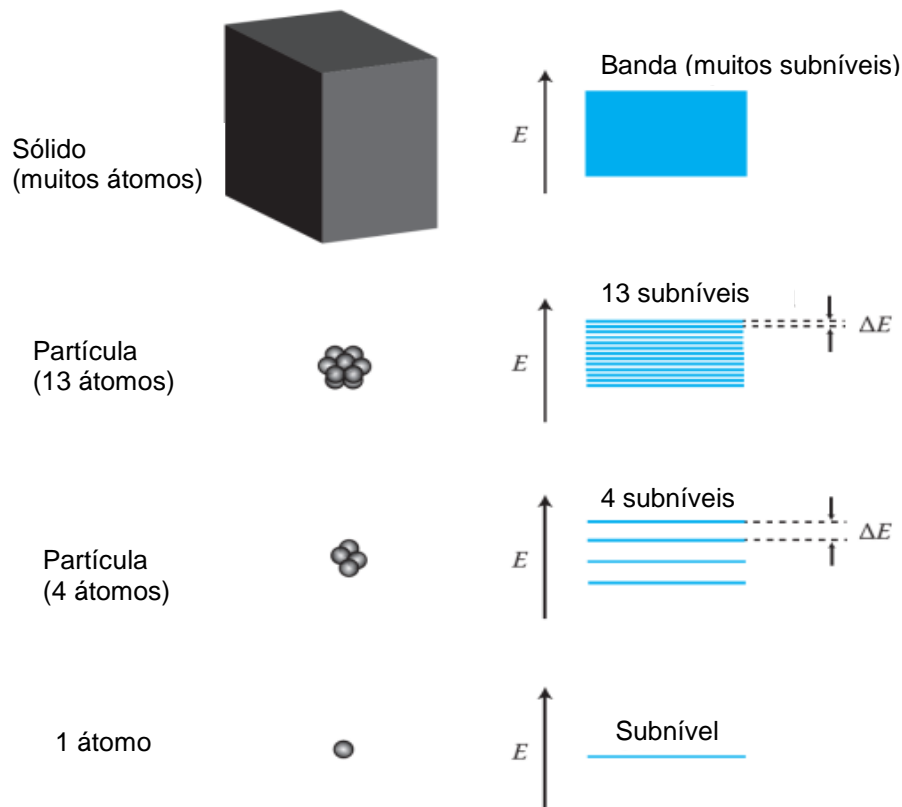
Por definição, um nanômetro corresponde a um bilionésimo do metro. As NPs, por sua vez, possuem comumente dimensões menores que cem nanômetros de diâmetro, além de propriedades diferenciadas. Para comparação, um nanômetro equivale a aproximadamente oito átomos de oxigênio enfileirados.^{10,22}

Os materiais nanométricos apresentam propriedades significativamente diferentes das encontradas, nos mesmos materiais, em escalas maiores (*bulk*). Essas alterações nas propriedades podem ser explicadas por modificações que ocorrem quando restringimos seu tamanho.^{7-15,21,23,24} Na redução do tamanho dos materiais para dimensões nanométricas ocorre uma restrição espacial e os átomos da superfície passam a ter menor número de vizinhos. Átomos com maior número de coordenação possuem um número de ligações que os torna mais estáveis. Por outro lado, átomos com menor número de coordenação possuem elevada energia e, conseqüentemente, menor estabilidade. Os átomos da superfície de NPs possuem

baixo número de coordenação, estando assim mais predispostos a formar ligações.^{2,9,10,23,24}

No átomo, os níveis de energia são discretos e bem definidos. Enquanto nos sólidos há muitos estados de energia que de tão próximos se misturam formando bandas. Tal característica é modificada quando reduzimos o tamanho das partículas. Em nanomateriais há uma redução drástica no número de átomos que compõem o material e, como consequência, no número de estados de energia.²¹ Isso implica em menor densidade de estados, que corresponde ao número de estados por volume em um intervalo de energia. A densidade de estados é responsável por inúmeras propriedades dos materiais que acabam sendo alteradas.^{21,25} Considerando que a densidade eletrônica é uma propriedade específica do material e a energia de Fermi (energia do nível mais energético ocupado) não varia com o tamanho. Isso implica que tanto NPs quanto *bulk* possuem o mesmo intervalo de energia, no entanto, diferem nos espaços entre os estados energéticos.²¹ Em outras palavras, o espaço médio entre os estados de energia, ΔE , é inversamente proporcional ao tamanho (Figura 1).

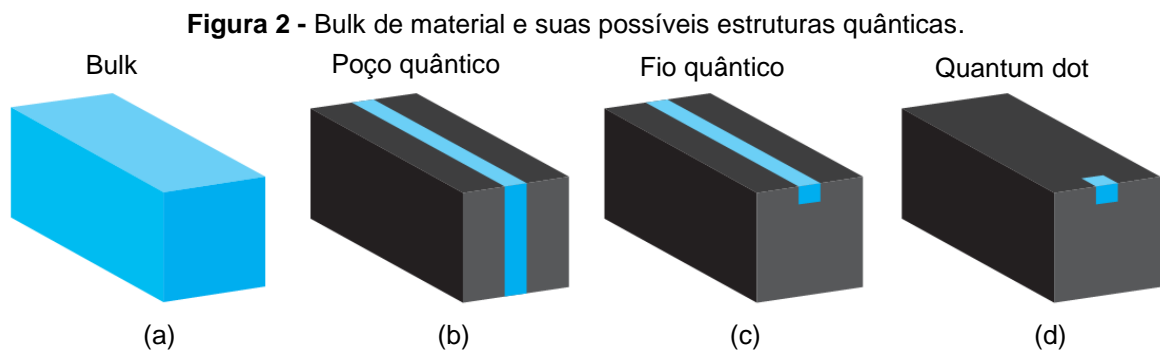
Figura 1 - Espaço médio entre os estados de energia (ΔE).



Fonte: Adaptado da referência.²¹

Conforme podemos observar na Figura 1, um único átomo possui apenas um estado de energia por subnível. Por outro lado, as partículas possuem divisões por subníveis na mesma quantidade dos átomos que as constituem. Em partículas pequenas podemos distinguir estas divisões dentro dos subníveis. Contudo, quanto maior o tamanho do sólido, os estados de energia possuem espaçamento tão próximo que se misturam, sendo melhor caracterizado por bandas.²¹ Essas mudanças na estrutura eletrônica influenciam fortemente diversas propriedades dos materiais.¹⁰ Além disso, a restrição espacial das NPs também acarreta efeitos de quantização que influenciam em suas propriedades.^{2,10}

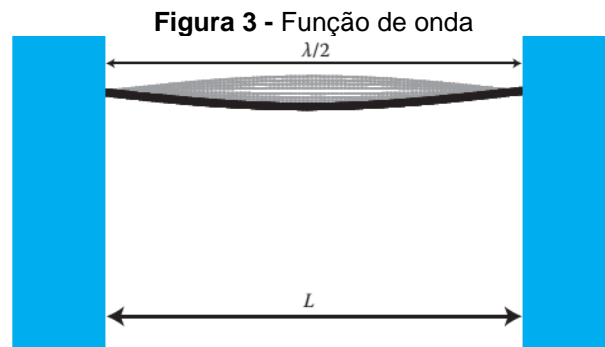
Dessa maneira, podemos afirmar que em nanomateriais acontece o confinamento de uma onda de matéria em uma região finita. Esse processo leva a quantização de movimento, ou seja, existência de estados discretos com valores discretos de energia.^{2,9,21,25-27} Para modificar o volume de um material temos as opções de manipular qualquer uma de suas três dimensões. Se restringirmos a uma região mínima a largura de um *bulk* (Figura 2a) cria-se um poço quântico (Figura 2b). Ao restringirmos também sua altura teremos um fio quântico (Figura 2c). E, se além dessas duas dimensões, diminuirmos seu comprimento a um tamanho mínimo, cria-se um ponto quântico - *quantum dot* – que pode ser parte de um coloide (Figura 2d).²¹



Fonte: Adaptado da referência.²¹

Nos poços e fios quânticos ocorre o confinamento parcial, pois os elétrons são livres para se mover em pelo menos uma dimensão. Enquanto, no *quantum dot* ocorre o confinamento total. Simplificadamente, considera-se que se o elétron está confinado, seja em um átomo ou *quantum dot*, ele não pode existir fora das barreiras do confinamento. Ou seja, a onda confinada possui amplitude zero nas extremidades. Para isso, os comprimentos de onda podem assumir apenas valores

específicos. Assumindo o confinamento de um único elétron, o material não pode ter dimensões menores que $\lambda/2$. Pois, o menor comprimento de onda λ permitido é igual a $2L$ (Figura 3). Onde L é a distância entre os lados opostos do poço. Portanto, para confinar um elétron de comprimento de onda λ , a dimensão característica do material deve ser aproximadamente igual a L .²¹

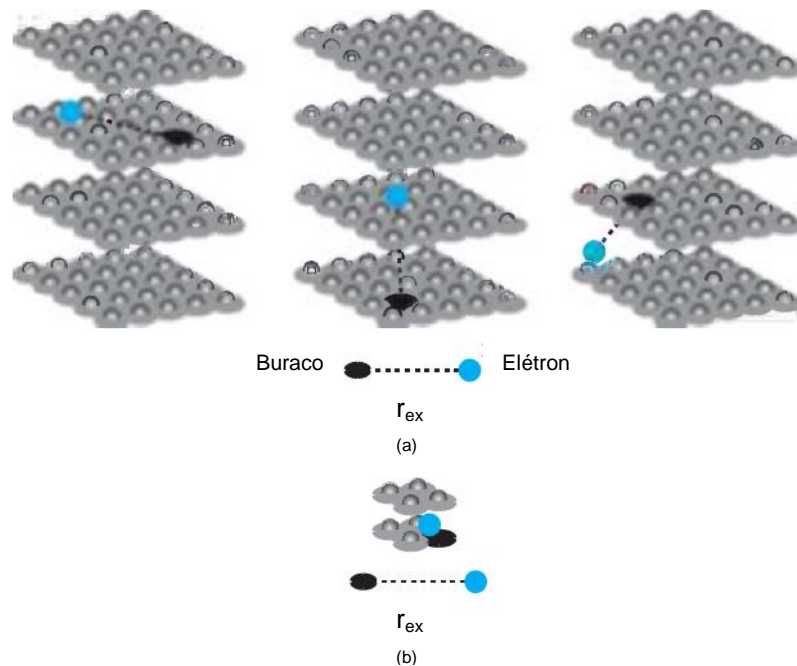


Fonte: Adaptado da referência.²¹

No entanto, essa dimensão a que nos referimos, quando calculada, assume valores na ordem de picômetros (10^{-12} m). Na prática, evidências mostram que o confinamento quântico pode ser obtido com materiais de dimensões significativamente maiores. Assim, MNPs com diâmetro entre 1 e 10 nm e semicondutores com dimensões até de algumas centenas de nanômetros possuem essas características de confinamento. Frequentemente, os confinamentos possuem alguns comprimentos de onda. Quantum dots, por exemplo, possuem milhares de átomos.²¹

Exemplos característicos do confinamento quântico são os pares elétron-buraco em nanoestruturas. Em material semiconductor, à temperaturas normais, uma pequena fração de elétrons possui energia suficiente para que sejam excitados da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC). O elétron que salta para a BC deixa um lugar vago na BV, chamado de “buraco”. Como os elétrons são carregados negativamente, o lugar vazio assume carga positiva. Passa a existir, portanto, uma atração entre o par elétron-buraco. Essa atração é denominada éxciton. Em regime de confinamento, o éxciton pode mover-se caso a dimensão da partícula seja um pouco maior que seu raio (r_{ex}) (Figura 4a). E, no caso do tamanho da partícula ser menor que o r_{ex} (Figura 4b) a distância entre o elétron e o buraco é menor, aumentando a força eletrostática.^{2,21}

Figura 4 - Representação do comportamento do éxciton em confinamento com dimensões (a) maiores que r_{ex} e (b) menores que r_{ex} .



Fonte: Adaptado da referência.²¹

Como consequência de todas as alterações que ocorrem com a restrição de tamanho dos materiais, surgem propriedades que são inerentes as NPs. Portanto, o foco de inúmeros pesquisadores tem sido desenvolver materiais nanométricos em que possam controlar essas propriedades. Principalmente NPs de metais nobres, que possuem propriedades ópticas e eletrônicas diferenciadas, diretamente dependentes do tamanho e forma obtidos. São elas que apresentam maior potencial para aplicação.^{2,10-15} Neste contexto, as AgNPs são atrativas devido as propriedades catalíticas, atividade antibacteriana, boa condutividade e estabilidade química.¹²

2.2 MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS

À medida que podemos controlar o tamanho e forma dos materiais, torna-se possível a síntese de NPs com propriedades específicas.^{9,21} Para isso, numerosas rotas de síntese podem ser utilizadas.^{5,28} Dentre as quais, se destacam os métodos “*Bottom-up*” e “*Top-down*” como duas definições que abrangem de maneira geral diferentes formas de obtenção de NPs.²⁹ Ambas as abordagens podem produzir estruturas pequenas o suficiente para que o comportamento quântico se manifeste.²¹

De maneira geral, o “*Top-down*” refere-se à rotas físicas de obtenção de NPs e o “*Bottom-up*” à rotas químicas. Nos métodos “*Top-down*” objetos maiores são manipulados para obter NPs.^{21,29} A utilização de atrito ou moagem são exemplos típicos de métodos físicos para reduzir o tamanho dos materiais à dimensões nanométricas. A imperfeição na superfície das NPs, ampla distribuição de tamanho e variação da forma ou geometria são algumas desvantagens da utilização de métodos “*Top-down*”. Além disso, há impurezas e defeitos resultantes da moagem.³⁰

Os métodos “*Bottom-up*” consistem na automontagem de NPs a partir do arranjo de pequenas unidades por interações químicas. Os nanomateriais são obtidos pelo arranjo das unidades uma a uma e o tamanho das NPs obtidas por estes métodos é consideravelmente pequeno.^{2,9,21,29} Assim, “*Bottom-up*” permite a obtenção de nanomateriais com o mínimo necessário de matéria-prima.^{21,29,31} Além disso, obtém-se apenas o material desejado com homogeneidade de forma, o que atribui valor para uso industrial.²⁹ Para isso, a principal questão é como controlar os processos em nível atômico.³¹

Um exemplo da utilização do método “*Bottom-up*” é o curral quântico construído pela *International Business Machines* (IBM) (Figura 5). O arranjo dos átomos foi realizado com um microscópio de tunelamento, o qual permite “arrastar” os átomos manipulando a posição da ponta. Foram utilizados átomos de ferro sobre uma superfície de cobre. Podemos observar quatro estágios da construção do curral quântico, a formação de ondulações no interior do curral, atribuídas a ondas de matéria dos elétrons confinados pelos átomos de ferro.^{21,25}

Figura 5 - Curral Quântico IBM



Fonte: Adaptado da referência.²¹

Nesta categoria de métodos “*Bottom-up*”, encaixam-se as sínteses químicas, que permitem o melhor controle da forma, dimensões e distribuição de tamanho.⁵ A temperatura de síntese, pH das soluções, concentração e ordem de adição dos reagentes podem ser citados como fatores que influenciam as características das NPs formadas.¹²

A rota química de síntese de NPs comumente utilizada é a redução dos íons metálicos em solução. Dentre os agentes redutores, os mais comuns são borohidreto de sódio (NaBH_4), citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) ou glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$).^{2,7,12,14,16,27,32}

Após redução química, as NPs em suspensão caracterizam-se como uma dispersão coloidal com partículas de dimensões entre 1 e 100 nm. Uma dispersão coloidal pode perder estabilidade devido a fatores externos e sofrer aglomeração formando partículas maiores (*cluster*).^{5,18} Portanto, a estabilização da síntese de NPs é etapa importante para distribuição homogênea e controle do tamanho.^{5,14,26,28}

2.3 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS EM POLISSACARÍDEOS

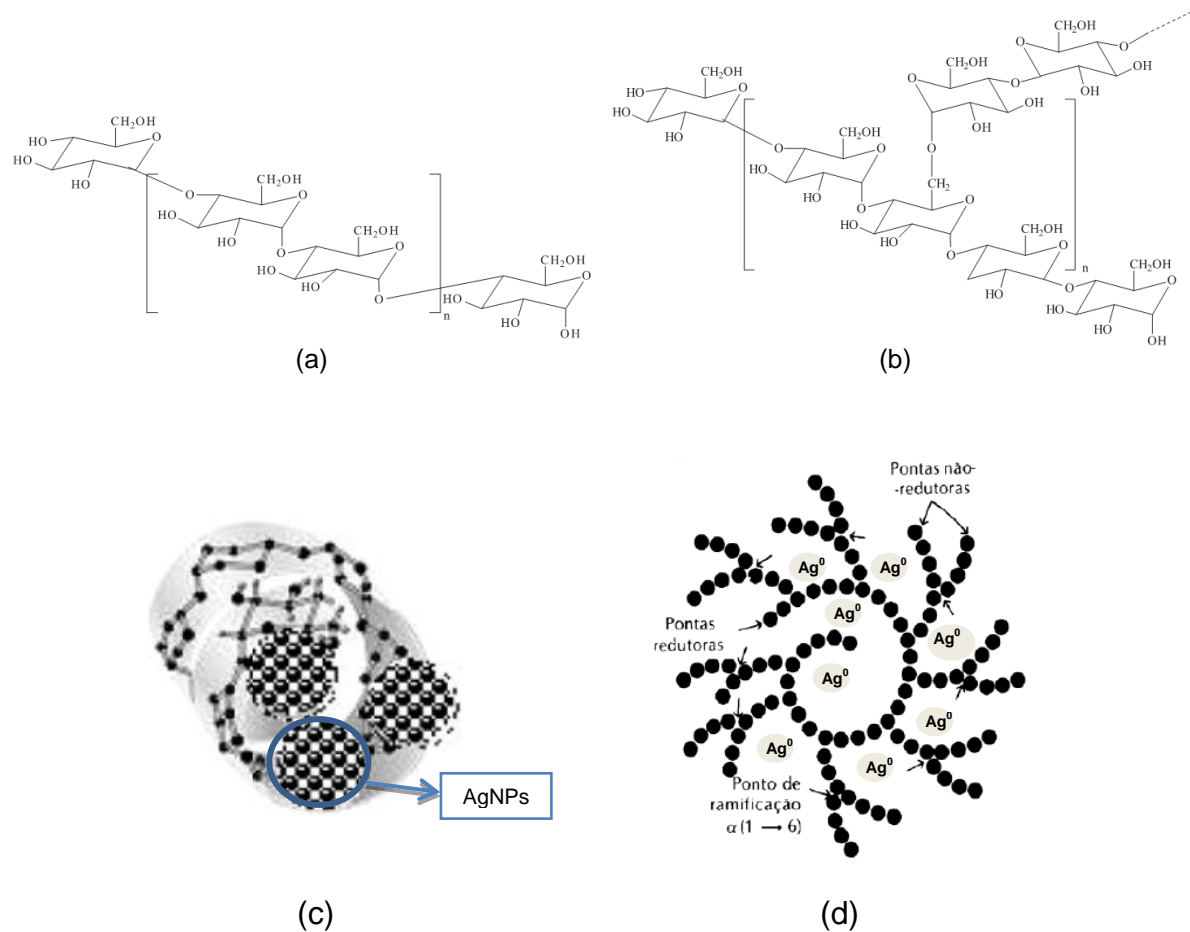
Para evitar a coalescência das NPs recém-formadas estabiliza-se a dispersão com surfactantes ou polímeros.^{2,14,26,28} O uso de polímeros naturais tem sido bastante difundido devido suas vantagens ambientais e econômicas. Ao utilizar reagentes “verdes”, além dos benefícios ambientais, torna-se possível a incorporação das NPs em sistemas biologicamente ativos.^{2,7,12,13,16,17,26,32,33}

O amido trata-se de um polissacarídeo de baixo custo, utilizado como estabilizante em sínteses “verdes” de NPs.^{2,7,12,13,16,17,26,32,33} O amido é constituído por dois polímeros de glicose: amilose (linear) e amilopectina (ramificada). A proporção de cada um desses polímeros depende da fonte botânica e influencia na viscosidade e gelificação da solução de amido. A amilose (Figura 6a) possui propriedades na formação de filmes e se mostra mais resistente que a amilopectina (Figura 6b). E a amilopectina possui a propriedade de formar redes ramificadas.^{34,35}

A conformação estrutural do amido em solução aquosa lhe confere característica para direcionamento morfológico das NPs, evitando a coalescência das mesmas (Figura 6c e Figura 6d). Assim, o amido vem sendo largamente utilizado para estabilização de AgNPs. Possivelmente os grupos hidroxila deste

facilitam a acomodação das NPs na estrutura helicoidal do polissacarídeo.^{2,16,27} Outra conveniência na utilização do amido é que seu aquecimento libera moléculas de glicose que podem agir como redutor na síntese de NPs. Além disso, o amido é um agente direcionador de morfologia, ou seja, um molde para o crescimento das NPs.^{2,16,19,36}

Figura 6 - Estrutura química da (a) amilose e (b) amilopectina. Possível conformação das AgNPs nas estruturas de (c) amilose e (d) amilopectina.



Fonte: Adaptado das referências.^{17,34,35}

Vigneshwaran *et al*¹⁷ utilizaram amido para redução e estabilização das AgNPs. A síntese foi realizada em autoclave a temperatura de 121°C por 5 minutos, o suficiente para liberar moléculas de glicose das cadeias do amido que agem como redutor. Obteve-se NPs com tamanho médio de 10-34 nm, que foram caracterizadas por espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-Vis), difração de raios X (XRD) e microscopia eletrônica de transmissão (TEM).¹⁷ Fan *et al*⁷ realizaram síntese AgNPs por redução química de AgNO₃ com NaBH₄, e estabilizadas em

amido. Obtiveram AgNPs com tamanho médio entre 10 a 15 nm. Para caracterização utilizou-se técnica de espectroscopia na região do UV-Vis, XRD, TEM e espectros de raios X a baixos ângulos (SAXS).⁷

Kakkar *et al*¹² sintetizaram AgNPs estabilizadas em amido, pelo método de redução química do AgNO₃. O agente redutor empregado foi o Citrato de sódio (Na₃C₆H₅O₇). As AgNPs obtidas apresentaram tamanho entre 30 nm e 110 nm. Com relação à síntese, os autores verificaram o efeito da concentração do citrato de sódio, pH das soluções e a ordem de adição dos reagentes para formação das AgNPs. Para caracterização realizaram análise de espectroscopia na região do UV-Vis, TEM, XRD e espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS). Além disso, testaram a atividade antimicrobiana das AgNPs.¹² Fanta *et al*³² estabilizaram as AgNPs em uma complexa mistura de amido de milho rico em amilose e palmitato de sódio. A rota de síntese utilizada foi a redução química de AgNO₃ por NaBH₄. Os diâmetros médios das AgNPs ficaram entre 12,90 nm e 51,82 nm. As técnicas para caracterizar as AgNPs foram espectroscopia na região do UV-Vis, XRD, TEM, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (ICPOES).³²

2.4 FILMES OBTIDOS PELA TÉCNICA LbL

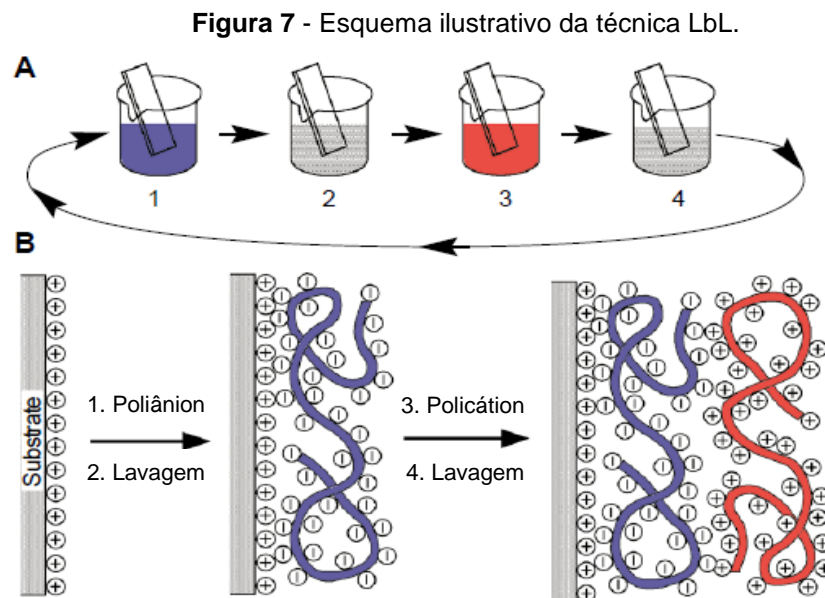
Os filmes finos possuem propriedades que possibilitam sua aplicação em diferentes dispositivos. Existem diversas técnicas para automontagem de filmes finos, tais como *casting*,^{36,37} *dip coating*,³⁸ *drop-coated*,^{39,40} *Langmuir-Blodgett*^{41,42,43} e *Layer-by-Layer* (LbL).^{41,44-49} Dentre estas, a técnica LbL destaca-se na obtenção de filmes finos organizados. Estes filmes são os mais utilizados para modificação de eletrodos, entre outras aplicações.^{44,45,50}

As principais vantagens dos filmes LbL são o baixo custo do processo, uso de pouco material, simplicidade do procedimento e vasta possibilidade de aplicação. Além disso, a técnica LbL aproveita a interação molecular espontânea para formação dos filmes com múltiplas camadas. Assim, o LbL permite o uso de uma variedade de compostos sem modificações especiais. Assim, associam-se diferentes funcionalidades em um mesmo filme, devido as especificidades dos materiais.⁴⁴⁻⁴⁸

O processo de formação do LbL possui influência do pH, força iônica, tipo de substrato e tempo de imersão. A técnica consiste na organização dos filmes por

atração eletrostática entre as cargas do substrato e polieletrólitos, mas podem existir também ligações covalentes, força de Van der Waals e ligações de hidrogênio.⁴¹

O procedimento para construção de filmes LbL consiste em imergir o substrato em polieletrólito por determinado tempo. Em seguida, o substrato é imerso em solução de lavagem para retirar as moléculas não adsorvidas. Após secagem, é imerso em polieletrólito de carga oposta pelo mesmo período de tempo, também seguido de lavagem e secagem (Figura 7). Esse processo pode ser repetido o número de vezes desejado formando assim quantidades diferentes de bicamadas.^{41,45,51}



Fonte: Adaptado da referência.⁵¹

Araújo *et al*⁴⁵ utilizaram goma de cajueiro para montagem de filmes LbL com potencial aplicação em nanobiomedicina. Foi realizada a deposição de polialilamina hidrocloreada (PAH) e ftalocianinas metálicas. O eletrodo modificado com o filme LbL apresentou linearidade de corrente para detecção de dopamina.⁴⁵

2.5 FILMES FINOS COM NANOPARTÍCULAS E POLÍMEROS

Devido ao tamanho extremamente pequeno das NPs, os estados de energia do material são reduzidos resultando em propriedades eletrônicas únicas.²¹ Além disso, NPS possuem maior reatividade, devido ao menor número de coordenação

nos átomos da superfície. E como consequência do material nanoparticulado possuir maior área superficial quando comparado com a mesma quantidade do material em *bulk*, NPs possuem maior atividade catalítica.^{21,23,24}

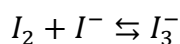
Sendo assim, a incorporação MNPs em filmes finos atribui propriedades elétricas diferenciadas e permite explorar o potencial de aplicação em sensores eletroquímicos. O aumento na condutividade elétrica possibilita transferência de elétrons conveniente, rápida resposta e baixos limites de detecção.^{2,16,36,42,44,48,49}

A adição de borohidreto de sódio (NaBH₄) em excesso na síntese de AgNPs utilizada neste trabalho, é essencial para conferir carga negativa a dispersão. Isso é possível pela adsorção de BH₄⁻ nas AgNPs.⁵² Assim, as AgNPs-Am sintetizadas apresentam caráter de poliânion e pode ser usada na montagem de filmes LbL.

