

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**APLICAÇÃO DE POLÍMEROS NA CONSTRUÇÃO DE  
NANOMATERIAIS HÍBRIDOS AUTO-ORGANIZADOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Roberta Cristina Barros Scaravelli**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2013**

# **APLICAÇÃO DE POLÍMEROS NA CONSTRUÇÃO DE NANOMATERIAIS HÍBRIDOS AUTO-ORGANIZADOS**

**por**

**Roberta Cristina Barros Scaravelli**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Inorgânica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química.**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanessa Schmidt Giacomelli**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2013**

Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Naturais e Exatas  
Programa de Pós-Graduação em Química

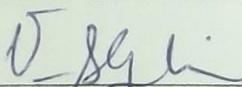
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

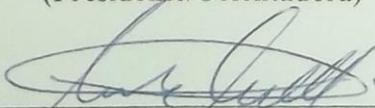
**APLICAÇÃO DE POLÍMEROS NA CONSTRUÇÃO DE  
NANOMATERIAIS HÍBRIDOS AUTO-ORGANIZADOS**

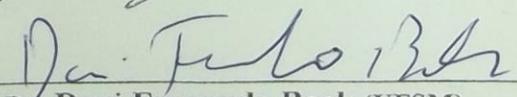
elaborada por  
**Roberta Cristina Barros Scaravelli**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Química**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Schmidt Giacomelli (UFSM)  
(Presidente/Orientadora)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti (UFAL)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Davi Fernando Back (UFSM)

Santa Maria, 22 de fevereiro de 2013

Aos meus pais, Roberto e Dalcinéa, e  
ao meu Odirlei

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos seres superiores, que eu acredito que tem que ter alguma coisa que olhe por nós, não importa por quais nomes sejam chamados.

Agradeço aos meus pais pela confiança depositada e pelo amor incondicional que têm por mim que dá mais e mais motivação pra chegar ao fim.

Agradeço ao Odirlei, pelas horas que me aguentaste naqueles desgastantes dias nos quais nada dá certo e também naqueles dias aonde a euforia chegava a ficar chata. É especial ter você ao meu lado todos os dias.

Agradeço à minha madrinha Teresinha, ao meu meio-irmão Lucas e ao Biu pela torcida para que eu alcançasse meus objetivos.

Agradeço às minhas flores Rosângela, minha mãe gaúcha, e Maria de Fátima, minha dinda do sul, pelo imenso apoio em todos os momentos ao longo dessa dissertação.

Agradeço aos amigos/casal Patrícia e Alexandre pelos momentos de descontração, e em especial à pequena Alice, minha afilhada, que deixou essa caminhada mais colorida.

Agradeço aos amigos da Fundação 55 e do Bloco do Coração. Os momentos passados ao lado de vocês, sem dúvida recarregaram as pilhas inúmeras vezes.

Agradeço ao Prof. Herton Fenner, Fernando Villarraga e à Prof. Teresa Cabañas pelas conversas e amizade compartilhada.

Agradeço à Professora Vanessa Schmidt e ao Professor Cristiano Giacomelli pela orientação e tempo dispendido, pelo exemplo de pesquisadores e pela oportunidade da continuação do saber em nível de mestrado.

Agradeço aos Professores Marcos Antônio Villetti, Davi Back e Mario Meneghetti pelas contribuições acerca do trabalho e pela participação nas bancas examinadoras.

Agradeço aos colegas do laboratório de polímeros e colóides, em especial às meninas Diei e Pitty que se tornaram grandes amigas. E também às meninas Fran e Cati, dos laboratórios vizinhos, pelas boas energias que trocamos.

Agradeço a CAPES pela bolsa concedida.

*Alquimia, scientia separationis,  
permite ao homem separar os corpos,  
através do fogo, para que os olhos penetrem  
além da superfície, tornando perceptível  
aquilo que antes era imperceptível.*

*Deste ponto de vista a alquimia  
prolonga e aperfeiçoa o trabalho  
da natureza e através da arte conduz à  
perfeição, para benefício do homem,  
o que a natureza deixou imaturo.*

Paracelsus

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Química  
Universidade Federal de Santa Maria

### **APLICAÇÃO DE POLÍMEROS NA CONSTRUÇÃO DE NANOMATERIAIS HÍBRIDOS AUTO-ORGANIZADOS**

AUTORA: Roberta Cristina Barros Scaravelli  
ORIENTADORA: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vanessa Schmidt Giacomelli

Neste trabalho a síntese em única fase/etapa de nanopartículas de ouro híbridas orgânico-inorgânicas do tipo casca núcleo (AuNPs) facilitadas por copolímeros em bloco anfifílicos funcionalizados com grupos aminos e que simultaneamente atuam como agente redutor e estabilizante foi investigada. Os experimentos foram realizados com ênfase nas respostas frente ao pH do copolímero tribloco poli(óxido de etileno)-*b*-poli(metacrilato de 2,3-diidroxipropila)-*b*-poli(metacrilato de 2-(diisopropilamino)etila) e que permite a química direta de reticulação das estruturas micelares.

A relação entre estrutura e reatividade do copolímero associada à formação das AuNPs foi estabelecida usando uma série de seis macromoléculas semelhantes aos blocos constituintes do copolímero. A formação das AuNPs é dependente do equilíbrio de dissociação envolvendo grupos aminos terciários, espécies de Au(III) e também do potencial eletroquímico redox. Os efeitos desses parâmetros levam a formação de AuNPs quando da mudança de pH de 3,5 (cadeias poliméricas dissolvidas – não formam AuNPs) para pH 6,8 ou maior (polímero auto-organizado em micelas esféricas – coloides estáveis de ouro são produzidos), e quando o potencial de redução dos íons Au(III) mudam para a região catódica e o potencial de oxidação dos grupos aminos desprotonados presentes no copolímero diminui.

A cinética de crescimentos das AuNPs apresentou em todos os casos perfil sigmoidal após o período de indução característicos da síntese. Coloides de ouro estáveis, bem definidos e estabilizados pelo copolímero com ressonância plasmônica de superfície centrado em cerca de 530 nm foram produzidos em etapa única, dois reagentes, sem reações paralelas na estequiometria  $[N]/[Au(III)]$  entre 3,5 e 25.

Palavras-chave: nanopartículas de ouro, métodos de síntese, copolímeros em bloco, agente redutor, agente estabilizante.

## ABSTRACT

Master Dissertation in Inorganic Chemistry  
Post-Graduated Program in Chemistry  
Federal University of Santa Maria

### **POLYMER APPLICATION IN THE CONSTRUCTION OF SELF-ASSEMBLY HYBRID NANOMATERIALS**

AUTHOR: Roberta Cristina Barros Scaravelli  
ACADEMIC SUPERVISOR: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanessa Schmidt Giacomelli

In this work the single-step/single-phase synthesis of hybrid organic-inorganic core-shell gold nanoparticles (AuNPs), facilitated by amino-functionalized amphiphilic block copolymers that simultaneously play the roles of reductant and stabilizer, was investigated in this study. Experiments were devised with emphasis on the pH-responsive poly(ethylene oxide)-*b*-poly(2,3-dihydroxypropyl methacrylate)-*b*-poly[2-(diisopropylamino)ethyl methacrylate] triblock copolymer, which allows direct chemical cross-linking of the micellar structures to be performed.

The polymer structure-reactivity relationship associated with the AuNP formation was established using a set of six structurally related macromolecules. AuNP formation was dependent on the aqueous dissociation equilibrium involving tertiary amino groups, the Au(III) speciation, and electrochemical redox potentials. The effects of these parameters on the synthesis of AuNPs change as the solution pH is increased from pH 3.5 (molecularly dissolved polymer chains; no AuNP formation) to 6.8 or higher (polymer chains self-assembled into spherical micelles; stable gold sols are produced), and Au(III) reduction potentials shift toward the cathodic region whilst the oxidation potential of deprotonated amino groups decreases.

Sigmoidal nanoparticle growth kinetics was observed in all cases after a characteristic induction period. Stable, well-defined, uniform polymer-coated gold colloids with localized surface plasmon resonance centered at 530 nm can be conveniently produced in one-pot, two-reactant, no work-up reactions when the stoichiometry is  $[N]/[Au] = 3.5 - 25.0$ .

*Keywords:* Gold nanoparticles, synthesis method, kinetics, block copolymers, reducing agent, capping agent.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Taça de Licurgo visualizada pelo fenômeno de reflexão (verde) e de transmissão da luz (vermelha) <sup>16</sup> .....	21
<b>Figura 2.</b> Esquema de formação de partículas em dimensões nanométricas através do método bottom-up (A) e top-down (B). <sup>29</sup> .....	23
<b>Figura 3.</b> Esquema da interação de uma nanoesfera metálica com a luz. O campo eletromagnético da luz induz uma oscilação dipolar da condução eletrônica através da partícula.....	24
<b>Figura 4.</b> Evolução da banda gap e densidade de estados de materiais metálicos com relação ao número de átomos no sistema.....	25
<b>Figura 5.</b> Representação de possíveis estruturas auto-arranjadas para macromoléculas poliméricas em solução (esquerda) e na fase bulk (direita). <sup>54,55</sup> .....	28
<b>Figura 6.</b> Processo de micelização de um copolímero anfifílico diblocos levando à formação de micelas esféricas do tipo núcleo-corona. <sup>15</sup> .....	29
<b>Figura 7.</b> Exemplos de sistemas híbridos nanoparticulados obtidos por Müller <i>et al</i> <sup>5</sup> em (a) e por Armes <i>et al</i> <sup>12</sup> em (b).....	31
<b>Figura 8.</b> Estruturas dos polímeros e monômeros utilizados para a síntese dos sistemas híbridos de AuNPs.....	35
<b>Figura 9.</b> Esquema para a formação de nanopartículas de ouro através da adição do precursor metálico na presença de micelas poliméricas.....	36
<b>Figura 10.</b> Esquema para a formação de nanopartículas de ouro através da adição do precursor metálico na presença de cadeias livres de copolímeros e após se induz a formação de micelas.....	37
<b>Figura 11.</b> Espectros de absorção em função do tempo para a síntese de AuNPs da reação entre H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> (0,275 mM) e <b>tribloco-1</b> (1,0 mg/mL) em pH 6,8 (STF).....	43
<b>Figura 12.</b> Espécies derivadas de H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> em equilíbrio de acordo com o pH do meio. <sup>63</sup> .....	44

- Figura 13.** Absorvância versus tempo das AuNPs, em 530 nm, e dos íons Au(III), em 320 nm durante a síntese em pH 6,8 (STF).  $\text{HAuCl}_4$  (0,275 mM) e **tribloco-1** (1,0 mg/mL).....45
- Figura 14.** Intensidade de luz espalhada (I) e diâmetro hidrodinâmico ( $2R_H$ ) durante o crescimento das partículas AuNP@**tribloco-1** em solução tampão fosfato pH 6,8,  $\text{HAuCl}_4$  (0,275 mM) e **tribloco-1** (1,0 mg/mL) em (a) e distribuição do tamanho das nanoestruturas em etapas selecionadas da síntese como indicado em (b).....47
- Figura 15.** Micrografia HTREM das partículas híbridas AuNP@**tribloco-1** sintetizadas pela reação de  $\text{HAuCl}_4$  (0,275 mM) e **tribloco-1** (1,0 mg/mL) em pH 6,8 (STF). Escala = 20 nm.....47
- Figura 16.** Espectros de absorção no UV-vis em função do tempo para solução contendo  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e **tribloco-1** 1,0 mg/mL em pH 4,0.....48
- Figura 17.** Voltamogramas cíclicos medidos a 50 mV/s em solução aquosa de Au(III) 0,275 mM e de **tribloco-1** 1,0 mg/mL ( $[\text{NR}_3] = 2,44$  mM) em pH 4,0 usando KCl 0,1 M como eletrólito em (a); em pH 6,8 com  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1 M como eletrólito em (b) e em pH 9,1 com  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  0,025 M como eletrólito em (c).....50
- Figura 18.** Voltamogramas cíclicos medidos a 50 mV/s em solução aquosa para as misturas Au(III) + **tribloco-1** em pH 4,0 (KCl 0,1 M como eletrólito), 6,8 (usando  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1 M como eletrólito) e 9,1 (usando  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  0,025 M como eletrólito) e das AuNP@**tribloco-1**.  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e **tribloco-1** 1,0 mg/mL.....51
- Figura 19.** Espectros de UV-vis para os sistemas de óxido etileno estudados medidos 4 horas após a mistura dos reagentes.  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e polímeros de concentração selecionada para a estequiometria indicada, em pH 6,8.....54
- Figura 20.** Espectros de UV-vis para os sistemas nitrogenados estudados medidos 4 horas após a mistura dos reagentes.  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM, monômeros e copolímeros de concentração selecionada para a estequiometria  $[\text{N}]/[\text{Au(III)}] = 9$ , em pH 6,8.....56
- Figura 21.** Perfis cinéticos da síntese de AuNPs pela reação entre  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e **tribloco-1** (símbolos vazios) ou **dibloco-2** (símbolos cheios) nas correspondentes concentrações para  $[\text{N}] / [\text{Au(III)}] = 9$  em soluções tamponadas de diferentes pH e as respectivas frações molares de aminas desprotonadas ( $\alpha$ ) como indicado. As linhas cheias correspondem as absorvâncias a cada 3 s no PRS, o número de símbolos foi reduzido para melhor visualização.....57
- Figura 22.** Espectros de absorção UV-vis dos sistemas AuNPs pela reação entre  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e **tribloco-1** (símbolos vazios) ou **dibloco-2** (símbolos cheios) nas correspondentes

concentrações para  $[N] / [(Au(III))] = 9$  em soluções tamponadas de diferentes pH e as respectivas frações molares de aminas desprotonadas ( $\alpha$ ) como indicado.....58

**Figura 23.** Micrografias eletrônicas de transmissão para as nanopartículas de ouro sintetizadas utilizando as macromoléculas PEO-PPO-PEO (F-127) e PEI como indicados.  $H AuCl_4$  0,275 mM e concentração polimérica tal que  $[EO]_{F-127}/[Au(III)] = 692$  e  $[N]_{PEI}/[Au(III)] = 9$ .....59

**Figura 24.** Perfis cinéticos para a síntese das AuNP@tribloco-1 nas concentrações de polímero utilizada (como indicado).  $H AuCl_4$  0,275 mM e pH 6,8 (STF). As linhas cheias correspondem as absorvâncias a cada 3 s no PRS, o número de símbolos foi reduzido para melhor visualização.....61

**Figura 25.** Perfis cinéticos para a síntese das AuNP@tribloco-1 nas concentrações de polímero utilizada (como indicado).  $H AuCl_4$  0,275 mM e pH 6,8 (STF). As linhas cheias correspondem as absorvâncias a cada 3 s no PRS, o número de símbolos foi reduzido para melhor visualização.....62

**Figura 26.** Influência da concentração de tribloco-1 na síntese das AuNPs e seus espectros de absorção no UV-vis para os sistemas AuNP@tribloco-1.  $H AuCl_4$  0,275 mM e pH 6,8 (STF).....63

**Figura 27.** Perfis cinéticos para a síntese das AuNP@tribloco-1 nas concentrações  $H AuCl_4$  (como indicado). Tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF). As linhas cheias correspondem as absorvâncias a cada 3 s no PRS, o número de símbolos foi reduzido para melhor visualização.....64

**Figura 28.** Influência da concentração de  $H AuCl_4$  na síntese das AuNPs e seus espectros de absorção no UV-vis para os sistemas AuNP@tribloco-1. Tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF).....65

**Figura 29.** Decaimento da absorvância em 320 nm em função do tempo para as maiores (a) e menores (b) temperaturas estudadas.  $H AuCl_4$  0,275 mM, tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF).....66

**Figura 30.** Perfis cinéticos para a síntese das AuNP@tribloco-1 nas diferentes temperaturas de síntese (como indicado).  $H AuCl_4$  0,275 mM, tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF). As linhas cheias correspondem as absorvâncias a cada 3 s no PRS, o número de símbolos foi reduzido para melhor visualização.....67

**Figura 31.** Influência da concentração da temperatura na síntese das AuNPs e seus espectros de absorção no UV-vis para os sistemas AuNP@tribloco-1.  $H AuCl_4$  0,275 mM, tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF).....68

**Figura 32.** Espectros de absorção para concentrações de copolímero **tribloco-1** após 83 minutos de reação (linhas cheias) e 7 meses após a síntese (linhas tracejadas)  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e pH 6,8 (STF).....69

**Figura33.** Dispersões coloidais de AuNPs sintetizadas nas diferentes concentrações de **tribloco-1** após sete meses da síntese. As concentrações aumentam da esquerda para a direita - 0,1 a 5,0 mg/mL de **tribloco-1**.  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e pH 6,8 (STF).....69

**Figura 34.** Plot das absorvâncias no PRS versus concentração  $\text{HAuCl}_4$  ao final da síntese (83 minutos) e decorridos 2 meses em **(a)**. Dispersões coloidais de AuNPs sintetizadas nas diferentes concentrações de  $\text{HAuCl}_4$  **(b)** após 2 meses. A condição aumenta da esquerda para a direita em **(b)** 0,138 a 0,688 mM de Au(III). **Tribloco-1** 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF).....70

**Figura 35.** Espectros de absorção quando variada a temperatura de síntese após 83 minutos de reação (linhas cheias) e 2 meses após a síntese (linhas tracejadas) em **(a)** e dispersões coloidais de AuNPs@**tribloco-1** sintetizadas em diferentes temperaturas em **(b)** após 2 meses. A condição aumenta da esquerda para a direita em **(b)** 20 °C a 50 °C.  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM, **tribloco-1** 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF).....71

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Características moleculares dos polímeros e (quando aplicáveis) suas correspondentes estruturas auto-organizadas preparadas em água..... 34

**Tabela 2.** Condições experimentais para a síntese das AuNPs utilizando o copolímero tribloco-1 para o estudo das variações na concentração de polímero, Au(III) e temperatura..... 38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$A(\tau)$	Distribuição dos tempos de relaxação
Abs	Absorvância
ATRP	Atom transfer radical polymerization
AuNPs	Nanopartículas de ouro
$D$	Coefficiente de difusão
DEA	Metacrilato de 2-(dietilamino)etila)
DLS	Espalhamento de luz dinâmico
DPA	Metacrilato de 2-(diisopropilamino)etila)
$f$	Volume da fração de blocos constituintes de copolímero
$G(\tau)$	Função de auto-correlação da intensidade da luz espalhada
IV	Infravermelho
$k_B$	Constante de Boltzmann
PDEA	Poli(metacrilato de 2-(dietilamino)etila)
PDPA	Poli(metacrilato de 2-(diisopropilamino)etila)
PEI	Polietilenoimina

PEO	Poli(óxido de etileno)
PG2MA	Poli(metacrilato de 2,3-diidroxipropila)
PPO	Poli(oxipropileno)
PRS	Plásmon ressonante de superfície
$R_H$	Raio hidrodinâmico
STF	Solução tampão fosfato
T	Temperatura absoluta
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
TGA	Análise termogravimétrica
UV-vis	Ultravioleta e visível
VC	Voltametria cíclica
$\Gamma$	Constante de decaimento da curva exponencial
$\lambda$	Comprimento de onda
$\mu$	Viscosidade do solvente
$\eta$	Índice de refração
$\chi$	Parâmetro de interação Flory-Huggins

## SUMÁRIO

RESUMO.....	06
ABSTRACT.....	07
LISTA DE FIGURAS.....	08
LISTA DE TABELAS.....	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	12
SUMÁRIO.....	14
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	16
CAPÍTULO 2. REVISÃO DA LITERATURA.....	20
2.1 Nanopartículas de ouro.....	21
2.2 Síntese de nanopartículas de ouro.....	22
2.3 Propriedades das nanopartículas de ouro.....	24
2.4 Copolímeros em bloco.....	27
2.4.1 Auto-Organização e nanoestruturas de copolímeros em bloco.....	27
2.5 Sistemas híbridos nanopartícula-polímero.....	30
CAPÍTULO 3. PARTE EXPERIMENTAL.....	32
3.1 Materiais.....	33
3.2 Métodos.....	35
3.2.1 Síntese das nanopartículas de ouro.....	35
3.2.2 Espectroscopia no Ultravioleta e Visível (UV-vis).....	38
3.2.3 Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	38
3.2.4 Análise Termogravimétrica (TGA).....	39
3.2.5. Voltametria Cíclica (VC).....	39
3.2.6 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS).....	39
3.2.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM).....	40
CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1 Comportamento do sistema polimérico e de AuNPs e características reacionais...42	
4.2 Propriedades eletroquímicas das AuNPs.....	48
4.3 Estrutura e reatividade polimérica.....	52
4.3.1 Óxido de etileno, PEO.....	52
4.3.2 Polimetacrilato de 2,3-diidroxipropila, PG2MA.....	54

4.3.3 Polimetacrilato de 2-diisopropilaminoetila, PDPA.....	54
4.4 Acompanhamento cinético das reações de síntese de nanopartículas de ouro.....	59
4.4.1 Efeito da concentração de copolímero <b>tribloco-1</b> .....	59
4.4.2 Efeito da concentração de íons Au(III).....	62
4.4.3 Efeito da temperatura.....	65
4.5 Estabilidade dos sistemas híbridos AuNP@ <b>tribloco-1</b> .....	67
CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES.....	71
CAPÍTULO 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
CAPÍTULO 7. ANEXOS.....	82

## **CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS**

## Introdução

Métodos de síntese e manipulação de materiais para o preparo de coloides e interfaces poliméricas com capacidade de formar estruturas hierárquicas, híbridas e estáveis vêm ganhando cada vez mais espaço dentro da ciência de materiais. Grande parte do interesse nesse ramo da ciência nanométrica é devido ao potencial que esses materiais possuem e que garantem sua aplicação em áreas tecnológicas, como em sistemas ópticos, eletrônicos, mecânicos e biomédicos. A aplicabilidade é possível devido à combinação entre as propriedades individuais dos materiais de base e aos efeitos da dimensionalidade nanométrica<sup>1,2,3</sup>, além da combinação entre componentes orgânicos e inorgânicos na geração desses coloides e interfaces.

Dentre os métodos adotados para que a síntese e estabilização de sistemas coloidais áuricos sejam eficientes está a química de tióis, em virtude das reconhecidas interações com Au(0)<sup>4</sup>, entretanto essa apresenta desvantagens, como o uso de solventes orgânicos, subprodutos dos agentes redutores e baixa estabilidade relativa a longo prazo das ligações Au-S. Buscando minimizar as desvantagens desses métodos, pesquisas levaram a um avanço significativo na engenharia de superfícies de nanopartículas de ouro (AuNPs) (enfoque principal deste trabalho) já que a mesma, através da manipulação das propriedades físico-químicas das interfaces AuNP/vizinhanças, intervêm na estabilidade coloidal, podendo também alterar as propriedades ópticas dos sistemas.

A interação entre macromoléculas e nanopartículas não é, contudo, um processo entropicamente favorável, pois a instabilidade termodinâmica associada com interação entre materiais dissimilares pode induzir a aglomeração das partículas.<sup>3,5,6</sup> Assim, a engenharia de superfície das AuNPs é fundamental para modificar as propriedades físico-químicas das interfaces AuNP/vizinhanças, permitindo assim a manipulação da estabilidade coloidal e das propriedades ópticas.

Interações específicas (eletrostáticas, ligações de hidrogênio, complexação seletiva, etc.) entre funções químicas antagonistas podem promover, vantajosamente, a combinação entre polímeros e AuNPs com base num ganho de entalpia superior à penalidade entrópica (devida à usual necessidade de estiramento das cadeias do polímero). A inserção/criação de tais características nos sistemas coloidais (i.e.: capacidade de interagir com outras entidades) implica em mudanças profundas nos métodos de síntese/modificação dos blocos elementares (unímeros) que quando associados formam as partículas.