Trabalhos encontrados na literatura demonstram a aplicabilidade de NPs em sensores químicos. Chai *et al*⁴⁴ construíram filmes LbL com AuNPs e azul de metileno em substrato de carbono vítreo. O eletrodo modificado foi aplicado como imunossensor amperométrico.⁴⁴ Han *et al*³⁶ utilizou NPs de paládio (Pd), sintetizadas por redução com hidrazina e imobilizadas em amido, para modificação de eletrodo. Um substrato de carbono vítreo foi modificado com a dispersão de PdNPs por *drop casting* e a enzima glicose oxidase (GOx) imobilizada em sua superfície. A aplicação deste eletrodo como biossensor de glicose apresentou boa estabilidade, sensibilidade e boa detecção em meio a possíveis interferentes.³⁶

2.6 IODO

O iodo é um elemento raro encontrado na forma de iodeto (I⁻) em água do mar ou iodato (IO₃⁻) em salitres no Chile. É um elemento pouco solúvel em água (0,0013 mol.L⁻¹). Comumente, dissolve-se iodo elementar em solução de KI devido a presença de iodeto, para maior solubilidade. Isso ocorre devido a reação entre o iodo (I₂) e o íon iodeto (I⁻) formando íon tri iodeto [I₃]⁻ (Equação 1).^{53,54}



(1)

O iodeto (I^-) é um elemento importante para o organismo, desempenhando papel indispensável na formação dos hormônios tireoidianos responsáveis por estimular o metabolismo celular, e também no desenvolvimento neurológico. Por este motivo, o iodeto de potássio (KI) é adicionado ao sal de cozinha buscando prevenir doenças causadas por deficiência de iodo. A ingestão excessiva de I^- também pode levar a doenças de tireóide.⁵³⁻⁵⁶

Algumas aplicações para iodo são o uso em fármacos (a solução aquosa de I_2 e KI age como antisséptico ou desinfetante em feridas), análises químicas (determinar o nível de insaturação em óleos, determinação de água em solventes, titulações de oxi-redução), sínteses orgânicas, corante alimentar (eritrosina ou tetraiodofluoresceína, utilizado em gelatinas e bebidas) e agrotóxicos.⁵³⁻⁵⁵

A importância da detecção de iodo deriva de suas múltiplas aplicações. Os métodos analíticos comumente utilizados para detecção de iodo são cromatografia iônica^{55,57,58}, ICPOES⁵⁸, análise por injeção em fluxo⁵⁸, espectrometria de absorção atômica indireta^{55,57} e quimioluminescência⁵⁸. Alguns desses métodos possuem limitações como o consumo de alto volume de analito, maior tempo de análise e necessidade de preparação da amostra.^{55,57,58} O desenvolvimento de sensores eletroquímicos têm sido estudados como um método promissor para detecção de iodo.⁵⁷ As principais vantagens nesta substituição são baixo custo, simplicidade de análise, rapidez na resposta com alta sensibilidade e seletividade.^{57,58} Nessa mesma linha, o uso de sensores colorimétricos mostra-se um método simples para detecção de iodo, quantitativa ou qualitativamente.⁵⁵ As MNPs são propícios para esta aplicação, por apresentarem forte banda *plasmon* no espectro de UV-Vis.⁷

3 DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA

As propriedades apresentadas por MNPs conferem ampla aplicação para estes materiais e impulsiona a pesquisa na área. O tamanho das NPs formadas é controlado por agentes estabilizantes. Recentemente, tem-se especial interesse no uso de reagentes ambientalmente amigáveis, o que direciona ao uso de polímeros vegetais como estabilizante, dentre os quais o amido apresenta-se como boa alternativa.

As propriedades eletrocatalíticas das NPs de metais nobres (Au, Ag, Pt) possibilitam melhoras significativas quando incorporadas na modificação de superfícies de eletrodos para a construção de sensores eletroquímicos. A modificação da superfície destes eletrodos com filmes finos de MNPs aumenta a atividade catalítica dos mesmos, melhorando a transferência de elétrons, a velocidade de resposta e reduzindo o limite de detecção. O método LbL para construção de filmes finos, largamente utilizado por sua simplicidade e baixo custo, se baseia na interação eletrostática entre diferentes compostos para modificação de superfícies. O uso de sensores químicos para determinações analíticas são notáveis devido a simplicidade, rapidez e precisão.⁵⁹

Com base nessas afirmações, o intuito deste trabalho será sintetizar AgNPs utilizando amido como agente estabilizante. As nanopartículas de prata imobilizadas em amido (AgNPs-Am) obtidas serão incorporadas a filmes finos através da técnica LbL, para modificação da superfície de eletrodos. Estes eletrodos serão aplicados como sensores eletroquímicos para determinação de iodo. Além disso, será avaliado também o potencial de aplicação das AgNPs-Am, obtidas neste trabalho, como sensor colorimétrico de iodo.

4 TÉCNICAS E FUNDAMENTOS

As técnicas utilizadas neste trabalho foram espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia na região do Ultravioleta visível (UV-Vis), espectroscopia Raman, microscopia de força atômica (AFM), microscopia eletrônica de transmissão (TEM), difração de raios X (XRD), técnicas voltamétricas, espalhamento dinâmico da luz (DLS) e potencial Zeta. Dentre as quais, enfatiza-se a descrição detalhada da técnica DLS e potencial Zeta por serem técnicas mais específicas e importantes na caracterização das NPs.

4.1 ESPALHAMENTO DINÂMICO DA LUZ (DLS)

A técnica DLS é utilizada para determinação do tamanho de partículas em soluções coloidais com base na velocidade das partículas. Para isso, mede-se o movimento Browniano das partículas, que ocorre devido a colisões aleatórias com as moléculas que as rodeiam. Uma característica importante a observar é que partículas maiores movimentam-se mais lentamente. Assim, os resultados são baseados no diâmetro da esfera que difunde com a mesma velocidade que nas partículas medidas.⁶⁰

Para análise por DLS é incidido um laser na amostra e o instrumento estabelece o tamanho das NPs e sua distribuição pela intensidade da luz espalhada. Para realizar o cálculo relacionando velocidade da partícula com o tamanho é utilizada a relação de Stokes-Einstein (Equação 2).^{60,61}

$$D_H = \frac{kT}{6\pi\eta D} \quad (2)$$

Onde:

DH: diâmetro hidrodinâmico

K: constante de Boltzmann

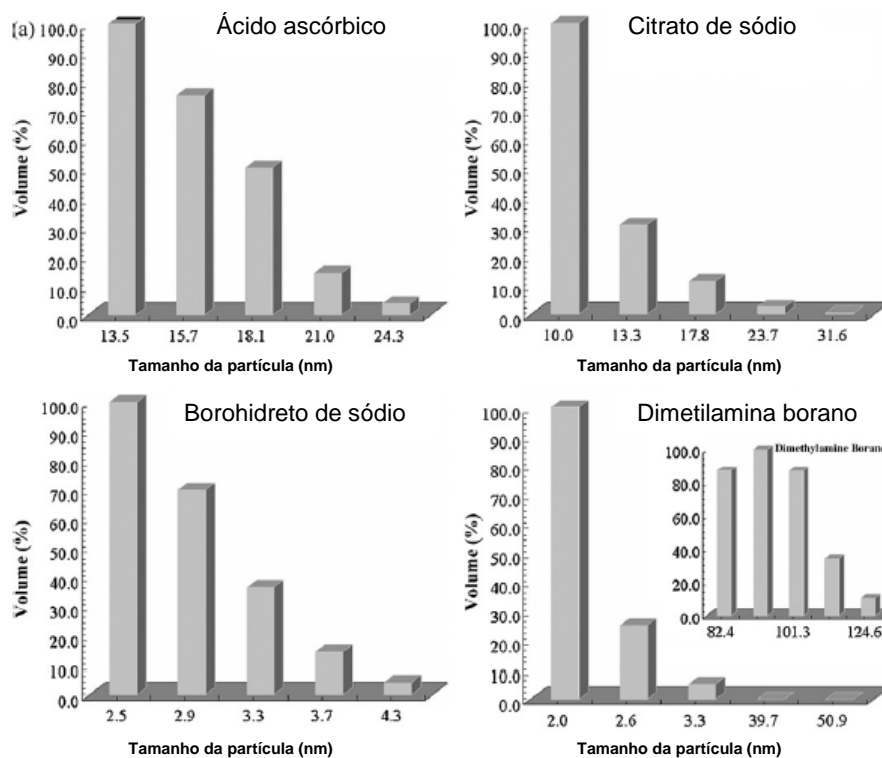
T: temperatura absoluta

η: viscosidade

D: coeficiente de difusão translacional

Medina-Ramirez *et al*⁶⁵ determinou o tamanho de AgNPs estabilizadas em goma-arábica e sintetizadas com redutores “verdes” (ácido ascórbico, citrato de sódio, borohidreto de sódio e dimetilamina borane-DMAB). Conforme resultados da Figura 8 o tamanho das AgNPs ficou entre 10 e 50 nm.⁶⁵

Figura 8 - Distribuição de tamanho de AgNPs em sínteses com diferentes agentes redutores.

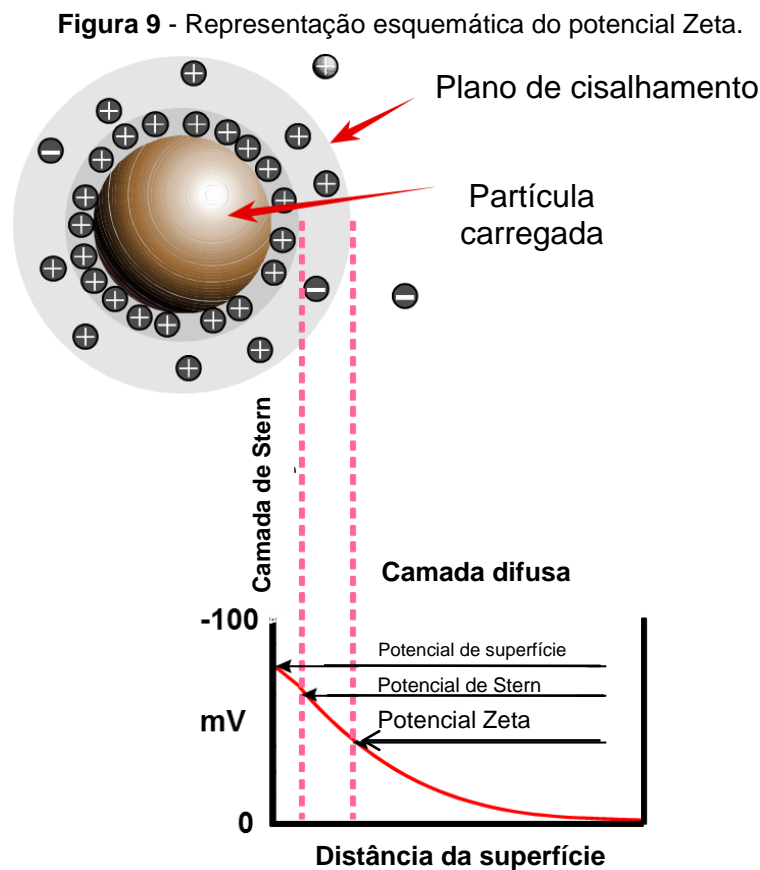


Fonte: Adaptado da referência.⁶⁵

4.2 POTENCIAL ZETA

O resultado de potencial zeta indica a estabilidade da dispersão coloidal, pela tendência que as partículas tem de agregar (flocular).⁶⁰ A magnitude do potencial zeta determina se a dispersão é estável. Um alto potencial Zeta (negativo ou positivo) significa que as partículas tendem a se repelir. Considera-se que valores de potencial Zeta entre -30 mV e 30 mV indicam instabilidade do sistema, e os demais valores sugerem um sistema estável. O uso da medida de potencial Zeta diminui o tempo de análise para estudo da estabilidade, resultando em resposta mais rápida e menores custos.⁶⁰⁻⁶³

A relação instituída entre potencial Zeta e estabilidade da partícula está relacionada com a teoria dos cientistas Derjaguin, Verwey, Landau e Overbeek (DVLO), de 1940. Essa teoria sugere que a estabilidade de uma partícula em dispersão depende de sua função total de energia potencial. Assim, a estabilidade de um sistema coloidal é determinada pela soma das forças atrativas de Van der Waals e repulsivas da dupla camada elétrica que existe entre as partículas que se aproximam devido ao movimento Browniano existente. Se as partículas colidem com energia suficiente para superar a barreira de repulsão, ocorre a agregação formando partículas maiores. No entanto, quando as partículas possuem alta repulsão a dispersão resiste à floculação (Figura 9).⁶²



Fonte: Adaptado da referência.⁶²

Os líquidos, frequentemente, possuem íons em solução que podem estar carregados positivamente ou negativamente. Existe uma dupla camada elétrica entre as partículas e os íons presentes no líquido. Além disso, existe uma região onde os íons estão mais fortemente ligados na partícula e uma região difusa, mais

afastada e com menor atração eletrostática. Existe um limite até o qual há uma força de atração entre os íons e a partícula (superfície de cisalhamento hidrodinâmico). O potencial existente neste limite é o potencial Zeta.^{60,62}

A medida do potencial zeta é realizada utilizando uma combinação entre eletroforese e laser doppler. Mede-se o movimento das partículas em um líquido ao qual está sendo aplicado um campo elétrico. Enfim, conhecendo a velocidade da partícula, o campo elétrico aplicado, a viscosidade e a constante dielétrica da amostra é calculado o potencial Zeta pela equação de Henry (Equação 3).⁶⁰

$$U_E = \frac{2\varepsilon z f(ka)}{3\eta} \quad (3)$$

Onde:

Z: potencial zeta

U_E : mobilidade eletroforética

ε : constante dielétrica

η : viscosidade

$f(ka)$: Função de Henry (geralmente aproximada para 1,5 ou 1,0)

Na célula de medida de potencial zeta há dois eletrodos, ao ser aplicado um potencial as partículas movem-se em direção ao eletrodo de carga oposta. A velocidade com que estas partículas se movimentam é quantificada utilizando o princípio do laser Doppler. Esta será a mobilidade eletroforética utilizada para o cálculo do potencial zeta.⁶⁰

Moura, Mattosso e Zucolotto⁶³ aplicaram medidas de potencial Zeta para determinar a estabilidade e carga de AgNPs sintetizadas por redução química com NaBH_4 e com diferentes velocidades de agitação. Os resultados (dispostos na Tabela 1) demonstraram um potencial Zeta negativo o que indica a carga negativa das partículas. A síntese realizada com menor velocidade de agitação (500 rpm) apresentou valor de potencial Zeta de -17 mV, o que indica instabilidade. Por outro lado, obteve-se potencial zeta de -38 mV para síntese com velocidade de 1000 rpm

indicando estabilidade, sendo essa a melhor velocidade para produzir NPs estáveis.⁶³

Tabela 1 - Potencial Zeta de AgNPs sintetizadas com diferentes velocidades de agitação.

Nanopartículas	Tamanho das Partículas (nm)	Potencial Zeta (mV)
Agitação (500 rpm)	100	-17
Agitação (1000 rpm)	41	-38

Fonte: Adaptado da referência⁶³

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVOS GERAIS

Este trabalho tem como objetivo a síntese de nanopartículas de prata estabilizadas em amido (AgNPs-Am) e sua aplicação como poliânion na construção de filmes finos pela técnica *Layer-by-Layer* (LbL) para modificação de eletrodos. O polication cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano (SiPy⁺Cl⁻) foi utilizado juntamente com AgNPs-Am na construção do filme LbL. O eletrodo modificado pela construção do filme LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) foi aplicado na detecção de iodo.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar os parâmetros para síntese de nanopartículas de prata imobilizadas em amido (AgNPs-Am), tais como: temperatura da síntese e concentração dos reagentes.
- Caracterização das AgNPs-Am por espectroscopia UV-Vis, FTIR, difração de raios X, espalhamento dinâmico da luz, potencial Zeta e microscopia eletrônica de transmissão.
- Construção de filmes finos por meio da técnica LbL utilizando SiPy⁺Cl⁻ como polication e AgNPs-Am como poliânion.
- Estudo da cinética de deposição dos filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am).
- Otimizar os parâmetros para construção dos filmes finos, tais como: pH e concentração do SiPy⁺Cl⁻ e pH das AgNPs-Am.
- Caracterização do filme LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) por espectroscopia na região do UV-Vis, FTIR, espectroscopia Raman e microscopia de força atômica.
- Caracterização por voltametria dos filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am).
- Estudo eletroquímico dos filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) na detecção de iodo.
- Uso das AgNPs-Am como sensor colorimétrico para detecção de iodo.

6 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

6.1 REAGENTES

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de grau analítico. O borohidreto de sódio (NaBH_4), o nitrato de prata (AgNO_3) e o iodeto de potássio (KI) foram obtidos comercialmente da VETEC. O amido de batata solúvel foi obtido comercialmente da Sigma-Aldrich® e o iodo metálico (I_2) do Labsynth. O polícatión cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano (SiPy^+Cl^-) foi sintetizado conforme procedimento previamente descrito na literatura⁶⁴ (Patente BR9803053-A).

6.2 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

A rota para síntese de AgNPs foi a redução química do sal nitrato de prata (AgNO_3) e estabilização em amido.^{2,7,12,16,17} O borohidreto de sódio (NaBH_4) foi empregado como agente redutor.^{7,32,52,65}

O amido foi solubilizado a uma temperatura de 70°C, sob agitação durante 30 minutos. Após resfriado, adicionou-se ao amido o sal de prata e a solução foi mantida sob agitação magnética por aproximadamente 10 minutos. Em seguida, adicionou-se o redutor a velocidade de 1 mL por minuto. Após adição de todos os reagentes a agitação magnética foi mantida por 30 minutos.

Os parâmetros de síntese otimizados foram temperatura e concentração de amido, NaBH_4 e AgNO_3 . Para isso, diferentes sínteses de AgNPs-Am foram realizadas conforme as concentrações apresentadas na Tabela 2. Para determinar a melhor temperatura de síntese, foram comparadas as amostras A e B, realizadas em temperatura de síntese de 25°C e 5°C, respectivamente, com as mesmas concentrações dos reagentes. As concentrações fixas utilizadas foram de $1,1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 , $2,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 e 0,2% (m/v) de amido.

Na otimização da concentração do amido foram utilizadas as amostras C, D e E, com 0,1 %, 0,6 % e 1,3 % (m/v) de amido, respectivamente. As concentrações de AgNO_3 e NaBH_4 foram fixadas em $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ e $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 2 - Concentrações utilizadas para otimização dos parâmetros da síntese

Amostra AgNPs-Am	AgNO ₃ (mol.L ⁻¹)	NaBH ₄ (mol.L ⁻¹)	Amido (m/v)	Temperatura (°C)
A	1,1.10 ⁻³	2,2.10 ⁻³	0,2	25
B	1,1.10 ⁻³	2,2.10 ⁻³	0,2	5
C	0,9.10 ⁻³	3,6.10 ⁻³	0,1	5
D	0,9.10 ⁻³	3,6.10 ⁻³	0,6	5
E	0,9.10 ⁻³	3,6.10 ⁻³	1,3	5
F	0,9.10 ⁻³	3,0.10 ⁻³	0,6	5
G	0,9.10 ⁻³	4,1.10 ⁻³	0,6	5
H	0,2.10 ⁻³	3,6.10 ⁻³	0,6	5
I	0,4.10 ⁻³	3,6.10 ⁻³	0,6	5

Definida a melhor concentração de amido, sínteses com concentrações fixas de amido (0,6 % m/v) e AgNO₃ (0,9.10⁻³ mol.L⁻¹) foram realizadas para determinar a concentração ótima de NaBH₄. As amostras D, F e G foram comparadas para esta otimização com concentrações de NaBH₄ de 3,0.10⁻³ mol.L⁻¹, 3,6.10⁻³ mol.L⁻¹ e 4,1.10⁻³ mol.L⁻¹, respectivamente.

Por fim, a concentração de sal de prata utilizado na redução foi estudada. Para isso, foram sintetizadas amostras de AgNPs-Am com concentrações fixas de 0,6 % (m/v) de amido e 3,6.10⁻³ mol.L⁻¹ de NaBH₄. As concentrações de AgNO₃ utilizadas foram de 0,9.10⁻³ mol.L⁻¹, 0,2.10⁻³ mol.L⁻¹ e 0,4.10⁻³ mol.L⁻¹, respectivamente equivalente as amostras D, H e I da Tabela 2.

O controle da formação de AgNPs foi realizado pelo acompanhamento da banda de absorção no UV-Vis (*Varian Cary*, 200 a 800 nm). As AgNPs possuem banda característica da superfície *plasmon* próximo a 420 nm.^{17,27,65} O tamanho das NPs foi determinado por DLS, tendo como objetivo obter menores diâmetros e estreita faixa de distribuição de tamanho.

Após determinação dos parâmetros de síntese, a rota utilizada para as demais etapas deste trabalho está descrita a seguir. O amido foi solubilizado em água destilada com agitação magnética e aquecimento (70°C) por 30 minutos. Em sequência, adicionou-se 0,9.10⁻³ mol.L⁻¹ de AgNO₃ em solução 0,6 % (m/v) de amido. Esta solução foi mantida sob agitação magnética em banho de gelo (5°C). Após 10 minutos, adicionou-se 3,6.10⁻³ mol.L⁻¹ de NaBH₄ a uma velocidade aproximada de 1 mL.min⁻¹. Lentamente a dispersão exibe uma coloração amarelo-

claro a qual se intensifica conforme o redutor é adicionado, devido ao aumento da concentração de AgNPs. Após adição de todo o volume de redutor mantém-se a agitação por 30 minutos. As concentrações finais dos reagentes na síntese foram 0,6 % (m/v) de amido, $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 e concentração de $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 .

A dispersão coloidal de AgNPs foi armazenada em frasco escuro à temperatura ambiente. Essa síntese foi utilizada para construção dos filmes finos pela técnica LbL. Para verificar a estabilidade das AgNPs-Am obtidas realizou-se medida de potencial Zeta e periodicamente medidas de DLS (Zetasizer Nano Series ZS90).

6.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA

6.3.1 Espectroscopia na região do UV-Vis

A espectroscopia na região do UV-Vis foi realizada em espectrofotômetro *Varian Cary 50 Bio*, monitorando-se a absorbância na região de 200 a 800 nm. Utilizou-se uma dispersão diluída de AgNPs-Am em água destilada (1:20) em cubeta de quartzo.

6.3.2 Espalhamento dinâmico da luz (DLS)

As análises por DLS, para verificar o tamanho das AgNPs-Am, foram realizadas em equipamento Zetasizer Nano Series ZS90 da Malvern. Para análise utilizou-se uma diluição de AgNPs-Am em água na proporção 1:100.

6.3.3 Potencial Zeta

A medida de potencial Zeta foi realizada em célula capilar com diluição de AgNPs-Am em água na proporção 1:100. O equipamento utilizado na análise foi Zetasizer Nano Series ZS90 da Malvern.

6.3.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Medidas de FTIR foram realizadas em raspagem de filme *drop-coated* de AgNPs-Am. Os filmes *drop-coated* foram obtidos pelo gotejamento da dispersão de AgNPs-Am sobre vidro e secagem com auxílio de soprador térmico.

Os resultados foram obtidos em espectrofotômetro *Shimadzu IR Prestige 21*, na região entre 400 a 4000 cm^{-1} , sendo acumuladas 64 varreduras. Realizou-se a análise das AgNPs-Am, amido, AgNO_3 e NaBH_4 em pastilhas de brometo de potássio (KBr) no modo transmitância.

6.3.5 Difração de raios X (XRD)

Para análise de XRD a dispersão de AgNPs-Am foi liofilizada (liofilizador Terroni LD 1500) e calcinada a 500°C por 1 hora. Os dados de XRD foram obtidos em equipamento X-Ray Diffractometer Rigaku Ultima IV com Radiação Cu-K α ($\lambda=1,54 \text{ \AA}$) na faixa de 10° a 120° a uma velocidade de varredura 2°/min em 2 θ .

6.3.6 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

Para verificar o tamanho e a distribuição das AgNPs no amido foi realizado análise de TEM. As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM 1200EX II operando numa tensão de 120 kV. A amostra de AgNPs-Am foi depositada em tela de cobre.

6.4 CONSTRUÇÃO DE FILMES LbL COM SiPy^+Cl^- E AgNPs-Am

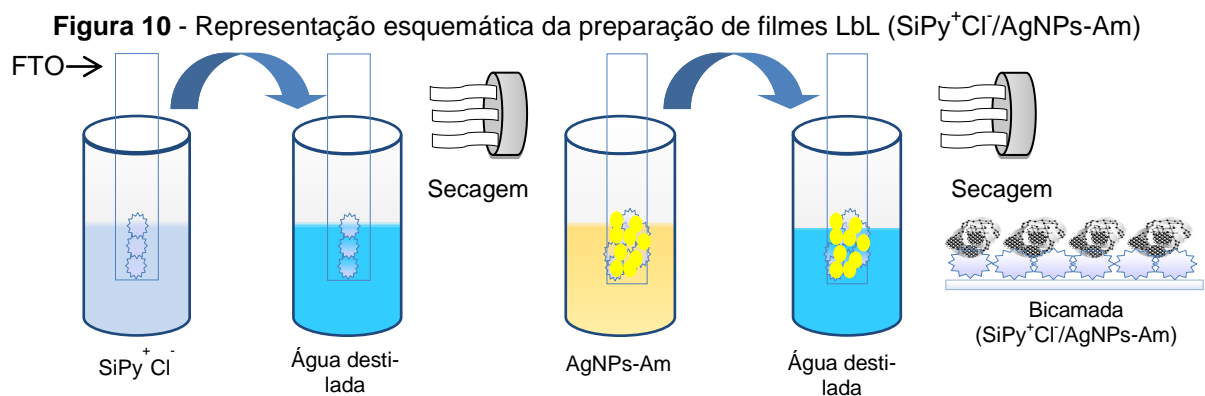
6.4.1 Limpeza do substrato

Os substratos FTO, quartzo e silício foram previamente limpos por imersão em solução contendo hidróxido de amônio (NH_4OH), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e água destilada, na proporção 1:1:5. O procedimento de limpeza é realizado sob aquecimento até ebulição, por alguns minutos, para eliminar impurezas que possam contaminar os filmes. Em seguida, os substratos foram imersos em álcool

isopropílico sob aquecimento por alguns minutos, e retirados para secar a temperatura ambiente.

6.4.2 Preparação dos filmes *Layer-by-Layer (LbL)*

Na preparação dos filmes LbL foi utilizado o SiPy^+Cl^- (2 mg/mL e pH 6,5) como policação e a dispersão de AgNPs-Am (pH 9,0) como poliânion. Para deposição dos filmes, o substrato FTO foi imerso primeiramente na solução de SiPy^+Cl^- por um determinado tempo. Em sequência, imerso em solução de lavagem (água destilada) por 10 segundos, para retirar as moléculas que não foram adsorvidas. Após esse processo, foi realizada secagem com ar quente, formando uma camada. Então, o substrato é imerso na dispersão de AgNPs-Am pelo mesmo período de tempo utilizado para o SiPy^+Cl^- . Decorrido o tempo de imersão, o substrato foi também imerso em solução de lavagem (água destilada) por 10 segundos. Novamente realiza-se a secagem com ar quente, formando-se assim uma bicamada. Esse procedimento é repetido conforme o número de bicamadas que se deseja obter e está demonstrado na Figura 10. O tempo de imersão nos polieletrólitos foi definido por estudo da cinética de deposição, descrito no item 6.4.3.



6.4.3 Estudo da cinética de deposição

O estudo da cinética de deposição foi realizado para determinar o melhor tempo de imersão do substrato nas soluções de polieletrólitos. Foram construídos filmes LbL com 5 bicamadas, configuração $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_5$, em substrato de quartzo. A escolha de 5 bicamadas para realizar as análises foi definida com base

na absorção no UV-Vis na faixa de comprimento de onda característica das AgNPs. Foram construídos diferentes filmes com variação de 30 segundos nos intervalos de tempo de imersão. A faixa de tempo estudada foi de 30 a 360 segundos. Acompanhou-se a deposição dos filmes LbL pela absorção em comprimento de onda próximo a 420 nm apresentada nos espectros de UV-Vis, relacionando o tempo de imersão com a absorção nesse comprimento de onda.

6.4.4 Otimização do pH dos polieletrólitos na construção dos filmes LbL

Foi realizado um estudo para determinar a influência do pH dos polieletrólitos (SiPy^+Cl^- e AgNPs-Am) na estabilidade dos filmes LbL $\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am}$. O polycation SiPy^+Cl^- (2 mg/mL) apresenta normalmente pH 6,5 e a dispersão de AgNPs-Am pH 9,0. A água destilada utilizada para lavagem dos filmes, sem ajuste, possui pH 5,5. Foram construídos filmes LbL $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_5$ em FTO com o pH normalmente apresentado pelas soluções e ajuste do pH conforme Tabela 3. O pH foi ajustado com soluções de NaOH $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ e H_2SO_4 $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$. O tempo de imersão nos polieletrólitos, previamente estabelecido, foi de 4 minutos e na solução de lavagem 10 segundos. Os resultados foram acompanhados por espectroscopia na região do UV-Vis e voltametria cíclica (CV).

Tabela 3 - pH das soluções utilizadas na construção dos filmes LbL

	SiPy^+Cl^-	AgNPs-Am	Água destilada (lavagem)
pH	6,5*	9,0*	5,5*
	5,0	5,0	5,0
	7,0	7,0	7,0
	9,0	9,0	9,0

*Soluções sem ajuste do pH

6.4.5 Otimização da concentração de SiPy^+Cl^- na construção dos filmes LbL

Estudo foi realizado para determinar a influência da concentração do SiPy^+Cl^- na deposição dos filmes LbL. Utilizou-se filmes LbL com configuração $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_5$. Os polieletrólitos foram utilizados sem ajuste do pH. O SiPy^+Cl^- e as AgNPs-Am foram utilizados com pH 6,5 e pH 9,0, respectivamente e a água

destilada para limpeza com pH 5,5. O tempo de imersão nos polieletrólitos, previamente estabelecido, foi de 4 minutos e para solução de lavagem 10 segundos. As concentrações de SiPy^+Cl^- foram de 1, 2, 3, 4 e 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Analisou-se estes filmes LbL por espectroscopia UV-Vis e CV.

6.4.6 Voltametria cíclica para otimização dos parâmetros do filme LbL

As medidas de CV foram realizadas em célula eletroquímica convencional com eletrodo de referência (ER) Ag/AgCl, contra eletrodo (CE) de platina e o eletrodo modificado com o filme LbL ($\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am}$)₅ como eletrodo de trabalho (área 0,5 cm^2). Para as medidas foi utilizado equipamento Palm Sens, conectado a um microcomputador e controlado pelo *software* PSTrace.

Para otimização do pH dos polieletrólitos utilizou-se CV com velocidade de varredura de 50 mV, eletrólito suporte nitrato de sódio (NaNO_3) 0,1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e intervalo de potencial de 0 a 0,8 V.

E para o estudo da melhor concentração do SiPy^+Cl^- foi realizada CV com os mesmos parâmetros anteriores, modificando apenas o eletrólito suporte para tampão fosfato-salino (PBS) 0,1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e pH 7,0.

6.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES LbL

6.5.1 Espectroscopia na região do UV-Vis

Para acompanhamento do crescimento dos filmes LbL, em quartzo e FTO, utilizou-se os espectros de absorbância na região do UV-Vis. As análises foram realizadas em espectrofotômetro *Varian Cary 50 Bio*, monitorando-se a absorbância na região de 200 a 800 nm.

6.5.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho (FTIR)

Medidas de FTIR foram utilizadas para caracterização de filmes LbL configuração ($\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am}$) e filmes *drop-coated* de SiPy^+Cl^- (2 mg/mL), amido e AgNPs-Am. Os filmes *drop-coated* foram obtidos gotejando-se a solução em

substrato de silício, seguido por secagem com auxílio de soprador térmico. Os resultados foram obtidos em espectrofotômetro PerkinElmer® Frontier FT-IR, equipado com acessório universal para atenuar a reflectância total da amostra (*Universal Attenuated Total Reflectance (ATR) Sampling Accessory*). Realizou-se medidas na região entre 660 a 4500 cm^{-1} , com acúmulo de 128 varreduras.

6.5.3 Espectroscopia Raman

A espectroscopia de Raman foi realizada em filme *drop-coated* de SiPy^+Cl^- , AgNPs-Am e $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})$ em substrato de Ag. Os filmes *drop-coated* foram preparados conforme descrito para espectroscopia FTIR alterando-se apenas o substrato para Ag. Os espectros de Raman foram obtidos em espectrofotômetro Raman acoplado a um microscópio ótico da marca Bruker, modelo Senterra. Utilizou-se laser de 532 nm, objetiva de 20x, potência de 2,5 mW.

6.5.4 Microscopia de força atômica (AFM)

Utilizou-se microscópio Shimadzu SPM 9600 para avaliar a morfologia dos filmes LbL $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})$ de diferentes bicamadas. As medidas foram realizadas no modo não contato na superfície do FTO que contém o óxido de flúor. Para análise de rugosidade foram utilizados filmes LbL $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_n$ com n igual 2, 4, 6, 8 e 10 bicamadas. Com o objetivo de minimizar erros os filmes LbL $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_n$ foram depositados sobre o mesmo FTO e a análise de AFM foi realizada em três pontos fixos.

Para determinar a espessura dos filmes uma área do FTO foi isolada com parafilme antes de crescer filmes LbL $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_n$ com n igual 4, 5, 6, 8 e 10 bicamadas. A espessura foi medida pela diferença de altura da área que foi retirado o parafilme com a área em que foi depositado o filme LbL.

6.6 ELETRODO MODIFICADO COM LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) PARA DETECÇÃO DE IODO

Foram realizadas voltametria de pulso diferencial (VPD) em célula eletroquímica convencional com eletrodo de referência Ag/AgCl, contra eletrodo de platina e o eletrodo modificado com os filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) como eletrodo de trabalho (área de 0,5 cm²). O equipamento utilizado para medidas foi Palm Sens, conectado a um microcomputador e controlado pelo *software* PSTrace. Antes de realizar as medidas de voltametria o eletrólito suporte foi desoxigenado, purgando com N₂. A solução de iodo (I₂/KI) utilizada foi padronizada segundo procedimento descrito na literatura.⁶⁶

Para determinar o eletrólito suporte que apresenta melhor resposta voltamétrica foram testadas quatro soluções: tampão PBS, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄ e tampão Britton-Robinson, todos em pH 7,0. Foram realizados testes com outros valores de pH, porém não apresentaram resultados satisfatórios adotando-se assim o pH 7,0 que possui como vantagem a possibilidade de análise de diversas amostras sem a necessidade de alteração do pH. As medidas foram realizadas em VPD, na faixa de 0 a -1 V. Foi utilizado eletrodo modificado com LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅ e iodo na concentração de 1,0.10⁻³ mol.L⁻¹. Os parâmetros instrumentais utilizados foram *step* 0,005 V, velocidade de varredura 50 mV/s, E_{pulso} 0,05 V e t_{pulso} 0,05 s.

Em sequência, para verificar se a interação dos componentes no filme LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) é vantajosa em termos de melhor resposta eletroquímica realizou-se medidas de VPD. Foram utilizados eletrodos LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅, FTO sem modificação, filmes *drop-coated* de AgNPs-Am, SiPy⁺Cl⁻ e amido, separadamente. Utilizou-se eletrólito suporte PBS 0,1 mol.L⁻¹ pH 7,0 e iodo na concentração de 1,0.10⁻³ mol.L⁻¹. Os parâmetros instrumentais utilizados foram *step* 0,005 V, velocidade de varredura 50 mV/s, E_{pulso} 0,05 V e t_{pulso} 0,05 s.

O melhor número de bicamadas foi avaliado por VPD em tampão PBS 0,1 mol.L⁻¹ e iodo na concentração de 1,0.10⁻³ mol.L⁻¹. Para obter a corrente do pico máximo foi subtraído o valor de corrente do branco em eletrólito suporte PBS que poderia interferir no resultado. Foram testados filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) de 1 a 10 bicamadas.

A resposta eletroquímica da VPD foi analisada com relação aos parâmetros instrumentais. Para isso, realizou-se planejamento fatorial multivariado 2^3 , com replicata no ponto central para cálculo da estimativa do desvio. Os parâmetros estudados são potencial de pulso (E_{pulso}), tempo de pulso (t_{pulso}) e velocidade de varredura (v). Os níveis utilizados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Variáveis e níveis estudados para otimização dos parâmetros instrumentais na VPD.

Variáveis	Níveis	(-)	(0)	(+)
E_{pulso} (mV)		50	60	70
t_{pulso} (s)		0,03	0,04	0,05
v (mV.s ⁻¹)		20	30	40

Para estas análises as medidas foram realizadas na faixa de 0 a -1 V, utilizando eletrodo modificado com LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅, iodo na concentração de $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ e potencial de *step* 0,005V. Foram realizados um total de doze ensaios, conforme matriz de planejamento da Tabela 5, realizados em ordem aleatória.

Tabela 5 - Ensaios experimentais para planejamento fatorial completo 2^3 .

Ensaio	E_{pulso}	v	t_{pulso}
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0

Para análise dos resultados foram observados os efeitos principais e de interação verificando a presença ou ausência de efeitos significativos.

Após otimização dos parâmetros instrumentais e de modificação do eletrodo, realizou-se a curva de calibração para determinar em qual faixa de concentração de iodo o eletrodo apresenta linearidade no aumento de corrente. Foi estudada uma faixa de concentração entre $1,0 \cdot 10^{-6}$ a $5,0 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹. Foram realizadas adições sucessivas de 500 µL de solução estoque de iodo em diferentes concentrações. Em seguida, ensaio de recuperação em eletrólito suporte PBS 0,1 mol.L⁻¹ (pH 7) foi realizado utilizando a equação da reta obtida para as curvas analíticas.

6.7 SENSOR COLORIMÉTRICO DE IODO

Foram utilizadas alíquotas da síntese de AgNPs-Am otimizada neste trabalho (diluição 1:20 em água destilada) adicionada de diferentes concentrações de iodo para verificar as alterações de cor causadas pela interação entre AgNPs-Am e iodo. As absorvâncias em comprimentos de onda de 410 e 600 nm foram acompanhadas por espectroscopia de UV-Vis. As análises foram realizadas em espectrofotômetro *Varian Cary 50 Bio*, monitorando-se a absorvância na região de 200 a 800 nm.

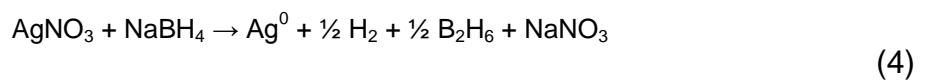
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

7.1.1 Parâmetros da síntese

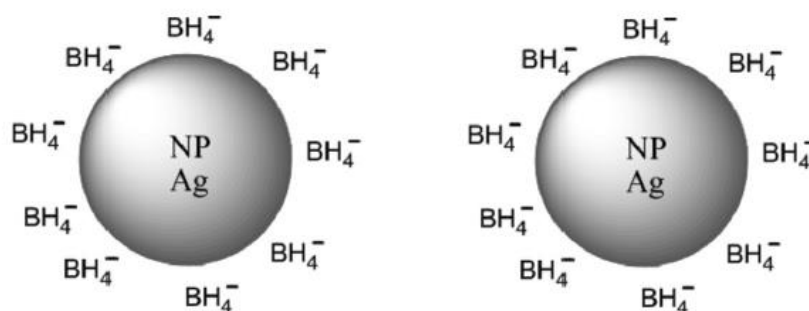
O método de síntese por redução química é amplamente utilizado.^{2,12,26,32,65} No entanto, para mostrar-se reprodutível é necessário controle rigoroso de variáveis como agitação, temperatura e velocidade da adição do redutor. Esses fatores influenciam a probabilidade de colisão das partículas dispersas, que pode causar a coalescência.^{12,52}

Neste trabalho, a síntese foi realizada com o sal AgNO_3 e o redutor NaBH_4 . A reação de redução está descrita na Equação 4.⁵²



O NaBH_4 é um forte agente redutor e sua adição em excesso auxilia na estabilização da dispersão, além de atribuir carga negativa as NPs. Isso ocorre devido aos íons borohidreto (BH_4^-) que adsorvem na superfície das AgNPs gerando repulsão eletrostática (Figura 11).^{7,52} Mesmo assim, as NPs ainda são instáveis após a redução e podem formar aglomerados. Para evitar esse processo é necessário o uso de estabilizante para manter as NPs afastadas e conservar suas propriedades. Portanto, na síntese deste trabalho, o amido foi utilizado como agente estabilizante.^{2,7,26,52}

Figura 11 - Adsorção de íons borohidreto na superfície das AgNPs.



Fonte: Adaptado da referência.⁵²

Com base em sínteses similares encontradas na literatura,^{2,7,12,16,26,32,65} realizou-se uma otimização para definir os parâmetros que resultam em menores diâmetros de AgNPs-Am. A espectroscopia na região do UV-Vis foi utilizada para identificar a formação de AgNPs, pelo acompanhamento da banda *plasmon* característica próximo a 420 nm^{17,27,65} e a análise de DLS foi empregada para determinar o diâmetro e a faixa de distribuição de tamanho das AgNPs-Am.

Para as sínteses a ordem de adição dos reagentes encontrada na literatura consiste em adicionar AgNO₃ ao amido, sob agitação, e por último o redutor.^{7,16,26} Esta sequência foi mantida durante os experimentos, pois sua inversão resulta em macropartículas de Ag, visivelmente observadas pela presença de precipitado preto na dispersão.

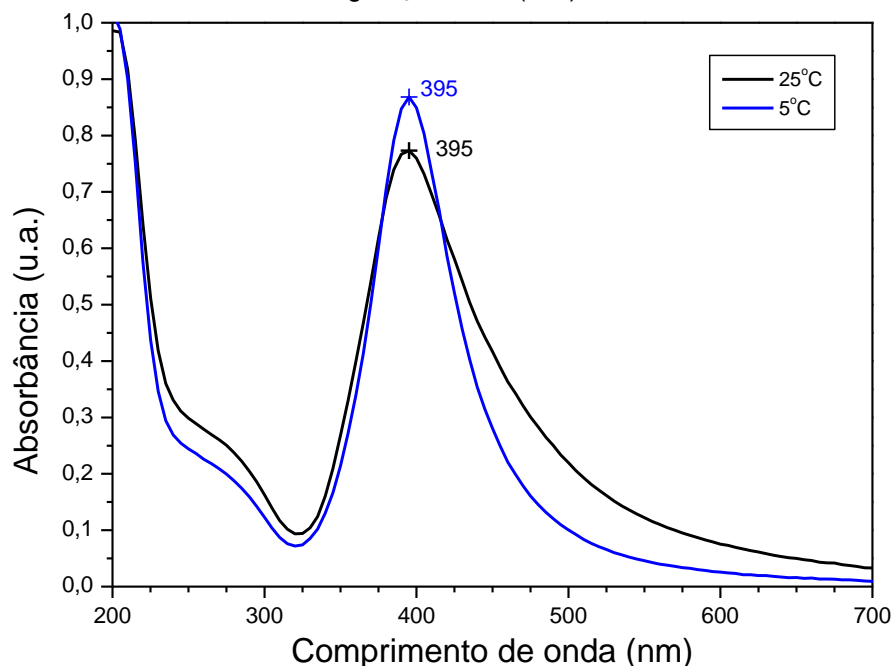
Outro procedimento realizado em todas as sínteses foi solubilizar o amido sob agitação magnética com aquecimento a 70°C por 30 minutos. O amido é insolúvel em água fria devido à presença de ligações de hidrogênio que mantêm as cadeias unidas, por isso é necessário sua solubilização em aquecimento.⁶⁷ A temperatura selecionada deve-se a gelificação do amido, o que pode ser evidenciado na mudança da aparência da solução de uma coloração esbranquiçada para translúcida.

Manteve-se também um tempo de 10 minutos para homogeneizar o AgNO₃ e o amido. A velocidade adotada para adição NaBH₄ foi de 1 mL/min. Após adição de todos os reagentes a dispersão de AgNPs-Am foi deixada sob agitação por 30 minutos.

Para síntese o primeiro parâmetro ajustado foi a temperatura. Sendo assim, foram realizadas duas sínteses (Amostra A e B) com as mesmas concentrações de reagentes. Essas sínteses foram realizadas a temperatura de 25°C (Amostra A) e 5°C (Amostra B). As concentrações dos reagentes foram 1,1.10⁻³ mol.L⁻¹ de AgNO₃, 2,2.10⁻³ mol.L⁻¹ de NaBH₄ e 0,2 % (m/v) de amido (Tabela 2). A formação da banda *plasmon* característica de AgNPs foi acompanhada por espectroscopia na região do UV-Vis. Conforme apresentado na Figura 12, as amostras de AgNPs-Am apresentaram bandas próximas a 400 nm, com mesmo comprimento de onda no máximo de absorvância (395 nm), indicando a formação de AgNPs. No entanto, a absorvância foi maior para síntese realizada em banho de gelo (5°C) e a banda de absorção na síntese a temperatura ambiente (25°C) apresentou-se mais larga.

A absorvância é diretamente proporcional à quantidade de NPs presentes em dispersão, e a largura da banda nos fornece a variação de tamanho dessas NPs. A banda de absorção larga apresentada pela amostra A (25°C) indica que existem NPs com uma grande diferença de tamanho em dispersão. Por outro lado, a banda mais estreita obtida para a amostra B (5°C) confirma a formação de NPs com distribuição de tamanho mais homogênea.^{16,27,33}

Figura 12 - Espectro de absorção na região do UV-Vis das sínteses de AgNPs-Am realizadas em diferentes temperaturas (5°C e 25°C). Parâmetros utilizados: $2,2 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ de NaBH₄, $1,1 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ de AgNO₃ e 0,2 % (m/v) de amido



Dessa maneira, a amostra B realizada em banho de gelo (5°C) proporcionou maior quantidade AgNPs com menor distribuição de tamanho. Isso pode ser atribuído a menor energia cinética, que reduz o número de colisões entre as partículas no momento da síntese, evitando a formação de *clusters*.⁷ Além disso, as AgNPs formadas são estabilizadas pelo amido antes que ocorra coalescência. Portanto, adotou-se a temperatura de 5°C (banho de gelo) para as demais sínteses.

A concentração de amido foi otimizada acompanhando o tamanho pela técnica de DLS. Pois, os resultados da espectroscopia na região do UV-Vis são adequados para identificar a formação de AgNPs, entretanto a técnica de DLS apresenta dados mais específicos sobre o tamanho das NPs. O deslocamento da banda característica de AgNPs (próximo a 420 nm) para o vermelho indica um

aumento no tamanho das NPs que pode ocorrer devido à agregação.^{5,16} Contudo, pequenas variações no tamanho das NPs não podem ser evidenciadas nos espectros de UV-Vis.

Portanto, para avaliar o tamanho das AgNPs-Am utilizou-se a técnica de DLS. Para estudo da concentração de amido foram realizadas três sínteses (amostra C, D e E), em banho de gelo (5°C), com concentração para AgNO₃ e NaBH₄ fixadas em 0,9.10⁻³ mol.L⁻¹ e 3,6.10⁻³ mol.L⁻¹, respectivamente. As concentrações de amido utilizadas foram 0,1 %, 0,6 % e 1,3 % (m/v), referentes respectivamente as amostras C, D e E (Tabela 2).

Na Tabela 6, estão reunidos os resultados de DLS para as amostras com diferentes concentrações de amido. A análise foi realizada no mesmo dia da síntese das AgNPs-Am.

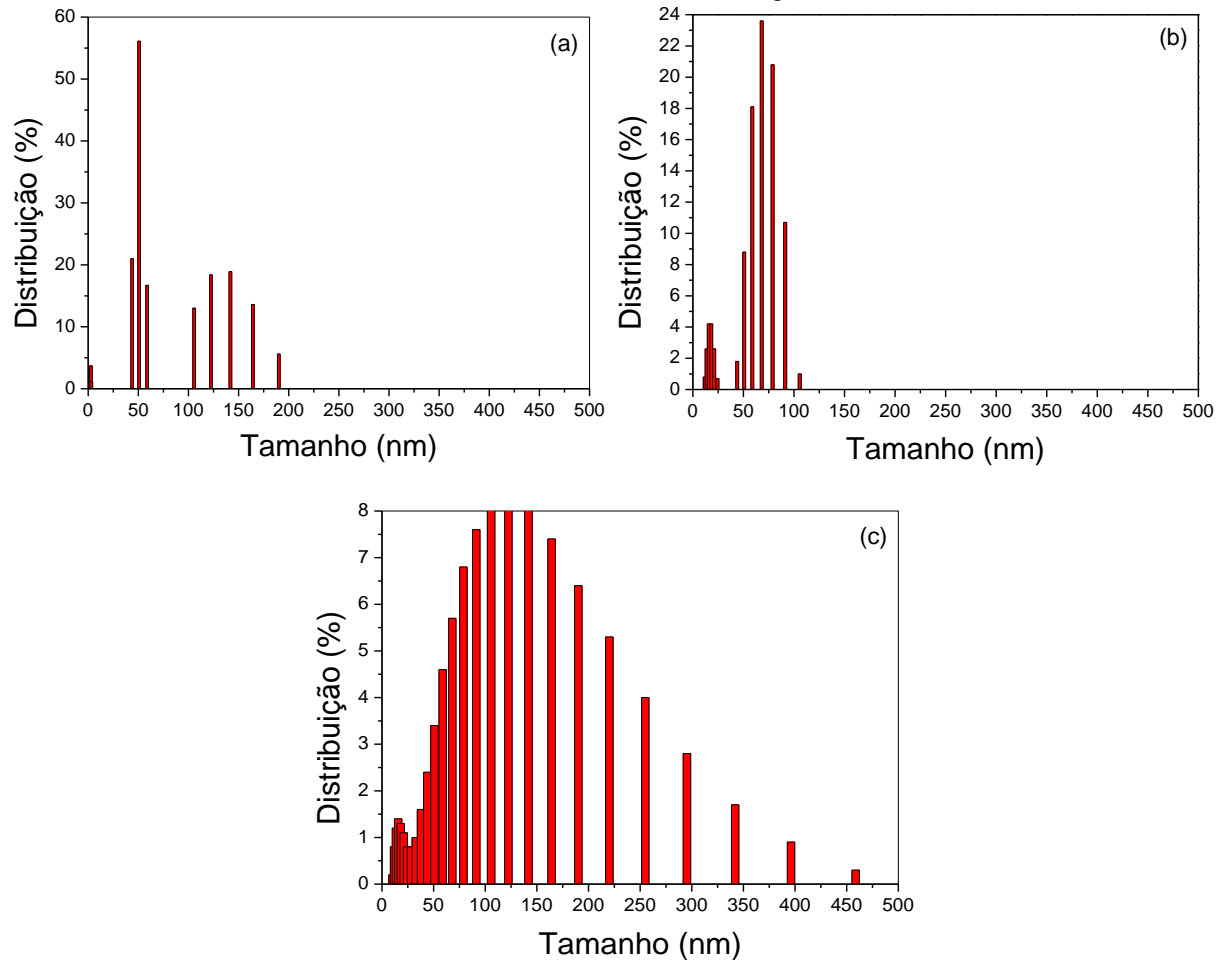
Tabela 6 - Resultados de DLS para otimização da concentração do amido na síntese de AgNPs-Am

Amostra AgNPs-Am	[Amido] % (m/v)	Diâmetros médios AgNPs-Am (nm)	
C	0,1	2,69	50,60
D	0,6	17,13	69,77
E	1,3	18,19	136,10

*Parâmetros fixos: 3,6.10⁻³ mol.L⁻¹ de NaBH₄ e 0,9.10⁻³ mol.L⁻¹ de AgNO₃.