Por conseguinte, a construção de nanoestruturas auto-montadas híbridas, orgânico-inorgânicas, com diversos níveis hierárquicos<sup>3,7,8</sup>, se valendo de copolímeros em bloco versáteis, constitui uma classe relevante de blocos elementares e de destacada importância para respostas frente a variações nos parâmetros da vizinhança, como temperatura e pH, bem como a auto-organização macromolecular, a qual influencia diretamente objetos nanométricos formados em função das propriedades físico-químicas das cadeias de polímeros. A micelização desses pode levar a morfologias nanométricas que vão desde micelas esféricas, passando por cilíndricas, até esferas ocas, dentre outras.<sup>1,3,9</sup>

Devido às várias formas de auto-organização dos polímeros, a arquitetura molecular reflete diretamente na cinética e termodinâmica de processos de micelização e de síntese de nanopartículas. A síntese de AuNPs que possuam propriedades de superfície específicas tem sido realizada, inovadoramente, utilizando-se de copolímeros em blocos – como, por exemplo, o copolímero linear do tipo ABC à base de poli(óxido de etileno)-*b*-poli(metacrilato de 2,3-diidroxipropila)-*b*-poli(metacrilato de 2-(diisopropilamino)etila) (PEO-*b*-PG2MA-*b*-PDPA)<sup>10</sup>, também utilizado neste trabalho – que atuam, simultaneamente, como agente redutor e estabilizante<sup>11,12,13,14</sup>, tornando possível a síntese de coloides de ouro com um número mínimo de componentes, em uma única etapa e à temperatura ambiente. A versatilidade do copolímero em bloco PEO-*b*-PG2MA-*b*-PDPA quando em solução, orgânica e/ou aquosa já foi relatada na literatura em que é possível sua auto-organização em cinco diferentes formas de agregados além do controle do pH permitir o controle de conformação das cadeias de unímeros do copolímero em questão.<sup>10</sup> Separadamente, os três segmentos que compõem este polímero facilitam a síntese em circunstâncias adequadas. Realizaram experiências utilizando um conjunto de seis macromoléculas estruturalmente relacionadas para determinar a relação entre estrutura e reatividade do polímero. A cinética da formação das nanopartículas de ouro está diretamente ligado ao equilíbrio aquoso envolvendo grupos amino terciários, espécies de Au(III) e os potenciais eletroquímicos redox.

## Objetivos

O objetivo principal é desenvolver estratégias para a preparação de estruturas hierárquicas híbridas formadas a partir de copolímeros em bloco e nanopartículas de ouro, componentes orgânicos e inorgânicos respectivamente, visando a aplicação em técnicas de

diagnósticos por imagem, catálise, desenvolvimento de sensores e produtos opto-eletrônicos. A obtenção de sistemas hierárquicos com base em processos de auto-organização de macromoléculas anfifílicas e suas interações com partículas metálicas serão priorizadas, independente das características dos sistemas particulados que serão preparados.

Duas principais estratégias foram desenvolvidas a fim de obter tais materiais:

- a) Síntese de nanopartículas híbridas mediante a redução e estabilização em meio aquoso de espécies provenientes do ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) por polímeros funcionalizados, sem a adição de quaisquer outros aditivos, conforme descrito anteriormente<sup>13,14</sup>, e;
- b) Construção de sistemas híbridos através da síntese de nanopartículas de ouro, e subsequente decoração e/ou incorporação das mesmas por micelas de copolímeros em bloco de morfologia esférica, e com capacidade de resposta frente a estímulos externos, como pH e temperatura.

Dentro dessas duas principais estratégias sintéticas serão abordados especificamente:

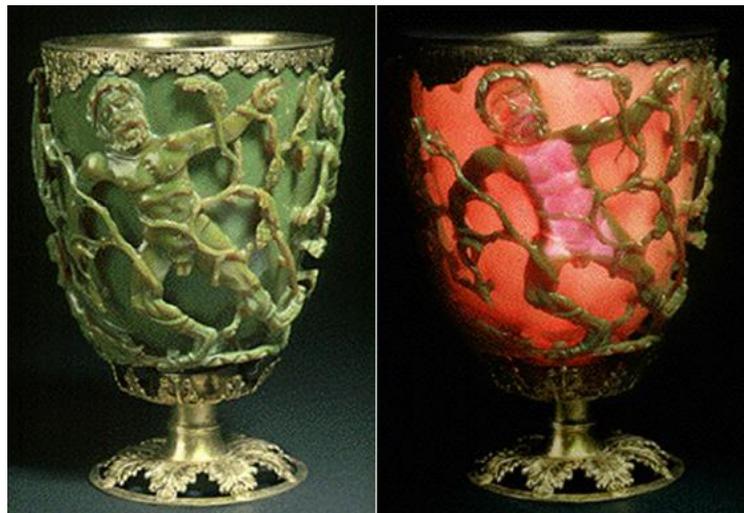
- i) Estudar a influência da natureza, arquitetura, concentração e composição de amostras de copolímeros que produzem agregados capazes de interagir com nanopartículas metálicas;
- ii) Determinar a estrutura e dinâmica das micelas poliméricas através de técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e também de técnicas microscópicas, como a microscopia eletrônica de transmissão (TEM);
- iii) Avaliar os mecanismos cinéticos e dos processos de obtenção dos sistemas coloidais contendo nanopartículas áuricas com o auxílio da espectroscopia no ultravioleta e visível (UV-vis);
- iv) Investigar a estabilidade dos agregados em função das condições experimentais de pH, temperatura e concentração durante a síntese dos coloides híbridos, através das técnicas de UV-vis e DLS.
- v) Estudar o efeito da incorporação das nanopartículas em micelas sobre as propriedades do plásmon ressonante de superfície (PRS) por espectroscopia de UV-vis e;
- vi) Avaliar a capacidade de polímeros contendo estruturas química e estrutural distintas na formação de nanopartículas de ouro.

## **CAPÍTULO 2. REVISÃO DA LITERATURA**

## 2.1 Nanopartículas de ouro

O ouro é um dos mais conhecidos metais desde os tempos mais remotos, símbolo de poder e riqueza, somente os mais influentes é que tinham acesso ao famoso metal nobre. Com seu brilho característico encantava a todos, incluindo alquimistas, como Nicolas Flamel, os quais davam grande importância, nas suas pesquisas, para o descobrimento da “pedra filosofal (*Lapis Philosophorum*)”, que consistia no desejo de transformar todo e qualquer metal inferior no reluzente metal de cor amarelo brilhante.

Porém a antiguidade não conheceu apenas o ouro atômico, de coloração e brilho próprio. O ouro nanoparticulado já estava presente nas eras mais antigas. Datada do século IV, a taça de Licurgo apresenta, em sua composição, nanopartículas de ouro e prata que lhe conferem a cor verde ou vermelha quando visualizada por reflexão ou transmissão da luz<sup>15</sup>, respectivamente (**figura 1**).



**Figura 1.** Taça de Licurgo visualizada pelo fenômeno de reflexão (verde) e de transmissão da luz (vermelha)<sup>16</sup>.

Praticamente esquecido durante a química moderna, apesar de seu valor continuar inestimável, o ouro, por ser um metal inerte, deixou de ser interesse frequente de pesquisas científicas. Com as áreas da nanociência e nanotecnologia emergindo no cenário científico, a dimensão nanométrica dos objetos e sua dependência com as propriedades das substâncias fizeram renascer o interesse no metal. Os materiais nanoestruturados têm tido papel principal nas pesquisas nanotecnológicas, já que as propriedades eletrônicas, ópticas e mecânicas

podem ser alteradas quando o material encontra-se em dimensões muito pequenas enquanto que a composição química não é alterada.

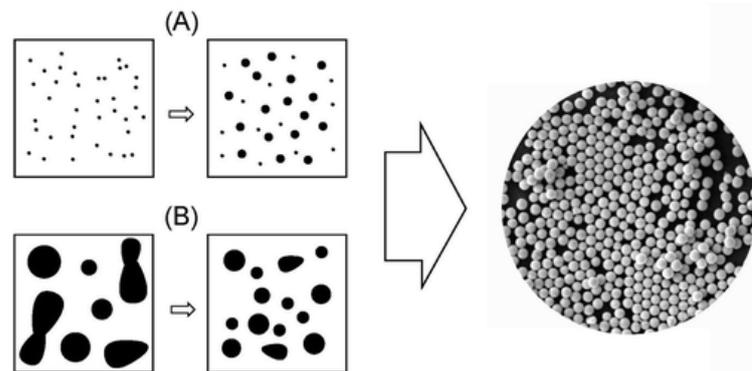
Impulsionados pela utilização de ouro nanoparticulado em ciências biomédicas, como em diagnósticos por imagem e terapias contra o câncer, os estudos sobre as nanopartículas têm crescido nos últimos anos.<sup>16,17</sup> Isso se deve, principalmente, à biocompatibilidade do ouro<sup>18</sup> e ao controle do tamanho das nanopartículas<sup>19</sup>, além da fácil alteração da superfície metálica e caracterização dos nanomateriais através da presença da banda de plásmon ressonante de superfície dos mesmos.

## 2.2 Síntese de nanopartículas de ouro

Sinteticamente existem diversos métodos para o preparo de nanopartículas de ouro, porém a uniformidade do tamanho das partículas formadas é um desafio nem sempre atingido. Um método comum é aquele que envolve a redução de íons  $\text{AuCl}_4^-$  por moléculas de citrato. À alta temperatura, o citrato atua também como agente estabilizante, que impede a aglomeração das nanopartículas. Este método, desenvolvido por Turkevitch *et al*<sup>20,21</sup>, produz partículas entre 12 – 60 nm com desvio padrão de cerca de 10 a 16%. Brust *et al*<sup>22</sup> desenvolveram o método, que se tornou o mais popular para a síntese de nanopartículas áuricas, nele as partículas formadas apresentam tamanho entre 1 – 3 nm e necessita-se de um agente redutor (tetraidroborato de sódio) e de um agente passivante, geralmente derivados de tióis, como alcanotióis de cadeia longa. Uma desvantagem desse método é o uso de solventes orgânicos, por exemplo, meio bifásico tolueno/água, no preparo das partículas. Alterando-se a concentração do agente protetor, tióis, consegue-se um controle sobre o tamanho das nanopartículas formadas (2 – 5 nm).<sup>23</sup> Pesquisas têm mostrado que outras espécies, que não contenham enxofre, também são eficientes agentes estabilizantes de nanopartículas de ouro, como fosfinas<sup>24</sup>, polímeros funcionalizados<sup>25</sup> e dendrímeros.<sup>26,27</sup>

Os métodos comumente empregados na síntese de AuNPs podem ser classificados como método *top-down* ou *bottom-up*. No primeiro, parte-se do material em escala maior é manipulado até que se atinjam nanoestruturas do tamanho desejado, enquanto que, no segundo, nanomateriais são crescidos átomo a átomo, molécula a molécula e até macromoléculas através do arranjo hierárquico dos elementos constituintes e, quando o

tamanho desejado é alcançado, a reação é interrompida, por exemplo, pela adição de um agente passivante.<sup>28</sup> No processo de *bottom-up*, os processos de hierarquização podem ser dirigidos tanto por forças físicas quanto por forças químicas. A **figura 2** apresenta, esquematicamente, duas rotas para formação de nanopartículas, *bottom-up* (A) e *top-down* (B).



**Figura 2.** Esquema de formação de partículas em dimensões nanométricas através do método *bottom-up* (A) e *top-down* (B).<sup>29</sup>

Na síntese por *bottom-up* o precursor metálico é decomposto em átomos de ouro que serão nucleados e posteriormente crescidos gerando coloides monodispersos, já na síntese *top-down* imagina-se um bloco grande do metal sendo quebrados em pedaços menores e estes uniformizados por forças de cisalhamento, através de um mecanismo semelhante ao de emulsificação, na presença de um agente passivador.<sup>28</sup>

Dois processos são essenciais para a síntese com tamanho controlado de nanopartículas metálicas: nucleação e crescimento. Na conhecida síntese com citrato, o tamanho é influenciado pelo baixo poder redutor e estabilizante do mesmo, formando nanopartículas maiores. Já para o método desenvolvido por Brust<sup>22</sup>, o forte poder redutor do tetraidroborato de sódio em reduzir o ouro produz maior quantidade de núcleos, enquanto que o agente passivador (mais forte que o citrato) inibe drasticamente o crescimento das nanopartículas de ouro. Murray *et al*<sup>29</sup> mostraram que, apesar dessa drástica inibição, as nanopartículas continuam a crescer, lentamente, após a síntese.

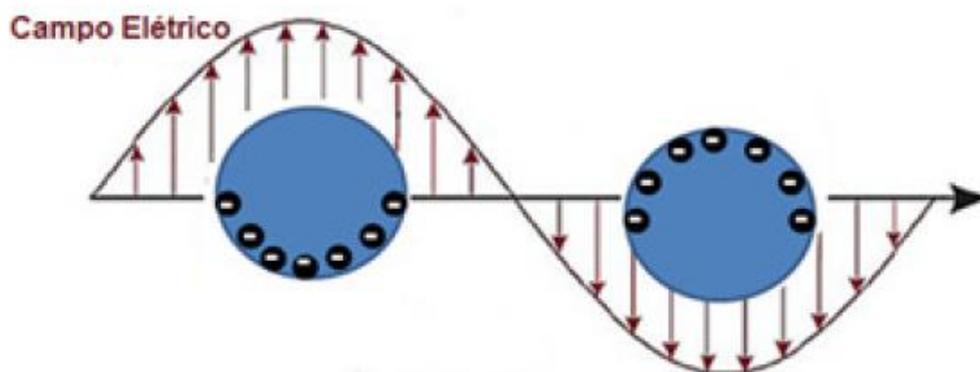
Os processos de nucleação e crescimento são caracterizados pela formação inicial de pequenos cristalitos (ou núcleos) que são pequenas ilhas formadas por poucas camadas de átomos, e com energia de coesão entre eles que deve ser suficiente para evitar um processo de

dissociação.<sup>30,31,32</sup> A partir de então, os núcleos formados crescem e podem dar origem às diferentes morfologias em escala nanométrica, como esferas, quadrados, hexágonos. A etapa de crescimento dos núcleos, bem como a velocidade dela, está relacionada com processos de difusão e com os gradientes de concentração e temperatura, influenciando na coesão dos clusters formados na etapa de nucleação ou na adsorção de mais átomos à superfície do cluster.<sup>30,31,32</sup>

### 2.3 Propriedades das nanopartículas de ouro

O tamanho das nanopartículas interfere nas suas propriedades ópticas e eletrônicas. Os metais na forma *bulk* possuem essas propriedades dirigidas pelas bandas de energia (contínua), porém apresentam um desvio do comportamento ideal quando ocorre a redução no tamanho (nanopartículas apresentam estruturas de bandas com energias diferentes) e é dessa forma que partículas em escala nanométrica possuem um caminho livre médio dos elétrons que excede o raio da partícula, podendo ser excitados pela luz visível.<sup>33</sup>

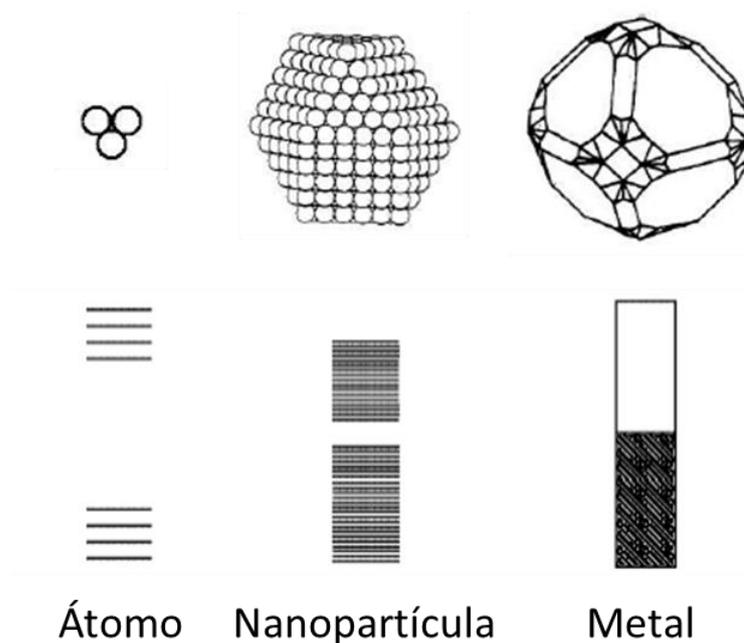
A **figura 3** mostra que os elétrons livres na superfície da nanopartícula sofrem a ação do campo elétrico da onda transiente direcionando-se em sentido contrário ao do campo elétrico momentâneo. A absorção e/ou espalhamento da luz incidente na espectroscopia de absorção no ultravioleta e visível se dá pelo movimento oscilatório dos elétrons livres da nanopartícula e este movimento, por sua vez, é alcançado à medida que a onda se desloca pela partícula, causando a inversão na direção alternadamente.<sup>34</sup>



**Figura 3.** Esquema da interação de uma nanoesfera metálica com a luz. O campo eletromagnético da luz induz uma oscilação dipolar da condução eletrônica através da partícula.

O resultado da interação da radiação eletromagnética é a oscilação coletiva dos elétrons de condução deixando a superfície carregada e gerando um momento dipolo. Esse excesso de cargas é compensado por uma força de restauração nas nanopartículas, dessa forma somente um comprimento de onda é ressonante e este, por sua vez, gera a banda de absorção de plásmon de superfície.<sup>35,36</sup>

As diferentes bandas energéticas cuja variação é alterada com o tamanho das partículas estão apresentadas na **figura 4** e têm influência na energia da transição eletrônica e, conseqüentemente, na coloração que as dispersões coloidais apresentam, além de afetarem as propriedades eletrônicas e ópticas. Essa influência está relacionada com a densidade de estados eletrônicos, do tamanho e da forma das nanopartículas, além da distância entre as partículas vizinhas, a morfologia e também a presença de camadas protegendo a nanopartícula.<sup>15,35,37</sup>



**Figura 4.** Evolução da banda gap e densidade de estados de materiais metálicos com relação ao número de átomos no sistema.

Soluções coloidais de ouro, que apresentam coloração vermelha intensa, apresentam nanopartículas de tamanho menor que as soluções que tendem à cor azul. Estas últimas apresentam a banda absorção de plásmon ressonante de superfície (PRS) em maiores

comprimentos de onda, ou seja, a energia de transição entre as bandas de condução e valência é menor, apresentando um aumento na densidade dos estados eletrônicos.<sup>38,39</sup>

A banda de plásmon ressonante de nanopartículas metálicas é sensível ao ambiente em que a mesma se encontra. No núcleo de uma micela, por exemplo, faz com que sistemas híbridos à base de nanopartículas metálicas tenham resposta óptica em sistemas de detecção e de imagem. Agregados de AuNPs com oligonucleotídeos provocam uma mudança de, do vermelho para o azul (mudança no PRS de 520 para 600 nm), e esta é útil no método para detecção de DNA. Assim, controla-se parâmetros, como a composição da AuNP e estabilidade térmica dos agregados, com a finalidade de conseguir melhorar as propriedades ópticas, mecânicas e elétricas das AuNPs. Por exemplo, a atividade óptica, devido ao PRS das AuNPs de 13 a 17 nm de diâmetro, levou ao desenvolvimento de um método altamente seletivo de diagnóstico do DNA, baseado na distância relativa do PRS das AuNPs.<sup>15</sup>

As nanoesferas de ouro e também nanobastões são utilizados para detecção de marcadores de células cancerosas através da medição das bandas PRS. Nanopartículas protegidas por polímeros e biomoléculas são excelentes candidatas a marcadores com aumento de sinal do PRS, já que as nanopartículas quando aderidas às membranas celulares apresentam baixa relação ruído-sinal. Quando protegidas por macromoléculas, pequenos agregados de ouro nanoparticulado têm grande potencial para detectar moléculas individuais com base no PRS.<sup>40</sup> Nanoestruturas de ouro vêm sendo amplamente utilizada como ferramenta de diagnóstico, como na tomografia de coerência óptica, por ser um método não invasivo que produz imagens *in situ* de tecidos biológicos e materiais. A dispersão da luz pelos tecidos é responsável pelo contraste da imagem, o que a relaciona fortemente com as propriedades intrínsecas ópticas da amostra biológica, bem como do agente de contraste. Recentemente, vários tipos de agentes de contraste foram pesquisados com base no espalhamento ou absorção óptica e se mostraram satisfatórios para imagem óptica. As AuNPs são atraentes para a técnica devido aos comprimentos de onda dos PRS poderem ser ajustados pelo controle de tamanho e forma das mesmas, além de, dependendo da estrutura, absorver fortemente a radiação infravermelha próxima e a térmica, visando o tratamento pela elevação da temperatura.<sup>41,42</sup>

## 2.4 Copolímeros em bloco

Se em uma molécula existe uma ou mais unidades que se repetem (unidades monoméricas), resultando em alto peso molecular, dizemos ser um polímero (ou homopolímero) quando só há um tipo de unidade repetitiva, ou copolímeros quando há dois ou mais tipos de monômeros. As unidades monoméricas são conectadas *via* ligações covalentes e o produto híbrido formado apresenta propriedades combinadas dos monômeros constituintes e, com isso, as possíveis aplicações abrangem uma gama de opções.

Quando se trabalha com monômeros de comportamentos químicos desiguais, como a solubilidade frente a um determinado solvente, para o fabrico de macromoléculas temos os chamados copolímeros em bloco anfifílicos, classe esta que vem recebendo atenção especial devido às estruturas organizáveis que são possíveis alcançar com a macromolécula mediante condições seletivas.

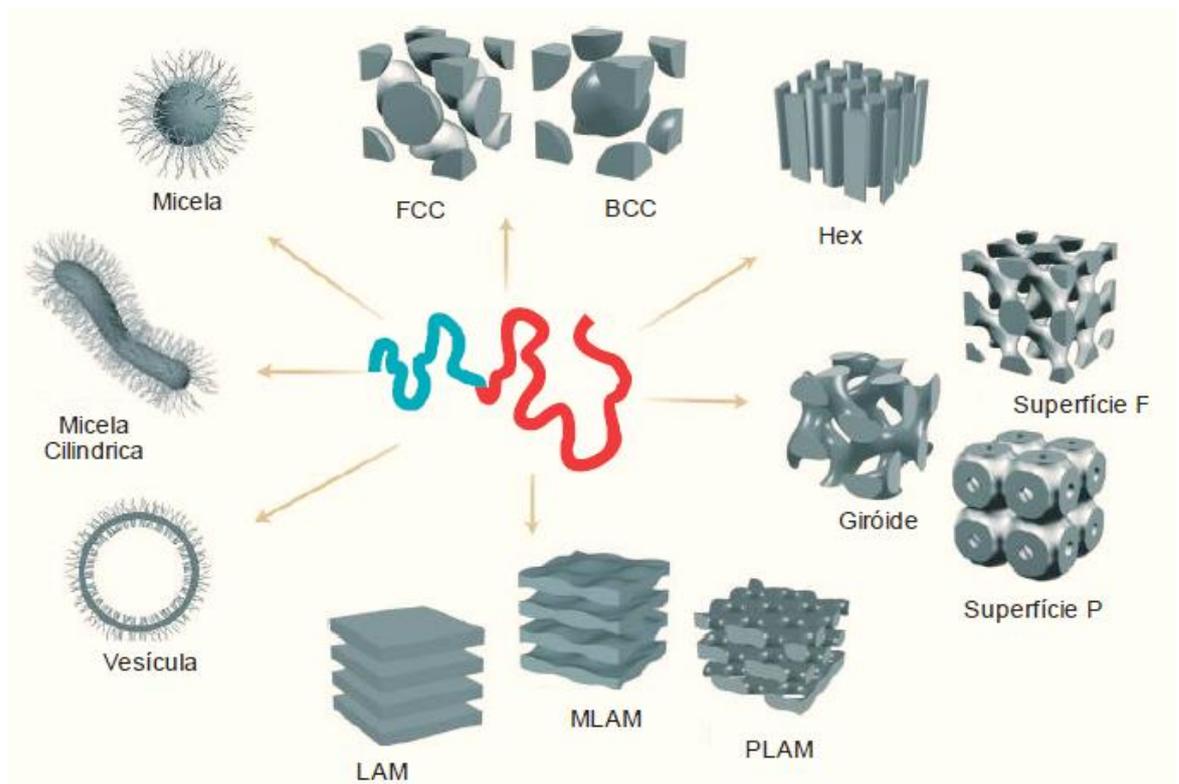
Os copolímeros em bloco são assim classificados por apresentarem grandes cadeias sequenciais de apenas um monômero. Além disso, outra classificação é quanto ao número de unidades diferentes constituintes: como diblocos, quando se tem dois monômeros diferentes, triblocos, quando são três, e terpolímeros (ou multiblocos), quando as unidades diferentes são quatro ou mais.