O resultado obtido para a menor concentração de amido (amostra C) apresentou menores diâmetros médios na distribuição de tamanho por DLS. No entanto, os gráficos DLS demonstram que há AgNPs-Am com diâmetros maiores que 150 nm em dispersão (Figura 13a). Sendo assim, a amostra com concentração de 0,6 % (m/v) de amido apresentou menores diâmetros para as AgNPs-Am, não ultrapassando o tamanho de 105,70 nm. A utilização de uma concentração superior (amostra E) mostrou-se ineficiente na estabilização das AgNPs (Figura 13c). Observa-se também que a distribuição de tamanho para as AgNPs-Am da síntese com 0,6 % (m/v) de amido (Figura 13b) é bimodal e bem definida. Sendo assim, esta foi a concentração de amido adotada para continuidade do trabalho.

Figura 13 - Resultados de DLS para distribuição de tamanho das AgNPs-Am em sínteses com concentração de amido (a) 0,1 %, (b) 0,6 % e (c) 1,3 % (m/v). Parâmetros utilizados: $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 e $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 .



Em seguida, foi avaliada a concentração ideal de agente redutor a ser empregada na síntese. Foram realizadas sínteses em banho de gelo com concentrações fixas de 0,6 % (m/v) para o amido e $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ para o AgNO_3 . As concentrações de NaBH_4 empregadas foram $3,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (amostra F) , $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (amostra D) e $4,1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (amostra G). A Tabela 7 apresenta os resultados de DLS realizados no mesmo dia da síntese das AgNPs-Am.

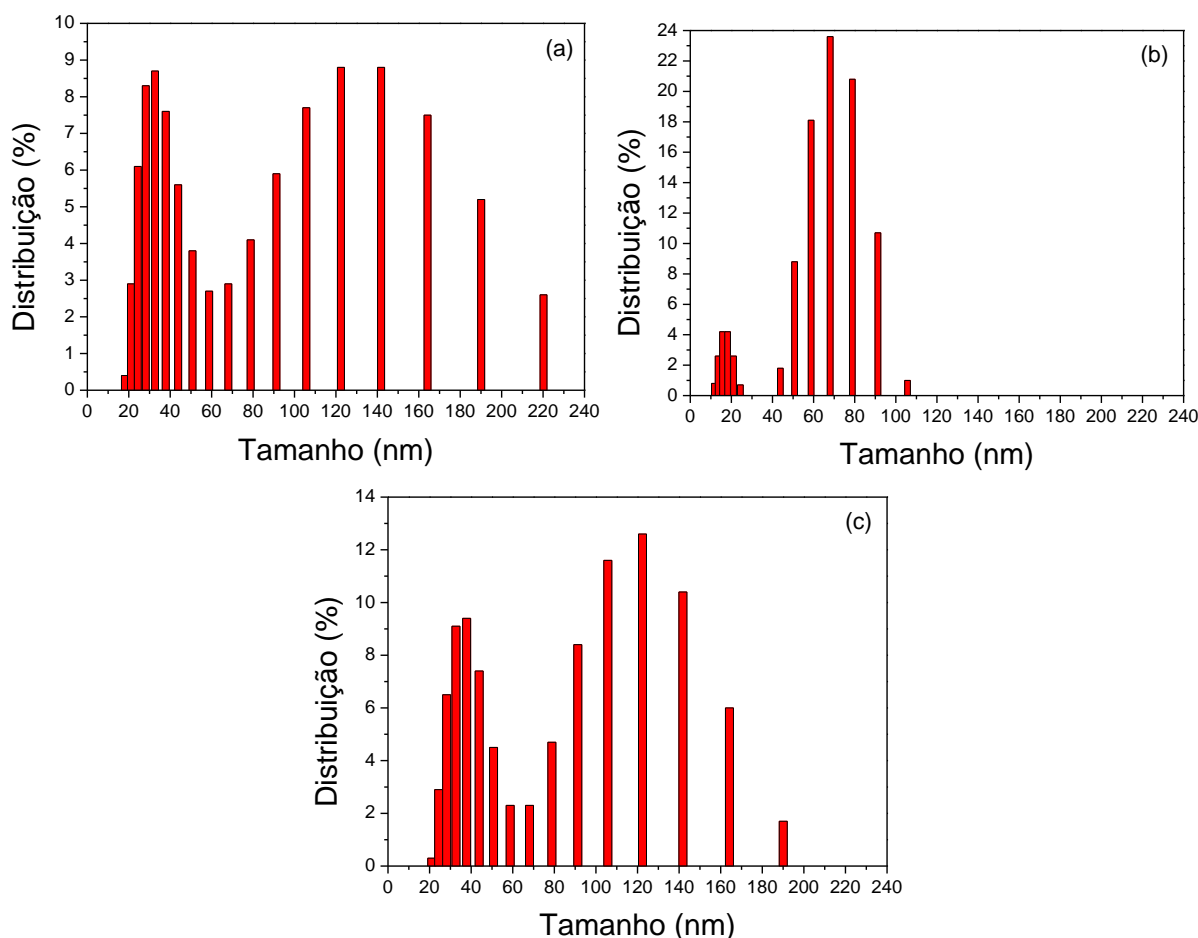
Tabela 7 - Resultados de DLS para otimização da concentração de redutor na síntese de AgNPs-Am

Amostra AgNPs-Am	NaBH_4 (mol.L^{-1})	Diâmetros médios AgNPs-Am (nm)	
F	$3,0 \cdot 10^{-3}$	35,19	128,60
D	$3,6 \cdot 10^{-3}$	17,13	69,77
G	$4,1 \cdot 10^{-3}$	39,38	118,70

*Parâmetros fixos: $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 e 0,6 % (m/v) de amido.

Nota-se que os menores diâmetros foram obtidos para as amostras D com concentração de $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 . Para confirmar que é a melhor síntese analisou-se também a distribuição de tamanho a partir do gráfico dos resultados de DLS (Figura 14).

Figura 14 - Resultados de DLS para distribuição de tamanho das AgNPs-Am em sínteses com concentração de (a) $3,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, (b) $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ e (c) $4,1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 . Parâmetros utilizados: $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 e 0,6 % (m/v) de amido.



Observa-se que a faixa de distribuição de tamanho da síntese com $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de redutor apresenta-se mais estreita (Figura 14b), além de não apresentar NPs com tamanho superior a 110 nm. Sendo assim, esta foi a concentração de NaBH_4 adotada para a síntese de AgNPs-Am.

O último parâmetro avaliado foi a concentração de AgNO_3 . Para isso utilizou-se os parâmetros já definidos de 0,6 % (m/v) de amido, $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 e síntese em banho de gelo. Considerando que bons tamanhos de diâmetros de AgNPs foram obtidos com a concentração de $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 , variou-se a

concentração somente para valores menores. Pois, a maior concentração de AgNO_3 apenas aumenta a possibilidade de colisão da AgNPs, favorecendo a aglomeração. As concentrações estudadas para AgNO_3 foram de $0,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (amostra H), $0,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (amostra I) e $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (amostra D). O fator importante na concentração de AgNO_3 é a relação entre número de mols de sal e mols de agente redutor, para garantir a redução completa. Em todas as amostras testadas o NaBH_4 foi usado em excesso, o que ajuda a estabilizar a dispersão e confere carga negativa as AgNPs-Am. Os resultados de DLS realizados no mesmo dia das sínteses estão dispostos na Tabela 8.

Tabela 8 - Resultados de DLS para otimização da concentração de AgNO_3 na síntese de AgNPs-Am

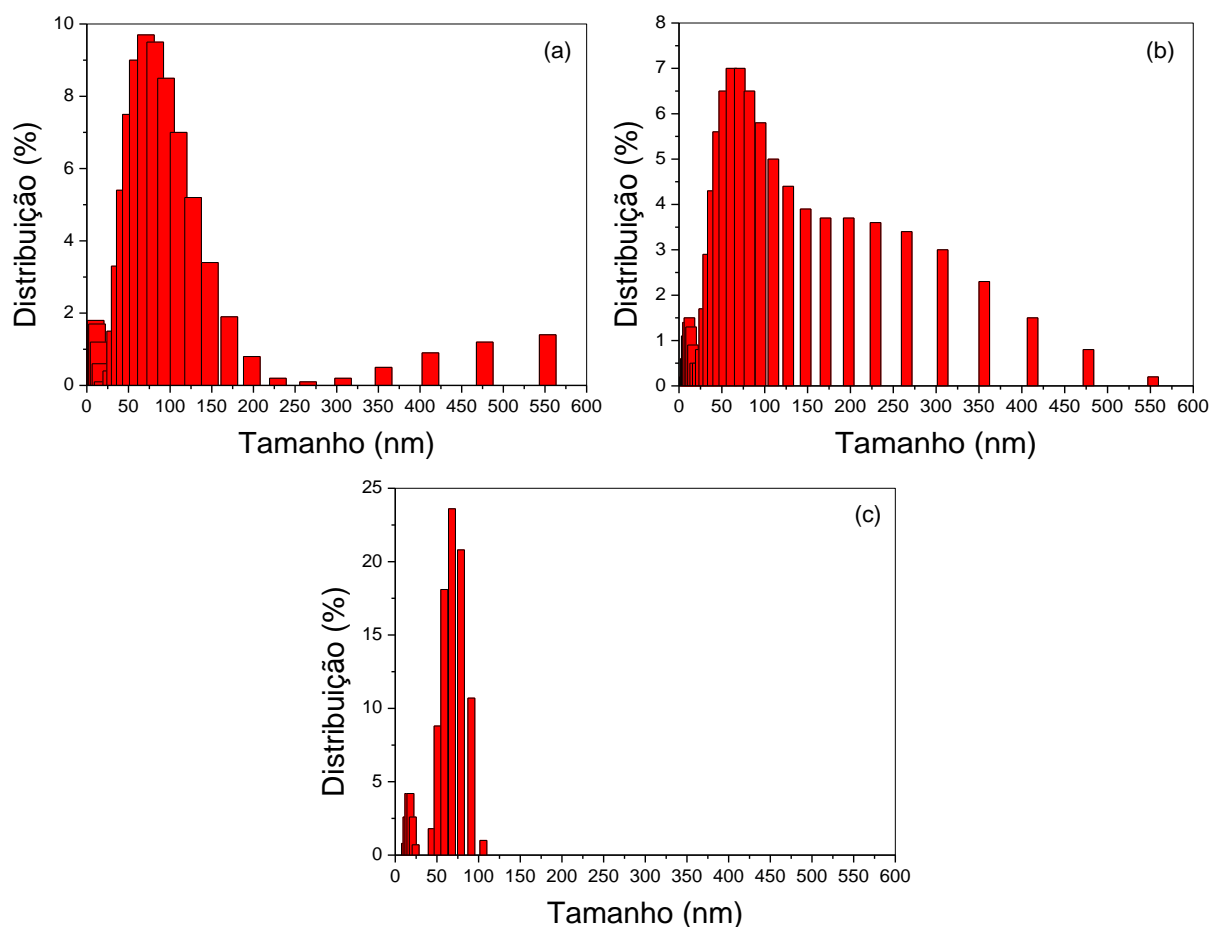
Amostra AgNPs-Am	AgNO_3 (mol.L^{-1})	Proporção sal/redutor	Diâmetros médios AgNPs-Am (nm)	
H	$0,2 \cdot 10^{-3}$	1:10	83,97	737,10
I	$0,4 \cdot 10^{-3}$	1:20	12,74	126,10
D	$0,9 \cdot 10^{-3}$	1:4	17,13	69,77

*Parâmetros fixos: $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 e 0,6 % (m/v) de amido.

Os menores diâmetros para as AgNPs-Am foram obtidos pela síntese com $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 . Este resultado é melhor evidenciado ao observar os gráficos obtidos para análise de DLS, que estão dispostos na Figura 15. Deste modo, esta concentração foi definida para a síntese de AgNPs-Am.

Portanto, a síntese de AgNPs-Am utilizada para as demais etapas deste trabalho foi realizada em banho de gelo (5°C), com adição de $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 a amido 0,6 % (m/v), homogeneizando durante 10 minutos. Em seguida, adicionou-se uma concentração de $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 a velocidade de 1 mL.min^{-1} . A síntese foi mantida 30 minutos sob agitação antes de ser armazenada a temperatura ambiente (25°C) e frasco escuro. Este procedimento de síntese mostrou-se reprodutível, apresentando sempre distribuição de tamanho bimodal.

Figura 15 - Resultados de DLS para distribuição de tamanho das AgNPs-Am em sínteses com concentração de (a) $0,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, (b) $0,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ e (c) $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 . Parâmetros utilizados: $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 e 0,6 % (m/v) de amido.



Fazendo uma comparação dos diâmetros da AgNPs-Am da síntese otimizada neste trabalho com sínteses descritas na literatura, podemos afirmar que o resultado é satisfatório uma vez que os diâmetros obtidos encontram-se próximos aos diâmetros das demais sínteses. Na Tabela 9 estão dispostos os dados principais de algumas sínteses encontradas na literatura.^{2,7,12,16,17,27,32,68} Observa-se que os diâmetros obtidos para sínteses de AgNPs utilizando o NaBH_4 como redutor, e empregando um estabilizante polimérico, encontram-se na faixa de 10 a 35 nm.^{7,32} Este valor corrobora com os resultados obtidos neste trabalho, com diâmetros de 11 a 24 nm para a distribuição de tamanho com menor diâmetro médio das AgNPs, destacando que as sínteses realizadas por Fanta *et al*² e Fan *et al*⁷ utilizam quantidade maior de redutor e obtiveram diâmetros semelhantes. Vigneshwaram *et al*¹⁷ realizaram síntese em autoclave, onde a alta temperatura libera moléculas de glicose do amido, as quais agem como agente redutor. Os diâmetros médios obtidos

para esta síntese também encontram-se na faixa de 10 a 34 nm.¹⁷ Outros autores utilizaram o reagente de grau analítico D-Glucose como redutor, empregando o amido como estabilizantes, e obtiveram diâmetros para as NPs que variam entre 1 e 25 nm, dependendo da temperatura da síntese.^{2,16,27} Além destes, outros dois redutores são utilizados, citrato de sódio e ácido ascórbico. Ambas as sínteses apresentaram como resultado AgNPs com diâmetros na faixa de 30 nm, apesar de serem realizadas em temperaturas diferentes.^{12,68} Observando as temperaturas das demais síntese, a síntese em banho de gelo (5°C) realizada neste trabalho é vantajosa devido ao menor consumo de energia.

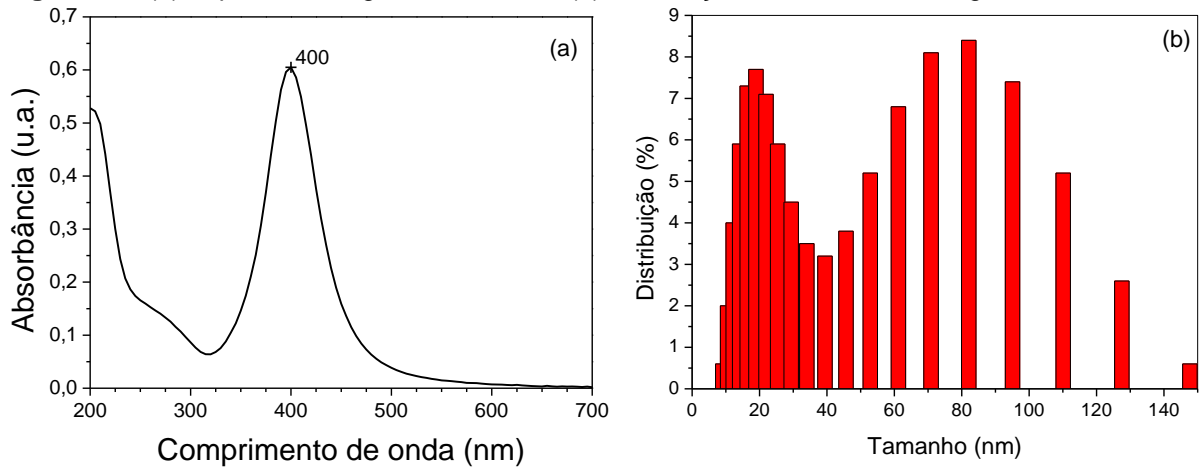
Tabela 9 - Comparação das condições de síntese com as da literatura

AgNO ₃ (mol.L ⁻¹)	Redutor		Estabilizante		Temperatura	Diâmetro	Referência
	Reagente	Conc. (mol.L ⁻¹)	Reagente	Conc.			
0,9.10 ⁻³	NaBH ₄	3,6.10 ⁻³	amido	0,6 % (m/v)	25°C	11-24 nm	Síntese deste trabalho
0,10	NaBH ₄	1,06	amido e palmitato de sódio	1 % (m/v)	80°C	13-35 nm	Fanta <i>et al</i> ³²
1,5.10 ⁻³	NaBH ₄	2,9	amido	0,2 % (m/v)	25°C	10-15 nm	Fan <i>et al</i> ⁷
1,0.10 ⁻³		1% (m/v)	Amido		121°C (autoclave)	10-34nm	Vigneshwaram <i>et al</i> ¹⁷
1,0.10 ⁻³	Ácido ascórbico	1,0.10 ⁻³	amido	2 % (m/v)	25°C	17-30 nm	Khan <i>et al</i> ⁶⁸
0,01	Citrato de sódio	0,01	amido	3,0.10 ⁻³ mol.L ⁻¹	95°C	30 nm	Kakkar <i>et al</i> ¹²
0,03	D-Glucose	0,07	amido	0,2 % (m/v)	Ebulição	1-25 nm	Manno <i>et al</i> ⁴
9,4.10 ⁻⁴	D-Glucose	3,1.10 ⁻⁴	amido	0,2 % (m/v)	30°C	14,4 nm	Vasileva <i>et al</i> ¹⁶
2,0.10 ⁻³	D-Glucose	5,0.10 ⁻³	amido	1 % (m/v)	60°C	5-20 nm	Gao <i>et al</i> ²⁷

7.1.2 Caracterização das nanopartículas de prata

O espectro UV-Vis obtido da síntese otimizada de AgNPs-Am está disposto na Figura 16a. A banda apresentada em 400 nm se enquadra como característica das AgNPs conforme literatura.^{17,27,65} Os resultados de DLS para a distribuição de tamanho das AgNPs-Am estão dispostos na Figura 16b, onde podemos verificar que há maior concentração de NPs próximo a dois tamanho médios de diâmetros em 21 e 77 nm.

Figura 16 - (a) Espectro na região do UV-Vis e (b) distribuição de tamanho das AgNPs-Am otimizada



A dispersão de AgNPs-Am apresentou Potencial Zeta de -113 mV. Esse valor de potencial Zeta (mais negativo que -30 mV) indica que a dispersão coloidal é estável e estabelece também que a dispersão possui carga negativa, conforme o esperado.⁶²

Foi realizado acompanhamento do tamanho por análise de DLS durante 115 dias da síntese de AgNPs-Am otimizada. As análises foram feitas em triplicata. Os resultados de tamanho com os respectivos desvios padrão estão apresentados na Tabela 10, destacando-se os dois principais diâmetros. A distribuição bimodal característica da síntese otimizada neste trabalho foi observada durante todo o período de tempo estudado. A primeira análise foi realizada no dia da síntese das AgNPs, obteve-se como diâmetros principais 14 e 46 nm (Tabela 10). Observa-se que houve pequena oscilação no tamanho das AgNPs durante os 115 dias. Mantendo o valor do menor diâmetro das NPs próximo entre 8 e 14 nm e o maior diâmetro entre 40 e 53 nm. Isso indica que houve baixa aglomeração, mantendo um tamanho adequado para aplicação das AgNPs-Am em até 115 dias (aproximadamente 4 meses). Este resultado detalhado do tamanho durante o armazenamento das AgNPs-Am corrobora com o resultado de potencial zeta que indicou estabilidade da dispersão.

Tabela 10 - Resultados DLS para distribuição de tamanho AgNPs-Am durante o armazenamento.

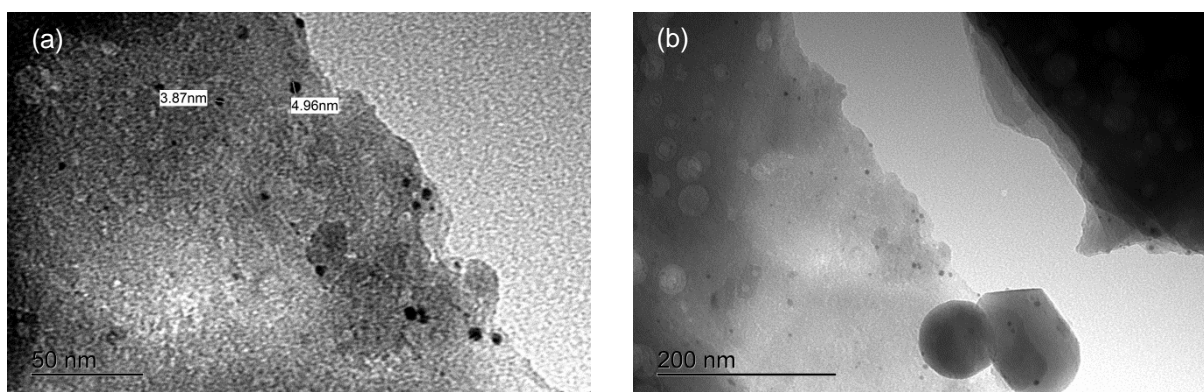
Armazenamento (dias)	Tamanho das AgNPs-Am (nm)	
	Menor diâmetro	Maior diâmetro
1	14	46
28	8	40
56	11	46
84	11	53
115	10	46

Vigneshwaram *et al*¹⁷ estudaram a estabilidade das AgNPs acompanhando os espectros UV-Vis por determinado período de tempo. As AgNPs foram armazenadas em temperatura ambiente e não observou-se alteração significativa na absorbância (ao nível de 1%) durante um período de 90 dias.¹⁷

Para as AgNPs-Am obtidas neste trabalho, os resultados de tamanho por DLS corroboram com as medidas de TEM. A Figura 17 apresenta as imagens obtidas das AgNPs-Am. Podemos observar, na Figura 17a, as AgNPs estabilizadas no amido. A aproximação da imagem permite determinar diâmetros entre 4 e 5 nm para as AgNPs. A Figura 17b apresenta as NPs não estabilizadas nas cadeias de amido, essas NPs que se formaram fora do polímero possuem diâmetros em torno de 70 nm. A diferença de tamanho entre essas NPs é evidente, sendo que os menores tamanhos são obtidos quando as AgNPs estão envoltas pela cadeia do polissacarídeo. Esta constatação explica a distribuição bimodal de tamanho obtida nas análises DLS.

Resultados semelhantes de diâmetros foram encontrados por Gao *et al*²⁷ para AgNPs estabilizadas em amido. A síntese foi realizada utilizando glucose como redutor. O diâmetro médio observado por imagens TEM foi de 20 nm.²⁷ Para síntese de AgNPs imobilizadas em goma arábica, Medina-Ramirez *et al*⁶⁵ encontraram diâmetro médio de 40,2 nm para as nanopartículas estabilizadas no polímero.⁶⁵

Figura 17 - Imagens de TEM para AgNPs-Am. (a) Aproximação das AgNPs imobilizadas no amido. (b) AgNPs dentro e fora das cadeias de amido.



A análise de FTIR dos reagentes de partida e das AgNPs-Am foi realizada para verificar as interações que ocorrem entre as NPs e o amido. Os espectros foram obtidos com pastilhas de KBr contendo, individualmente, os reagentes de grau analítico. As AgNPs-Am foram raspadas de filme *drop-coated* para compor a pastilha de KBr. Assim, o método de secagem das AgNPs é igual ao utilizado nos filmes LbL. Conforme observado na Figura 18, verifica-se que as bandas características do AgNO_3 (1384 cm^{-1}) e NaBH_4 (1126 , 2224 , 2291 e 2388 cm^{-1}) desaparecem quando forma-se as AgNPs, indicando o consumo desses reagentes. Observa-se também grande semelhança entre o espectro das AgNPs-Am e do amido, demonstrando que este último não reage durante a síntese. Esse resultado está dentro do esperado, uma vez que o amido foi empregado como agente estabilizante para que as AgNPs-Am se organizassem de maneira a evitar a coalescência. Nota-se que houve deslocamento das bandas referentes ao estiramento simétrico C-O-C de 978 cm^{-1} e 1171 cm^{-1} no amido para 1022 cm^{-1} e 1152 cm^{-1} nas AgNPs-Am. O deslocamento destas bandas é indicativo de que há interação devido a estabilização das AgNPs no amido. Na Tabela 11, pode-se observar os grupos funcionais das estruturas e suas respectivas bandas.

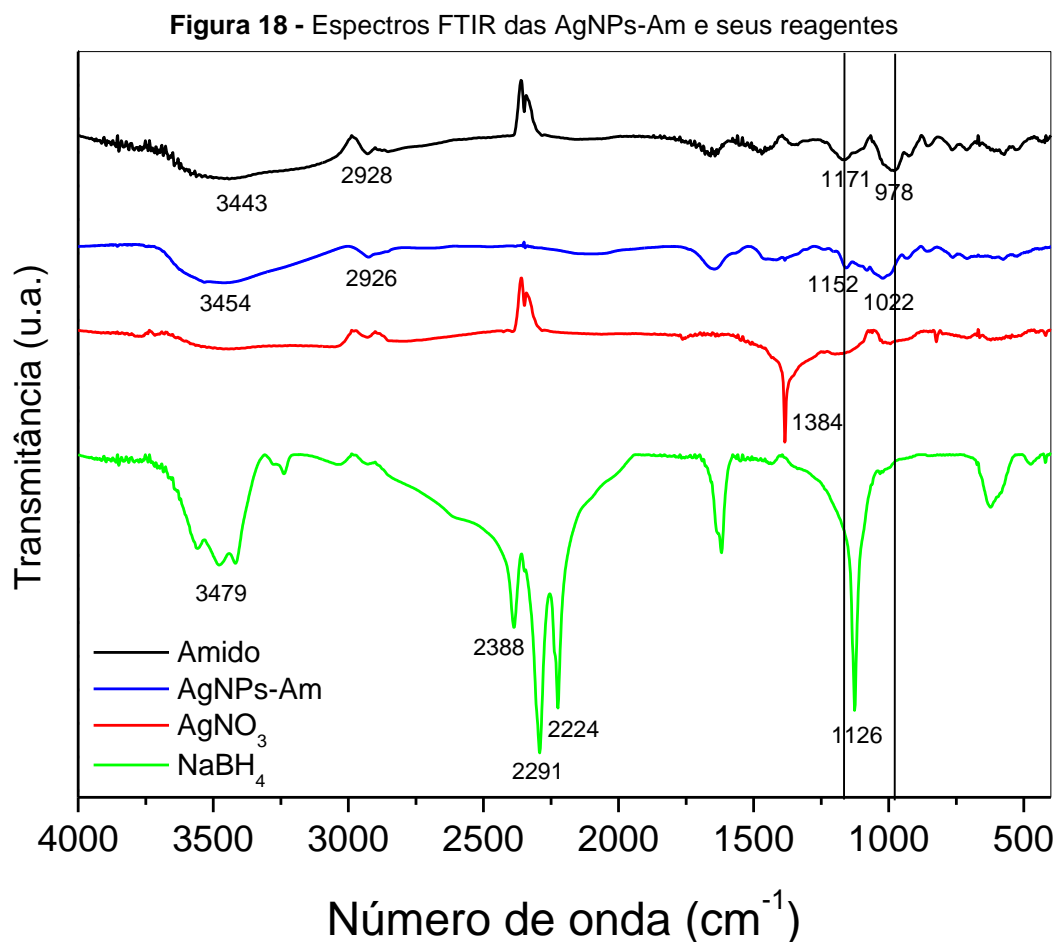


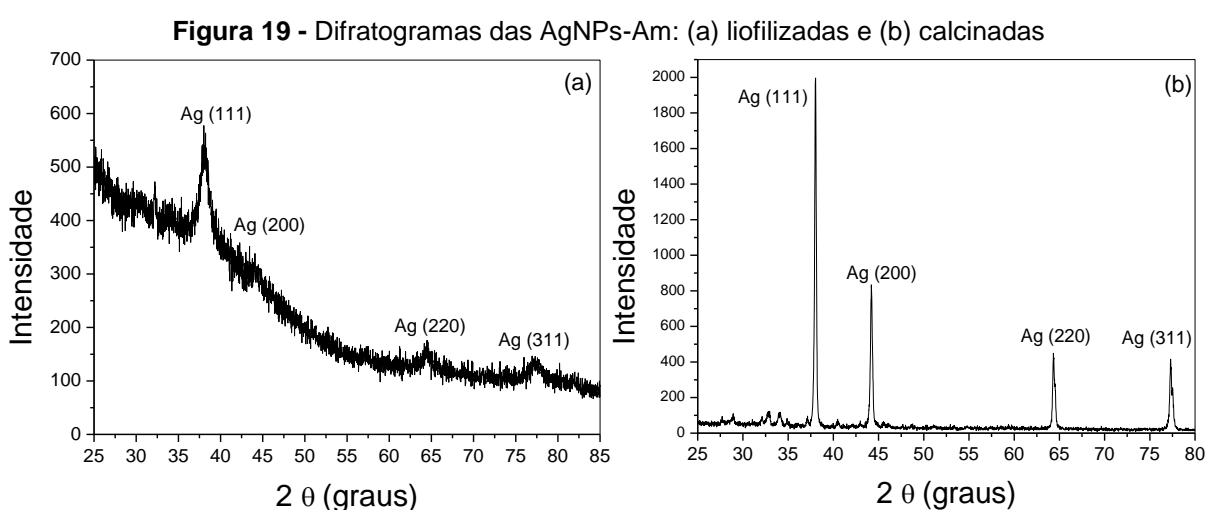
Tabela 11 - Atribuições dos grupos funcionais do espectro FTIR das AgNPs-Am e seus reagentes

Atribuição	Número de onda (cm^{-1})	Número de onda observado (cm^{-1})			
		NaBH_4	AgNO_3	AgNPs-Am	Amido
Estiramento O-H ⁶⁹	3500-3200	3479	-	3454	3443
Estiramento C-H ⁶⁹	3000-2840	-	-	2926	2928
Estiramento C-O-C simétrico ⁶⁹	1055-870	-	-	1022 e 1152	978 e 1171
Estiramento B-H ⁶⁹	2200-2640 e 1435-1315	2224, 2291, 2388 e 1126	-	-	-
Estiramento NO_2 Simétrico ⁶⁹	1390-1260	-	1384	-	-

Para investigar a estrutura cristalina das AgNPs-Am formadas realizou-se análise de XRD. O difratograma da Figura 19a mostra o resultado de XRD para AgNPs-Am liofilizadas. Podem ser observados picos intensos em 2θ de 38° ; $44,1^\circ$; $64,3^\circ$ e $77,2^\circ$ indexados aos planos (111), (200), (220) e (311) da estrutura cúbica de face centrada (CFC) tipicamente apresentada pela Ag.^{2,12,16,26} O difratograma da Figura 19b foi realizado para as AgNPs-Am liofilizadas e calcinadas (500°C por 1 hora), portanto, foi removida a matéria orgânica proveniente do amido e as AgNPs

provavelmente formaram um *cluster*.²⁶ Este resultado é utilizado para comparar os picos obtidos para as AgNPs-Am com a Ag presente na dispersão. Neste difratograma, observam-se picos intensos em 2θ de 38° , $44,2^\circ$, $64,3^\circ$ e $77,3^\circ$ indexados aos planos (111), (200), (220) e (311) da estrutura CFC.

GAO *et al*.²⁷ realizaram análise semelhante devido as interferências do amido no resultado de XDR. A síntese de AgNPs foi realizada com amido de estabilizante e glucose como redutor. Os picos 2θ referentes aos planos (111), (200), (220) e (311) foram encontrados, respectivamente, em $37,7^\circ$, $43,5^\circ$, $64,2^\circ$ e $77,4^\circ$.²⁷



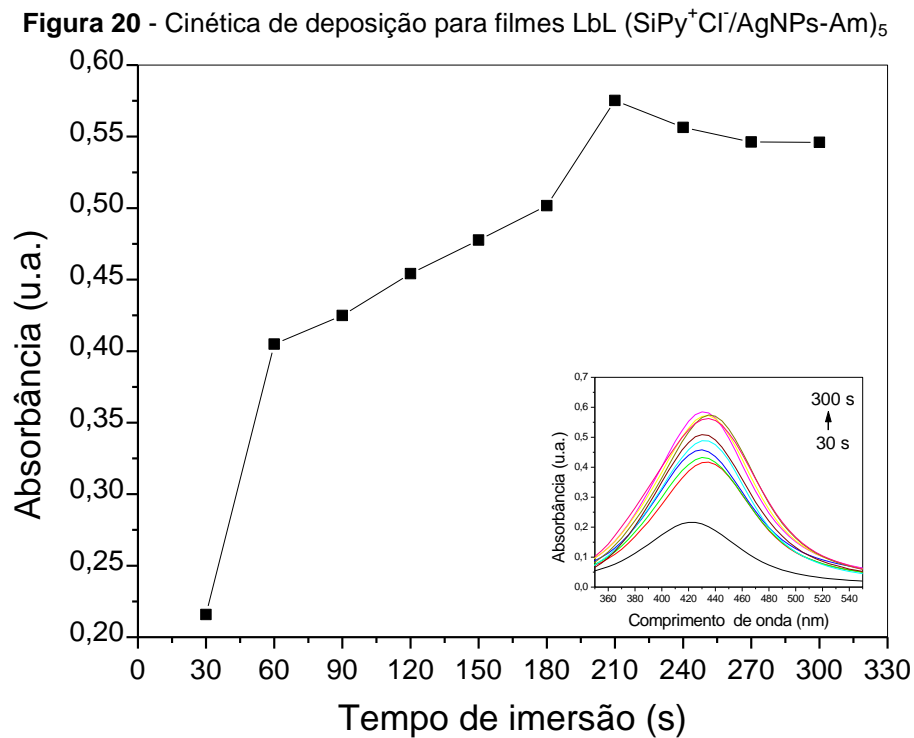
7.2 FILMES LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)

O estudo da cinética de deposição foi realizado para determinar o tempo ótimo para imersão do substrato nos polieletrólitos, ou seja, o tempo em que ocorre a máxima adsorção do filme LbL. Os filmes LbL foram construídos em substrato de quartzo, utilizando como polieletrólitos SiPy⁺Cl⁻ (2 mg.mL^{-1} e pH 6,5) e AgNPs-Am (pH 9,0). Foram depositados filmes LbL com 5 bicamadas na configuração (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am), pois a absorvância no UV-Vis mostrou-se apropriada. Sendo que menor número de camadas poderia ter uma absorvância pequena ocasionando erros. O SiPy⁺Cl⁻ foi utilizado como polication pois tem apresentado resultados promissores na obtenção de filmes LbL.⁴⁶⁻⁴⁹

O crescimento dos filmes construídos foi acompanhado pela absorvância da banda referentes as AgNPs-Am nos espectros UV-Vis, comprimento de onda de 420 nm. A banda do SiPy⁺Cl⁻ aparece na região do ultravioleta e não interfere na banda

referente as AgNPs-Am. O tempo de imersão foi estudado com intervalos de 30 segundos. A Figura 20 relaciona a máxima absorbância com o tempo de imersão nos polieletrólitos. Em destaque as bandas de absorção no UV-Vis, sendo ordenadas de baixo para cima conforme o tempo de imersão.

Os resultados indicam que a deposição de filme LbL atinge seu máximo com 210 segundos. A partir de 240 segundos a deposição permanece praticamente constante, indicando a saturação. A imersão por período de tempo maior não altera a deposição do filme. Sendo assim determinou-se o tempo de 4 minutos (240s) para imersão nos polieletrólitos.

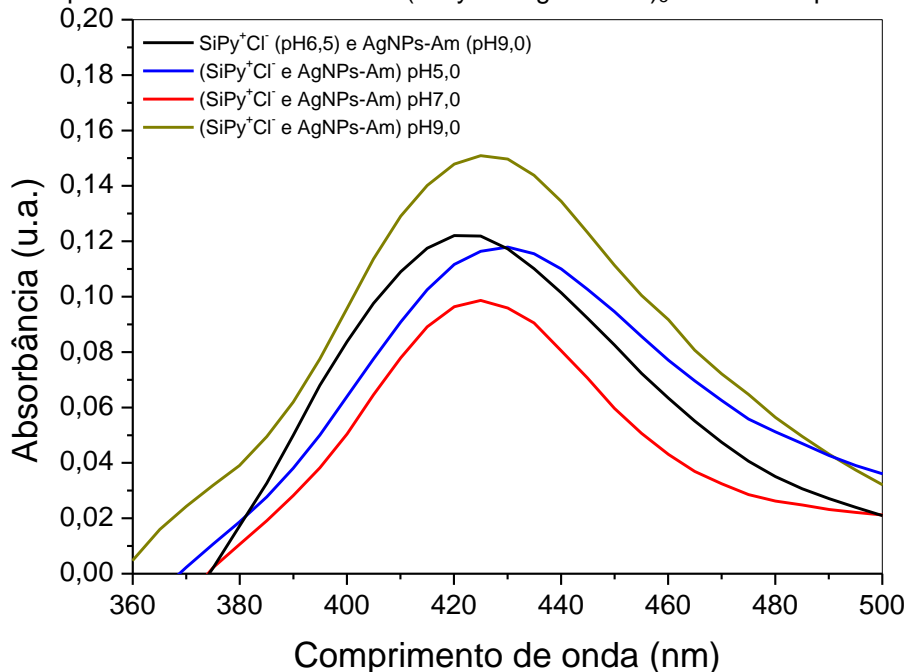


Realizado o estudo da cinética de deposição, os filmes para otimização dos demais parâmetros foram preparados utilizando o tempo de deposição de 240 segundos estabelecido.

Posteriormente, foi realizado estudo da influência do pH dos polieletrólitos na formação dos filmes. Para isso, utilizou-se a espectroscopia de UV-Vis (Figura 21). Foi observada uma maior absorção no espectro de UV-Vis nos filmes preparados com as soluções de SiPy⁺Cl⁻ e AgNPs-Am com ajuste de pH para 9,0. A bandas para o filme LbL construído com as soluções sem ajuste de pH (SiPy⁺Cl⁻ pH 6,5, AgNPs-Am pH 9,0 e água destilada pH 5,5) apresentou a segunda maior absorbância. O filme LbL construído com pH 5,0 para as soluções, apesar de

apresentar absorvância próxima ao LbL sem ajuste de pH, sofre deslocamento, indicando alteração na propriedade das AgNPs neste pH.

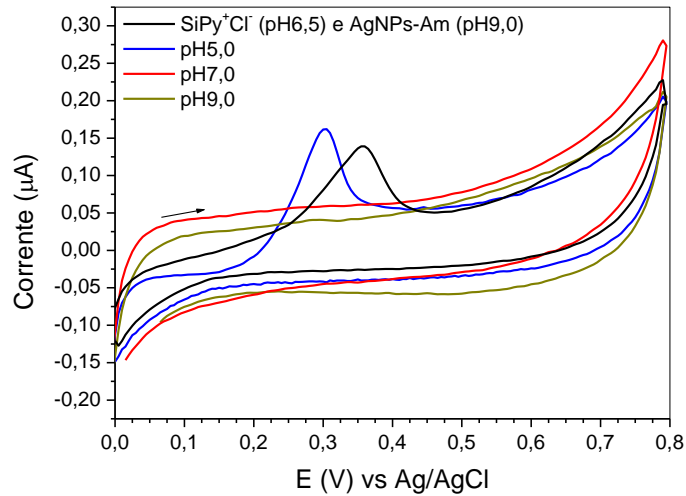
Figura 21 - Espectro UV-Vis de filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅ alterando o pH das soluções



Como a finalidade dos filmes LbL neste trabalho é a aplicação em eletrodo modificado, realizou-se estudo voltamétrico para confirmar o melhor pH para as soluções dos polieletrólitos na preparação dos filmes. Assim, verificou-se qual filme apresenta maior corrente na análise de CV.

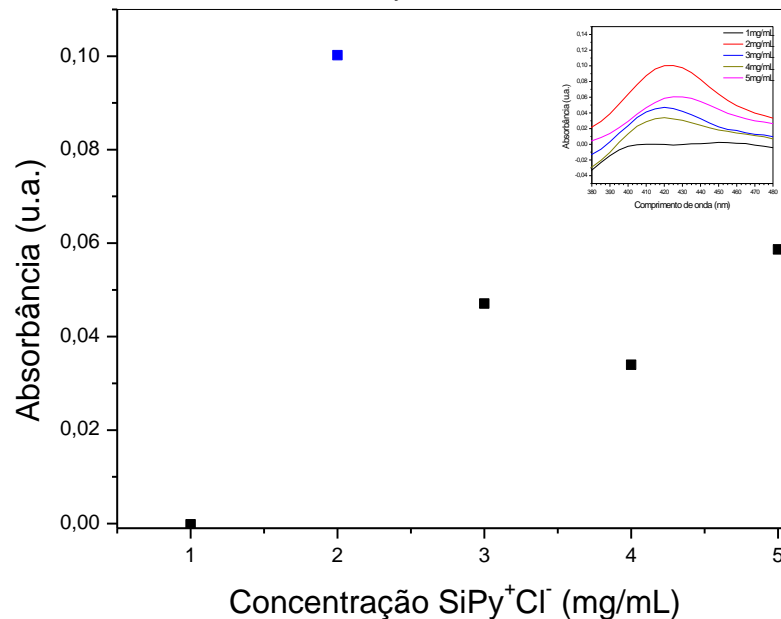
Na Figura 22, analisando a corrente de oxidação da prata não foi observado resposta para o filme LbL construído com os polieletrólitos a pH 9,0. Por sua vez, o filme LbL preparado em pH 5,0 para todas as soluções apresenta corrente em potencial de 0,31 V referente a oxidação das AgNPs.⁷⁰ E o filme LbL preparado sem alteração do pH das soluções apresentou corrente de pico com intensidade um pouco menor em potencial de 0,36 V. Deve-se considerar que a alteração do pH dos polieletrólitos requer a adição de outras soluções o que pode resultar na precipitação das NPs, reduzindo o número das mesmas, além de desestabilizar as cargas da dispersão acarretando a coalescência. Sendo assim, como a diferença da intensidade da corrente é pequena e a alteração de pH das soluções de AgNPs-Am pode alterar a estabilidade desta, optou-se pela preparação dos filmes LbL sem a modificação do pH das soluções dos polieletrólitos (SiPy⁺Cl⁻ pH 6,5 e AgNPs-Am pH 9,0).

Figura 22 - Voltamogramas cíclicos de filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅ alterando o pH das soluções. Parâmetros utilizados: $v = 50$ mV/s. ER: Ag/AgCl. CE: Platina. Eletrólito suporte NaNO₃ 0,1 mol.L⁻¹



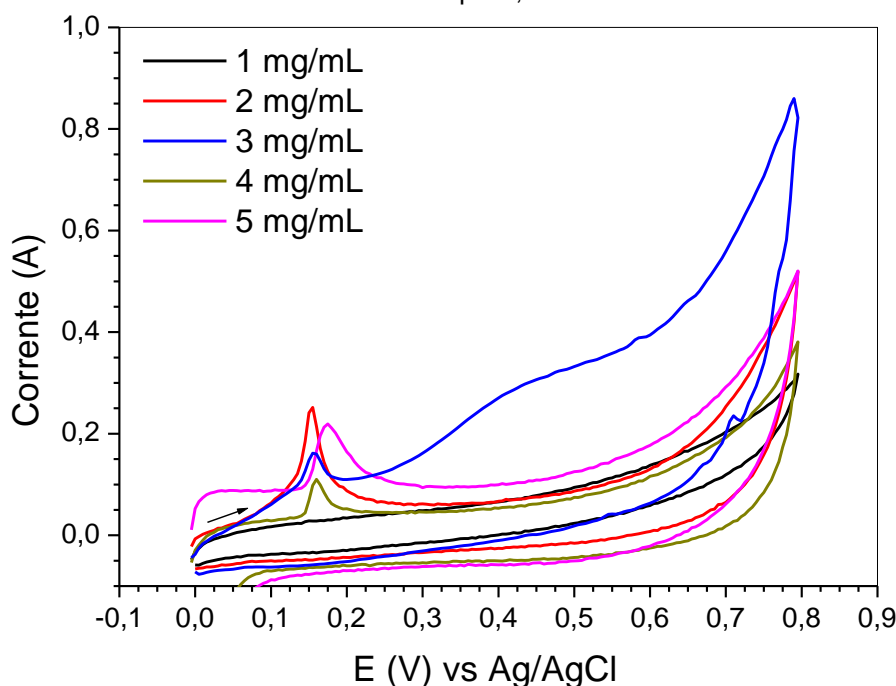
A próxima otimização foi a concentrações de SiPy⁺Cl⁻. Os valores utilizados foram de 2, 3, 4 e 5 mg/mL, em filmes LbL preparados com configuração (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅. Os resultados de UV-Vis demonstraram uma maior deposição do filme para a concentração de 2 mg/mL (Figura 23). Esses resultados corroboram com os estudos de CV verificam maior corrente para os filmes depositados com esta concentração de SiPy⁺Cl⁻ (Figura 24).

Figura 23 - Espectro UV-Vis de filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅ em diferentes concentrações de SiPy⁺Cl⁻



A maior absorvância próximo a 420 nm no UV-Vis indica uma maior deposição de AgNPs no filme LbL utilizando SiPy⁺Cl⁻ 2mg/mL, assim a maior corrente apresentada demonstra que as AgNPs aumentam a resposta voltamétrica do filme. Podemos observar também, ao comparar o voltamograma da Figura 24 com os espectros de UV-Vis da Figura 23 que, apesar de não ocorrer uma relação linear entre a concentração de SiPy⁺Cl⁻, há relação entre a absorvância e a corrente obtida na voltametria cíclica.

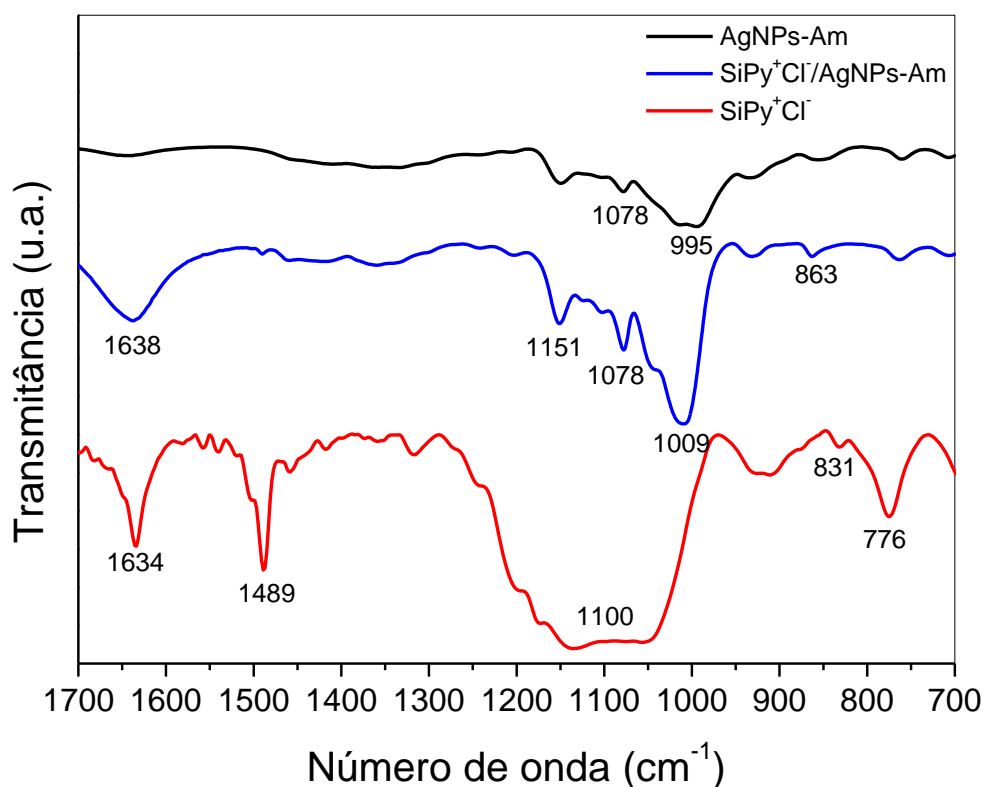
Figura 24 - Voltamogramas cíclicos de filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅ em diferentes concentrações de SiPy⁺Cl⁻. Parâmetros utilizados: $v = 50\text{mV/s}$, ER: Ag/AgCl, CE: Platina, Eletrólito suporte PBS 0,1 mol.L⁻¹ pH 7,0



Assim, os parâmetros para construção de filmes LbL adotados foram utilizar as soluções de SiPy⁺Cl⁻ e AgNPs sem alterar o pH (SiPy⁺Cl⁻ pH 6,5 e AgNPs-Am pH 9,0) e uma concentração de 2 mg/mL para o SiPy⁺Cl⁻, com tempo de deposição de 240 segundos.

Para caracterizar os filmes e identificar possíveis interações entre as camadas realizou-se espectroscopia FTIR. Comparando os espectros de FTIR do filme LbL SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am, com os espectros individuais (Figura 25) pode-se perceber que a banda em 1489 cm⁻¹ SiPy⁺Cl⁻ desaparece com a formação do filme, enquanto a banda em 1634 cm⁻¹ desloca para 1638 cm⁻¹ no filme LbL e apresenta alargamento, ambas relativas à vibração do anel pirídínio.

Figura 25 - Espectro FTIR dos filmes *drop-coated* SiPy⁺Cl⁻, AgNPs-Am e SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am.



A banda apresentada pelo SiPy⁺Cl⁻ em 776 cm⁻¹ referente ao estiramento simétrico Si-O-Si também desaparece com a formação do filme SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am, indicando que houve interação na formação deste. Na faixa de estiramento assimétrico Si-O-Si (1100 cm⁻¹) há um estreitamento da banda, permanecendo apenas uma banda em 1151 cm⁻¹ que pode ser atribuída ao SiPy⁺Cl⁻. Nesta região, as bandas em 995 cm⁻¹ e 1078 cm⁻¹ são referentes ao estiramento C-O-C simétrico devido ao amido presente nas AgNPs-Am, a primeira sofre deslocamento para 1009 cm⁻¹, enquanto a segunda mantém o mesmo número de onda no filme SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am. A banda em 831 cm⁻¹ no SiPy⁺Cl⁻ refere-se ao estiramento Si-C e deformação angular Si-C-H, conhecido como respiração do anel piridínio, desloca com a formação do filme SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am para 863 cm⁻¹. A Tabela 12 apresenta as atribuições de todas as bandas do espectro FTIR.