### 2.4.1 Auto-Organização e nanoestruturas de copolímeros em bloco

Copolímeros nos quais os blocos constituintes apresentam características diferentes tendem a separar-se o máximo possível devido a fatores termodinâmicos e funções químicas antagônicas, porém a união covalente dos blocos constituintes limita essa separação. As macromoléculas com características opostas tendem, então, a se organizar de modo a minimizar forças de segregação, esta se dá através da auto-organização periódica, gerando micro e nanoestruturas. As nanoestruturas que serão formadas dependem tanto do volume quanto da arquitetura e tamanho das cadeias poliméricas.<sup>43</sup>

Copolímeros diblocos são os copolímeros mais simples, sendo constituídos por apenas dois tipos de monômeros. Assim, é essa composição de blocos AB que controla a geometria das nanoestruturas. A composição é dada pela fração de volume,  $f$ , do bloco A ou B, isto é,

$f = N_A/N$  ou  $f = N_B/N$ , e  $N = N_A + N_B$ . Portanto, de acordo com a fração dos blocos e o grau de imiscibilidade desses, a macromolécula pode se auto-organizar em microestruturas de diversos tipos, como lamelas e hexágonos e também micelas, vesículas e micelas cilíndricas, estes últimos em solução, os primeiros na fase *bulk*<sup>43,44,45</sup>, representadas na **figura 5**.

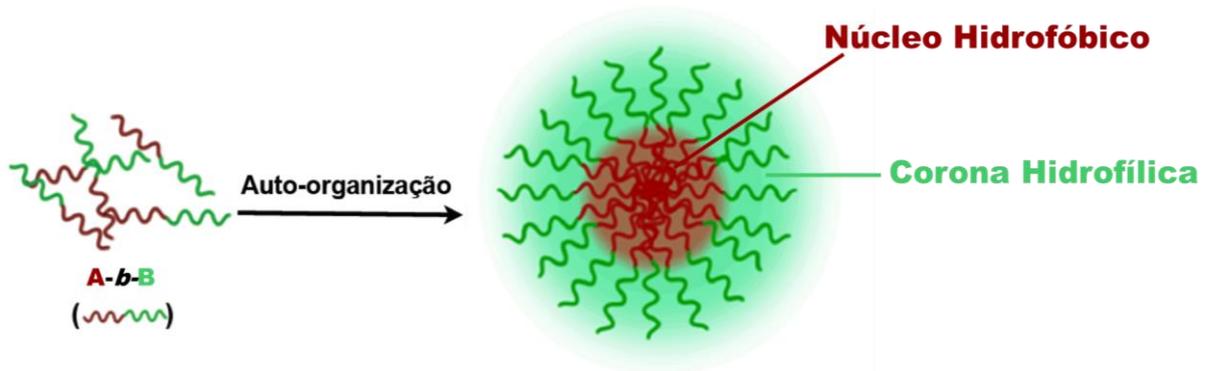


**Figura 5.** Representação de possíveis estruturas auto-arranjadas para macromoléculas poliméricas em solução (esquerda) e na fase bulk (direita).<sup>54,55</sup>

A possibilidade de auto-organização de copolímeros anfifílicos em solução leva a um estudo criterioso com relação às possíveis morfologias e também aos fenômenos que contribuem para a formação das nanoestruturas organizáveis, como a micelização e as propriedades ligadas à formação delas. Partindo-se do conceito de imiscibilidade dos blocos constituintes dos copolímeros, quando estes são dissolvidos em determinado solvente, haverá blocos com maior e outros com menor afinidade pelo mesmo. Esse é um dos princípios básicos para que ocorra a micelização, e a escolha do solvente é fator determinante na estrutura que se formará.

As estruturas ordenadas são formadas para que o contato entre o solvente e o bloco insolúvel seja minimizado. Isso ocorre, pois, os blocos insolúveis se orientam a fim de formar

um núcleo que minimize a interação com o solvente. O restante da cadeia polimérica, ou blocos solúveis, formam uma corona ao redor do núcleo solvofóbico. Quando temos núcleo e corona formados, o processo de micelização ocorreu e a micela formada apresenta corona solvofílica e núcleo solvofóbico, como exemplificada na **figura 6**.



**Figura 6.** Processo de micelização, em meio aquoso, de um copolímero anfifílico diblocos levando à formação de micelas esféricas do tipo núcleo-corona.<sup>15</sup>

As nanoestruturas são formadas porque ocorre um balanço entre os blocos insolúveis em água, os quais tendem a se agregar, e os blocos solúveis em água, que tendem a se repelir. Essa repulsão é responsável por limitar o tamanho dos agregados.<sup>3</sup> Parâmetros físico-químicos, como a tensão superficial na interface núcleo-corona, as interações entre as cadeias que formam a coroa da estrutura auto-organizada, a força de interação entre os blocos e solvente (parâmetro de interação Flory-Huggins,  $\chi$ ) e também a fração de volume,  $f$ , de cada bloco constituinte definem a relação entre as forças de atração e repulsão existente nas cadeias poliméricas.<sup>48</sup> Esses parâmetros são alguns dos que norteiam a engenharia macromolecular e de superfície para que novos polímeros apresentem as características necessárias para determinada aplicabilidade.

A escolha do método adequado para que ocorra a micelização do polímero depende principalmente da solubilidade do mesmo no meio onde as estruturas devem ser obtidas. Por isso, os procedimentos para preparação das micelas podem diferir de uma macromolécula para outra, o método mais usual em estudos de copolímeros em bloco anfifílicos em solução é o de dissolução indireta, porém o método utilizado neste trabalho foi o de induzir a auto-organização através de estímulos. Os principais métodos utilizados são:<sup>47</sup>

- 1) Dissolução direta;
- 2) Dissolução indireta (método de diálise ou evaporação do solvente);

- 3) Auto-organização induzida por estímulos (variação de pH, temperatura, etc.);
- 4) Reidratação de filmes finos; e
- 5) Emulsão.

Visto que as estruturas auto-organizadas são formadas por macromoléculas orgânicas, elas vêm sendo amplamente utilizadas para interagir com nanopartículas metálicas, sendo assim decoradas por elas através de interações eletrostáticas entre as entidades químicas presentes no polímero e nas partículas inorgânicas. Nanopartículas de ouro, as quais são o enfoque desse trabalho, com diferentes propriedades de superfície já demonstraram grande habilidade quando decoradas por macromoléculas.<sup>13,49,50</sup>

## 2.5 Sistemas híbridos nanopartícula-polímero

Para nanopartículas de ouro, Sakai e Alexandridis<sup>51</sup> propuseram um mecanismo de três etapas para a síntese das AuNPs por macromoléculas e posterior decoração dessas. No mecanismo a primeira etapa consiste na redução do íon metálico pela macromolécula em solução. Numa segunda etapa ocorre a adsorção do copolímero em bloco na superfície do cluster formado e conseqüente redução de íons metálicos na vizinhança e, por fim, crescimento das partículas metálicas e estabilização coloidal das mesmas pelo copolímero numa terceira etapa.

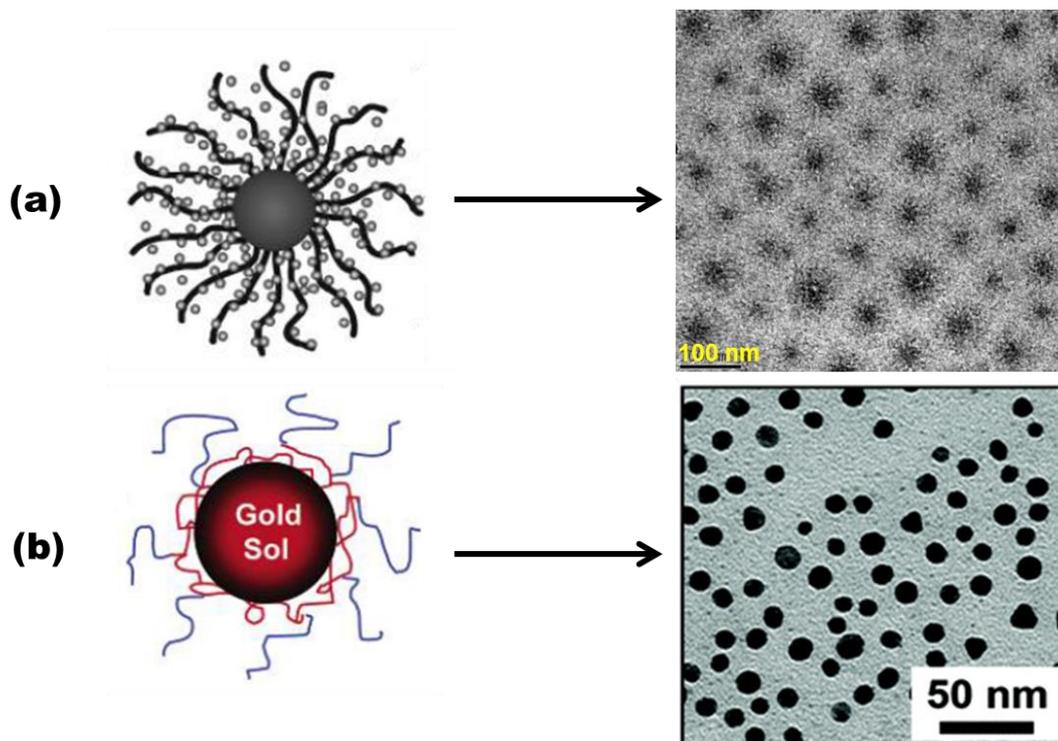
A forma e o tamanho das nanopartículas metálicas são determinados pela competição entre a nucleação, redução do íon metálico na solução, que ocorre na 1ª etapa, e a redução que se dá na superfície da partícula, processo que ocorre na 2ª etapa. Quando a nucleação ocorre no *bulk* da solução, maior quantidade de nanopartículas é formada, enquanto que, quando a nucleação/redução se dá na superfície da partícula, observa-se um aumento no tamanho das nanopartículas formadas.<sup>51,52</sup>

Vários trabalhos têm sido reportados na literatura sobre a confecção de sistemas híbridos orgânico-inorgânicos em escala nanométrica. Polte *et al*<sup>14</sup> estudaram sistemas AuNP@F-127 combinando técnicas de espalhamento de raios-X a baixos ângulos e espectroscopia de raios-X, a fim de monitorar a formação de nanopartículas em solução. Assim como Polte, Sakai *et al*<sup>13</sup> também estudaram vários copolímeros da série pluronic, copolímeros com diferentes fração de volume dos blocos constituintes - oxipropilênicos e

oxietilênicos - na formação de nanopartículas de ouro, explorando a cinética e o mecanismo de formação dessas e também sua estabilidade na presença de copolímeros anfifílicos.

Além dos polímeros plurônicos, outros copolímeros com funções antagonistas têm sido utilizados na síntese de sistemas híbridos, como o tetronic 904 (um copolímero dibloco à base de polióxido de etileno – PEO – e de polióxido de propileno – PPO), o qual possui estrutura em X devido a presença de um grupo etilendiamina, onde os substituintes são as cadeias poliméricas. Esse sistema foi utilizado pelo grupo de Mosquera *et al*<sup>52</sup> na formação de nanopartículas áuricas. Com a estrutura de polioxiaminas, o copolímero adquire múltiplos estímulos de resposta, como, por exemplo, sensibilidade ao pH.

Copolímeros anfifílicos à base de poli(*n*-butilacrilato) e de poli(ácido acrílico) e também de poli((2-metacrilóiloxido)etilfoforilcolina) e de poli((2-dimetilamino)etilmetacrilato), os quais são capazes de se auto-organizar em solventes seletivos, foram estudados por Müller *et al*<sup>5</sup> e por Armes *et al*<sup>12</sup>, respectivamente, na formação de nanopartículas metálicas. Müller *et al*<sup>5</sup> estudou sistemas utilizando nanopartículas com sílica como material inorgânico, enquanto Armes *et al*<sup>12</sup> utilizou o copolímero para sintetizar nanopartículas de ouro. Na **figura 7** é mostrado os sistemas híbridos resultantes obtidos por Müller *et al*<sup>5</sup> em **(a)** e por Armes *et al*<sup>12</sup> em **(b)**.



**Figura 7.** Exemplos de sistemas híbridos nanoparticulados obtidos por Müller *et al*<sup>5</sup> em **(a)** e por Armes *et al*<sup>12</sup> em **(b)**.

Apesar de o ouro metálico ter grande interesse na pesquisa de nanopartículas híbridas, outros elementos inorgânicos, metálicos ou não, são também estudados, a exemplo das pesquisas de Müller utilizando óxidos de silício. Nanofilmes de selenetos de cádmio utilizando um copolímero diblocos à base de poliestireno e de poli(2-vinilpiridina) foram estudados por Rüssel *et al.*<sup>8</sup> Nanopartículas metálicas de ouro, prata e paládio, a partir de seus respectivos complexos, foram estudadas por Mills *et al.*<sup>53</sup> utilizando poli(etilenoglicol) e poli(vinilálcool) em solução aquosa para reduzir e estabilizar as nanopartículas formadas.

## **CAPÍTULO 3. PARTE EXPERIMENTAL**

### 3.1 Materiais

Os reagentes utilizados na parte experimental deste trabalho foram adquiridos comercialmente das empresas Vetec<sup>®</sup> e Sigma Aldrich<sup>®</sup> e foram usados como recebidos.

Toda vidraria utilizada foi previamente limpa com água-régia e lavada várias vezes com água deionizada. Água ultra-pura foi coletada de um aparelho Millipore Alpha Q, no qual a água apresenta condutividade menor que 0,05  $\mu\text{S}/\text{cm}$  e usada no preparo das soluções.

Os copolímeros (PEO<sub>113</sub>-*b*-PG2MA<sub>30</sub>-*b*-PDPA<sub>50</sub>), (PEO<sub>113</sub>-*b*-PDEA<sub>50</sub>) e (PMPC<sub>40</sub>-*b*-PDPA<sub>60</sub>), onde os subscritos referem-se ao grau de polimerização de cada segmento, foram sintetizados por ATRP (do inglês *atom transfer radical polymerization*) seguindo procedimento adaptado de Liu *et al*<sup>54</sup> e descrito por Giacomelli *et al*.<sup>55</sup> Na síntese por ATRP é necessário um monômero, um iniciador e um catalisador e consiste na adição sequencial de monômeros criando um homopolímero, o qual na próxima etapa é chamado de macroiniciador e a partir dele cresce-se outro bloco constituinte do copolímero desejado, que passa a ser o macroiniciador no caso de copolímeros com três blocos constituintes. As características macromoleculares e, quando aplicáveis, suas estruturas auto-organizadas em água estão apresentadas na **tabela 1**, enquanto que as estruturas dos polímeros e monômeros utilizados são apresentadas na **figura 8**.

**Tabela 1.** Características moleculares dos polímeros e (quando aplicáveis) suas correspondentes estruturas auto-organizadas preparadas em água

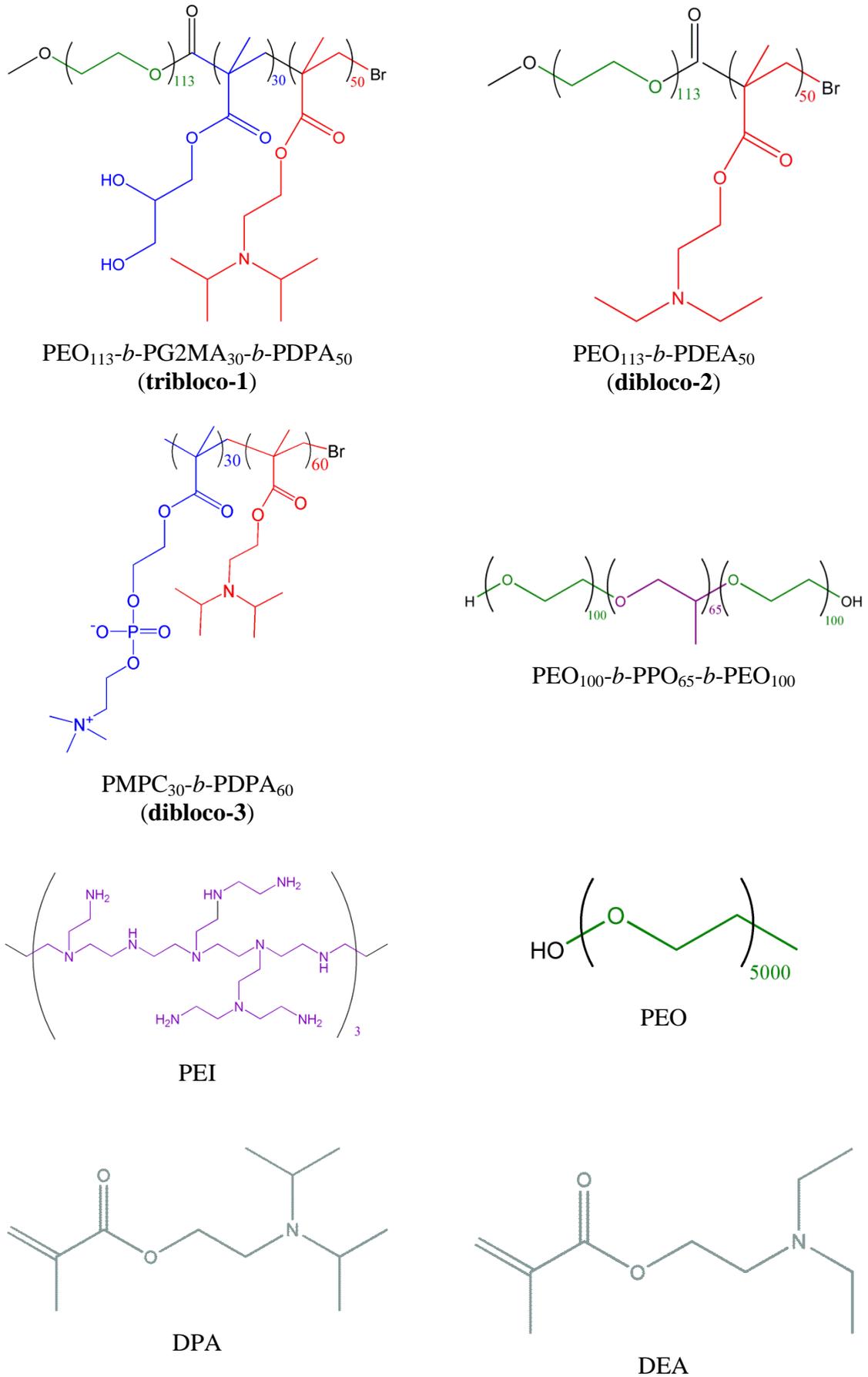
Arquitetura	Polímero <sup>a</sup>	M <sub>n</sub> (g/mol)	M <sub>w</sub> /M <sub>n</sub>	$\phi_{\text{hidrofóbico}}$ <sup>b</sup>	Diâmetro <sup>c</sup> (nm)	Morfologia <sup>d</sup>
<b>1</b> - Tribloco	PEO <sub>113</sub> - <i>b</i> -PG2MA <sub>30</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>50</sub>	20500	1,3	0,52	32	Micelas
<b>2</b> - Dibloco	PEO <sub>113</sub> - <i>b</i> -PDEA <sub>50</sub>	15700	1,2	0,68	26	Micelas
<b>3</b> - Dibloco	PMPC <sub>30</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>60</sub>	21000	1,2	0,59	82	Micelas
<b>4</b> - Tribloco	PEO <sub>100</sub> - <i>b</i> -PPO <sub>55</sub> - <i>b</i> -PEO <sub>100</sub>	12600	-	0,30	11	Micelas
<b>5</b> - Homopolímero	PEO <sub>113</sub>	5000	1,05	-	-	Espiral
<b>6</b> - Ramificado	PEI	1300	-	-	-	Espiral ramificado

<sup>a</sup> Subscritos referem-se ao grau de polimerização de cada bloco

<sup>b</sup> Volume da fração do bloco hidrofóbico, assumindo densidade polimérica 1,0 g/mL

<sup>c</sup> Tamanho hidrodinâmico das partículas auto-organizadas medidos por DLS

<sup>d</sup> Morfologia dominante das estruturas auto-organizadas em solução confirmadas por TEM



**Figura 8.** Estruturas dos polímeros e monômeros utilizados para a síntese dos sistemas híbridos de AuNPs.

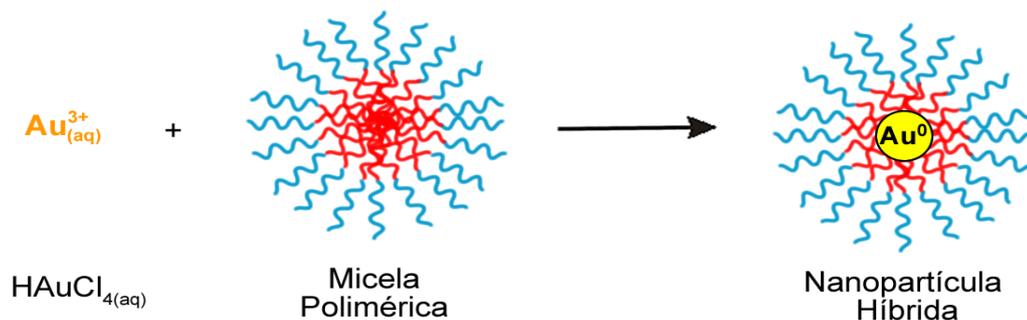
Os resíduos sólidos e líquidos foram armazenados de maneira adequada e em local apropriado no Departamento de Química – UFSM. Os mesmos foram recolhidos por uma empresa competente, a qual é responsável pelo tratamento e descarte correto dos resíduos.

## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Síntese das nanopartículas de ouro

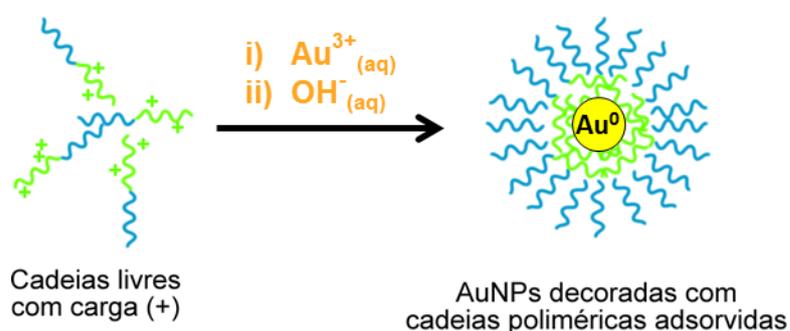
Foram preparadas as soluções aquosas de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  25 mM (estoque), a qual foi usada como fonte de íons áurico(III); de tampão  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,05 e 0,1M (STF) e de tampão  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  0,025M, utilizada para fixar o pH das dispersões coloidais em 6,8, 7,4 e 9,1; de HCl e NaOH ~1 M, necessários para dissolução e auto-organização dos copolímeros em bloco anfifílicos, respectivamente. As soluções aquosas dos polímeros e monômeros utilizados na síntese das nanopartículas áuricas foram preparadas antes da realização dos testes, não permanecendo estocadas.

Os estudos iniciais utilizando o copolímero **tribloco-1** foram realizados utilizando-se duas estratégias para a síntese das nanopartículas de ouro. Essas são possíveis devido ao comportamento anfifílico do copolímero, o qual, devido ao bloco nitrogenado, PDPA pode apresentar-se solúvel ou não em meio aquoso em função do pH do meio. Em uma primeira estratégia o ácido tetracloroáurico foi adicionado ao copolímero em meio básico (pH = 9,0), ou seja, ao copolímero auto-organizado, pois os nitrogênios desprotonados tornam o bloco PDPA insolúvel em água levando a formação de micelas. A **figura 9** ilustra essa estratégia.



**Figura 9.** Esquema para a formação de nanopartículas de ouro através da adição do precursor metálico na presença de micelas poliméricas.

Em uma segunda estratégia, o precursor áurico foi adicionado à solução de copolímero em meio ácido (pH = 3,5), isto é, as cadeias poliméricas solúveis devido à protonação dos grupos aminos do bloco PDPA. Após a adição dos íons Au(III) foi induzida a auto-organização das cadeias livres (unímeros) pela adição de NaOH 1 M até pH 9,0. A estratégia está ilustrada na **figura 10**. Em ambas as estratégias as concentrações de **tribloco-1** e Au(III) foram 1,0 mg/mL e 0,275 mM, respectivamente e as dispersões foram mantidas sob agitação por 24 horas a temperatura ambiente.



**Figura 10.** Esquema para a formação de nanopartículas de ouro através da adição do precursor metálico na presença de cadeias livres de copolímeros e após se induz a formação de micelas.

De posse dos resultados, utilizando-se as duas estratégias apresentadas, optou-se pela segunda para realizar o estudo cinético variando-se as concentrações de copolímero **tribloco-1** e de  $\text{HAuCl}_4$  e variando a temperatura. Para tanto, a síntese das  $\text{AuNP@tribloco-1}$  se deu pela adição de 1 mL de solução tampão fosfato, STF (pH 6,8) em 1 mL de solução contendo as cadeias de polímeros dissolvidas (pH 3,5) e o precursor áurico,  $\text{HAuCl}_4$ . O uso da solução tampão fosfato foi necessário para que somente uma variável fosse estudada, visto que o pH quando a solução não está tamponada, não é constante. As concentrações de copolímero **tribloco-1**,  $\text{HAuCl}_4$  e de temperatura utilizados no estudo cinético estão apresentadas na **tabela 2**.

**Tabela 2.** Condições experimentais para a síntese das AuNPs utilizando o copolímero **tribloco-1** para o estudo das variações na concentração de polímero, Au(III) e temperatura

Concentração <b>tribloco-1</b> (mg/mL)	$m_{\text{tribloco-1}}$ (g)	Concentração H <sub>AuCl<sub>4</sub></sub> (mM)	V <sub>H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub></sub> 25 mM (μL)	Temperatura (°C)
0,5	0,0010			
1,0	0,0020			
2,5	0,0050	0,275	22	25
5,0	0,0100			
		0,138	11	
		0,207	16,5	
		0,275	22	
1,0	0,0020	0,413	33	25
		0,550	44	
		0,619	49,5	
		0,688	55	
				20
1,0	0,0020	0,275	22	25
				35
				50

Soluções menos concentradas (0,1 e 0,01 mg/mL) de **tribloco-1** também foram utilizadas para estudar o efeito da concentração na síntese das nanopartículas, porém como a massa a ser pesada nesses casos era muito pequena optou-se por fazer uma diluição 1:10 e 1:100 respectivamente a partir de uma solução estoque 1,0 mg/mL de **tribloco-1**.

As AuNP@**dibloco-2** foram preparadas pela adição de 22 μL de H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> 25 mM à 1 mL de uma solução 1,4 mg/mL de **dibloco-2** dissolvido em pH 3,5 seguido pela adição de 1 mL de solução tampão com o pH desejado. As concentrações finais foram 0,275 mM de H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> e 0,7 mg/mL de **dibloco-2**. As AuNP sintetizadas usando o copolímero **dibloco-3** se deu pela adição de 22 μL de H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> 25 mM à 1 mL de uma solução 1,7 mg/mL de **dibloco-3** dissolvido em pH 3,5 seguido pela adição de 1 mL de solução tampão. As AuNPs@PEI foram preparadas pela adição de 22 μL de H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> 25 mM à 1 mL de solução polimérica 0,516 mg/mL e após adicionado 1 mL de solução tampão.

Para as síntese utilizando os monômeros DEA e DPA, foram adicionados 33  $\mu\text{L}$  de  $\text{HAuCl}_4$  25 mM à 1,5 mL de solução monomérica 0,94 mg/mL de DEA ou 1,04 mg/mL de DPA seguido da adição de 1 mL de solução tampão.

As sínteses utilizando o PEO-PPO-PEO para formação das AuNPs foi feita pela adição de 22  $\mu\text{L}$  de  $\text{HAuCl}_4$  25 mM à 1 mL de solução polimérica de concentração 25,2 mg/mL e 0,694 mg/mL em seguida foi adicionado 1 mL de solução tampão. Para a síntese utilizando PEO o mesmo volume de  $\text{HAuCl}_4$  foi adicionado à 1 mL de solução polimérica de concentração 100 mg/mL e 0,484 mg/mL e após, adicionado 1 mL de solução tampão.

### **3.2.2 Espectroscopia no Ultravioleta e Visível (UV-vis)**

A técnica de espectroscopia na região do ultravioleta e visível do espectro eletromagnético foi utilizada devido às informações sobre parâmetros físico-químicos, como velocidade de reação, que são extraídos com os resultados obtidos.

O intervalo correspondente à região ultravioleta compreende os comprimentos de onda entre 200 e 400 nm, com energia entre 628 e 293 kJ/mol, enquanto que para região do visível (400 a 800 nm) a energia do processo de excitação de moléculas está entre 293 e 147 kJ/mol. Para esses valores energéticos estão associados as transições eletrônicas, representando a diferença entre os estados energéticos, fundamental e excitado. Visto que o processo de absorção está relacionado com a transição eletrônica, a absorvância depende do número e arranjo de elétrons nas moléculas, as quais possuem um grupo cromóforo responsável pela absorção da luz.<sup>56</sup>

Os espectros eletrônicos nas regiões UV-vis foram registrados utilizando-se um espectrofotômetro Shimadzu UV2600, com velocidade de 600 nm/min (integração de 0,1 s por 1 nm) equipado com controle de temperatura e agitação magnética.

### **3.2.3 Espectroscopia no Infravermelho (IV)**

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram feitos na forma sólida em pastilhas de KBr (2 – 3 mg de nanopartículas, sedimentadas a partir da dispersão de ouro a

partir da centrifugação a 12000 rotação por minuto por 2 horas e secas a 75 °C por 12 horas). O aparelho utilizado foi um espectrofotômetro Bruker Tensor-27, com janela espectral entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.2.4 Análise Termogravimétrica (TGA)**

As análises termogravimétricas (TGA) foram conduzidas usando um aparelho TGA Q5000 com taxa de aquecimento de 10 °C/min em  $\text{N}_2$  a partir da temperatura ambiente até 600 °C para as nanopartículas precipitadas.

### **3.2.5. Voltametria Cíclica (VC)**

O estudo da voltametria cíclica na análise das sínteses de nanopartículas de ouro revestidas por polímeros foi realizado utilizando um potenciostato Metrohm Pensalab PGSTAT 128N. Foi usada uma célula eletroquímica equipada com três eletrodos: os eletrodos utilizados foram o de carbono vítreo (trabalho), de platina (contra-eletrodo) e de Ag/AgCl (KCl 3 M) (referência). Os voltamogramas foram registrados com velocidade de varredura de 50 mV/s e as soluções purgadas com argônio durante 20 minutos antes das medições.

### **3.2.6 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)**

O aparelho utilizado para caracterizar o tamanho das nanopartículas metálicas híbridas e micelares obtidas ao longo desse trabalho foi o Zetasizer Nanoseries da Malvern Instruments, operando em um ângulo fixo de 173°.

### 3.2.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

A análise morfológica das AuNPs em solução, foram realizadas utilizando o microscópio eletrônico de transmissão FEI, modelo Morgagni 268d a uma voltagem de aceleração de 80 kV. Detalhes cristalográficos destas NPs foram observadas utilizando microscopia HRTEM FEI Tecnai modelo de 20, operado a tensão de aceleração de 200 kV. O tamanho das partículas foi medido para cada amostra usando UTHSCSA software ImageTool. A suspensão das nanopartículas de ouro foi preparada em grades de cobre revestida com carbono onde uma gota da amostra foi pingada e após a grade mantida em dessecador até o momento da medida.

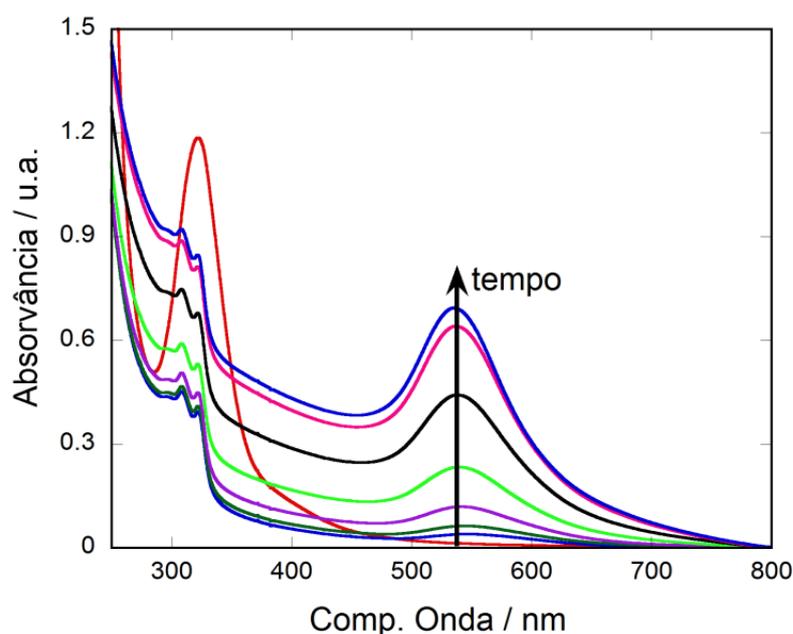
## **CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### 4.1 Comportamento do sistema polimérico e de AuNPs e características reacionais

O copolímero em bloco PEO<sub>113</sub>-*b*-PG2MA<sub>30</sub>-*b*-PDPA<sub>50</sub> (**tribloco-1**) responde a variação do pH originando nanoestruturas reticuláveis tanto em meio orgânico quanto em aquoso.<sup>10</sup> Quando dissolvido em água, com pH < 4, as cadeias estão carregadas positivamente e podem se auto-organizar quando da adição de solução tampão fosfato (STF) com pH 6,8, pois dessa forma o pH do meio aumenta para valores próximos do pKa dos grupos diisopropilamino (pKa = 6,3), os quais caracterizam o bloco PDPA do copolímero.<sup>78</sup>

Com a variação no pH do meio ocorre a desprotonação dos grupos aminos (50% quando pH = 6,8) resultando em cadeias anfifílicas de **tribloco-1** suficientes para iniciar o processo de micelização de modo a reduzir as interações com o solvente. A morfologia do **tribloco-1** auto-organizado são micelas esféricas do tipo casca-núcleo, onde o bloco PDPA, desprotonados e hidrofóbico, ocupa o núcleo micelar, o bloco intermediário PG2MA forma a camada intermediária e por fim formando a casca o bloco hidrofílico PEO.

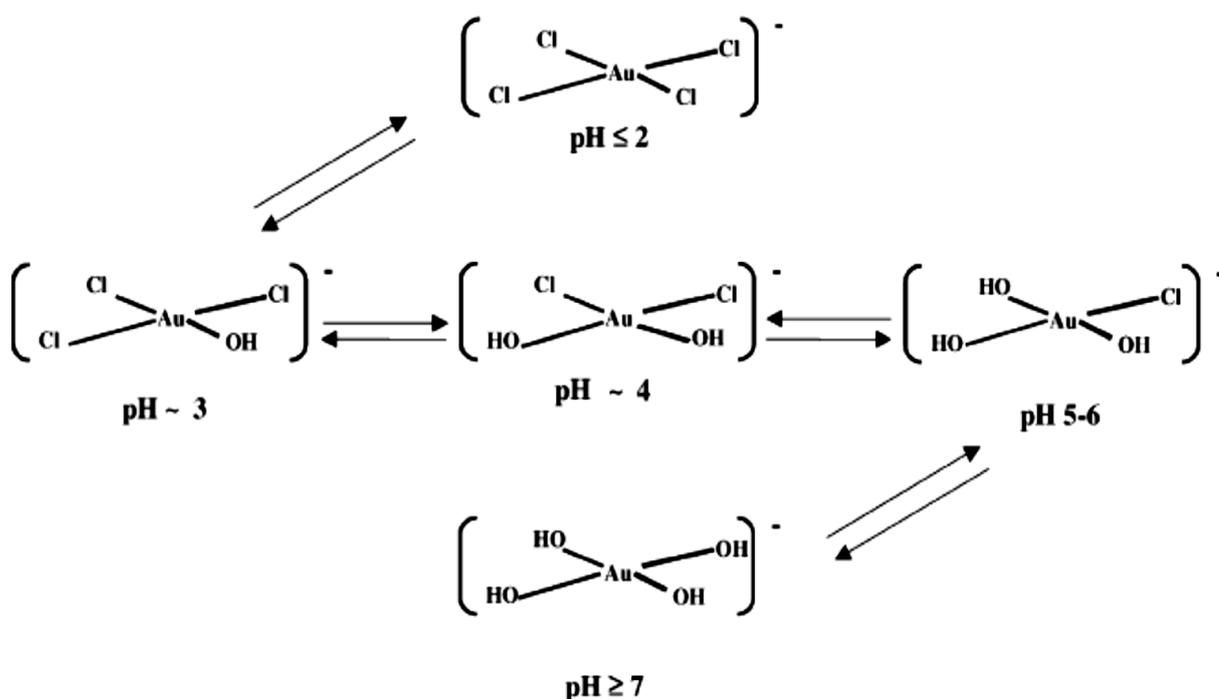
A síntese das nanopartículas de ouro por meio das nanoestruturas advindas do **tribloco-1** auto-organizado em pH 6,8, ajustado com STF foi estudada por espectroscopia no UV-Vis. A **figura 11** apresenta a evolução temporal dos espectros de absorção onde é possível observar 2 bandas principais, em 530 nm e em 320-310 nm.



**Figura 11.** Espectros de absorção em função do tempo para a síntese de AuNPs da reação entre H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> (0,275 mM) e **tribloco-1** (1,0 mg/mL) em pH 6,8 (STF).

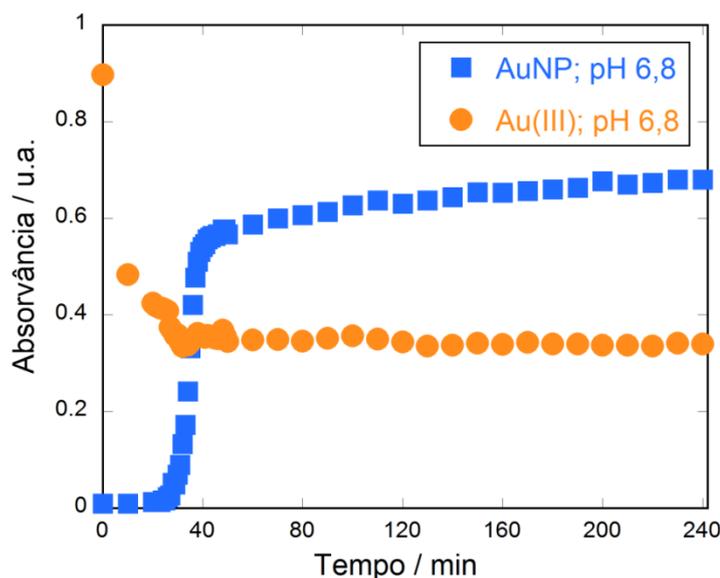
A transição observada em cerca de 530 nm é devido à ressonância plasmônica de superfície do ouro nanoparticulado formado a partir da redução do Au(III) na presença de micelas do copolímero **tribloco-1**. As bandas situadas abaixo de 400 nm (310 e 320 nm) são atribuídas às espécies Au(III) e são decorrentes da banda de transferência de carga ligante-metal (TCLM), isto é,  $Cl\ p\pi \rightarrow Au\ 5dx^2-y^2$  das espécies clorohidroxoáuricas ( $AuCl_xOH_{4-x}$ ) que estão presentes em solução e são dependentes do pH desta e também das espécies poliméricas que interagem com as de ouro como os complexos polímero- $[AuCl_xOH_{4-x}]$ .<sup>58-61</sup> A absorção eletrônica dos íons  $[AuCl_4]^-$  em solução micelar está localizada em  $\sim 327$  nm, enquanto que para os mesmos íons em solução aquosa é observada em  $\sim 314$  nm.<sup>62</sup>

O complexo de  $[AuCl_4]^-$  tem geometria quadrática e está presente em maior quantidade em soluções ácidas (pH = 2), quando o pH é aumentado essa espécie diminui em função do aumento dos complexos clorohidroxoáuricos (**figura 12**) os quais possuem menos ligantes cloretos.<sup>63</sup> Essa troca por ligantes hidroxos, de campo mais forte que o ligante cloreto explica o porque do aparecimento de uma nova banda (ou ombro) em comprimento de onda menor, ou seja, de maior energia.



**Figura 12.** Espécies derivadas de  $HAuCl_4$  em equilíbrio de acordo com o pH do meio.<sup>63</sup>

Para as bandas relativas à presença dos íons Au(III) ocorre uma rápida diminuição da absorvância (**figura 13**) e que é devido a alterações no ambiente de coordenação do centro metálico e também ao processo de nucleação e crescimento das nanopartículas que começam a predominar, reduzindo assim o Au(III) resultando em mais Au(0) em solução. Nota-se ainda que a absorvância referente ao Au(III) não decai a zero, isso ocorre pois durante o processo de nucleação formam-se pequenos cristalitos, também chamados sementes de Au(0), ou seja, partículas com poucos nanômetros de tamanho e que também absorvem na faixa de 300 – 450 nm, causando interferência na banda relativa aos íons Au(III) livre.<sup>64-67</sup> A partir dos dados de absorvância no PRS em função do tempo (**figura 13**) obtêm-se uma curva sigmoidal para o crescimento das nanopartículas de ouro. A forma sigmoidal é consistente com estudos de síntese de nanopartículas metálicas, sendo atribuída a um processo auto-catalítico<sup>62,70</sup> e também do crescimento de nanocristais de ouro pelo modelo agregativo.<sup>68,69</sup> Vale ressaltar que no caso das sínteses das AuNPs utilizando nanoestruturas do copolímero **tribloco-1** o mesmo não só atua como nanorreator mas também como agente redutor e estabilizador nas partículas formadas.<sup>54</sup>



**Figura 13.** Absorvância versus tempo das AuNPs, em 530 nm, e dos íons Au(III), em 320 nm durante a síntese em pH 6,8 (STF).  $\text{HAuCl}_4$  (0,275 mM) e **tribloco-1** (1,0 mg/mL).

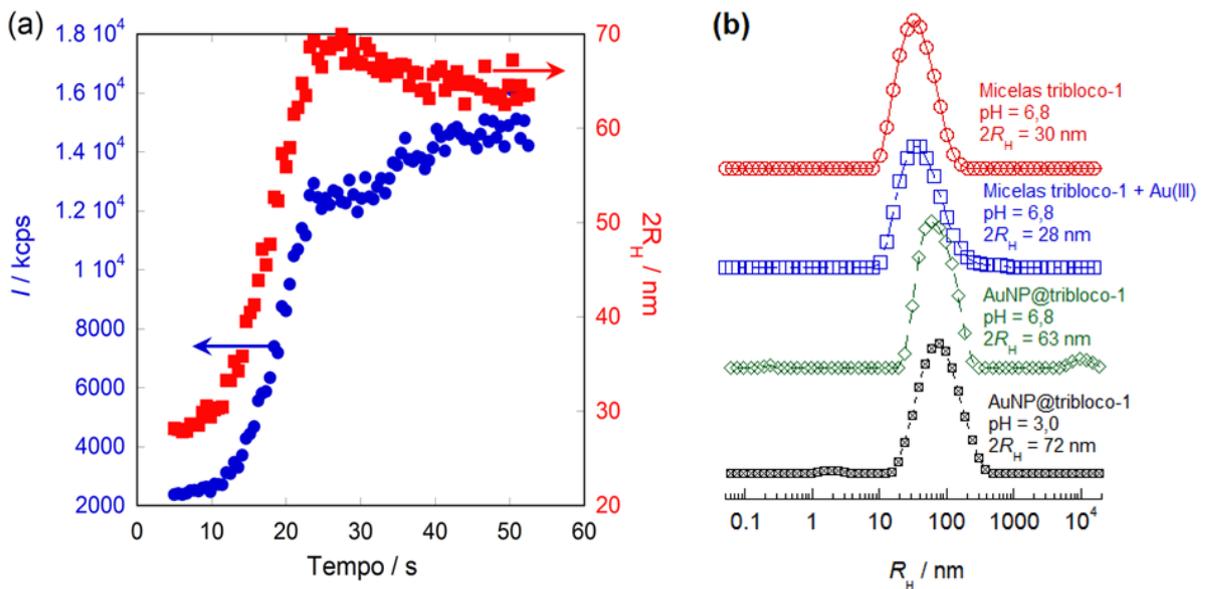
O processo de síntese começa com um período de indução, onde ocorre a organização do sistema, ou seja, para que a macromolécula se auto-organize e para que o processo de nucleação ocorra. Nesse período a absorção relativa ao PRS é insignificante, porém a

absorção proveniente das espécies Au(III) é diminuída.<sup>58</sup> Após o tempo de indução existe a contribuição da absorção de fundo, a qual induz a um falso aumento na absorvância dos íons Au(III), como já explicado essa absorção é decorrente das sementes de Au(0) formadas no processo de nucleação. A reação se dá no núcleo micelar, onde está o bloco redox ativo do **tribloco-1**, chamado de nanorreator, e também na interface núcleo-casca, onde a interação entre as espécies redutoras e o ouro é favorecida por concentrações elevadas de átomos de nitrogênio. Após ocorre o crescimento auto-catalítico das nanopartículas e estabilização das mesmas pelo **tribloco-1** até que a solução esteja saturada e passe a formar as AuNPs mais lentamente.