Comportamento semelhante foi observado por Santos *et al*⁴⁹ em filmes LbL utilizando como polieletrólitos SiPy⁺Cl⁻, SiPy⁺Cl⁻ incorporado de NPs de platina e ácido polivinil sulfônico (PVS). Houve redução na intensidade das bandas referentes as ligações Si-O-Si entre 1030 e 1070 cm⁻¹ nos filmes com configuração

(PVS/SiPy⁺Cl⁻)₄₀ e (Pt-SiPy⁺Cl⁻/PVS)₄₀ com relação ao espectro do filme contendo somente SiPy⁺Cl⁻.⁴⁹

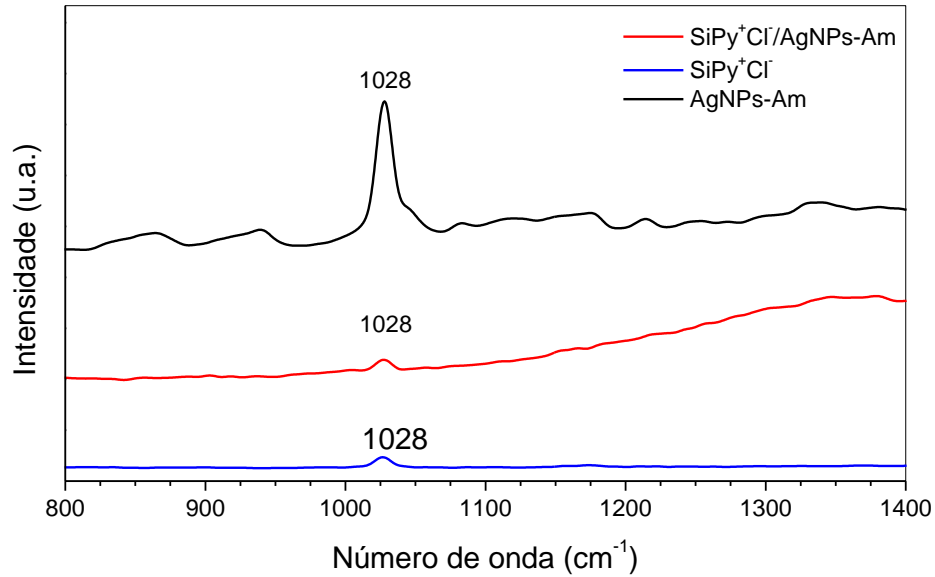
Em outro trabalho com filmes LbL construídos pela interação dos polieletrólitos sulfonato de p-fenileno vinileno (PPV) e SiPy⁺Cl⁻ incorporado com NPs de platina, Santos *et al*⁴⁸ também observaram alterações nas bandas dos polieletrólitos quando estes compõe o filme. Os filmes analisados foram (PPV/Pt-SiPy⁺Cl⁻)₃₀ e (Pt-SiPy⁺Cl⁻/PPV)₃₀ e com base nas alterações dos espectros de FTIR comprovou-se a interação que ocorre entre os polieletrólitos com a formação dos filmes LbL.⁴⁸

Tabela 12 - Atribuições dos grupos funcionais do espectro FTIR dos filmes *drop-coated*

Atribuição	Número de onda (cm ⁻¹)	Número de onda observado (cm ⁻¹)		
		SiPy ⁺ Cl ⁻	AgNPs-Am	SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am
Estiramento simétrico Si-O-Si ⁷¹	795	776	-	-
Estiramento Si-C e deformação angular Si-C-H ⁴⁹	~800-1000	831	-	863
Estiramento assimétrico Si-O-Si ^{49,71}	1106-1130	1100	-	1151
Vibração do anel piridínio ⁷¹	1632 e 1489	1634 e 1489	-	1638
Estiramento C-O-C simétrico ⁶⁹	1055-870	-	995 e 1078	1009 e 1078

No espectro Raman, a banda em 1028 cm⁻¹ no SiPy⁺Cl⁻ é atribuída a respiração do anel piridínio.⁷¹ Neste mesmo valor de número de onda aparece uma banda para as AgNPs-Am que pode ser atribuída à vibração C-O-C da cadeia cíclica da glicose que imobiliza as AgNPs. Assim, a banda em 1028 cm⁻¹ no filme pode ter influência de ambos, SiPy⁺Cl⁻ e AgNPs-Am, e possui intensidade similar a do SiPy⁺Cl⁻ (Figura 26).⁶⁹ A maior intensidade para a banda das AgNPs-Am pode ser explicada pelo efeito de intensificação de espalhamento por meio de superfície (SERS) que melhora o resultado Raman. Existem diferentes estudos para utilizar MNPs para desenvolvimento de substrato para uso em análises Raman.⁷²

Figura 26 - Espectro Raman filmes *drop-coated* AgNPs-Am, SiPy⁺Cl⁻ e SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am.



A morfologia dos filmes LbL foi analisada por microscopia de força atômica (AFM). Observando os valores da rugosidade média quadrática (Rq) com relação ao número de bicamadas (Tabela 13) nota-se um decréscimo gradual dos valores de Rq conforme ocorre o aumento do número de bicamadas. Para minimizar erros, os filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) foram depositados sobre o mesmo FTO e a análise de AFM foi realizada em três regiões fixas. O valor apresentado na tabela é o Rq médio e o desvio padrão entre as três medidas realizadas. A alta rugosidade do substrato FTO sem modificação diminui com a formação dos filmes LbL. Isto é atribuído a deposição dos polieletrólitos nas depressões existentes no substrato, preenchendo esses espaços.^{48,49} O decréscimo da rugosidade ocorre até a deposição de 8 bicamadas. Com 10 bicamadas a rugosidade possui pequena variação e, ao verificar o desvio padrão, pode ser considerada constante.

O decréscimo da rugosidade para os filmes de 2, 4, 6 e 8 bicamadas indica um preenchimento gradual das depressões existentes no FTO. E a partir de 10 bicamadas a rugosidade constante sugere homogeneidade na deposição do filme LbL.

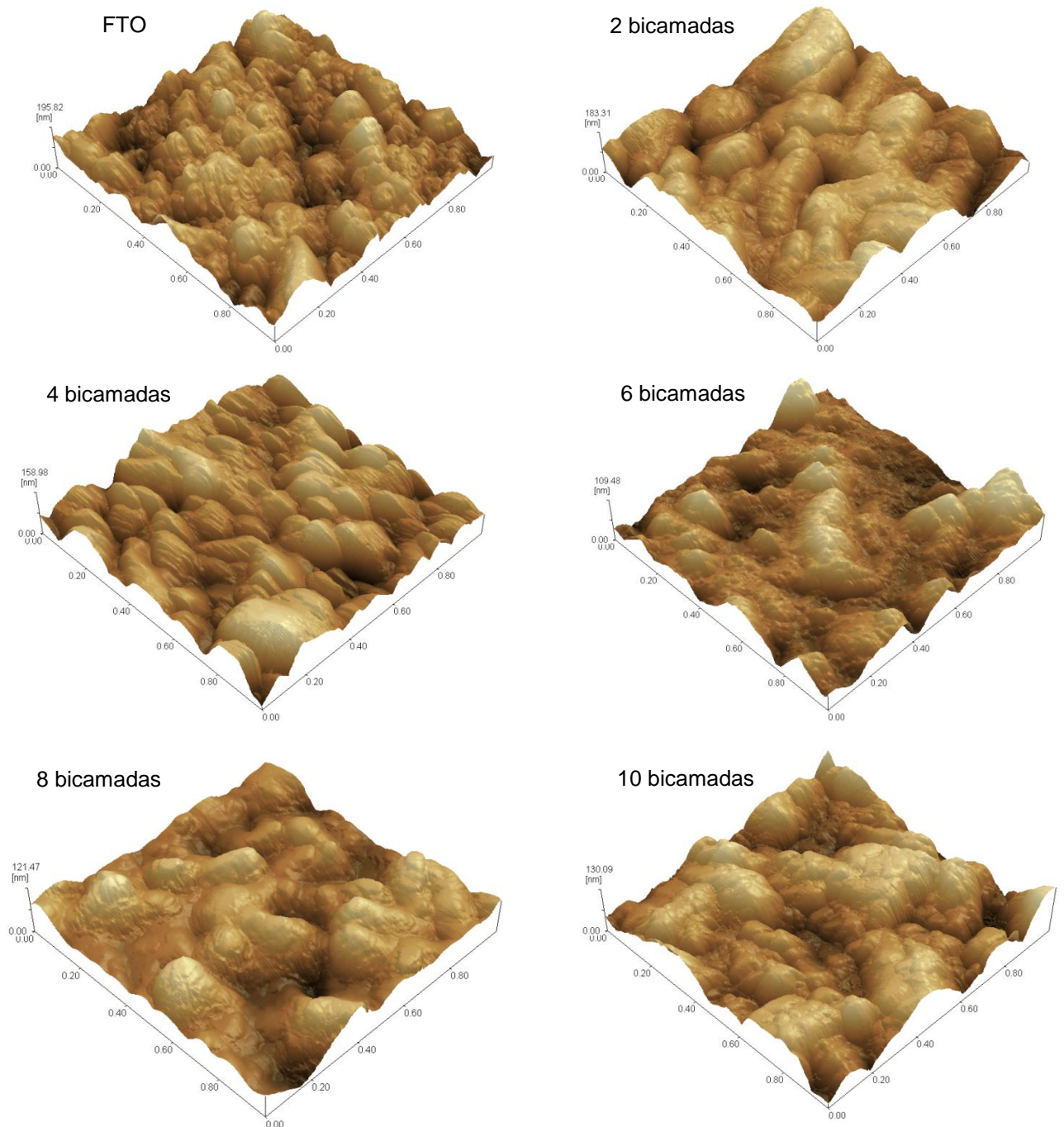
Tabela 13 - Relação do número de bicamadas e a rugosidade

Bicamadas	Rq (nm) (1 x 1 μm)
0	31,148 \pm 2,217
2	29,499 \pm 3,494
4	25,290 \pm 2,751
6	23,939 \pm 3,071
8	22,321 \pm 0,980
10	22,878 \pm 2,956

Santos *et al*⁴⁹ observaram características semelhantes em filmes LbL construídos com polieletrólitos PVS e SiPy⁺Cl⁻ incorporado de NPs de platina depositados em FTO. Os resultados AFM indicaram decréscimo da rugosidade para filmes com configuração (Pt-SiPy⁺Cl⁻/PVS)₅ e (PVS/SiPy⁺Cl⁻)_n, com n = 5 e 12 bicamadas. Observa-se também que filmes LbL (PVS/SiPy⁺Cl⁻)_n, com n = 20 e 30 bicamadas apresentaram aumento na rugosidade atribuído a agregação das moléculas depositadas.⁴⁹

A Figura 27 apresenta as micrografias de AFM para FTO e LbL com 2, 4, 6, 8 e 10 bicamadas. As regiões mais escuras são as depressões da superfície e conforme aumenta a altura vai ficando mais clara a cor, sendo a maior altura indicada no eixo Z ao lado da imagem. Nota-se que as superfícies do FTO com filme LbL de 8 e 10 bicamadas são realmente semelhantes, justificando a rugosidade próxima.

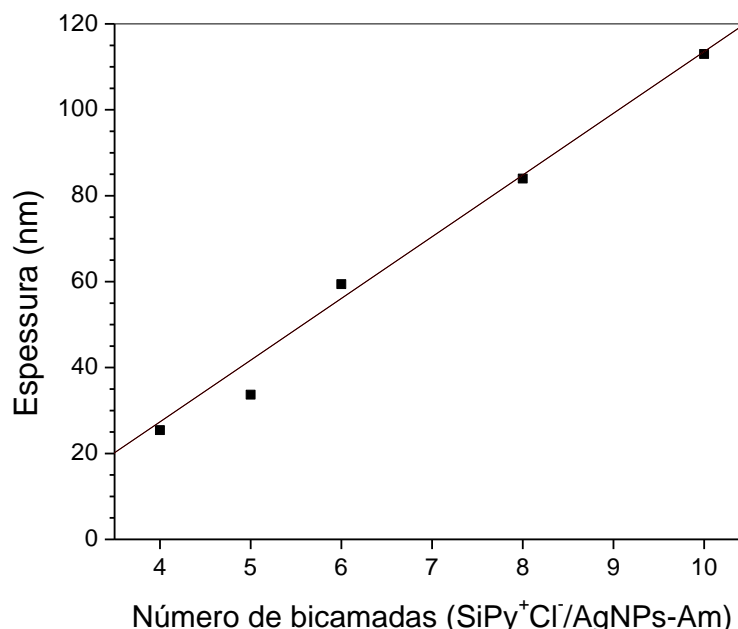
Figura 27 - Imagens AFM para FTO e filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)_n. n = 2, 4, 6, 8 e 10 bicamadas. Janela de varredura de 1 x 1 μm.



Pela técnica de AFM também foi determinado a espessura dos filmes LbL. Isolando uma área do FTO antes de crescer o filme é possível verificar a espessura do filme pelo degrau que se forma entre esta área e a superfície que o filme foi depositado. A Figura 28 exibe a relação entre o número de bicamadas do filme LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) e sua espessura. Há um aumento linear na espessura do filme

com o número de bicamadas. Além disso, os filmes apresentam espessura nanométrica devido a técnica LbL.

Figura 28 - Relação entre a espessura dos filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)_n com o número de bicamadas, onde n = 4, 5, 6, 8 e 10 bicamadas.



7.3 ELETRODO MODIFICADO COM LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs- Am)

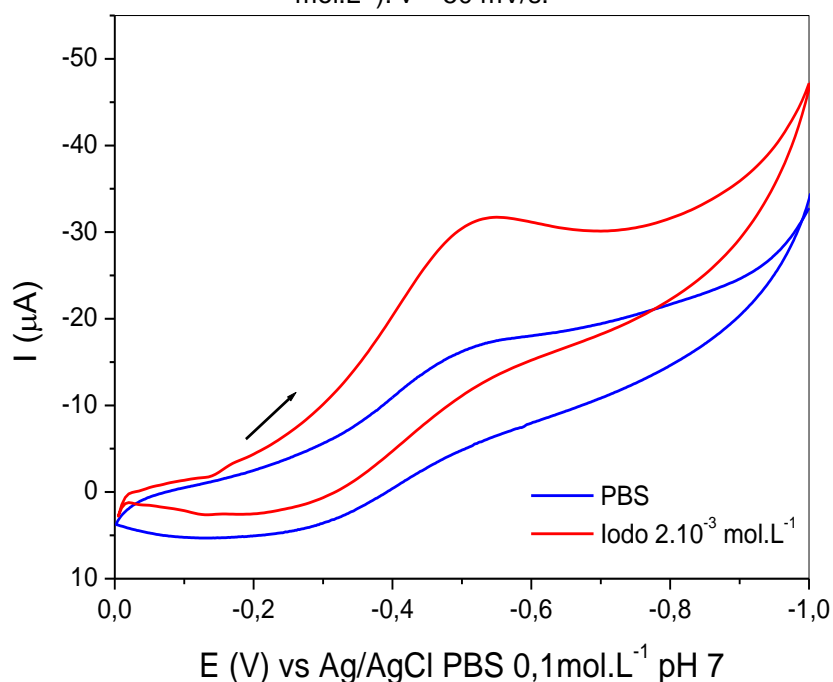
Realizou-se o teste do perfil voltamétrico do eletrodo modificado com LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs) em eletrólito suporte PBS 0,1 mol.L⁻¹ (pH 7) por CV na faixa de -1 a 0 V, região em que ocorre a redução do iodo para verificar seu potencial como eletrodo modificado para detecção do mesmo. Na Figura 29, pode ser observado que o eletrodo modificado com o filme (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) apresenta corrente redox em -0,55 V, referente a redução do iodo (Equação 5).



Na ausência de iodo o eletrodo apresenta pequena corrente, no entanto a adição de iodo ([iodo] = 2.10⁻³ mol.L⁻¹) resulta em aumento de 14,24 μA na corrente de redução no potencial de -0,55 V, isso é um indicativo de que o eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) eletrocatalisa a reação de redução do iodo. Com base nesses resultados, determina-se que é possível aplicar o eletrodo modificado com LbL

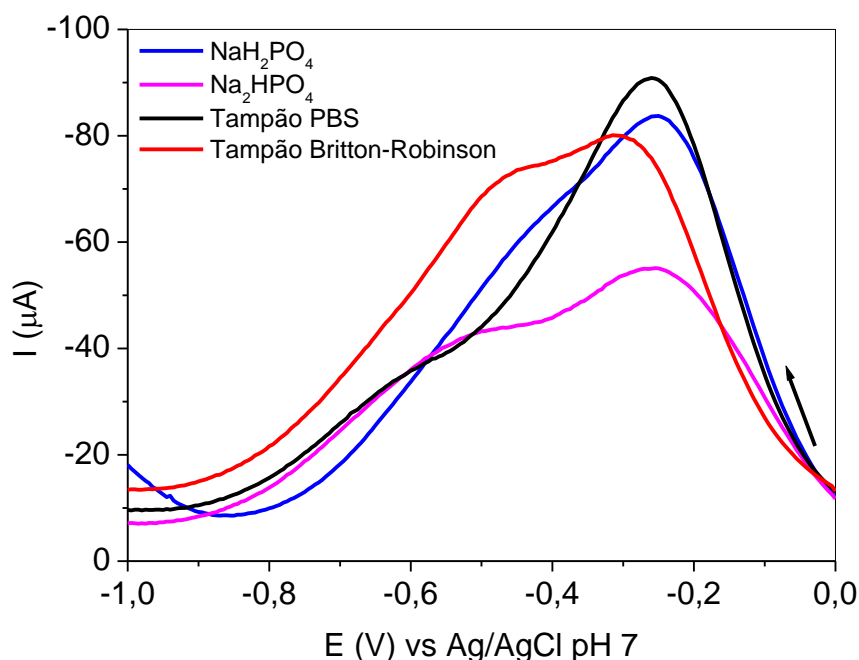
(SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am) como sensor eletroquímico de iodo. Para estudos posteriores, optou-se pela análise por voltametria de pulso diferencial, por ser um método mais sensível.

Figura 29 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado com LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅. Eletrólito suporte PBS 0,1 mol.L⁻¹ pH 7,0 na ausência e presença de solução de iodo ([iodo]= 2.10⁻³ mol.L⁻¹). v = 50 mV/s.



A fim de determinar o melhor eletrólito suporte para detecção do iodo foram estudados diferentes eletrólitos (tampão PBS, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄ e tampão Britton-Robinson, todos em concentração 0,1 mol.L⁻¹ e pH 7,0) na faixa de 0 a -1 V. Para isso, foi utilizado eletrodo com LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅ e concentração de 1.10⁻³ mol.L⁻¹ de iodo. Foram realizadas medidas por VPD. Os voltamogramas obtidos estão apresentados na Figura 30. Nota-se que em potencial próximo a -0,6 V os voltamogramas apresentam resposta de corrente de menor intensidade, relativa a presença de oxigênio. A maior corrente foi obtida em eletrólito suporte PBS (0,1 mol.L⁻¹ e pH 7,0), além de apresentar um perfil melhor definido.

Figura 30 - Voltamogramas de pulso diferencial em diferentes eletrólitos suporte: tampão PBS, NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 e tampão Britton-Robinson, com concentração $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ e pH 7,0, na presença de solução de iodo ($[\text{iodo}] = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). $E_{\text{step}} = 0,005\text{V}$, $v = 50\text{mV/s}$, $E_{\text{pulso}} = 0,05\text{V}$ e $t_{\text{pulso}} = 0,05\text{s}$



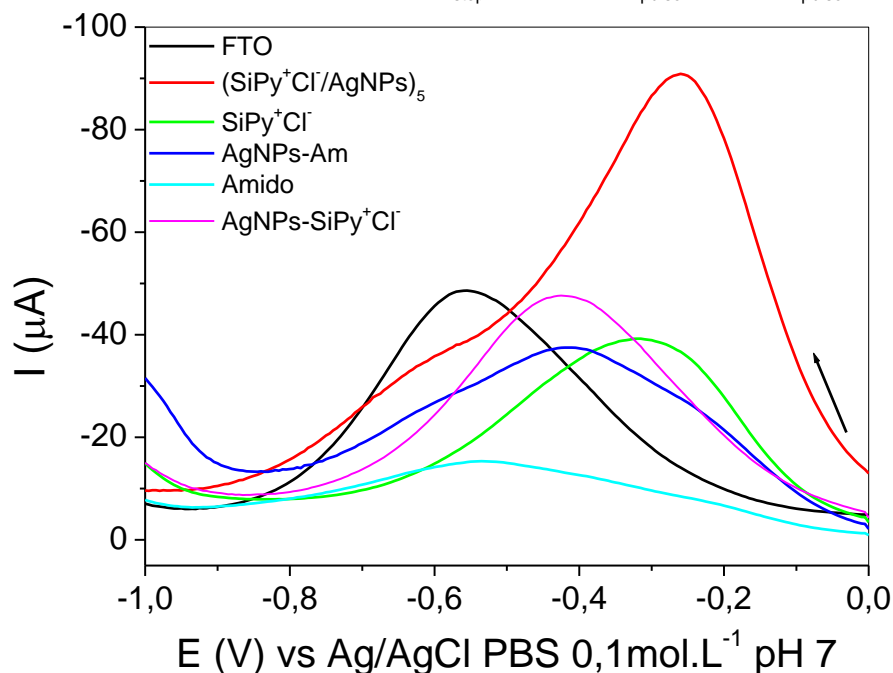
Para comprovar as vantagens do uso do eletrodo modificado, testou-se por voltametria de pulso diferencial diferentes eletrodos com os componentes do filme LbL na presença de $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de iodo. Foram testados o eletrodo modificado com o filme LbL ($\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am}$)₅, FTO sem modificação, eletrodo *drop coated* de SiPy^+Cl^- , amido, AgNPs em SiPy^+Cl^- (132 nm) e AgNPs-Am separadamente. Conforme podemos observar pelos resultados da Figura 31, a corrente obtida para o filme LbL é muito superior a apresentada pelos demais filmes, além de possibilitar a redução do iodo em potenciais menos negativos. Tal resultado é um indicativo de que o sinergismo entre os componentes do filme proporciona um incremento na resposta do eletrodo modificado.

Nota-se que os componentes individuais do filme LbL apresentam corrente muito baixa. No caso do amido a corrente é mínima ($-15,34 \mu\text{A}$). O FTO apresentou corrente considerável ($-48,62 \mu\text{A}$) e o filme apenas de AgNPs sintetizadas em SiPy^+Cl^- corrente de $-47,64 \mu\text{A}$. Porém, o filme LbL ($\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am}$)₅ teve uma maior resposta de corrente ($-90,86 \mu\text{A}$). Observa-se também que os demais componentes utilizados para construção do filme LbL (SiPy^+Cl^- , amido, AgNPs-Am) apresentam picos de corrente muito menores na presença de iodo. Outro fator a ser considerado consiste no deslocamento do potencial de redução do iodo em

potenciais menos negativos em relação aos demais sistemas ($-0,26$ V). Portanto, a interação destes componentes no filme LbL mostra-se vantajosa, aumentando o pico de corrente para detecção de iodo.

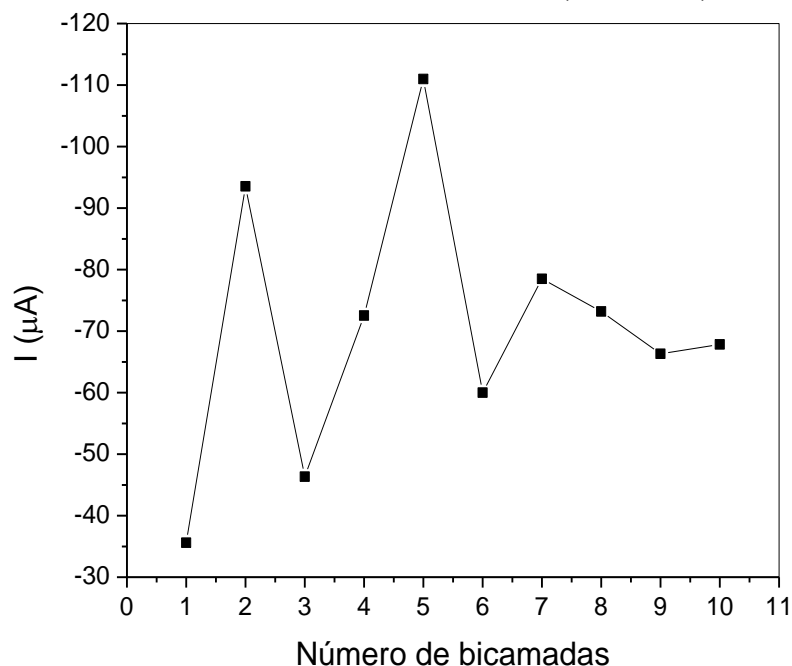
Figura 31 - Voltamogramas de pulso diferencial para FTO, SiPy^+Cl^- , AgNPs-Am, amido, filme LbL $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs})_5$ e AgNPs sintetizadas em SiPy^+Cl^- . Condições: eletrólito suporte PBS $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH 7,0 e iodo $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Parâmetros instrumentais: $v = 50 \text{ mV/s}$, $E_{\text{step}} = 0,005 \text{ V}$, $E_{\text{pulso}} = 0,05 \text{ V}$, $t_{\text{pulso}} = 0,05 \text{ s}$.



O melhor número de bicamadas foi avaliado por VPD. Para este estudo, utilizou-se PBS $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ e iodo na concentração de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Para obter a corrente do pico máximo foi subtraído o valor de corrente do branco em PBS que poderia interferir no resultado. Os resultados do máximo de corrente pelo número de bicamadas está disposto na Figura 32. Podemos observar que a máxima corrente é obtida com 5 bicamadas, sendo esta a configuração do filme LbL utilizada para as demais medidas.

Figura 32 - Relação entre a corrente de pico e o número de bicamadas para filme LbL configuração $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs}-\text{Am})_n$. $n = 1$ a 10 bicamadas. Condições: Eletrólito suporte PBS $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH 7,0 e iodo $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Parâmetros instrumentais: $v = 50 \text{ mV/s}$, $E_{\text{step}} = 5 \text{ mV}$, $E_{\text{pulso}} = 0,05\text{V}$, $t_{\text{pulso}} = 0,05\text{s}$



Este valor é similar ao obtido para outros sistemas LbL utilizados na literatura.^{46,47,73} Por exemplo, Jesus *et al*⁴⁶ avaliaram a influência do número de bicamadas do filme LbL na resposta de corrente do eletrodo. Para isso eletrodos modificados com filme LbL de configuração $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{CuTsPc})_n$, com $n = 2, 4, 6, 8$ e 10 bicamadas, foram submetidos a CV na presença de H_2O_2 na concentração de $4,76 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Foi verificado maior valor de corrente de redução para o filme com 2 bicamadas. Além disso, os valores de corrente diminuem com o aumento do número de bicamadas, comportamento atribuído ao aumento da resistência inibindo o processo de transferência de elétrons.⁴⁶

7.4 OTIMIZAÇÃO PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL

Devido a um considerável número de variáveis instrumentais que influenciam na resposta de corrente na técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD) faz-se necessário otimizar esses parâmetros. Para isso, o uso de planejamento fatorial permite reduzir o número de experimentos necessários, além de verificar o efeito de interação entre as variáveis.⁷⁴ Trabalhos relatados na literatura tem utilizado

planejamento fatorial para verificar as melhores condições de análise em técnicas eletroquímicas.⁷⁴⁻⁷⁹

Sendo assim, realizou-se a otimização dos parâmetros da VPD por planejamento fatorial 2^3 . Os parâmetros alterados foram potencial de pulso (E_{pulso}), velocidade de varredura (v) e tempo de pulso (t_{pulso}). Os resultados foram avaliados com relação a corrente do pico de redução. As análises foram realizadas em tampão PBS $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH 7,0 e concentração de $1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de iodo. A Tabela 14 apresenta os resultados de cada ensaio para otimização dos parâmetros instrumentais.

Tabela 14 - Respostas eletroquímicas para otimização dos parâmetros instrumentais da VPD via planejamento fatorial 2^3 .

Ensaio	E_{pulso}	v	t_{pulso}	$I (\mu\text{A})$
1	-	-	-	-26,629
2	+	-	-	-41,599
3	-	+	-	-29,803
4	+	+	-	-40,433
5	-	-	+	-30,092
6	+	-	+	-34,251
7	-	+	+	-47,273
8	+	+	+	-42,963
9	0	0	0	-33,475
10	0	0	0	-33,638
11	0	0	0	-33,781
12	0	0	0	-33,500

O desvio padrão encontrado para o ponto central (realizado em quadruplicada) foi de 0,147, em nível de 95% de confiança. Os efeitos calculados com base nos dados obtidos estão dispostos na Tabela 15. Os cálculos foram realizados para determinar quais variáveis, ou interações, possuem efeito significativo sobre a resposta eletroquímica. Com base nestes resultados foi determinado os melhores parâmetros para técnica de VPD na detecção do iodo, no sistema de eletrodos adotado neste trabalho.

Tabela 15 - Efeitos calculados para otimização via planejamento fatorial 2^3 dos parâmetros instrumentais da VPD para detecção de iodo.

Estimativa do desvio	
$s = 0,141 \times t_{95\%, U=3}$	0,450
Efeitos principais	
E_{pulso}	6,362
v	6,975
t_{pulso}	4,029
Interações de segunda ordem	
$E_{\text{pulso}} \times v$	-3,202
$E_{\text{pulso}} \times t_{\text{pulso}}$	-6,438
$v \times t_{\text{pulso}}$	5,971
Interações de terceira ordem	
$E_{\text{pulso}} \times v \times t_{\text{pulso}}$	-1,032

Conforme tratamento estatístico realizado (com 95% de confiança) o efeito de interação de terceira ordem é significativo. Sendo assim, os efeitos principais e os efeitos de interações de segunda ordem não podem ser interpretados individualmente, sendo menos importantes para a variação na intensidade de corrente. Para melhor visualizar os resultados neste caso utiliza-se a representação geométrica conforme Figura 33.

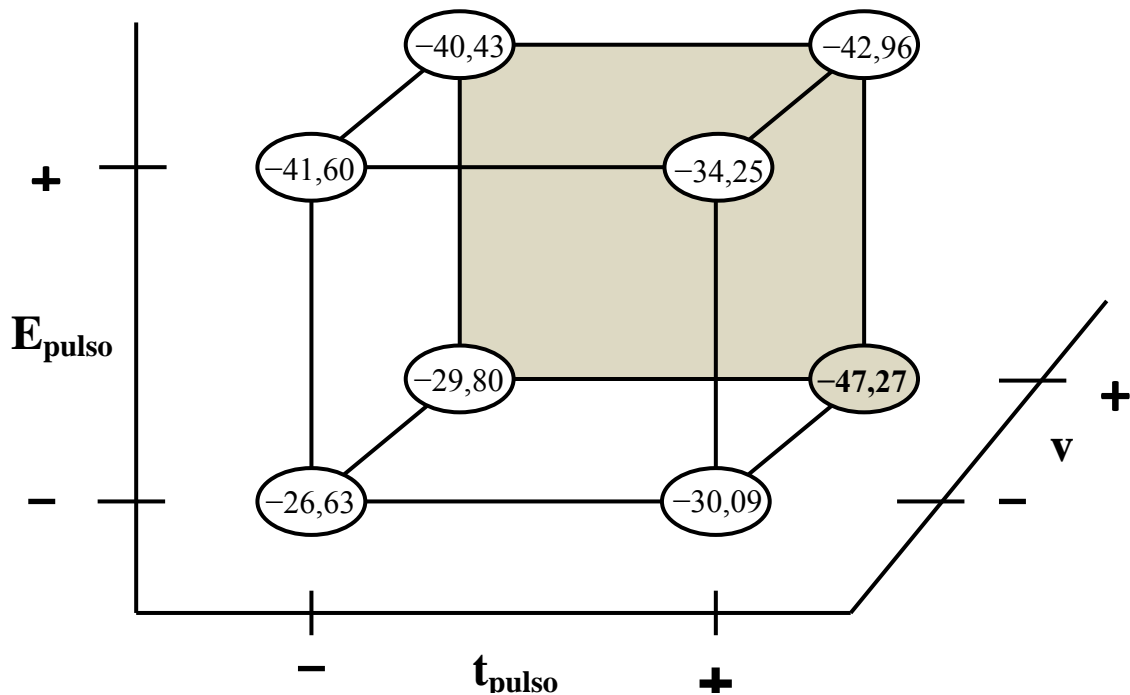
Para o efeito principal velocidade de varredura (v) pode ser observado que na face de 40 mV.s^{-1} (nível +) três vértices apresentam intensidade de corrente maior quando comparados com os vértices da face referente a 20 mV.s^{-1} (nível -). Apenas o vértice $+-+$ (E_{pulso} , t_{pulso} , v) apresenta menor intensidade de corrente quando comparado a face de 20 mV.s^{-1} para velocidade de varredura.

O efeito de interação entre E_{pulso} e t_{pulso} pode ser analisado na face em destaque. Fixando-se os parâmetros v (nível +) e t_{pulso} (nível -) há um acréscimo de $10,63 \mu\text{A}$ na intensidade de corrente negativa quando o E_{pulso} passa do menor para o maior nível. No entanto, fixando-se v e t_{pulso} em seus níveis maiores (+) observa-se o comportamento contrário, com decréscimo de $4,31 \mu\text{A}$ na intensidade da corrente de redução ao variar E_{pulso} do menor para o maior nível. Isto evidencia que o efeito do t_{pulso} depende do E_{pulso} utilizado.

Por fim, os efeitos de interação de terceira ordem pode ser observado comparando-se os vértices com níveis $(- - +, \text{ensaio } 2)$ e $(+ + -, \text{ensaio } 7)$ para as variáveis v , t_{pulso} e E_{pulso} , respectivamente. Nota-se que a variação dos três

parâmetros ao mesmo tempo apresenta a maior diferença na intensidade de corrente ($5,67 \mu\text{A}$) entre vértices opostos. Confirmando assim, a importância da interação entre os três parâmetros para resposta na magnitude da corrente de redução na detecção de iodo. Com base na análise dos dados, nota-se maior valor de corrente para o ensaio 7, em que temos os parâmetros instrumentais E_{pulso} em seu nível (-) e os demais parâmetros (v e t_{pulso}) em seu nível (+). Sendo assim, são definidos os seguintes parâmetros instrumentais ótimos para o sistema deste trabalho: E_{pulso} de 50 mV , velocidade de varredura de $40 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ e t_{pulso} de $0,05 \text{ s}$.

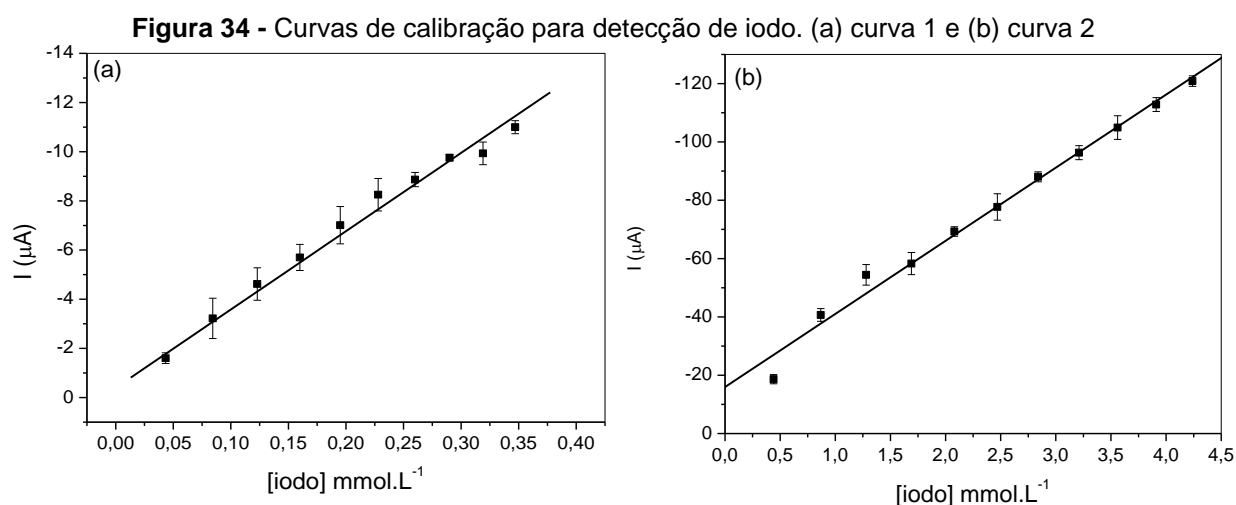
Figura 33 - Interpretação geométrica para os efeitos de interação de terceira ordem ($E_{\text{pulso}} \times v \times t_{\text{pulso}}$) para os parâmetros de VPD na detecção de iodo.



7.5 CURVA DE CALIBRAÇÃO

Definido os parâmetros instrumentais para VPD, realizou-se medidas para verificar a linearidade da corrente com relação a concentração de iodo. Com isso verificou-se duas regiões de concentração com linearidade de corrente. Sendo estas entre $4,34 \cdot 10^{-5}$ a $3,47 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (curva 1) e $4,4 \cdot 10^{-4}$ a $4,24 \cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de iodo (curva 2). As curvas de calibração foram realizadas em triplicata e o gráfico com os valores médios de corrente e seus respectivos desvios padrão está disposto na Figura 34. A equação da reta obtida para curva 1, com os valores apresentados no

gráfico, foi $I (\mu\text{A}) = -3,05 \cdot 10^4 [\text{iodo}] - 0,747$, com coeficiente de regressão $R=0,9936$. O cálculo de para o limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram realizados segundo critérios estabelecidos pela IUPAC.⁸⁰ Obteve-se valores LD e LQ, respectivamente, $5,56 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ e $1,85 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ para curva 1. Para curva 2 obteve-se equação da reta $I (\mu\text{A}) = -2,51 \cdot 10^4 [\text{iodo}] - 15,949$ e coeficiente de regressão $R=0,9938$. O valor de $1,51 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ foi obtido para o LD e $5,04 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ para o LQ.



Kormosh *et al*⁵⁷ utilizaram eletrodo com Rodamina B para detecção de iodo, obtiveram linearidade para detecção de iodo também entre $1 \cdot 10^{-6}$ a $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$. Obteve-se o valor de $3,9 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ para o limite de detecção.⁵⁷

Ensaio de recuperação realizados em eletrólito suporte evidenciaram boa repetibilidade dos eletrodos modificados com filmes LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅. A Tabela 16 apresenta os valores obtidos para recuperação do iodo em eletrólito suporte. Os resultados demonstram a potencialidade de aplicação do sensor para detecção do analito, uma vez que o percentual de recuperação ficou acima de 90 %.

Tabela 16 - Resultados para ensaio de recuperação de iodo em PBS 0,1 mol.L⁻¹ pH 7,0

Curva de calibração	Adicionado (mmol.L ⁻¹)	Recuperado (mmol.L ⁻¹)	Recuperação (%)
1	0,0766	0,079 ± 0,02	103,26
	0,0832	0,084 ± 0,02	100,60
	0,145	0,149 ± 0,01	102,76
2	1,28	1,21 ± 0,06	94,53
	1,70	1,63 ± 0,02	95,88
	2,84	2,60 ± 0,03	91,55

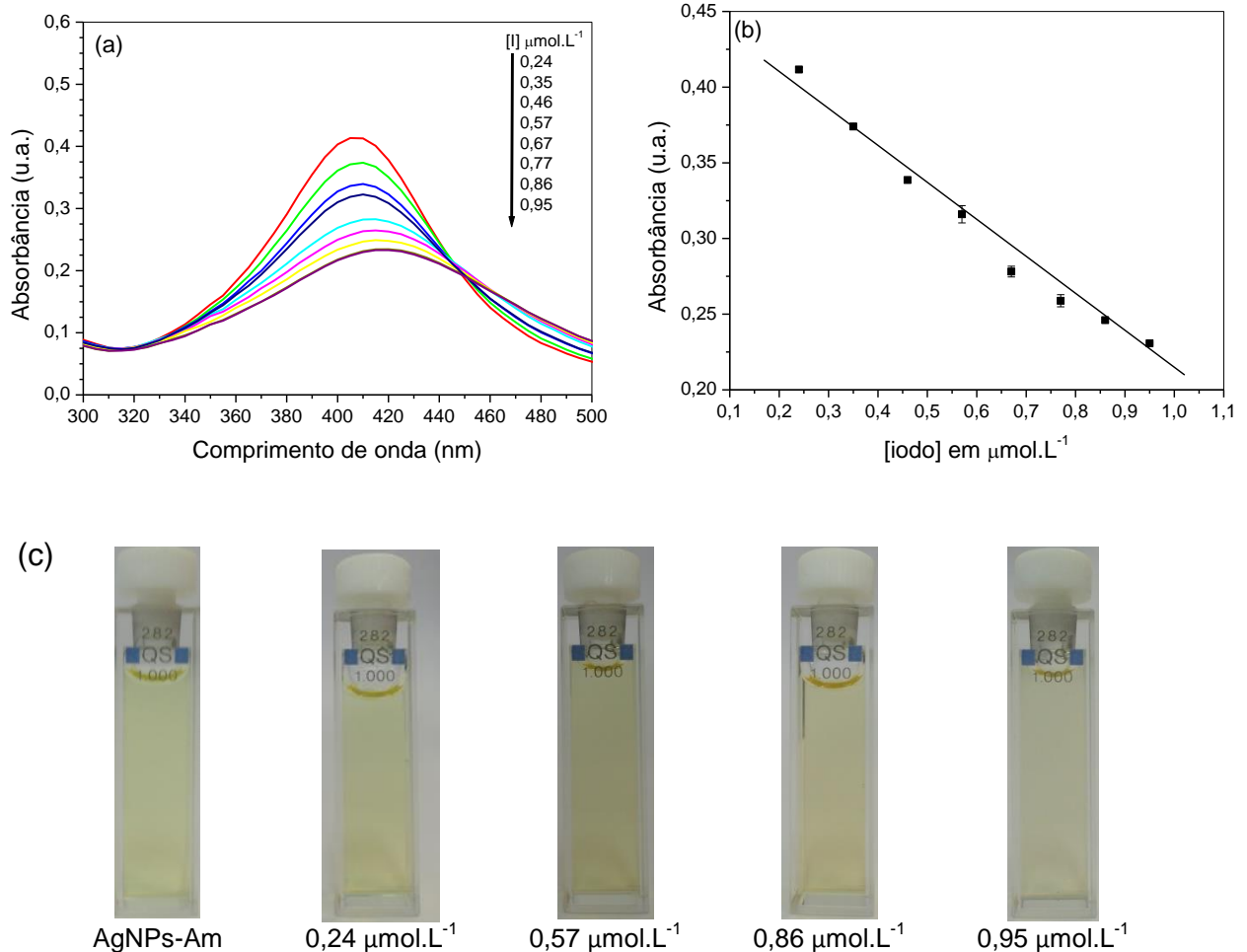
7.6 SENSOR COLORIMÉTRICO DE IODO

As MNPs possuem uma forte banda de absorção no espectro UV-Vis, conhecida como banda *plasmon*, característica para cada metal.^{7,81} Devido a este comportamento específico, as propriedades ópticas dessas NPs podem ser exploradas. Além disso, as NPs apresentam cores intensas e são fotoestáveis sendo consideradas ideais para aplicação como sensor colorimétrico.⁸¹

Neste trabalho, analisou-se as alterações causadas na cor das AgNPs-Am com a presença de diferentes concentrações de iodo. Para isso, adicionou-se a dispersão de AgNPs-Am (diluição 1:20 em água destilada) diferentes alíquotas de uma solução estoque de iodo, obtendo várias concentrações finais. Cada solução foi analisada por espectroscopia de UV-Vis. Obteve-se duas faixas de linearidade relacionando a concentração de iodo e a absorbância em 410 nm. Os cálculos de LD e LQ para as curvas obtidas foram realizados segundo critérios estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).⁸² A Figura 35 apresenta os resultados obtidos para concentrações de iodo entre $2,4 \cdot 10^{-7}$ a $9,5 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹.

Conforme observado na Figura 35a, há um decréscimo na intensidade de absorbância na banda *plasmon* das AgNPs com o aumento da concentração de iodo. Ocorre linearidade para concentração de iodo entre $2,4 \cdot 10^{-7}$ a $9,5 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹ (Figura 35b), observa-se que após essa concentração a absorbância mantém-se praticamente inalterada. A equação da reta obtida foi $I (\mu A) = - 2,57 \cdot 10^5 [\text{iodo}] + 0,463$ com R de 0,9914. Os LD e LQ nesta faixa são de $1,71 \cdot 10^{-8}$ mol.L⁻¹ e $5,69 \cdot 10^{-8}$ mol.L⁻¹, respectivamente. As imagens apresentadas na Figura 35c, permitem observar as alterações de cor sofridas pela dispersão de AgNPs com o aumento da concentração de iodo.

Figura 35 - (a) Espectros UV-Vis para AgNPs-Am com adição de iodo ([iodo] 0,24 a 0,95 $\mu\text{mol.L}^{-1}$). (b) Relação entre a absorbância e a concentração de iodo. (c) Imagens das soluções com diferentes concentrações de iodo.

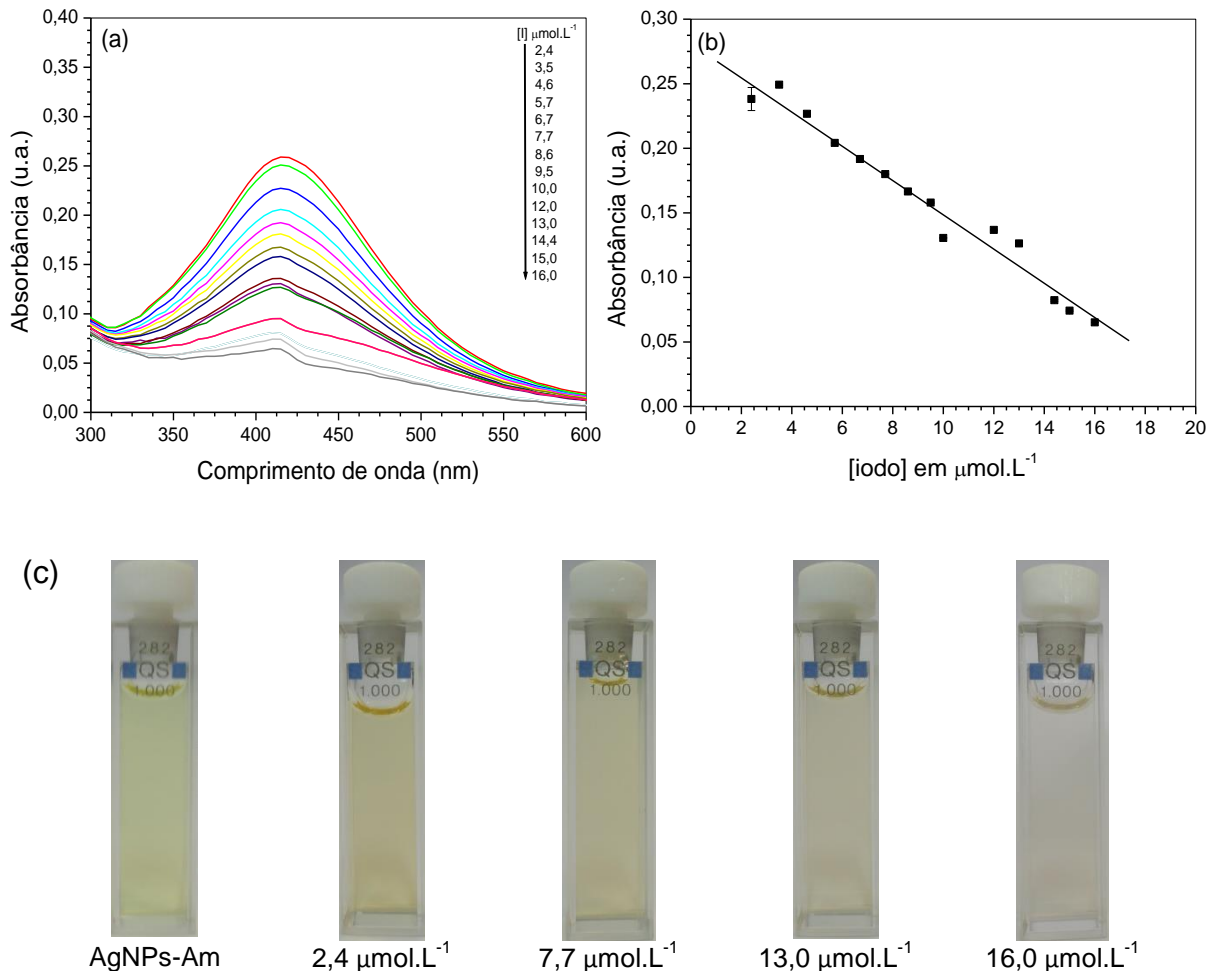


A ampla faixa de concentração de iodo estudada permitiu determinar outra região de linearidade entre $2,4 \cdot 10^{-6}$ a $1,6 \cdot 10^{-5}$ mol.L^{-1} (Figura 36b). Nota-se, que também há decréscimo no valor de absorbância com o aumento da concentração de iodo (Figura 36a), mas com coeficiente angular diferente. A equação da reta obtida neste caso foi $I (\mu\text{A}) = -1,30 \cdot 10^4 [\text{iodo}] + 0,283$ e R de 0,9853. Obteve-se LD e LQ, respectivamente, $1,06 \cdot 10^{-6}$ mol.L^{-1} e $3,55 \cdot 10^{-6}$ mol.L^{-1} . Observa-se também uma estabilização nos valores de absorbância para concentrações de iodo acima de $1,6 \cdot 10^{-5}$ mol.L^{-1} , atribuído a transparência da solução (absorbância próxima a zero). Esta afirmação é comprovada pelas imagens obtidas da dispersão com AgNPs apresentadas na Figura 36c.

Resultados semelhantes foram observados por Fan *et al*⁷ ao utilizarem AgNPs imobilizadas em amido. Ao utilizar as AgNPs como sensor colorimétrico para

determinação quantitativa de mercúrio houve decréscimo da absorbância com o aumento da concentração de Hg.⁷

Figura 36 - (a) Espectros UV-Vis para AgNPs-Am com adição de iodo ([iodo] de 2,4 a 16 $\mu\text{mol.L}^{-1}$). (b) Relação entre a absorbância e a concentração de iodo. (c) Imagens das soluções com diferentes concentrações de iodo.

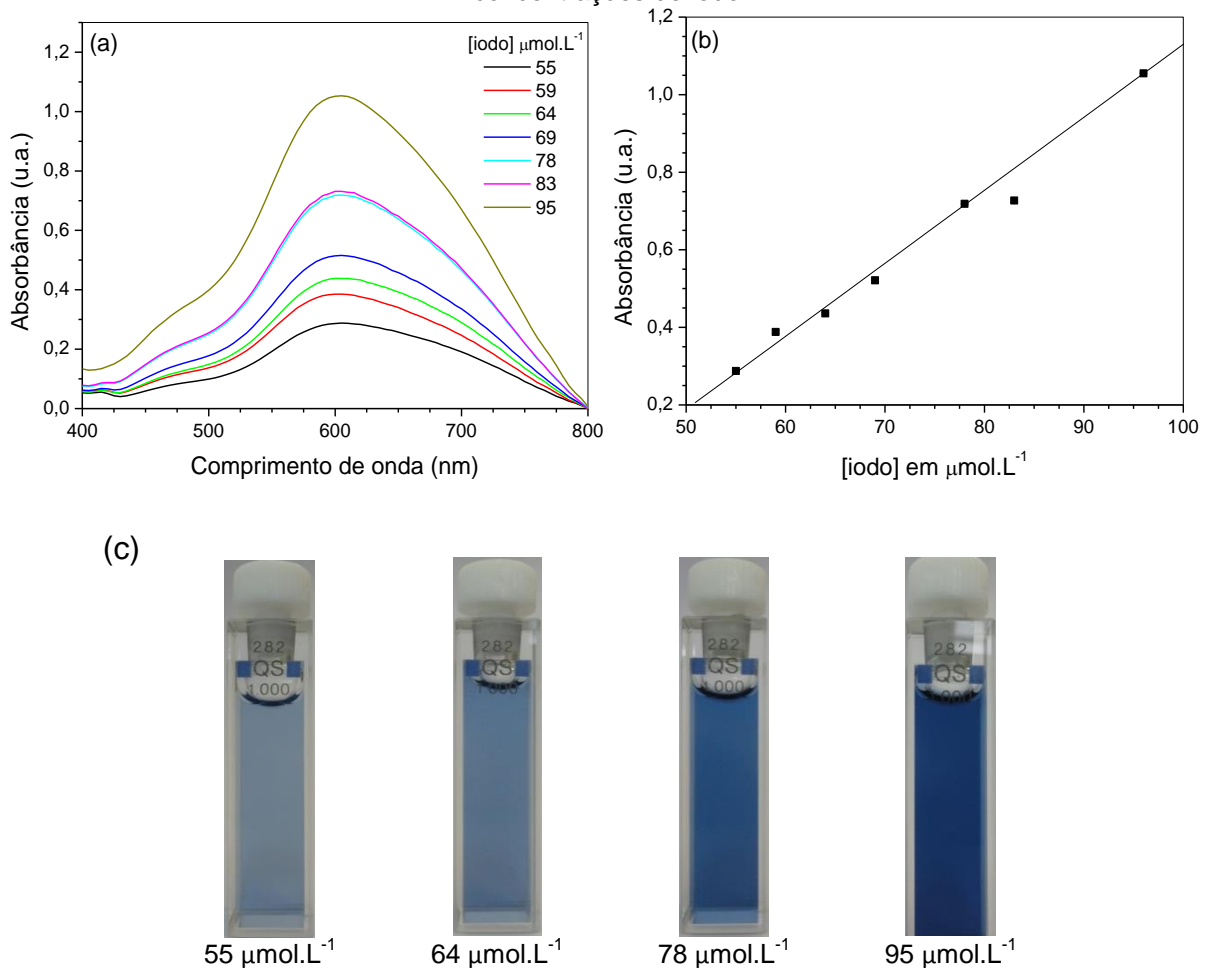


As duas curvas de calibração apresentadas até agora foram construídas para variações de cores com absorbância em 410 nm nos espectros de UV-Vis (amarelo), referente à banda *plasmon* das AgNPs. Depois das AgNPs-Am diminuírem a intensidade de amarelo até uma solução coloidal transparente, o aumento da adição de iodo resultou em solução coloidal de cor azul, característica da interação entre iodo e amido formando um complexo de cor azul. As variações de cor agora, foram acompanhadas pela absorbância no espectro UV-Vis em 600 nm (azul). A coloração azul é obtida para concentrações de iodo acima de $5,50 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ até concentração de $9,50 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$.

A Figura 37a, apresenta os espectros de UV-Vis obtidos com bandas em aproximadamente 600 nm que aumenta com a concentração de iodo. Este comportamento é o oposto do observado para as AgNPs, pois a cor fica mais intensa para maiores concentrações de iodo. Portanto, o decréscimo da absorbância da banda em 410 nm indica a reação das AgNPs com o iodo, enquanto o aparecimento da banda em 600 nm refere-se a interação do iodo com amido, característica pelo aparecimento da cor azul, que aumenta com a adição de iodo.