Para estudar o processo inicial da síntese das AuNPs foi utilizada a técnica de DLS, porém não foi possível observar as distribuições de tamanho bimodal nas fases iniciais da reação pois a intensidade da luz espalhada a partir de partículas muito pequenas, se presente, é mascarada por partículas maiores. Após um tempo inicial o crescimento das AuNPs no interior do núcleo micelar ocorre ou por um processo auto-catalítico<sup>70</sup> ou pelo crescimento dos pequenos cristalitos<sup>68</sup> e pode ser detectado por DLS. O comportamento do diâmetro das micelas ( $2R_H$ ) e a intensidade total da luz espalhada (I) aumentaram durante o tempo de síntese (**figura 14**).

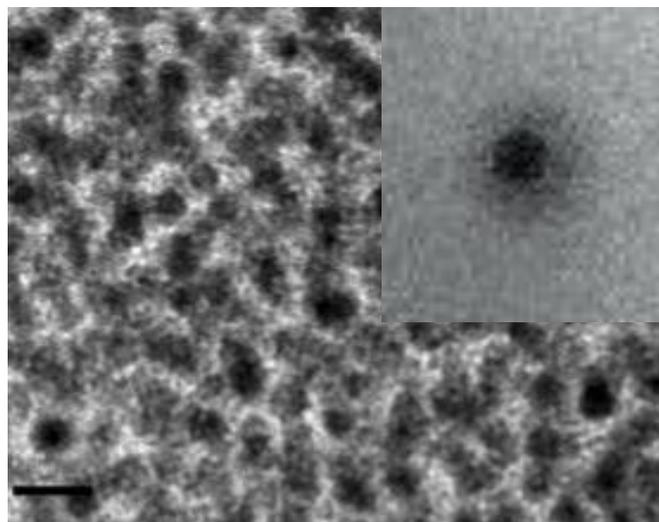
Os perfis de distribuição de tamanho apresentados na **figura 14** confirmam a presença de uma única população de nanoestruturas. Quando carregadas com nanopartículas de ouro as micelas de copolímero **tribloco-1** apresentaram maior diâmetro que quando puras, indicando a presença de AuNPs no núcleo micelar. Uma observação importante é que na presença de AuNPs as micelas não se desorganizaram quando o pH da solução é baixado para 3,0 mesmo na ausência de um reticulante micelar, sugerindo uma forte adsorção entre as cadeias de copolímero em bloco e a superfície de ouro.

A morfologia núcleo-casca esférica das nanoestruturas híbridas foi confirmado por imagens HRTEM (**figura 14**), na qual a partícula metálica está localizada no núcleo e ao redor a casca polimérica de densidade eletrônica comparativamente muito menor.



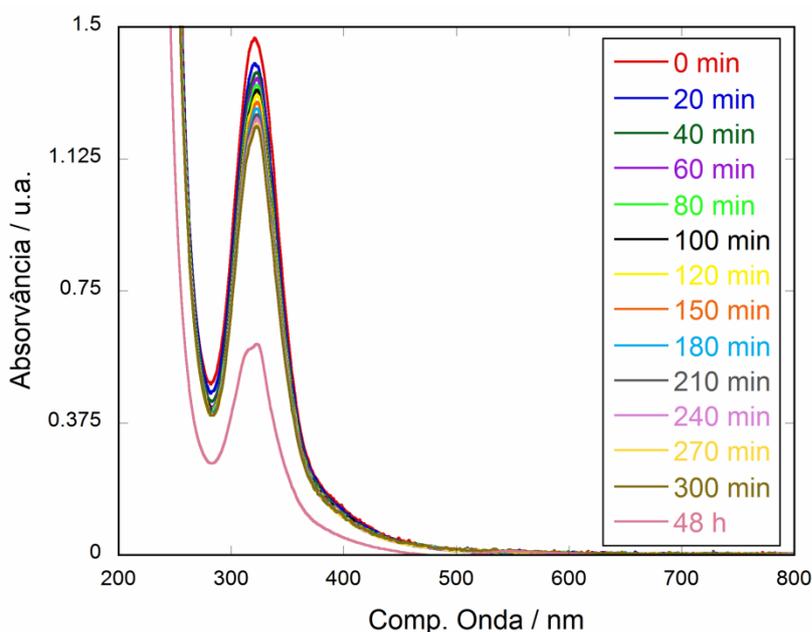
**Figura 14.** Intensidade de luz espalhada ( $I$ ) e diâmetro hidrodinâmico ( $2R_H$ ) durante o crescimento das partículas AuNP@tribloco-1 em solução tampão fosfato pH 6,8,  $\text{HAuCl}_4$  (0,275 mM) e tribloco-1 (1,0 mg/mL) em (a) e distribuição do tamanho das nanoestruturas em etapas selecionadas da síntese como indicado em (b).

A existência de apenas um PRS entre 500 e 700 nm significa que as nanopartículas são predominantemente de formato esférico, sendo reiterada pela micrografia eletrônica de transmissão de alta resolução (HTREM). A morfologia núcleo-casca esférica das nanoestruturas híbridas foi confirmada por imagens HRTEM (figura 15), na qual a partícula metálica está localizada no núcleo e ao redor a casca polimérica de densidade eletrônica comparativamente muito menor.



**Figura 15.** Micrografia HTREM das partículas híbridas AuNP@tribloco-1 sintetizadas pela reação de  $\text{HAuCl}_4$  (0,275 mM) e tribloco-1 (1,0 mg/mL) em pH 6,8 (STF). Escala = 20 nm.

Foi observado que para que a síntese das AuNPs seja efetiva é necessário a presença de estruturas auto-organizadas do copolímero. Isso pode ser comprovado pelo acompanhamento no UV-vis da mistura **tribloco-1** e  $\text{HAuCl}_4$  em meio ácido (pH 4,0) onde apenas se observa o decaimento da absorvância referente aos íons  $\text{Au(III)}$ , devido à presença dos complexos de ouro e de ouro-polímero que possuem diferentes coeficientes de extinção e que não absorvem no intervalo de comprimento de onda estudado, visto que nenhum pico novo aparece nos espectros (**figura 16**). Fato importante é que não há formação de AuNPs visto que o PRS é inexistente durante o tempo considerado (48 h) das medidas. Isso comprova que os átomos de nitrogênio são os responsáveis pela redução do ouro(III), devido ao par de elétrons livre, os quais em meio ácido estão indisponíveis, pois o mesmo está sendo usado na ligação  $[\text{R}_3\text{N} - \text{H}]^+$ .<sup>12</sup>



**Figura 16.** Espectros de absorção no UV-vis em função do tempo para solução contendo  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e **tribloco-1** 1,0 mg/mL em pH 4,0.

As nanopartículas de ouro foram isoladas a partir das soluções coloidais de ouro por centrifugação a 12000 rpm durante 2 h e secas a 75 °C. Após a centrifugação micelas puras de **tribloco-1** permaneceram no sobrenadante (incolor *versus* roxo-avermelhadas quando em presença do ouro nanoparticulado). Através da análise termogravimétrica dos AuNPs secas o teor orgânico (**tribloco-1**) foi de ~80% quando a composição inicial foi de 95% na reação padrão entre 0,275 mM de  $\text{HAuCl}_4$  e 1,0 mg/mL de **tribloco-1** implicando no fato de apenas

micelas puras, isto é, sem a presença de ouro nanoparticulado, permanecerem em solução. As curvas de TGA encontram-se no anexo dessa dissertação.

Ainda com as partículas precipitadas foram feitos experimentos de espectroscopia de raios-X de fotoelétrons (XPS) e no infravermelho (IV). Por essas técnicas era esperado obter informações acerca do ambiente químico ao redor do centro metálico, Au(0), porém por XPS devido à camada do copolímero em bloco que reveste a AuNP ser muito espessa (> 10 nm) não foi possível sua caracterização pela mesma. Em uma segunda tentativa foi tentado uma raspagem *in situ* com íons de argônio a fim de tentar remover o revestimento orgânico e que foi insuficiente para obtenção dos dados esperados. Já a técnica de IV dos sistemas híbridos AuNP@tribloco-1 (apresentado nos anexos) e do copolímero puro mostrou uma mudança significativa na banda referente ao estiramento da carbonila do éster,  $1731\text{ cm}^{-1} \rightarrow 1720\text{ cm}^{-1}$  na presença de ouro. Essa mudança mostra que as AuNPs estão adsorvidas no núcleo das micelas de **tribloco-1** concordando com outros autores que também evidenciaram essa mudança.<sup>12</sup>

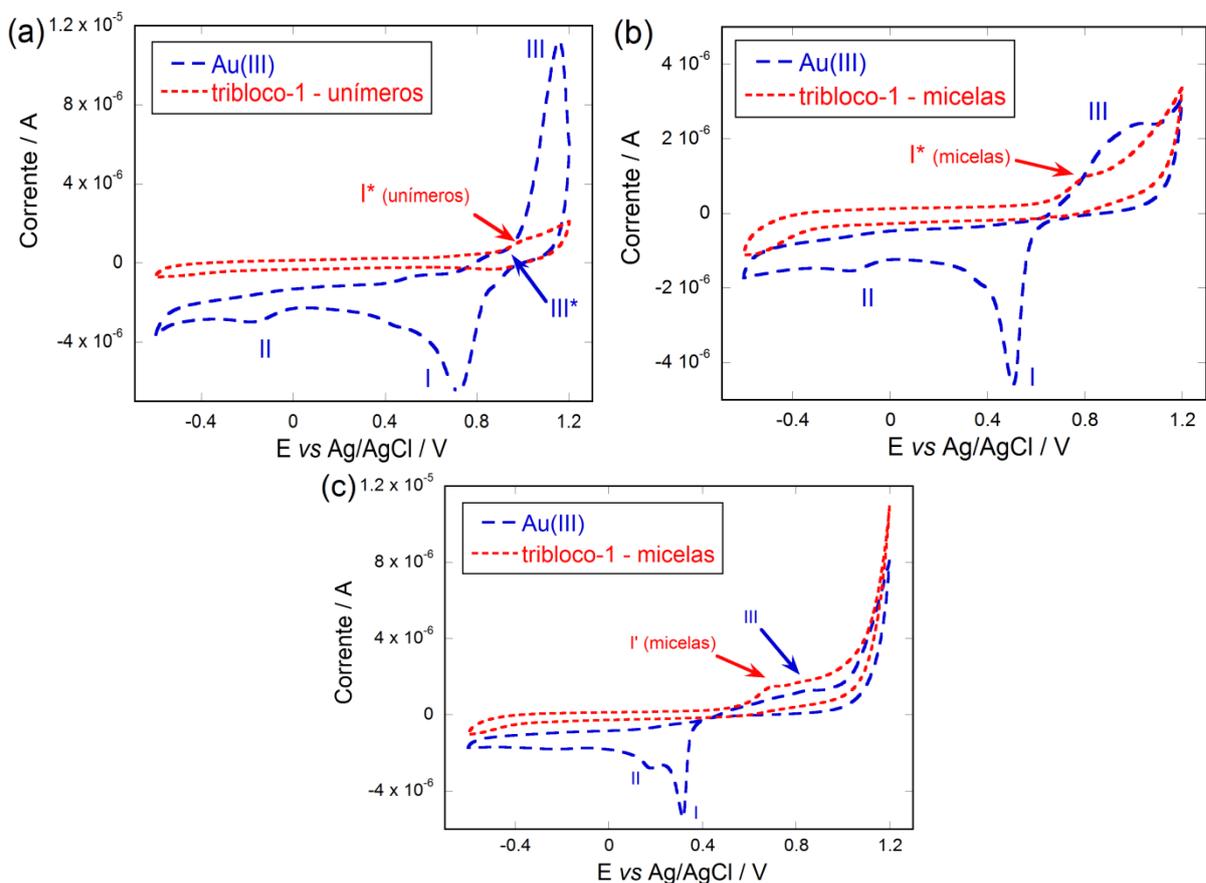
Outras bandas também sofrem alteração quando a micela está carregada de AuNPs, como no caso das bandas  $\nu_{\text{COOR}}$  do éster e  $\nu_{\text{CN}}$  do grupo diisopropilamino. Essas bandas passam a se sobrepor em  $1271\text{ cm}^{-1}$ . As duas bandas resultantes das vibrações de deformação do éter ( $\delta_{\text{COC}}$ ) em  $1153$  e  $1115\text{ cm}^{-1}$  deslocam-se para  $1115$  e  $984\text{ cm}^{-1}$  respectivamente quando na presença de AuNP. Essas mudanças na frequência das absorções estão relacionadas com a mudança no ambiente químico da micela polimérica quando a mesma está carregada de ouro nanoparticulado.

#### 4.2 Propriedades eletroquímicas das AuNPs

Os resultados acima discutidos mostram que para a síntese de nanopartículas de ouro mediada pelo **tribloco-1** ser efetiva é necessário que o meio seja neutro ou básico, com pH da solução próximo, ou acima, do pKa do grupo diisopropilamino do bloco PDPA. Essa condição limita a reação só ocorrer quando as cadeias do polímero estão auto-organizadas como micelas esféricas do tipo casca-núcleo. O aumento do pH para valores acima do pKa não somente desprotona o copolímero em bloco como também altera o ambiente de coordenação do centro metálico, o qual passa a existir como complexos clorohidroxoáuricos ( $\text{AuCl}_x\text{OH}_{4-x}$ ), devido à substituição dos ligantes cloro por outros ligantes doadores de

elétrons como oxigênio (íons hidroxila) e nitrogênio (grupos amino terciário do copolímero) aumentando a densidade eletrônica do centro metálico. Esse aumento resulta na mudança do potencial de redução do Au(III) afetando o processo de formação das AuNPs e que tem sua termodinâmica dependente do agente redutor, no caso os grupos diisopropilamino do bloco PDPA.

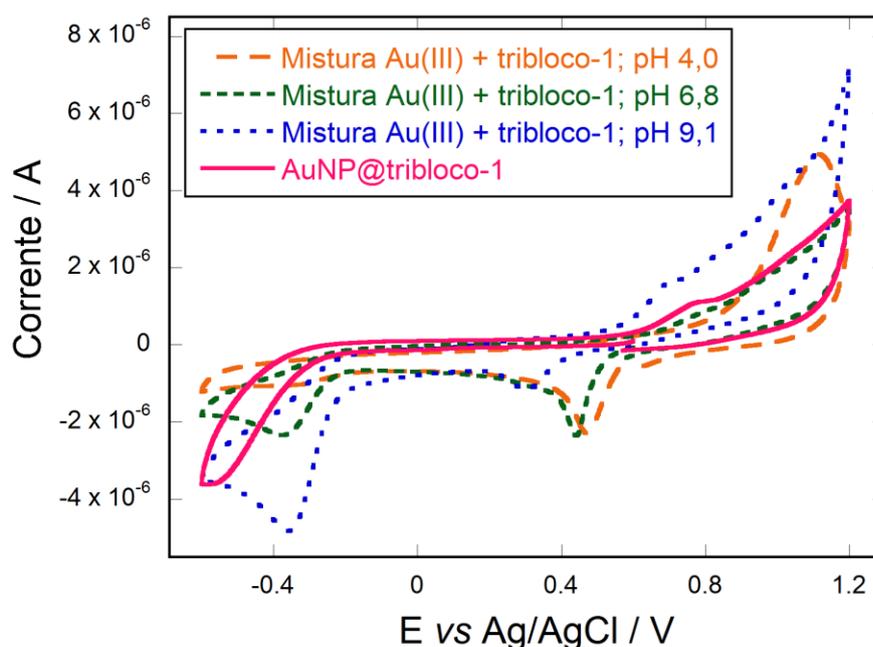
Estudos demonstrando o poder redutor de diferentes aminas mostram claramente que o potencial de oxidação do agente redutor deve estar entre a oxidação do Au(0) para Au(III) e a redução do Au(III) a Au(0) para que a reação seja espontânea. Fora desse intervalo a reação não é espontânea.<sup>71</sup> Atualmente uma variedade de aminas primárias e aminas multifuncionais, incluindo polímeros têm sido exploradas na síntese e estabilização de nanopartículas de ouro.<sup>52,72</sup> Foi estudado, então, por voltametria cíclica (VC) o comportamento do copolímero **tribloco-1** na forma de unímeros (pH 4,0) e na forma auto-organizada (pH 6,8 e 9,1) e também do Au(III) nessas condições (**figura 17**). Para todas as medidas de VC a verificação do potencial foi iniciada logo acima do potencial de redução do Au(III) e na direção catódica.



**Figura 17.** Voltamogramas cíclicos medidos a 50 mV/s em solução aquosa de Au(III) 0,275 mM e de **tribloco-1** 1,0 mg/mL ( $[NR_3] = 2,44$  mM) em pH 4,0 usando KCl 0,1 M como eletrólito em (a); em pH 6,8 com  $KH_2PO_4/K_2HPO_4$  0,1 M como eletrólito em (b) e em pH 9,1 com  $Na_2B_4O_7$  0,025 M como eletrólito em (c).

Em pH 4,0 (**figura 17(a)**) a redução do Au(III) a Au(0) ocorre no potencial de 0,72 V (pico I), e a oxidação do principal produto gerado, Au(0), ocorre em 1,14 V (pico III). Para o copolímero **tribloco-1** na forma de polietletrólito catiônico, ou seja, em pH ácido, não existe grande atividade eletroquímica verificada por um fraco sinal de oxidação em 1,00 V (ombro I\* - unímeros). Quando o pH é ajustado para 6,8 com solução tampão fosfato o potencial eletroquímico das espécies Au(III) e **tribloco-1** na forma de micelas é alterado para valores menores: 0,50 V para a redução do Au(III) a Au(0) e este, é oxidado em 0,92 V; micelas do copolímero **tribloco-1** sofrem oxidação em 0,81 V levando a um aumento na densidade de corrente. (**figura 17(b)**). O mesmo comportamento foi observado para os voltamogramas cíclicos das espécies em pH 9,1 (**figura 17(c)**).

Em ambos os casos o potencial de oxidação do polímero situa-se dentro da faixa requerida para a ocorrência de uma reação redox (espontânea) com Au(III) porém não é observada a formação de AuNPs num primeiro momento. Isso ocorre, pois a oxidação do Au(0) em 0,92 V (ombro III\*) ocorre em um potencial menor que a oxidação do copolímero levando a sua oxidação antes da do copolímero. A **figura 18** apresenta os voltamogramas cíclicos para as misturas **tribloco-1** com Au(III) em pH 4,0; 6,8 e 9,1 e para a solução contendo AuNPs.



**Figura 18.** Voltamogramas cíclicos medidos a 50 mV/s em solução aquosa para as misturas Au(III) + **tribloco-1** em pH 4,0 (KCl 0,1 M como eletrólito), 6,8 (usando  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1 M como eletrólito) e 9,1 (usando  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  0,025 M como eletrólito) e das AuNP@**tribloco-1**.  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e **tribloco-1** 1,0 mg/mL.

Nota-se que para a mistura em pH 4,0, a presença de unímeros do copolímero influencia fortemente a redução do Au(III) alterando seu potencial para valores catódicos, de 0,72 V para 0,45 V. Porém como na forma de unímeros o copolímero é um polieletrólito catiônico eletroquimicamente inerte a redução das espécies metálicas é, conseqüentemente, mais difícil. Já para a mistura em pH = 6,8, o pico referente à redução do Au(III) (0,44 V) exhibe perfil semelhante ao ouro(III) puro, embora a densidade de corrente seja menor devido a diminuição da concentração de Au(III) na superfície do eletrodo durante a reação química, homogênea com micelas poliméricas, que logo após a mistura dos reagentes observa-se um decréscimo na absorvância relativa ao Au(III) durante o tempo de indução como já discutido no UV-vis. O produto da reação é um complexo de Au(I) que posteriormente é reduzido a Au(0) em -0,37 V.

Pelo voltamograma cíclico da mistura Au(III) mais **tribloco-1** – pH 6,8 pode-se afirmar que a síntese de nanopartículas de ouro é mediada exclusivamente por polímeros com grupos amino terciários situados no núcleo micelar (o microambiente da reação), sem a necessidade de qualquer outro reagente pelo fato de que o potencial de oxidação para o polímero auto-organizado (0,81 V) ser menor que o do ouro(0) (0,92 V). O voltamograma para a solução de AuNP@**tribloco-1** demonstrou que praticamente todo Au(III) foi convertido em Au(0) visto que nenhum pico típico da sua redução foi observado (**figura 18**).

Para a mistura Au(III) mais **tribloco-1** em pH 6,8, o qual o aumento de pH neutraliza os grupos diisopropilamino do bloco PDPA e induz a micelização torna as cadeias de copolímero mais doadoras de elétrons devido ao par não-ligante dos átomos de nitrogênio. As micelas então formadas na presença de Au(III) passam a ter esses íons coordenados ao nitrogênio no núcleo micelar, a afinidade dos íons Au(III) é maior pelos átomos de nitrogênio, doadores de elétrons, presentes na solução. Essas nanoestruturas do tipo núcleo-casca podem interagir com a superfície do eletrodo e apresentar atividade eletroquímica, apesar de a casca micelar ser eletroquimicamente inativa. Isso é possível, pois as cadeias que formam a casca da micela podem se deformar ou reorganizar, através da hidratação, para facilitar o contato com a superfície do eletrodo.<sup>73</sup>

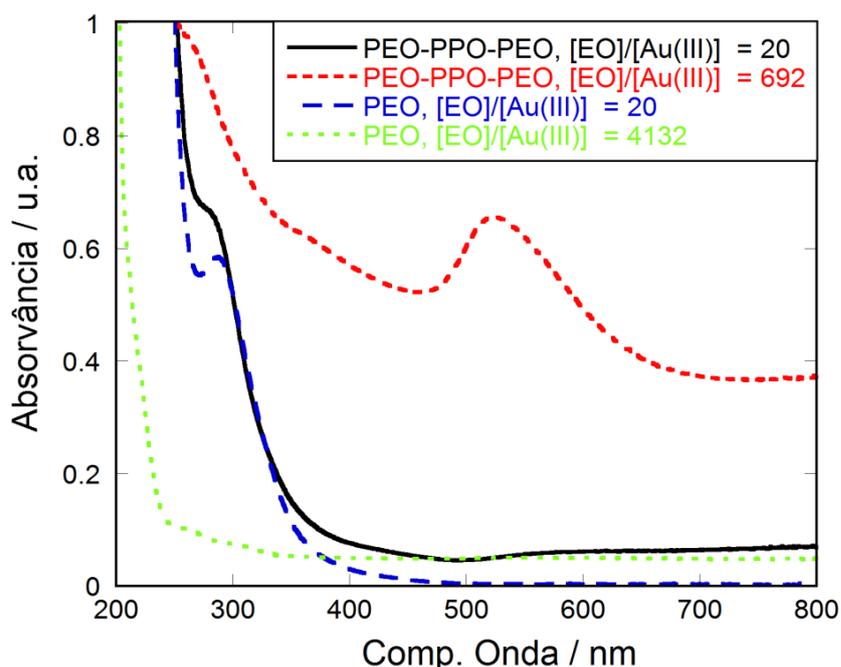
### 4.3 Estrutura e reatividade polimérica

A estrutura polimérica foi investigada a fim de relacioná-la com a síntese e estabilização das nanopartículas de ouro, objetivando determinar quais funções químicas são responsáveis pelo processo de redução do Au(III) e de estabilização das AuNPs. Este estudo foi motivado visto que o copolímero **tribloco-1** (PEO<sub>113</sub>-*b*-PG2MA<sub>30</sub>-*b*-PDPA<sub>50</sub>) é constituído de três diferentes blocos e que isoladamente auxiliam a síntese e estabilização das nanopartículas formadas.

O comportamento de cada bloco foi avaliado através da relação estequiométrica entre o agente oxidante, Au(III) e os possíveis agentes redutores, óxido de etileno, hidroxilas e aminas, do principal polímero estudado, **tribloco-1**. As concentrações usadas como referência foram 0,275 mM de HAuCl<sub>4</sub> e 1,0 mg/mL de **tribloco-1** resultando nas relações: [OE] / [Au(III)] = 20; [OH] / [Au(III)] = 10 e [N] / [Au(III)] = 9, onde OE, OH e N referem-se às prováveis espécies redutoras presentes nos blocos PEO, PG2MA e PDPA do **tribloco-1** respectivamente. A avaliação de cada bloco e seu papel na síntese das AuNPs se deu com base nos dados de espectroscopia de absorção no UV-vis das sínteses de co e homopolímeros e também monômeros, que possuem estruturas semelhantes às dos blocos citados, com Au(III).

#### 4.3.1 Óxido de etileno, PEO

Os testes para avaliar a capacidade do bloco óxido de etileno na formação das AuNPs foram realizados utilizando o copolímero tribloco F-127 à base de polióxido de etileno e polióxido de propileno (PEO<sub>100</sub>-*b*-PPO<sub>65</sub>-*b*-PEO<sub>100</sub>) e também o homopolímero polióxido de etileno, (PEO<sub>5000</sub>). A **figura 19** apresenta os espectros de absorção UV-vis das soluções 24 horas após a mistura dos reagentes.



**Figura 19.** Espectros de UV-vis para os sistemas de óxido etileno estudados medidos 4 horas após a mistura dos reagentes.  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e polímeros de concentração selecionada para a estequiometria indicada, em pH 6,8.

Pelos espectros no UV-vis fica evidenciado que tanto o homopolímero PEO como o copolímero PEO-PPO-PEO não conseguem sintetizar as nanopartículas nas condições de referência, isto é, na razão  $[\text{EO}] / [\text{Au(III)}] = 20$  visto que é inexistente a presença do PRS característicos dos sistemas nanoparticulado. No caso do PEO, em pH 6,8, aumentando em cerca de 200 vezes a relação  $[\text{EO}] / [\text{Au(III)}]$  o mesmo ainda não foi hábil em sintetizar as AuNPs. Entretanto para o copolímero PEO-PPO-PEO o aumento na relação estequiométrica entre os reagentes foi capaz de induzir a formação das nanopartículas *via* oxidação dos blocos oxietileno e oxipropileno. O motivo para esta diferença é o fato do homopolímero não se auto-organizar enquanto que o PEO-PPO-PEO sendo um copolímero anfifílico forma micelas em meio aquoso. Além da formação de nanoestruturas organizadas o copolímero PEO-PPO-PEO adota a conformação semelhante à estrutura de pseudo éteres de coroa capazes de se ligar ao centro metálico.<sup>51,74</sup>

Portanto a força de atração entre o polímero e os íons  $\text{Au(III)}$  são dependentes da concentração. Também foi verificado por voltametria cíclica (anexo) que, em baixas concentrações de PEO e PEO-PPO-PEO não há picos de oxidação para essas espécies, tornando-as de baixo poder redutor. Redutores adicionais, como tetraidroborato de sódio ou citrato, podem ajudar a síntese das nanopartículas, mas dessa forma o polímero irá funcionar

primariamente como agente estabilizante e ainda, potencialmente, ditarão o tamanho e a forma das nanopartículas.<sup>75</sup>

#### 4.3.2 Polimetacrilato de 2,3-diidroxiopropila, PG2MA

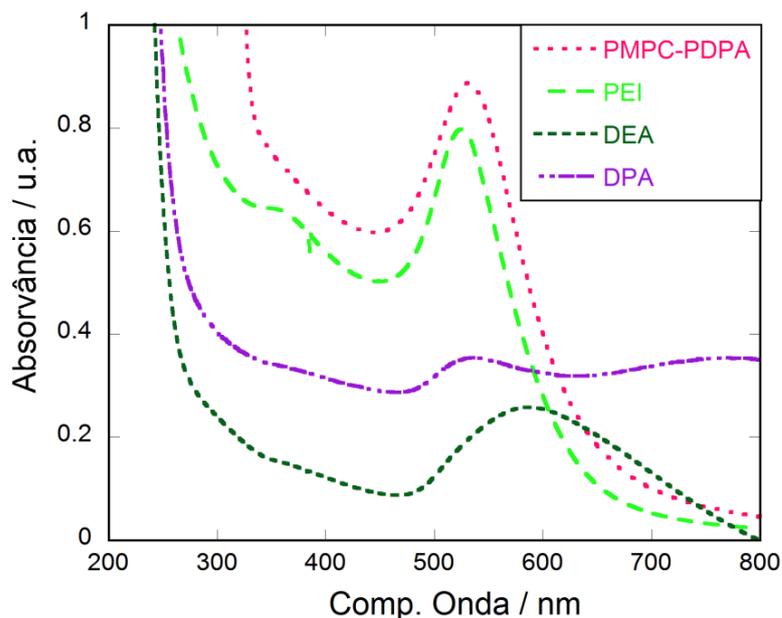
O bloco polimetacrilato de 2,3-diidroxiopropila é o bloco intermediário do copolímero **tribloco-1** e sua cadeia é derivada do monômero glicerol sendo este usado para avaliar o bloco PG2MA na síntese das nanopartículas de ouro. Assim como para o PEO e o PEO-PPO-PEO não foi verificado a presença de um PRS no espectro de UV-vis (anexo). Dessa forma é possível entender que o bloco intermediário PG2MA não participa diretamente na reação de redução do Au(III) conforme comprova o voltamograma cíclico, já que não existem picos de oxidação nem de redução para tal espécie, sendo esta eletroquimicamente inerte. Açúcares com várias hidroxilas, como a dextrose<sup>76</sup>, têm-se mostrado bons agentes redutores e estabilizantes de nanopartículas áuricas, porém altas concentrações são requeridas para a síntese.

#### 4.3.3 Polimetacrilato de 2-diisopropilaminoetila, PDPA

Como já visto anteriormente, a redução do Au(III) não é atribuída aos blocos da casca micelar, PEO e PG2MA, por exclusão o bloco químico que media eficazmente a síntese das nanopartículas de ouro é o grupo enxertado no polímero polimetacrilato, o 2-dialquilaminoetila. Aminas terciárias com substituintes alifáticos são bons agentes redutores para a síntese de AuNPs conforme relatos na literatura.<sup>12,71</sup>

A eficiência do bloco nitrogenado do **tribloco-1** foi verificada utilizando-se dois copolímeros em bloco anfifílico, PEO-*b*-PDEA (**dibloco-2**) e PMPC-*b*-PDPA (**dibloco-3**) e um homopolímero ramificado, PEI. Também foram utilizados dois monômeros, DPA e DEA. As reações de síntese e estabilização das AuNPs mediadas pelos copolímeros anfifílicos **dibloco-2** e **3** ocorreram de forma semelhante à já discutida para o **tribloco-1**: clássico PRS evidenciado nos espectros de absorção no UV-vis (**figura 20**). O homopolímero PEI quando mediador da síntese das AuNPs observou-se a agregação destas que resultaram na

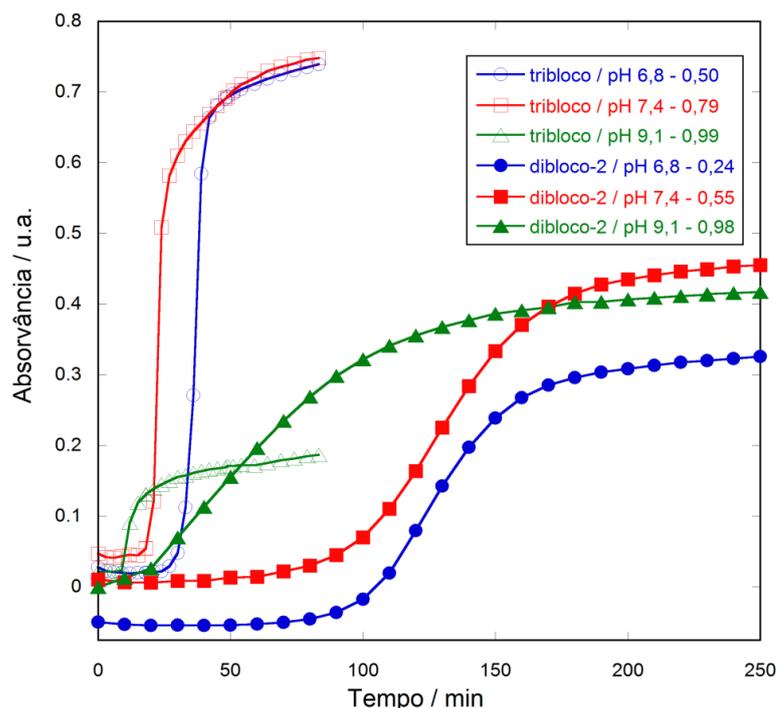
precipitação das AuNPs em curto período de tempo após a síntese. Assim como no caso do PEO, o homopolímero PEI também não se auto-organiza em meio aquoso sendo ineficaz para estabilização estérica dos coloides de ouro.



**Figura 20.** Espectros de UV-vis para os sistemas nitrogenados estudados medidos 4 horas após a mistura dos reagentes.  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM, monômeros e copolímeros de concentração selecionada para a estequiometria  $[\text{N}]/[\text{Au(III)}] = 9$ , em pH 6,8.

Os monômeros nitrogenados, DEA e DPA conseguiram reduzir o Au(III) e formar nanopartículas de ouro, porém a sua estabilização, como era esperado devido ao pequeno volume da molécula, foi precária. Na dispersão contendo DEA e DPA foi observado que as nanopartículas sintetizadas aglomeraram-se e precipitaram logo após as 4 horas consideradas para a síntese se completar.

Na síntese das AuNPs mediada pelo **dibloco-2**, a etapa de crescimento das mesmas foram caracterizadas por um elevado tempo de indução e de cinética mais lenta quando comparada com os sistemas usando **tribloco-1**. Esse achado está relacionado aos valores de pKa do bloco aminado serem bastante diferentes: 7,3 para o PDEA (presente no **dibloco-2**) e 6,3 para o PDPA (presente no **tribloco-1**).<sup>77,78</sup> Dessa forma, a concentração de grupos amino hidrofóbicos depende do pH da solução (anexo) interferindo nos parâmetros da reação. A **figura 21** apresenta os perfis cinéticos da síntese de AuNPs mediadas pelo **tribloco-1** e **dibloco-2** em três diferentes pH com as respectivas frações molares de grupos aminos desprotonados ( $\alpha$ ).



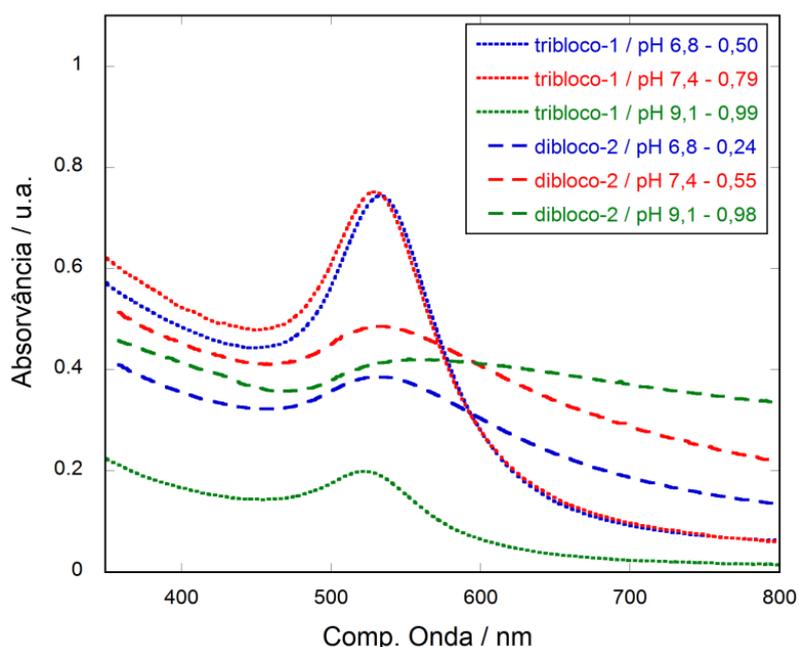
**Figura 21.** Perfis cinéticos da síntese de AuNPs pela reação entre  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e **tribloco-1** (símbolos vazios) ou **dibloco-2** (símbolos cheios) nas correspondentes concentrações para  $[\text{N}] / [(\text{Au}(\text{III}))] = 9$  em soluções tamponadas de diferentes pH e as respectivas frações molares de aminas desprotonadas ( $\alpha$ ) como indicado. As linhas cheias correspondem as absorvâncias a cada 3 s no PRS, o número de símbolos foi reduzido para melhor visualização.

Em pH ácido (4,0) o comportamento cinético do copolímero **dibloco-2** segue o mesmo do **tribloco-1** no qual não é observado PRS referente às AuNPs e que já foi discutido anteriormente.

O período de indução para a reação mediada pelo **tribloco-1** ( $\alpha = 0,50$ ) é significativamente mais curto em pH 6,8 quando comparado ao **dibloco-2** ( $\alpha = 0,24$ ) caracterizado pelo rápido aumento na absorvância seguido pela estabilização da mesma. Quando a síntese ocorre em pH 7,4, o valor de  $\alpha$  do **dibloco-2** (0,55) se torna comparável com o  $\alpha$  do **tribloco-1** a pH 6,8 (0,50) esperando uma cinética semelhante à do último, porém não é o observado: o período de indução continua longo (~100 minutos *versus* ~30 minutos no **tribloco-1** a pH 6,8), além da absorvância se estabilizar a metade do valor referente à do **tribloco-1**. Com esse resultado é possível afirmar que a formação das AuNPs não somente é uma questão de quanto grupos aminos estão disponíveis para mediar a redução do Au(III) mas também está relacionado com a estrutura dos grupos aminos, DPA e DEA substituintes do bloco redutor dos copolímeros **tribloco-1** e **dibloco-2**, respectivamente, sendo o primeiro mais eficiente que o segundo.

Quando o pH é elevado a 9,1 ambos os copolímeros estão praticamente 100% desprotonados porém os perfis cinéticos ainda continuam diferentes. Os períodos de indução diminuem para os dois copolímeros (10 minutos para o **tribloco-1** e 25 minutos para o **dibloco-2**) enquanto que a absorvância apenas para o copolímero **tribloco-1** é observada alteração significativa, ficando cerca de 4 vezes menor que a conseguida nas sínteses a pH 6,8 e 7,4. A baixa absorvância é atribuída a uma baixa concentração de AuNPs visto que não a alteração nos comprimentos de onda referentes ao PRS no espectro de UV-vis (**figura 22**) e, portanto, as nanopartículas formadas em todas as variações de pH são da mesma forma (presença de apenas um PRS são referentes às partículas esféricas).

Dois efeitos favorecem o decréscimo da concentração de AuNPs, em primeiro lugar, o potencial de redução de Au(III)/Au(0) é deslocado para valores catódicos em pH elevado, sendo necessário maior poder do agente redutor para que a reação ocorra e, em segundo lugar, o núcleo micelar é altamente desidratado a pH 9,1 tornando a difusão dos íons Au(III) dentro e para este compartimento durante a reação mais difícil, principalmente nos sistemas AuNP@**tribloco-1** no qual o bloco DPA é mais volumoso. Dessa forma a concentração das AuNPs formadas está relacionada com a quantidade de Au(III) que o copolímero consegue encapsular quando da sua auto-organização induzida pelo pH elevado da solução.

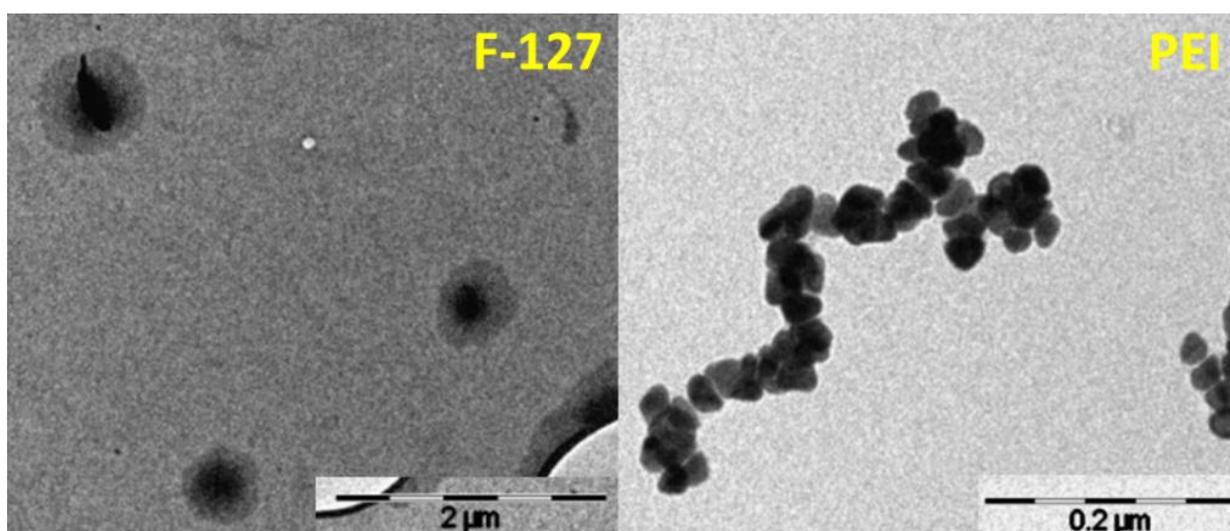


**Figura 22.** Espectros de absorção UV-vis dos sistemas AuNPs pela reação entre  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e **tribloco-1** (símbolos vazios) ou **dibloco-2** (símbolos cheios) nas correspondentes concentrações para  $[\text{N}] / [(\text{Au}(\text{III}))] = 9$  em soluções tamponadas de diferentes pH e as respectivas frações molares de aminas desprotonadas ( $\alpha$ ) como indicado.

Ainda pelos espectros de absorção no UV-vis a baixa absorvância para as nanopartículas de ouro sintetizadas pelo copolímero **dibloco-2** pode estar relacionada à presença de aglomerados formados pela coalescência de partículas menores e que absorvem em comprimentos de ondas maiores (**figura 22**). Para os sistemas AuNP@**tribloco-1** as absorvâncias relativas a esses aglomerados não é tão intensa como para as AuNP@**dibloco-2**.

Para os sistemas AuNP@PEO-PPO-PEO e AuNP@PEI, nos quais as macromoléculas foram utilizadas para verificar a função dos blocos polióxido de etileno e bloco nitrogenado, respectivamente, na síntese de nanopartículas de ouro foram feitas micrografias eletrônica de transmissão apresentadas na **figura 23** e obtidas as morfologias dessas nanoestruturas. As micrografias mostram a formação de estruturas esféricas para o sistema PEO-PPO-PEO (F-127) concordando com o fato de que as nanopartículas adquirem a forma do nanorreator<sup>79</sup>, nesse caso micelas esféricas.

Para o sistema utilizando o homopolímero PEI as AuNPs formadas são quase esféricas e formam agregados de nanopartículas como era esperado, visto que o PEI em solução aquosa não se nanoestrutura, em forma de micelas por exemplo. A baixa estabilização desse homopolímero se dá pela adsorção das nanopartículas formadas ao longo das cadeias nitrogenadas do polímero.



**Figura 23.** Micrografias eletrônicas de transmissão para as nanopartículas de ouro sintetizadas utilizando as macromoléculas PEO-PPO-PEO (F-127) e PEI como indicados.  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e concentração polimérica tal que  $[\text{EO}]_{\text{F-127}}/[\text{Au(III)}] = 692$  e  $[\text{N}]_{\text{PEI}}/[\text{Au(III)}] = 9$ .

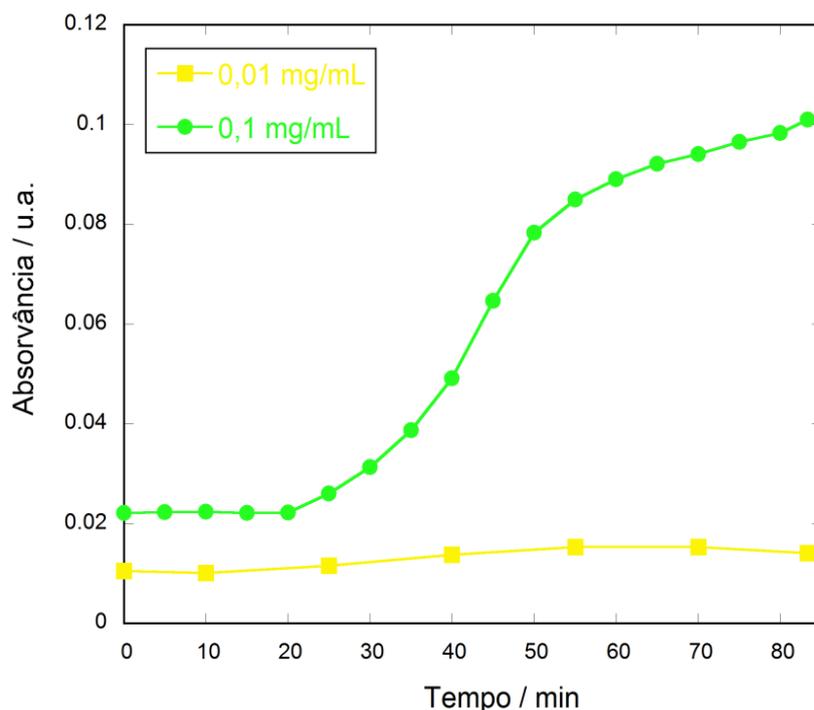
#### 4.4 Acompanhamento cinético das reações de síntese de nanopartículas de ouro

A cinética da síntese de nanopartículas de ouro mediada pelo copolímero **tribloco-1** foi investigada por espectroscopia de absorção no UV-vis pelo monitoramento do plásmon ressonante de superfície (PRS) em 530 nm e da absorção em 320 nm, resultante dos íons Au(III) livre, tomando o cuidado que após certo tempo ocorre a formação de núcleos de ouro que também podem absorver no comprimento de onda do Au(III), o que pode gerar um falso valor (maiores) para a absorvância dessa espécie. O estudo da variação nas concentrações de reagentes, **tribloco-1** e H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>, e na variação da temperatura foi realizado para verificar o efeito na cinética de formação das AuNPs e também para verificar se a razão estequiométrica [N]/[Au(III)] tem influencia no tamanho, forma e estabilidade das nanopartículas híbridas resultantes. Também foi realizado um estudo sobre o efeito da temperatura.

##### 4.4.1 Efeito da concentração de copolímero tribloco-1

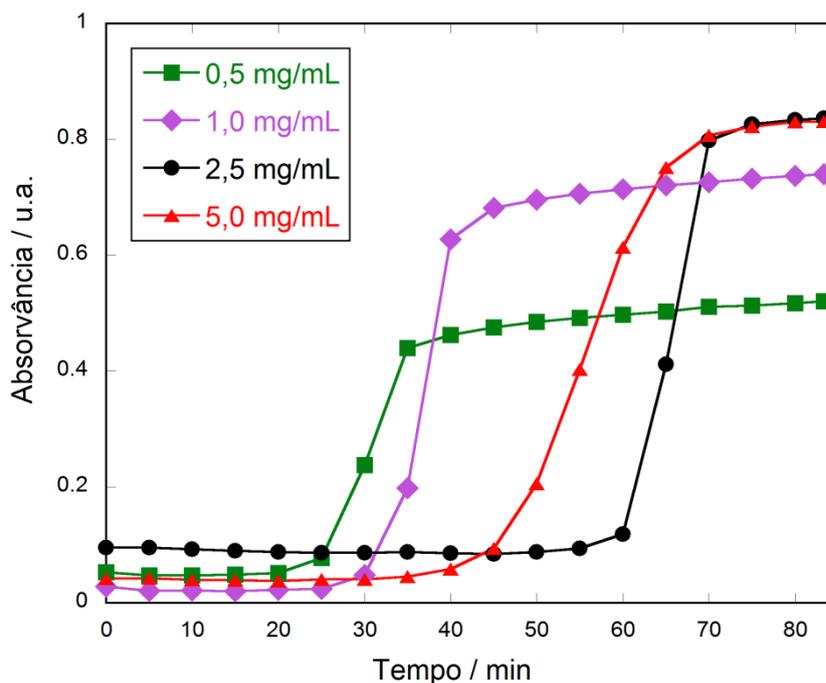
O efeito da concentração de copolímero **tribloco-1** foi feito mantendo-se constante a 0,275 mM a concentração de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>, a temperatura em 25 °C e o pH do meio 6,8 (com solução tampão fosfato).