A linearidade para este comportamento apresentou correlação $R = 0,9920$ (Figura 37b). A equação da reta obtida é de $I (\mu A) = 1,80 \cdot 10^4 [\text{iodo}] - 0,699$ com LD de $1,37 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ e LQ de $4,58 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$. As imagens apresentadas na Figura 37c, foram obtidas para as diferentes concentrações de iodo e evidenciam a intensificação da cor azul.

Figura 37 - (a) Espectros UV-Vis para AgNPs-Am com adição de iodo ($[\text{iodo}]$ de 55 a 95 $\mu\text{mol.L}^{-1}$). (b) Relação entre a absorbância e a concentração de iodo. (c) Imagens das soluções com diferentes concentrações de iodo.



Vigneshwaram *et al*¹⁷ comprovaram que o iodo possui afinidade maior com AgNPs, em detrimento da sua interação com o amido. Essa conclusão pode ser alcançada por iodometria. A espectroscopia na região do UV-Vis realizada em diferentes intervalos da titulação com iodo confirmou que este reage preferencialmente com as AgNPs. Pois, ao submeter a solução coloidal de AgNPs a presença do iodo observa-se inicialmente uma banda em 425 nm, correspondente a formação de um complexo entre o iodo e as AgNPs. A adição de iodo em excesso resulta na formação do complexo sabidamente formado entre a amilose e o iodo, com coloração azul escura e banda em 525 nm. Neste momento adiciona-se AgNPs e novamente a única banda observada foi correspondente ao complexo entre as AgNPs e o iodo, comprovando sua maior afinidade. Além disso, Vigneshwaram *et al*¹⁷ propuseram, com base nessas observações, que as AgNPs estão presentes no interior da estrutura helicoidal da amilose interagindo da mesma maneira que o iodo e a amilose.¹⁷

Na síntese otimizada neste trabalho, as AgNPs foram igualmente estabilizadas em amido, portanto, essa conformação pode estar presente. Sendo assim, a linearidade encontrada entre a concentração de iodo e a absorbância em 410 nm deve-se a afinidade preferencial entre as AgNPs e o iodo. Isto resulta em mudança atenuada e gradual na cor da solução coloidal que podem ser quantificadas por espectroscopia de UV-Vis e utilizadas para determinação da concentração de iodo. Podemos observar que o mesmo se repete para a cor azul obtida com maior concentração de iodo, devido ao complexo formado entre o amido e o iodo. Portanto, podemos afirmar que as AgNPs-Am permitem a quantificação de iodo quando em menores concentrações.

A Tabela 17 estabelece uma comparação entre os resultados obtidos neste trabalho e alguns resultados encontrados na literatura. Observa-se que o sensor colorimétrico permite a detecção de iodo em concentrações menores tanto para utilização das AgNPs-Am deste trabalho, assim com para os trabalhos descritos na literatura. A metodologia empregada neste trabalho permite a detecção de iodo até $1,71 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ conforme LD encontrado para o sensor colorimétrico.

Chen *et al*⁵⁵ desenvolveram um método colorimétrico com AuNPs que detectam concentrações de $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ de iodo. No entanto, a amplitude da faixa de concentração obtida estende-se apenas até $6 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$.⁵⁵

Ao utilizarmos as AgNPs-Am sintetizadas neste trabalho, o LD apresentado também está na magnitude de 10^{-8} mol.L⁻¹ de iodo e estende-se a concentrações de até $9,5 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹, apresentando vantagens pela maior faixa de concentração para quantificação.

Considerando que as mesmas AgNPs-Am podem ser empregadas na construção de sensor voltamétrico para detecção de iodo, a faixa de detecção do iodo estende-se até uma concentração de $4,24 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹. Obteve-se duas regiões de linearidade para o sensor eletroquímico construído neste trabalho, entre $4,34 \cdot 10^{-5}$ a $3,47 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ e entre $4,40 \cdot 10^{-4}$ a $4,24 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹. Como podemos observar na Tabela 17, trabalhos encontrados na literatura oferecem respostas potenciométricas para detecção de iodo com região de linearidade única entre $1 \cdot 10^{-6}$ a $1 \cdot 10^{-1}$ mol.L⁻¹ de iodo.

Os métodos desenvolvidos neste trabalho utilizando as AgNPs-Am no desenvolvimento de sensores (voltamétrico e colorimétrico) possibilitam a detecção de iodo em concentrações entre $5,69 \cdot 10^{-8}$ até $4,24 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹. Como podemos observar na Tabela 17, cada um dos métodos de detecção possui suas vantagens. O desenvolvimento de apenas um desses métodos limitaria as concentrações para detecção de iodo. O sensor colorimétrico possibilitou a detecção em menores concentrações de iodo, por sua vez, o sensor eletroquímico permite a detecção de iodo em maiores concentrações.^{57,58}

Tabela 17 - Comparação entre os resultados voltamétricos e colorimétricos obtidos e os descritos na literatura para detecção de iodo

Detecção	Sistema	Faixa de concentração (mol.L ⁻¹)	R	LD (mol.L ⁻¹)	LQ (mol.L ⁻¹)	Ref.
Voltamétrico	LbL	4,34.10 ⁻⁵	0,9936	5,56.	1,85.	Neste trabalho
	(SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) ₅	a 3,47.10 ⁻⁴		10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	
	LbL	4,40.10 ⁻⁴	0,9938	1,51.	5,04.	
	(SiPy ⁺ Cl ⁻ /AgNPs-Am) ₅	a 4,24.10 ⁻³		10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	
Potenciométrico	Rodamina B	1.10 ⁻⁶ a 1.10 ⁻¹	-	3,9.	-	Kormosh <i>et al</i> ⁶⁷
				10 ⁻⁷		
Colorimétrico	AgNPs-Am	2,4.10 ⁻⁷ a 9,5.10 ⁻⁷	0,9914	1,71.	5,69.	Neste trabalho
				10 ⁻⁸	10 ⁻⁸	
		2,4.10 ⁻⁶ a 1,6.10 ⁻⁵	0,9853	1,06.	3,55.	
					10 ⁻⁶	10 ⁻⁶
		5,5.10 ⁻⁵ a 9,5.10 ⁻⁵	0,9920	1,37.	4,58.	
				10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	
	AuNPs	1.10 ⁻⁸ a 6.10 ⁻⁷	0,9950	1.10 ⁻⁸	-	Chen <i>et al</i> ⁶⁵

8 CONCLUSÕES

As AgNPs-Am obtidas neste trabalho apresentaram boas características para aplicação na detecção de iodo. Sendo possível sua aplicação como sensor eletroquímico e colorimétrico. Esta combinação permite a quantificação e detecção de iodo em uma ampla faixa de concentração.

O uso de polissacarídeos na síntese de AgNPs resulta em um sistema biologicamente compatível. O amido apresenta vantagens atribuídas ao baixo custo, alta disponibilidade e caráter atóxico. A rota de síntese por redução química do AgNO_3 pela ação do NaBH_4 como redutor, e amido para estabilização das AgNPs mostrou-se mais eficiente em banho de gelo (5°C). A baixa temperatura utilizada confere menor gasto energético ao procedimento. Além disso, baixas temperaturas diminuem a energia cinética da reação e conseqüentemente as colisões entre as NPs, diminuindo a agregação. A concentração ótima encontrada para cada reagente foi de 0,6 % (m/v) de amido, $3,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaBH_4 e $0,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 .

O tamanho médio obtido para as AgNPs-Am ficou entre 21 e 77 nm. Além disso, resultados de potencial zeta indicaram a estabilidade da solução coloidal. Os resultados de DLS demonstraram que realmente as AgNPs-Am apresentam pequenas variações no tamanho sendo armazenadas em temperatura ambiente (25°C) por até 115 dias, resultado da baixa aglomeração. Portanto, neste período de tempo, as AgNPs-Am mantém tamanho apropriado para aplicação em filmes finos para modificação de eletrodos.

Para possibilitar a aplicação das AgNPs-Am na construção de filmes finos pela técnica LbL, o uso de NaBH_4 como agente redutor foi fundamental, pois as cargas negativas da dispersão são atribuídas a adsorção de íons BH_4^- na superfície das AgNPs. Os filmes foram construídos alternando as AgNPs-Am (poliânion) com SiPy^+Cl^- (policátion), obtendo-se filmes $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_n$. Estudo da cinética de deposição dos filmes LbL indicaram que o tempo ótimo de imersão nas soluções de polieletrólitos é de 4 minutos. Resultados de espectroscopia UV-Vis e voltametria cíclica que a melhor concentração para o SiPy^+Cl^- é de 2 mg/mL e as condições de pH obtidas na síntese das AgNPs-Am e preparação do SiPy^+Cl^- não devem ser alteradas. Os filmes construídos com essas condições apresentaram aumento linear na espessura com o número de bicamadas, conforme resultados AFM. O estudo de

rugosidade demonstrou que ocorre um decréscimo nos valores de rugosidade com a deposição das bicamadas, atribuído à cobertura homogênea do substrato devido a deposição do filme, preenchendo as depressões características da superfície do FTO. Espectros de FTIR apresentaram deslocamento de bandas indicando a interação entre os componentes do filme.

Os eletrodos modificados com filmes LbL de $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_n$ apresentaram resposta eletroquímica para detecção de iodo. O uso de tampão PBS $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 7,0) como eletrólito suporte e filmes com 5 bicamadas foi estabelecido após otimização das condições. A melhora na intensidade de corrente com a construção dos filmes, em detrimento do uso individual de seus componentes foi confirmada por VPD. Os parâmetros instrumentais da VPD foram otimizados por planejamento fatorial 2^3 . Os resultados indicaram que a interação de terceira ordem dos fatores é significativa para a variação na intensidade de corrente do sistema estudado, evidenciando a importância do estudo dos efeitos causados por sua alteração em conjunto. Após análises estatísticas, obteve-se como parâmetros ótimos $E_{\text{pulso}} = 50 \text{ mV}$, $v = 40 \text{ mV.s}^{-1}$ e $t_{\text{pulso}} = 0,05 \text{ s}$.

O eletrodo modificado com filme LbL $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{AgNPs-Am})_5$ foi aplicado para detecção de iodo por VPD. Obteve-se curvas de calibração para concentrações de iodo entre $4,34 \cdot 10^{-5}$ a $3,47 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (curva 1) com LD e LQ, respectivamente, $5,56 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ e $1,85 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ e concentrações de iodo entre $4,40 \cdot 10^{-4}$ a $4,24 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de iodo (curva 2), com LD de $1,51 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ e LQ de $5,04 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Os ensaios de recuperação realizados apresentaram resultados acima de 90% para recuperação do iodo, evidenciando a potencial aplicabilidade do eletrodo desenvolvido neste trabalho.

Para a aplicação das AgNPs-Am como sensor colorimétrico de iodo, obteve-se resultados para menores concentrações de iodo. A relação de linearidade entre a absorbância e a concentração de iodo nos espectros de UV-Vis nos comprimentos de onda citados, permite ampliar a detecção de iodo neste trabalho para concentrações de $1,71 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$. A maior concentração de iodo detectada segundo as curvas analíticas obtidas para o sensor colorimétrico foi de $9,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Portanto, a combinação neste trabalho de ambos os métodos permite uma faixa para detecção de iodo em concentrações na faixa de concentração de 10^{-8} a $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

9 TRABALHOS FUTUROS

Para continuidade desse trabalho sugere-se:

- Recuperação em amostras comerciais de produtos que contenham iodo.
- Formação de filmes com outros polímeros de interesse.
- Utilização de outras espécies de interesse ambiental ou farmacológico para determinação utilizando o filme LbL (SiPy⁺Cl⁻/AgNPs-Am)₅.

REFERÊNCIAS

- ¹ HUANG, C.; NOTTEN, A.; RASTERS, N. Nanoscience and technology publications and patents: a review of social science studies and search strategies. **The Journal of Technology Transfer**, v. 36, n. 2, p.145-172, abr. 2011.
- ² JORTNER, J.; RAO, C. N. R. Nanostructured advanced materials. Perspectives and directions. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 9, p. 1491-1506, nov. 2002.
- ³ RAO, C. N. R.; CHEETHAM, A. K. Science and technology of nanomaterials: current status and future prospects. **Journal of Materials Chemistry**, v. 11, p. 2887-2894, 2001.
- ⁴ MANNO, D. *et al.* Synthesis and characterization of starch-stabilized Ag nanostructures for sensors applications. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 354, p.5515-5520, 2008.
- ⁵ EDELSTEIN, A. S.; CAMMARATA, R. C. **Nanomaterials: Synthesis, properties and applications**. Philadelphia: Institute of Physics Publishing, 1998.
- ⁶ LIZ-MARZÁN, L. M. Nanometals: formation and color. **Materials Today**, v. 7, p. 26-31, 2004.
- ⁷ FAN, Y. *et al.* Synthesis of Starch-Stabilized Ag Nanoparticles and Hg²⁺ Recognition in Aqueous Media. **Nanoscale Research Letters**, v. 4, p.1230-1235, 2009.
- ⁸ SHI, X.; SHEN, M.; MÖHWALD, H. Polyelectrolyte multilayer nanoreactors toward the synthesis of diverse nanostructured materials. **Progress in polymer science**, v. 29, p. 987-1019, 2004.
- ⁹ BAER, D. R.; BURROWS, P. E.; EI-AZAD, A. A. Enhancing coating functionality using nanoscience and nanotechnology. **Progress in Organic Coatings**, v. 47, p. 342–356, 2003.
- ¹⁰ RIETH, M. **Nano-Engineering in Science and Technology: An introduction to the World of Nano-Design**. Singapore: Fulstrand Offset, 2003.
- ¹¹ ALIVISATOS, A. P. Nanocrystals: building blocks for modern materials design. **Endeavour**, v. 21, p. 56-60, 1997.
- ¹² KAKKAR, R. *et al.* Synergetic Effect of Sodium Citrate and Starch in the Synthesis of Silver Nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 26, p.154-161, 2012.
- ¹³ ZARGAR, M. *et al.* Green synthesis and Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Using *Vitex Negundo L.* **Molecules**, v. 16, p. 6667-6676, 2011.
- ¹⁴ MURRAY, C. B.; KAGAN, C.R.; BAWENDI, M. G. Monodisperse nanocrystals and close-packed nanocrystal assemblies. **Annual Reviews in Material Science**, v. 30, p.545-610, 2000.

-
- ¹⁵ CASTRO, E. G.; *et al* Dodecanethiol-Stabilized Platinum Nanoparticles Obtained by a two-phase Method: Synthesis, Characterization, Mechanism of Formation, and Electrocatalytic Properties. **Chemistry of Materials**, v. 22, p. 360-370, 2010.
- ¹⁶ VASILEVA, P. *et al*. Synthesis of starch-stabilized silver nanoparticles and their application as a surface plasmon resonance-based sensor of hydrogen peroxide. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 382, p. 203-210, 2011.
- ¹⁷ VIGNESHWARAM, N. *et al*. A novel one-pot 'green' synthesis of stable silver nanoparticles using soluble starch. **Carbohydrate Research**, v. 341, p. 2012-2018, 2006.
- ¹⁸ KOTZ, J. C.; TREICHEL, P.; WEAVER, G. C. **Química geral e reações químicas**. 6. ed., v.1. São Paulo: Cengage Learning, 2009.
- ¹⁹ TOMA, Henrique E. **O mundo nanométrico: a dimensão do novo século**. São Paulo: Oficina de textos, 2004. 102 p.
- ²⁰ OLIVEIRA, M. M. **Nanopartículas de prata e seus nanocompósitos com polianilina: Síntese, caracterização e propriedades**. 2005. 174p. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- ²¹ ROGERS, B.; ADAMS, J.; PENNATHUR, S. **Nanotechnology the whole story**. Nova York: CRC Press, 2013.
- ²² USKOKOVIC, V. Nanotechnologies: What we do not know. **Technology in society**, v. 29, p. 43-61, 2007.
- ²³ RODUNER, E. Size matters: why nanomaterials are different. **Chemical Society Reviews**, v. 35, p. 583-592, 2006.
- ²⁴ LUE, J. T. A review of characterization and physical property studies of metallic nanoparticles. **Journal of physics and chemistry of solids**, v. 62, p. 1599-1612, 2001.
- ²⁵ HALLIDAY, D.; RESNICK, R.; WALKER, J. **Fundamentos de Física**. v. 4, 9. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.
- ²⁶ TIPLER, P. A.; LLEWELLYN, R. A. **Física Moderna**. 5. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2010.
- ²⁷ GAO, X. *et al*. Green synthesis and characteristic of core-shell structure silver/starch nanoparticles. **Materials Letters**, v. 65, p. 2963-2965, 2011.
- ²⁸ ALTAVILLA, C.; CILIBERTO, E. **Inorganic Nanoparticles: Synthesis, Applications and Perspectives**. Florida: CRC Press, 2010.
- ²⁹ ROTELLO, V. M. **Nanoparticles: building blocks for nanotechnology**. New York: Springer Science, 2004.

-
- ³⁰ CAO, G.; WANG, Y. **Nanostructures and Nanomaterials: Synthesis, properties and applications**. 2. Ed. v. 2. Londres: World Scientific, 2011.
- ³¹ BRUST, M.; KIELY, C.J. Some recent advances in nanostructure preparation from gold and silver particles: a short topical review. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 202, p. 175-186, 2002.
- ³² FANTA, G. F. *et al.* Preparation of starch-stabilized silver nanoparticles from amylose–sodium palmitate inclusion complexes. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 260-268, 2013.
- ³³ GHASEMINEZHAD, S. M.; HAMED, S.; SHOJAOSADATI, S. A. Green synthesis of silver nanoparticles by a novel method: Comparative study of their properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 467-472, 2012.
- ³⁴ CORRADINI, E. *et al.* Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.
- ³⁵ DERNADIN, C. C.; DA SILVA, L. P. Starch granules structure and its regards with physicochemical properties. **Ciência rural**, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2009.
- ³⁶ HAN, M. *et al.* Pd nanoparticle assemblies—As the substitute of HRP, in their biosensing applications for H₂O₂ and glucose. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 31, p. 151-156, 2012.
- ³⁷ COSTA, C. de O. *et al.* Electrochemical determination of Oncocalyxone A using an Iron-phthalocyanine/Iron-porphyrin modified glassy carbon electrode. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 4, p. 697-703, 2008.
- ³⁸ GHOREISHI, S. M.; BEHPOUR, M.; KHAYATKASHANI, M. Green synthesis of silver and gold nanoparticles using Rosa damascene and its primary application in electrochemistry. **Physica E**, v. 44, p. 97-104, 2011.
- ³⁹ APETREI, I. M.; APETREI, C. Amperometric biosensor based on polypyrrole and tyrosinase for the detection of tyramine in food samples. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 178, p. 40-46, 2013.
- ⁴⁰ QU, Y. *et al.* Sensitive amperometric biosensor for phenolic compounds based on graphene-silk peptide/tyrosinase composite nanointerface. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 44, p. 85-88, 2013.
- ⁴¹ RAPOSO, M.; OLIVEIRA JR, O. N. Adsorption mechanisms in Layer-by-Layer films. **Brazilian Journal of Physics**, v. 28, n. 4, 1998.
- ⁴² PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; OLIVEIRA JR., O. N. Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: preparação, propriedades e aplicações. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 228-235, 2001.

-
- ⁴³ VILLIERS, M. M. *et al.* Introduction to nanocoatings produced by Layer-by-Layer (LbL) self-assembly. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, p. 701-715, 2011.
- ⁴⁴ CHAI, R. *et al.* Amperometric immunosensors based on layer-by-layer assembly of gold nanoparticles and methylene blue on thiourea modified glassy carbon electrode for determination of human chorionic gonadotrophin. **Talanta**, v. 74, p. 1330-1336, 2008.
- ⁴⁵ ARAÚJO, I. M. S. *et al.* Contribution of the cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) for development of layer-by-layer films with potential application in nanobiomedical devices. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, p. 1588-1593, 2012.
- ⁴⁶ JESUS, C. G. *et al.* Glucose biosensor based on the highly efficient immobilization of glucose oxidase on layer-by-layer films of silsesquioxane polyelectrolyte. **Sensor and Actuators B: Chemical**, v. 186, p. 44-51, 2013.
- ⁴⁷ JESUS, C. G. *et al.* Electroanalytical performance of (SiPy⁺Cl⁻/CuTsPc)₅ LbL film for detecting promethazine hydrochloride. **Electroanalysis**, v. 23, n. 8, p. 1814-1820, 2011.
- ⁴⁸ SANTOS, V. dos. *et al.* The role of a Layer-by-Layer film containing Pt nanoparticle on the performance of a glucose enzymatic biosensor. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 8, p. 10601-10620, 2013.
- ⁴⁹ SANTOS, V. dos. *et al.* Platinum nanoparticles incorporated in silsesquioxane for use in LbL films for the simultaneous detection of dopamine and ascorbic acid. **Journal of Nanoparticles Research**, v. 14, p. 1081-1092, 2012.
- ⁵⁰ BARRETO, C. B. *et al.* Platinum nanoparticles embedded in layer-by-layer films from SnO₂/polyallylamine for ethanol electrooxidation. **Journal of Power Sources**, v. 185, p. 6-12, 2008.
- ⁵¹ DECHER, G. *et al.* Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites. **Science**, v. 227, p. 1232-1237, 1997.
- ⁵² MELO JR, M. A. *et al.* Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872-1878, 2012.
- ⁵³ DOS SANTOS, V. da M.; AFONSO, J. C. Recuperação de compostos de iodo de reagentes e soluções laboratoriais. **Química Nova**, v. 35, n. 2, p. 398-402, 2012.
- ⁵⁴ HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **INORGANIC CHEMISTRY**. 6. ed. Harlow: Pearson, 2005.
- ⁵⁵ CHEN, L. *et al.* A Highly selective and sensitive colorimetric sensor for iodide detection based on anti-aggregation of gold nanoparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 182, p. 482-488, 2013.

-
- ⁵⁶ SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química inorgânica**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.
- ⁵⁷ KORMOSH, Z.; SAVCHUK, T. New potentiometric sensor for the determination of iodine species. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, p. 2286-2291, 2012.
- ⁵⁸ IBUPOTO, Z. H.; KHUN, K.; WILLANDER, M. A selective iodide ion sensor electrode based on functionalized ZnO nanotubes. **Sensors**, v. 13, p. 1984-1997, 2013.
- ⁵⁹ BURAKHTA, V. A.; SATAEVA, S. S. Modified sensors based on semiconductor and metallic materials for the determination of Cyan- and Iodine- containing pesticides by potentiometric titration. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 66, n. 12, p. 1201-1204, 2011.
- ⁶⁰ Zetasizer Nano Series User Manual. **Malvern Instruments**, 2 ed., 2004.
- ⁶¹ MALVERN. **Zetasizer Nano ZS**. Disponível em: <http://www.malvern.com/labpor/products/zetasizer/zetasizer_nano/zetasizer_nano_zs.htm>. Acesso em: 21 jun. 2013.
- ⁶² MALVERN. **Zeta Potential na introduction in 30 minutes**. Zetasizer nano series Technical note. Disponível em: <<http://www.malvern.com>>. Acesso em: 21 jun. 2013.
- ⁶³ MOURA, M. R. de; MATTOSSO, L. H. C.; ZUCOLOTTI, V. Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 520-524, 2012.
- ⁶⁴ GUSHIKEM, Y.; ALFAYA, R.V.S.; ALFAYA, A. A. S. **Processo de preparação do polieletrólito cloreto de 3-n-propilpiridínio ligado a uma estrutura de silsesquioxano**. Patente INPI No. PI9803053-1, 1998.
- ⁶⁵ MEDINA-RAMIREZ, I. *et al.* Green synthesis and characterization of polymer-stabilized silver nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 73, p.185-191, 2009.
- ⁶⁶ MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes**. 2ª Ed. São Paulo: Edgar Blucher, 1998.
- ⁶⁷ SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 1, p. 24-30, 2000.
- ⁶⁸ KHAN, Z. *et al.* Starch-directed green synthesis, characterization and morphology of silver nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 102, p. 578-584, 2013.
- ⁶⁹ PRETSCH, E.; AFFOLTER, C.; BUHLMANN, P. **Structure determination of organic compounds: tables of spectral data**. 3ª Ed. Berlin: Springer-Verlag, 2000.

-
- ⁷⁰ CRESPILO, F.N. *et al.* Enzyme immobilization on Ag nanoparticles/polyaniline nanocomposites. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, p. 3073–3077, 2009.
- ⁷¹ FUJIWARA, S. T. **Filme fino do polieletrólito Cloreto de 3-n-Propilpiridínio Silsesquioxano sobre SiO₂/Al₂O₃: Preparação, caracterização e aplicações.** 2002. 110f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2002.
- ⁷² SANT'ANA, A. C.; CORIO, P.; TEMPERINI, M. L. A. O efeito SERS na análise de traços: o papel das superfícies nanoestruturadas. **Química Nova**, v.29, n. 4, p. 805-810, 2006.
- ⁷³ SANTOS, V. dos *et al.* The role of a Layer-by-Layer film containing Pt nanoparticle on the performance of a glucose enzymatic biosensor. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 8, p. 10601-10620, 2013.
- ⁷⁴ PAOLICCHI, I. *et al.* Application of an optimization procedure in adsorptive stripping voltammetry for the determination of trace contaminant metals in aqueous medium. **Analytica Chimica Acta**, v. 511, p. 223-229, 2004.
- ⁷⁵ TEÓFILO, R. F. *et al.* Experimental design employed to square wave voltammetry response optimization for the glyphosate determination. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 6, p. 865-871, 2004.
- ⁷⁶ TARLEY, C. R. T. *et al.* Chemometric tools in electroanalytical chemistry: Methods for optimization based on factorial design and response surface methodology. **Microchemical Journal**, v. 92, p. 58-67, 2009.
- ⁷⁷ FURLANETTO, S. *et al.* Design and optimization of the variables in the adsorptive stripping voltammetric determination of rifloxacin in tablets, human plasma and urine. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, v. 13, p. 431-438, 1995.
- ⁷⁸ ARANCIBIA, V. *et al.* Optimization of experimental parameters in the determination of Zinc in sea water by adsorptive stripping voltammetry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 2, p. 255-261, 2010.
- ⁷⁹ ENSAFI, A. A.; KHAYAMIAN, T.; ATABATI, M. Differential pulse cathodic stripping adsorption voltammetric determination of trace amounts of lead using factorial design for optimization. **Talanta**, v. 59, p. 727-733, 2003.
- ⁸⁰ MOCÁK, J.; BOND, A. M. MITCHELL, S.; SCOLLARY, G. **Pure and Applied Chemistry**, v. 69, p. 297-328, 1997.
- ⁸¹ HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa.** 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005.
- ⁸² ANVISA. Resolução nº899 de 29 de maio de 2003 que determina a publicação do Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Brasília: Diário Oficial da União, 02 fev, 2003.