A quantidade de AuNPs sintetizadas nas baixas concentrações de **tribloco-1** foi pequena sendo quase nula na solução onde não havia ou havia poucas micelas de copolímero (na de concentração 0,01 mg/mL a absorvância no PRS ficou em 0,02 u.a. enquanto que na de 0,1 mg/mL a absorvância chegou a 0,101 u.a.). A **figura 24** apresenta os perfis cinéticos para a absorvâncias no PRS da síntese nessas concentrações. Outra observação foi que nessas concentrações de **tribloco-1** as poucas nanopartículas formadas não foram estabilizadas pelas cadeias poliméricas tendo-as se aglomerado e precipitado na solução.



**Figura 24.** Perfis cinéticos para a síntese das AuNP@tribloco-1 nas concentrações de polímero utilizada (como indicado). HAuCl<sub>4</sub> 0,275 mM e pH 6,8 (STF). As linhas cheias correspondem as absorvâncias a cada 3 s no PRS, o número de símbolos foi reduzido para melhor visualização.

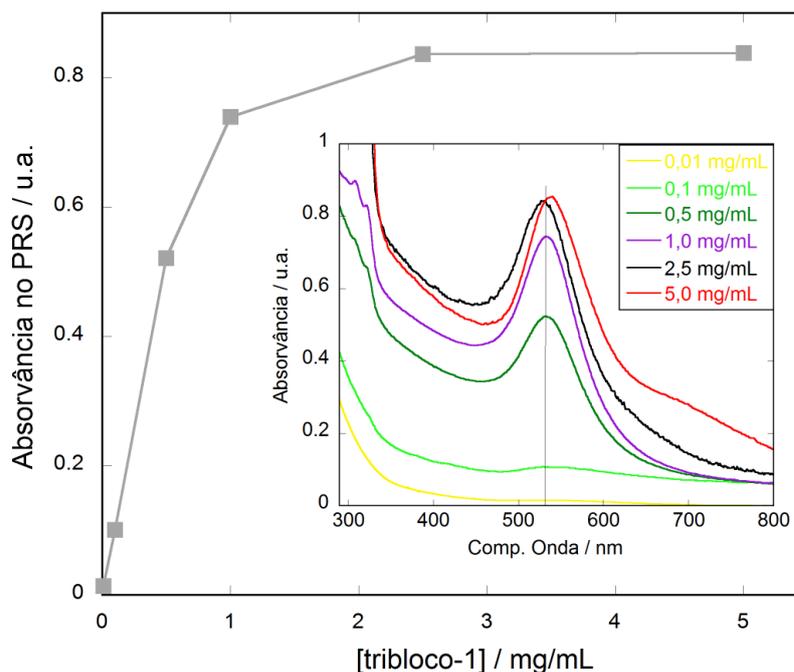
Para as sínteses realizadas com concentração maior ou igual a 0,1 mg/mL foi observado que o período que antecede o crescimento das AuNPs, ou seja, quando a absorvância no PRS não é significativa foi cerca de 20 minutos para as concentrações de 0,1 a 1,0 mg/mL de **tribloco-1** estudadas. Enquanto que o aumento da concentração para 5,0 mg/mL dobrou esse período de indução (45 minutos) esse aumento pode ser entendido como a necessidade de um tempo maior para que as cadeias de polímero se auto-organizem e formem uma quantidade mínima de núcleos de Au(0) capazes de se coalescerem na etapa de crescimento. A **figura 25** apresenta as sigmóides de formação das AuNPs nas diferentes concentrações poliméricas utilizadas.



**Figura 25.** Perfis cinéticos para a síntese das AuNP@tribloco-1 nas concentrações de polímero utilizada (como indicado). H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub> 0,275 mM e pH 6,8 (STF). As linhas cheias correspondem as absorvâncias a cada 3 s no PRS, o número de símbolos foi reduzido para melhor visualização.

Os espectros de absorção no UV-vis para as nanopartículas de ouro sintetizadas nas diferentes concentrações de copolímero **tribloco-1** e absorção máxima em função da concentração de polímero são mostrados na **figura 26**. Quando pouco copolímero **tribloco-1** foi usado para mediar a síntese das AuNPs observa-se a presença de um fraco PRS para 0,1 mg/mL enquanto que para 0,01 mg/mL não é observado alteração no comprimento de onda deste.

A quantidade de nanopartículas formadas atinge um patamar para concentrações acima de 2,0 mg/mL como é verificado para as sínteses com maior concentração polimérica (2,5 e 5,0 mg/mL). Também é possível verificar que nessas sínteses há a formação de agregados maiores de nanopartículas os quais atribuem absorção elevada em altos comprimentos de onda quando comparados com as demais variações de **tribloco-1**.



**Figura 26.** Influência da concentração de **tribloco-1** na síntese das AuNPs e seus espectros de absorção no UV-vis para os sistemas AuNP@**tribloco-1**. H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> 0,275 mM e pH 6,8 (STF).

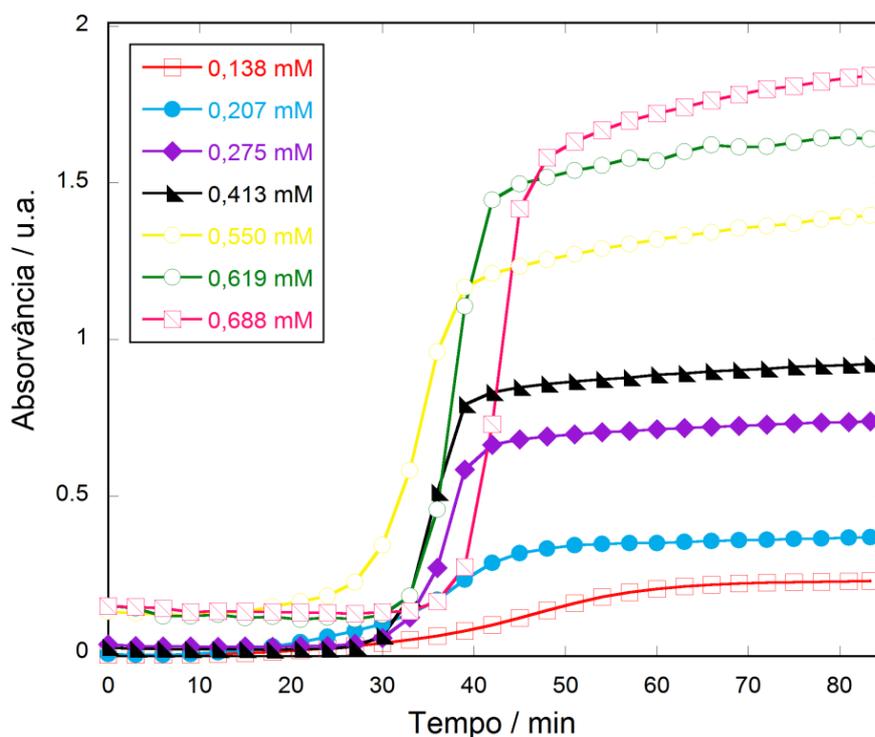
#### 4.4.2 Efeito da concentração de íons Au(III)

Para o estudo da variação da concentração dos íons Au(III) as sínteses foram feitas mantendo-se a concentração de **tribloco-1** constante e igual a 1,0 mg/mL, e o pH em 6,8 mantido com solução tampão fosfato e à temperatura de 25 °C.

Com a variação da concentração de H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> a duração do tempo de crescimento das AuNP, isto é, até que a absorvância no PRS atinja um patamar, foi maior para menores concentrações (0,138 mM) com um tempo de ~25 minutos. O aumento na concentração diminuiu esse tempo, pois com o aumento de espécies em solução o choque efetivo entre os núcleos é mais rápido levando rapidamente à formação das AuNPs de mesmo tamanho, visto que durante a síntese não há alteração significativa no comprimento de onda do PRS. Concentrações maiores que 0,275 mM, na qual o tempo de crescimento das AuNPs foi de 15 minutos, tiveram a mesma duração para o crescimento das AuNPs (~10 minutos). Isso ocorre devido a natureza auto-catalítica da reação.

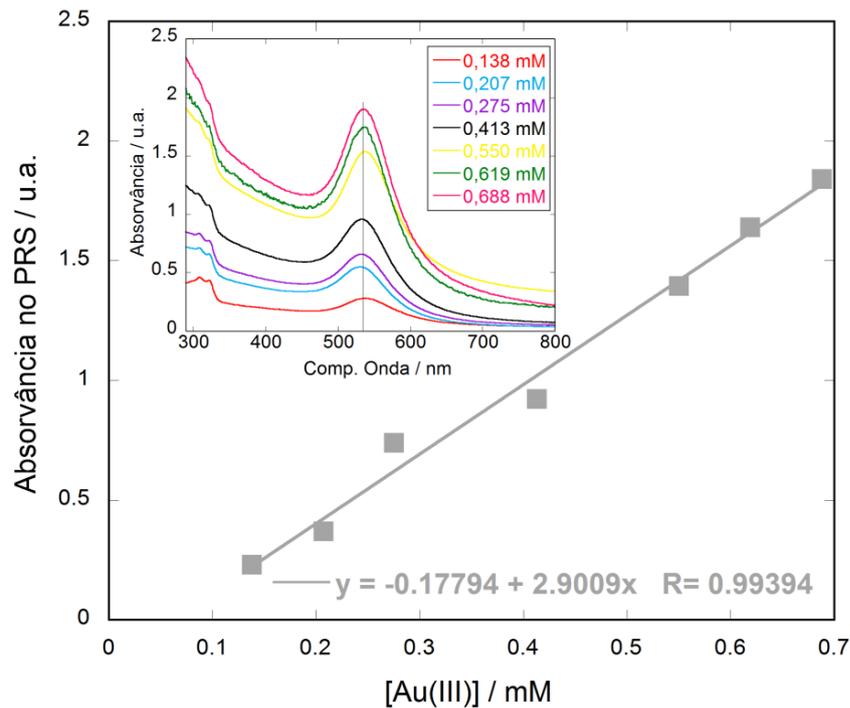
Após o tempo de crescimentos dá-se início ao período de maturação no qual os núcleos de Au(0) ainda em solução coalescem a uma taxa bem mais lenta, como por exemplo à 0,550 mM em que no tempo de maturação dessa condição (45 minutos) a absorvância

referente às nanopartículas de ouro aumentou 0,60 u.a. (0,013 u.a./min) enquanto que na etapa de crescimento a coalescência dos núcleos ocorre 8 vezes mais rápido (0,084 u.a./min). A **figura 27** apresenta os perfis cinéticos para todas as concentrações de  $\text{HAuCl}_4$  estudadas.



**Figura 27.** Perfis cinéticos para a síntese das AuNP@tribloco-1 nas concentrações  $\text{HAuCl}_4$  (como indicado). Tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF). As linhas cheias correspondem as absorvâncias a cada 3 s no PRS, o número de símbolos foi reduzido para melhor visualização.

A quantidade de nanopartículas formadas pelo tribloco-1 1,0 mg/mL, as quais são diretamente proporcionais à absorvância no PRS foi linearmente proporcional com o aumento  $\text{HAuCl}_4$  no meio (**figura 28**). Os espectros de absorção medidos ao final da síntese mostram um PRS bem definido para todas as concentrações e em comprimento de onda bem definido e semelhantes sugerindo que os sistemas híbridos AuNP@tribloco-1 formados possuem propriedades eletrônicas e morfológicas parecidas. A relação estequiométrica  $[\text{N}] / [\text{Au(III)}]$  no estudo da concentração de Au(III) variou de 3,5 a 17,7 e a maior quantidade de íons ouro(III) corresponde a  $[\text{N}] / [\text{Au}] = 3,5$  a máxima concentração que levou à soluções estáveis de coloides de ouro. Concentrações mais elevadas mostraram-se sensíveis a qualquer perturbação no meio que levaram à agregação e precipitação das AuNPs formadas.



**Figura 28.** Influência da concentração de  $\text{HAuCl}_4$  na síntese das AuNPs e seus espectros de absorção no UV-vis para os sistemas AuNP@tribloco-1. Tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF).

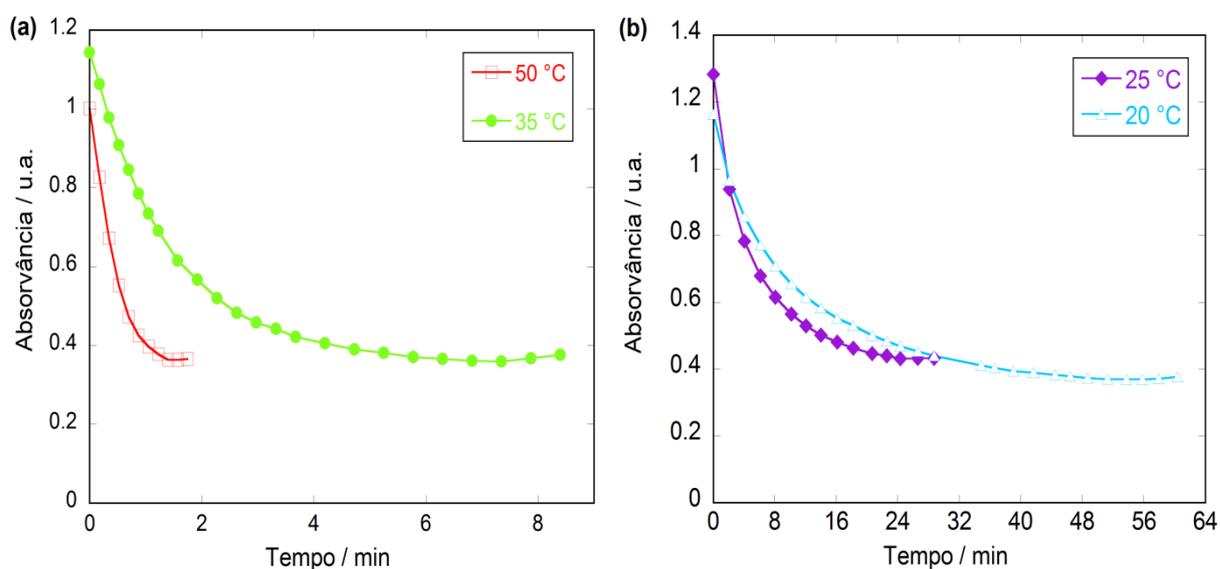
Os estudos também mostraram que, em concentrações superiores a 0,500 mM os centros metálicos podem criar pontos de ligação cruzada, ligando várias cadeias de polímero resultando em uma ligeira turvação dessas soluções. Os espectros de absorção no UV-vis mostraram que maiores concentrações de Au(III) podem formar agregados, visualizados pelo aumento da absorção em maiores comprimentos de onda.

#### 4.4.3 Efeito da temperatura

A temperatura foi o parâmetro que mais teve influencia na síntese das AuNPs nos dois tempos estudado, tanto no de indução quanto no de crescimento. O estudo foi realizado em várias temperaturas (20 – 50 °C) com concentração de  $\text{HAuCl}_4$  e tribloco-1 constantes e iguais a 0,275 mM e 1,0 mg/mL, respectivamente, e também com pH 6,8 (STF).

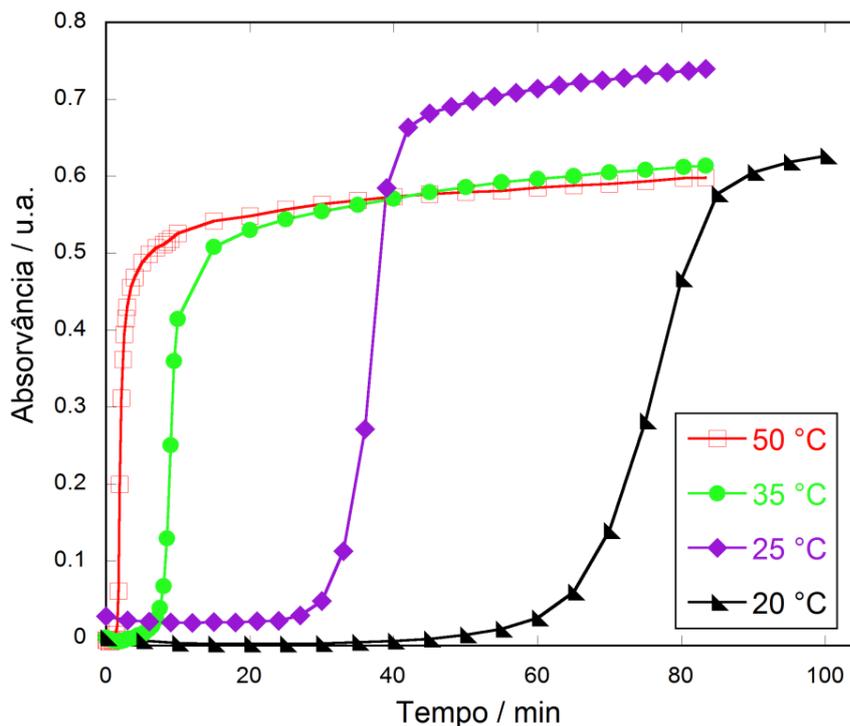
Dos processos que ocorrem no tempo de indução, redução dos íons Au(III) e nucleação dos átomos de ouro, onde somente o primeiro é possível acompanhar por espectroscopia no UV-vis através da absorvância em 320 nm, referentes aos íons Au(III), os sistemas onde as temperaturas foram mais elevadas (50 e 35 °C) obtiveram velocidade média

de consumo de Au(III) maiores; 0,456 e 0,088 u.a./min respectivamente, quando considerado as absorvâncias até antes da mesma começar a aumentar pela interferência dos núcleos de Au(0), sendo 2 vezes mais rápida que à temperatura ambiente (25 °C). Já para a menor temperatura estudada (20 °C) o tempo de indução de decaimento da absorvância foi duas vezes maior em relação à temperatura ambiente que foi de 30 minutos. Os dados acerca das absorvâncias referentes ao Au(III) estão apresentados na **figura 29**.



**Figura 29.** Decaimento da absorvância em 320 nm em função do tempo para as maiores (a) e menores (b) temperaturas estudadas. H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub> 0,275 mM, **tribloco-1** 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF).

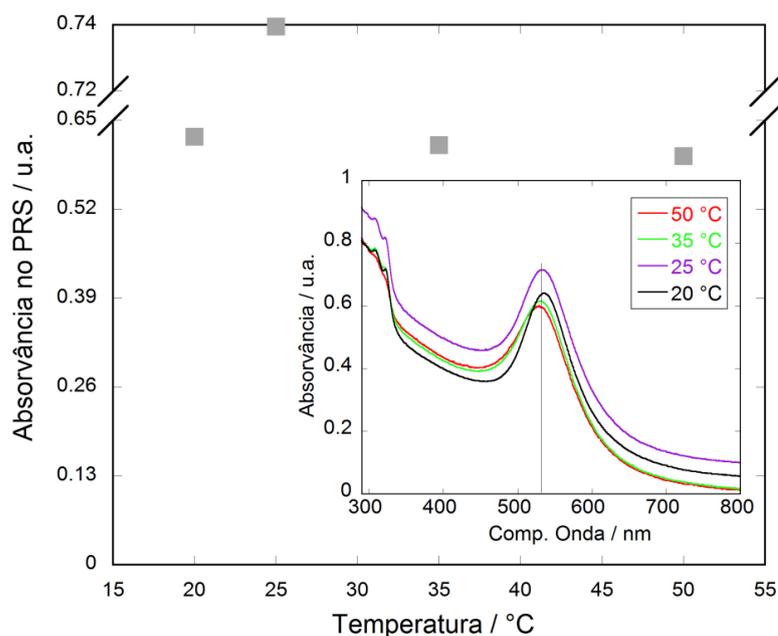
O final do período de indução coincidiu com o início do período de crescimento das AuNPs nas temperaturas estudadas e que seguiu o mesmo comportamento, ou seja, foi mais rápido nas maiores temperaturas, chegando a 0,155 u.a./min a 50 °C e 0,118 u.a./min a 35 °C. Ao passo que a síntese realizada a 20 °C a velocidade média de crescimento das AuNPs foi de 0,02 u.a./min. Com a velocidade maior o tempo de crescimento foi menor nas maiores temperaturas, onde com cerca de 5 minutos a maior quantidade de AuNP já havia sido formada e a absorvância durante o restante da síntese (79 minutos) aumentou apenas 0,120 u.a. à 50 °C. O comportamento inverso foi observado na menor temperatura de síntese, 20 °C, sendo necessário acompanhar o PRS por um tempo maior. A 20 °C a velocidade média de crescimento das AuNP foi 0,025 u.a./min por 20 minutos, após, começou o período de maturação onde a variação na absorvância foi de 0,003 u.a./min. A **figura 30** apresenta os perfis cinéticos nas diferentes temperaturas de síntese estudada.



**Figura 30.** Perfis cinéticos para a síntese das AuNP@tribloco-1 nas diferentes temperaturas de síntese (como indicado). H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> 0,275 mM, tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF). As linhas cheias correspondem as absorvâncias a cada 3 s no PRS, o número de símbolos foi reduzido para melhor visualização.

O efeito pronunciado da temperatura nas etapas da síntese de AuNPs é devido ao movimento Browniano das partículas que aumenta com o aumento da temperatura favorecendo o choque efetivo entre os reagentes, no caso  $[\text{AuCl}_4]^-$  e tribloco-1 no período de indução e os núcleos de Au(0) na etapa de crescimento, além de aumentar a velocidade de migração do núcleos não encapsulados para o interior do núcleo micelar pelo aumento do coeficiente de difusão das espécies.

Apesar da grande influencia nos períodos de indução e crescimento das AuNPs a temperatura não alterou a quantidade de partículas formadas, visto que a absorvância no tempo máximo considerado para a síntese ficou entre 0,598 e 0,740 u.a. nas temperaturas estudadas como mostra a **figura 31**.



**Figura 31.** Influência da concentração da temperatura na síntese das AuNPs e seus espectros de absorção no UV-vis para os sistemas AuNP@tribloco-1. H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub> 0,275 mM, tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF).

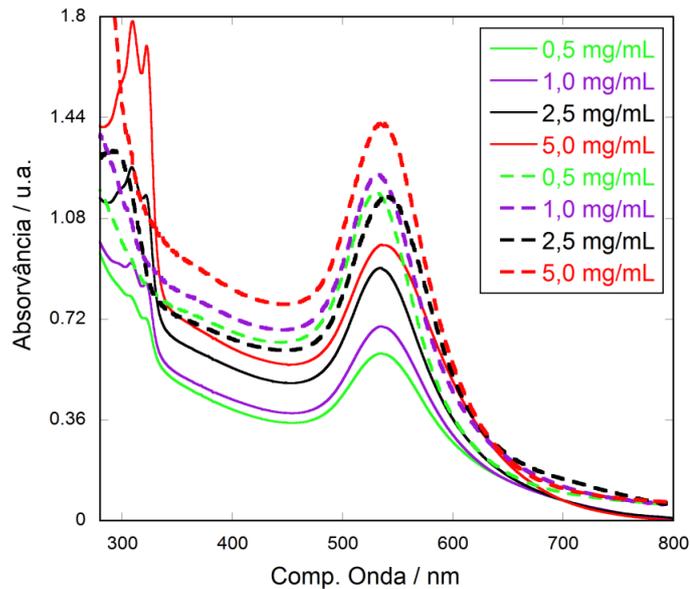
Pelos espectros de absorção no UV-vis observa-se que na síntese a 20 °C o plásmon ressonante de superfície das nanopartículas de ouro se desloca para o vermelho na região do visível e apresentar maior absorvância em maiores comprimentos de onda do que a AuNPs sintetizadas em maiores temperaturas, fato esse que pode indicar a presença de aglomerados na solução.

#### 4.5 Estabilidade dos sistemas híbridos AuNP@tribloco-1

A estabilidade dos sistemas híbridos foi acompanhada através dos espectros de absorção no UV-vis para as soluções após 7 meses para a variação de copolímero **tribloco-1** e 2 meses para a variação de H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub> e da temperatura da síntese das AuNPs revestidas pelo copolímero **tribloco-1**.

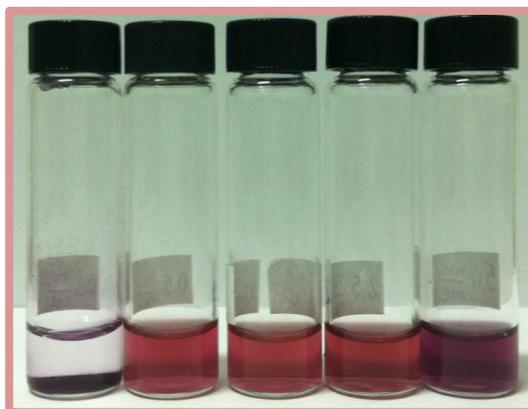
Para os coloides de ouro sintetizados em diferentes concentrações de **tribloco-1** o comprimento de onda do PRS das AuNPs após meses de síntese não é alterado, indício este que mostra que os sistemas híbridos continuam do mesmo tamanho, visto que a posição do PRS depende do tamanho dos mesmos. A absorvância no plásmon ressonante de superfície

das AuNPs aumentou decorridos meses da síntese, inferindo que as micelas de copolímero **tribloco-1** puras existentes em solução continuam a etapa de crescimento dos núcleos gerados no período de indução entumecendo-se com as AuNPs até que a capacidade das mesmas seja atingida. Os espectros de absorção no UV-vis após sete meses da síntese são apresentados na **figura 32**.



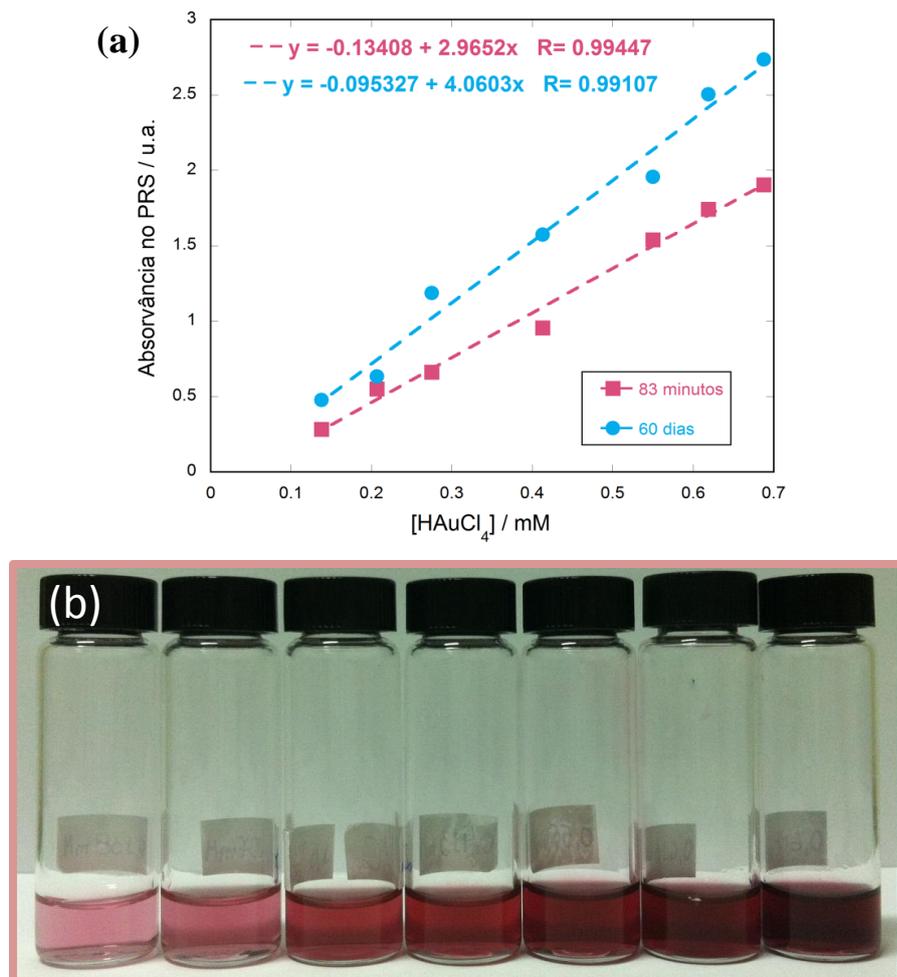
**Figura 32.** Espectros de absorção para concentrações de copolímero **tribloco-1** após 83 minutos de reação (linhas cheias) e 7 meses após a síntese (linhas tracejadas)  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e pH 6,8 (STF).

A **figura 33** mostra as dispersões coloidais de ouro sintetizadas variando-se a concentração de **tribloco-1** e nela é possível observar que somente à baixas concentrações de polímero ocorre a precipitação das AuNPs.



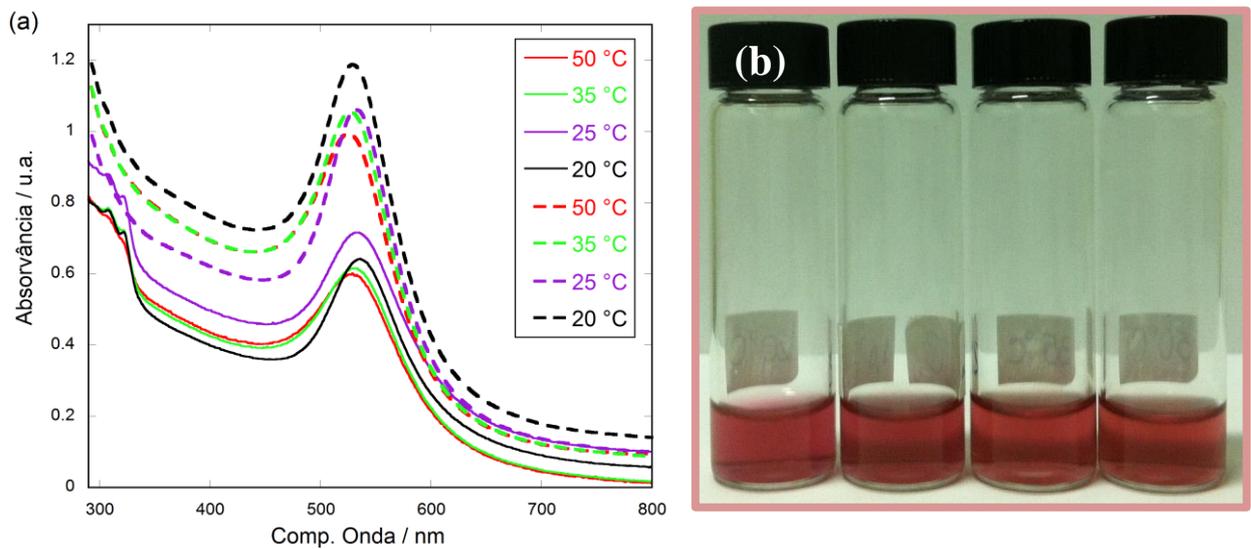
**Figura33.** Dispersões coloidais de AuNPs sintetizadas nas diferentes concentrações de **tribloco-1** após sete meses da síntese. As concentrações aumentam da esquerda para a direita - 0,1 a 5,0 mg/mL de **tribloco-1**.  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM e pH 6,8 (STF).

Através da absorvância no PRS dos espectros no UV-vis tirados após 2 meses da síntese das AuNPs quando a variável foi a concentração de precursor metálico é verificado que assim, como no caso da variação de concentração de copolímero, a absorvância é aumentada e a localização da ressonância plasmônica de superfície não é alterada, sendo bom indício de que os sistemas híbridos permaneceram do mesmo tamanho com o passar do tempo. A **figura 34** apresenta as absorvâncias no PRS 2 meses para as concentrações de ouro(III). Os espectros para essas soluções encontram-se no anexo do trabalho. As soluções coloidais também são apresentadas na **figura 34** na qual é claramente observado o aumento na intensidade da coloração com o aumento da concentração de  $\text{HAuCl}_4$ , ou seja, nas maiores concentrações de Au(III) a quantidade de AuNPs formadas é maior o que leva a colorações mais intensas, como visto pelo aumento na absorvância referente ao PRS das mesmas.



**Figura 34.** Plot das absorvâncias no PRS versus concentração  $\text{HAuCl}_4$  ao final da síntese (83 minutos) e decorridos 2 meses em (a). Dispersões coloidais de AuNPs@tribloco-1 sintetizadas nas diferentes concentrações de  $\text{HAuCl}_4$  (b) após 2 meses. A condição aumenta da esquerda para a direita em (b) 0,138 a 0,688 mM de Au(III). Tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF).

Quando a temperatura de síntese foi modificada a estabilidade após 2 meses de síntese mostrou o mesmo comportamento que nas sintetizadas variando as concentrações de polímero e de precursor áurico, ou seja, a absorvância referente às AuNPs aumentou indicando que mais núcleos de Au(0) foram crescidos e incorporados pelas micelas que ainda não tinham atingido a capacidade de incorporação de Au(0) após o período de crescimento, sem alteração significativa no comprimento de onda do plásmon ressonante de superfície. Os espectros de absorção após 2 meses da síntese estão apresentados na **figura 35**.



**Figura 35.** Espectros de absorção quando variada a temperatura de síntese após 83 minutos de reação (linhas cheias) e 2 meses após a síntese (linhas tracejadas) em (a) e dispersões coloidais de AuNPs@tribloco-1 sintetizadas em diferentes temperaturas em (b) após 2 meses. A condição aumenta da esquerda para a direita em (b) 20 °C a 50 °C. HAuCl<sub>4</sub> 0,275 mM, tribloco-1 1,0 mg/mL e pH 6,8 (STF).

## **CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES**

## Conclusões

O copolímero anfifílico PEO<sub>113</sub>-*b*-PG2MA<sub>30</sub>-*b*-PDPA<sub>50</sub> foi efetivo na síntese de nanopartículas de ouro atuando, simultaneamente, como agente redutor e estabilizante das mesmas e ainda na síntese em apenas uma etapa e com número mínimo de reagentes. O copolímero em bloco e que possui um segmento polimetacrilato de 2-diisopropilaminoetila, principal responsável pela redução dos íons Au(III) pelos átomos de nitrogênio resultou em nanopartículas de ouro protegidas pelo copolímero de boa qualidade, sendo uniformemente esféricas e com plásmon ressonante de superfície característico centrado em cerca de 530 nm.

As nanopartículas sintetizadas pelos copolímeros aminados obtiveram melhores resultados quando o grau de neutralização dos grupos contendo nitrogênio foi 0,50, isto é, a solução deve ter um pH próximo do pKa do segmento polimetacrilato de 2-diisopropilaminoetila e ainda são dependentes da relação estequiométrica [N]/[Au(III)], sendo que abaixo de 3,5 as dispersões coloidais são mal definidas e o sistema é instável. O pKa dos grupos aminos é regido pela polaridade do substituinte alquil (metil, etil, isopropil), portanto o pH ótimo para a síntese deve ser selecionado de acordo com o polímero reativo. Meios fortemente básicos (pH > 9, quase total desprotonação dos grupos aminos) levam à formação de micelas altamente desidratadas que dificultam a difusão de espécies de ouro e portanto, a quantidade de nanopartículas de ouro produzidas a pH elevado diminui significativamente.

Os blocos constituintes da casca micelar, PEO e PG2MA não foram capazes de reduzir o ouro(III) como o bloco do núcleo micelar, PDPA, cabendo a eles a função de estabilizar as AuNPs em solução.

O estudo realizado alterando-se parâmetros como as concentrações de reagentes, temperatura e pH da síntese apresentou resultados satisfatórios, os quais mostram que esses parâmetros influenciam principalmente a quantidade das nanopartículas sintetizadas. As análises de espectroscopia no infravermelho e análise termogravimétrica, e também as micrografias de transmissão eletrônica dos sistemas híbridos confirmam que o copolímero PEO<sub>113</sub>-*b*-PG2MA<sub>30</sub>-*b*-PDPA<sub>50</sub> reveste satisfatoriamente as nanopartículas de ouro.

As nanopartículas de ouro com superfície funcionalizadas oferecem novas possibilidades em nanomedicina, além da aplicação em catálise, desde que o controle sobre as interações entre o catalisador de ouro e substrato é controlada através da seleção do polímero de revestimento.

## **CAPÍTULO 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- <sup>1</sup> Lazzari, M.; Liu, G.; Lecommandoux, S., *Block Copolymers in Nanoscience*. Wiley-VCH Verlag GMBH & Co. Darmstadt, **2006**.
- <sup>2</sup> Hamley, I. W., Nanostructure fabrication using block copolymers. *Nanotechnology* **2003**, *14*, (10), R39-R54.
- <sup>3</sup> Hamley, I. W., *Block Copolymer in Solution: Fundamentals and Applications*. Wiley New York, **2005**.
- <sup>4</sup> Templeton, A. C.; Wuelfing, W. P.; Murray, R. W., Monolayer-Protected Cluster Molecules. *Accounts of Chemical Research* **1999**, *33*, (1), 27-36.
- <sup>5</sup> Schumacher, M.; Ruppel, M.; Yuan, J.; Schmalz, H.; Colombani, O.; Drechsler, M.; Müller, A. H. E., Smart Organic-Inorganic Nanohybrids Based on Amphiphilic Block Copolymer Micelles and Functional Silsesquioxane Nanoparticles. *Langmuir* **2009**, *25* (6), 3407-3417.
- <sup>6</sup> Corbierre, M. K.; Cameron, N. S.; Sutton, M.; Laaziri, K.; Lennox, R. B., Gold Nanoparticle/Polymer Nanocomposites: Dispersion of Nanoparticles as a Function of Capping Agent Molecular Weight and Grafting Density. *Langmuir* **2005**, *21* (13), 6063-6072.
- <sup>7</sup> Zhang, Q.; Gupta, S.; Emrick, T.; Russell, T. P., Surface-Functionalized CdSe Nanorods for Assembly in Diblock Copolymer Templates. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (12), 3898-3899.
- <sup>8</sup> Lin, Y.; Böker, A.; He, J.; Sill, K.; Xiang, H.; Abetz, C.; Li, X.; Wang, J.; Emrick, T.; Long, S.; Wang, Q.; Balazs, A.; Russell, T. P., Self-directed Self-assembly of Nanoparticle/Copolymer Mixture. *Nature* **2005**, *434* (7029), 55-59.
- <sup>9</sup> Gnanou, Y.; Taton, D.; Maatyjaszewski, K.; Davis, T.P., Macromolecular Engineering by Controlled/Living Radical Polymerization. In *Handbook of Radical Polymerization*. Eds. John Wiley & Sons, Inc.: New York, **2002**.
- <sup>10</sup> Schmidt, V.; Borsali, R.; Giacomelli, C., Aggregation of a Versatile Triblock Copolymer into pH-Responsive Cross-Linkable Nanostructures in Both Organic and Aqueous Media. *Langmuir* **2009** *25* (23), 13361-13367.
- <sup>11</sup> Ishii, T.; Otsuka, H.; Kataoka, K.; Nagasaki, Y., Preparation of Functionally PEGylated Gold Nanoparticles with Narrow Distribution through Autoreduction of Auric Cation by  $\alpha$ -Biotinyl-PEG-*b*-[poly(2-(*N,N*-dimethylamino)ethyl methacrylate)]. *Langmuir* **2004** *20* (3), 561-564.

- <sup>12</sup> Yuan, J.; Schmid, A.; Armes, S. P.; Lewis, A. L., Facile Synthesis of Highly Biocompatible Poly(2-(methacryloyloxy)ethyl phosphorylcholine)-Coated Gold Nanoparticles in Aqueous Solution. *Langmuir* **2006** 22 (26), 11022-11027.
- <sup>13</sup> Sakai, T.; Alexandridis, P., Single-Step Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles in Aqueous Pluronic Block Copolymer Solutions at Ambient Temperature. *Langmuir* **2004** 20 (20), 8426-8430.
- <sup>14</sup> Polte, J.; Emmerling, F.; Radtke, M.; Reinholz, U.; Riesemeier, H.; Thünemann, A. F., Real-Time Monitoring of Copolymer Stabilized Growing Gold Nanoparticles. *Langmuir* **2010** 26 (8), 5889-5894.
- <sup>15</sup> Daniel, M.; Astruc, D., Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. *Chemical Reviews* **2004** 104 (1), 293-346.
- <sup>16</sup> <http://www.britishmuseum.org> – The Lycurgus Cup ([http://www.britishmuseum.org/explore/highlights/highlight\\_objects/pe\\_mla/t/the\\_lycurgus\\_cup.aspx](http://www.britishmuseum.org/explore/highlights/highlight_objects/pe_mla/t/the_lycurgus_cup.aspx)) – acessado em 21/12/2012.
- <sup>17</sup> Yang, R.; Meng, F.; Ma, S.; Huang, F.; Liu, H.; Zhong, Z., Galactose-Decorated Cross-Linked Biodegradable Poly(ethylene glycol)-*b*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) Block Copolymer Micelles for Enhanced Hepatoma-Targeting Delivery of Paclitaxel. *Biomacromolecules* **2011** 12 (8), 3047-2117.
- <sup>18</sup> Lee, K.; Drachev, V. P.; Irudayaraj, J., DNA-Gold Nanoparticle Reversible Networks Grown on Cell Surface Marker Sites: Application in Diagnostics. *ACS Nano* **2011** 5 (3), 2109-2117.
- <sup>19</sup> Krpetić Ž.; Porta, F.; Caneva, E.; Dal Santo, V.; Scari, G., Phagocytosis of Biocompatible Gold Nanoparticles. *Langmuir* **2010** 26 (18), 14799-14805.
- <sup>20</sup> Kang, Y.; Taton, T. A., Controlling Shell Thickness in Core-Shell Gold Nanoparticles via Surface-Templated Adsorption of Block Copolymer Surfactants. *Macromolecules* **2005** 38 (14), 6115-6121.
- <sup>21</sup> Turkevich, J.; Garton, G.; Stevenson, P. C., The color of colloidal gold. *Journal of Colloid Science* **1954** 9, Supplement 1, 26-35.

- <sup>22</sup> Frens, G., Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. *Nature Physical Science* **1973** *241*, 20-22.
- <sup>23</sup> Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R., Synthesis of Thiol-Derivatised Gold Nanoparticles in a two-phase Liquid-Liquid System. *Journal of the Chemical Societys* **1994** *7*, 801-802.
- <sup>24</sup> Hostetler, M. J.; Wingate, J. E.; Zhong, C.; Harris, J. E.; Vachet, R. W.; Clark, M. R.; Londono, J. D.; Green, S. J.; Stokes, J. J.; Wignall, G. D.; Glish, G. L.; Porter, M. D.; Evans, N. D.; Murray, R. W., Alkanethiolate Gold Cluster Molecules with Core Diameters from 1.5 to 5.2 nm: Core and Monolayer Properties as a Function of Core Size. *Langmuir* **1998** *14* (1), 17-30.
- <sup>25</sup> Weare, W. W.; Reed, S. M.; Warner, M. G.; Hutchison, J. E., Improved Synthesis of Small ( $d_{\text{CORE}} \sim 1.5$  nm) Phosphine-Stabilized Gold Nanoparticle. *Journal of the American Chemical Society* **2000** *122* (51), 12890-12891.
- <sup>26</sup> Teranishi, T.; Kiyokawa, I.; Miyake, M., Monodisperse Gold Nanoparticles Using Linear Polymers as Protective Agents. *Advanced Materials* **1998** *14*, 17-30.
- <sup>27</sup> Srivastava, S.; Frankamp, B. L.; Rotello, V. M., Controlled Plasmon Resonance of Gold Nanoparticles Self-Assembled with PANAM Dendrimers. *Chemistry of Materials* **2005** *17* (3), 487-490.
- <sup>28</sup> Stemmler, M. P.; Fogel, Y.; Müller, K.; Kreiter, M., Bridging of Gold Nanoparticles by Functional Polyphenylene Dendrimers. *Langmuir* **2009** *25* (19), 11917-11922.
- <sup>29</sup> Wang, Y.; Xia, Y., Bottom-Up and Top-Down Approaches to the Synthesis of Monodispersed Spherical Colloids of Low Melting-Point Metal. *Nano Letters* **2004** *4* (10), 2047-2050.
- <sup>30</sup> Chen, S.; Templeton, A. C.; Murray, R. W.; Monolayer-Protected Cluster Growth Dynamics. *Langmuir* **2000** *16* (7), 3543-3548.
- <sup>31</sup> Burda, C.; Chen, X.; Narayanan, R.; El-Sayed, M. A., Chemistry and Properties of Nanocrystals of Different Shapes. *Chemical Reviews* **2005** *105* (4), 1025-1102.
- <sup>32</sup> Cushing, B. L.; Kolesnichenko, V. L.; O'Connor, C. J., Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles. *Chemical Reviews* **2004** *104* (9), 3893-3946.

- <sup>33</sup> Tromp, R. M.; Hannon, J. B., Thermodynamics of Nucleation and Growth. *Surface Review and Letters* **2002** 9 (3 e 4), 1565-1593.
- <sup>34</sup> Klabunde, K. J., Nanoscalematerials in Chemistry. Wiley Interscience, Estados Unidos, **2001**.
- <sup>35</sup> Khlebtsov, N. G., Optics and Biophotonics of Nanoparticles with a Plasmon Resonance. *Journal of Quantum Eletronics* **2008** 38 (6), 504-529.
- <sup>36</sup> Liz-Marzán, L. M., Nanometals: Formation and Color. *Materials Today* **2004** 7 (2), 26-31.
- <sup>37</sup> Link, S.; El-Sayed, M. A., Size and Temperature Dependence of the Plasmon Absorption of Colloidal Gold Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B* **1999** 103 (21), 4212-4217.
- <sup>38</sup> Schmid, G., Large Clusters and Colloids. Metals in the Embryonic State. *Chemical Reviews* **1992** 92 (8), 1709-1727.
- <sup>39</sup> Yguerabide, J.; Yguerabide, E. E., Light-Scattering Submicroscopic Particles as Highly Fluorescent Analogs and Their Use as Tracer Labels in Clinical and Biological Applications: I. Theory. *Analytical Biochemistry* **1998** 262, 137-156.
- <sup>40</sup> Toma, H. E.; Bonifácio, L. S.; Anaissi, F. J., Da cor à cor inexistente: uma reflexão sobre espectros eletrônicos e efeitos cromáticos . *Química Nova* **2005** 28, 897-900.
- <sup>41</sup> Lee, K.; Drachev, V. P.; Irudayaraj, J., DNA-Gold Nanoparticle Reversible Networks Grown on Cell Surface Marker Sites: Application in Diagnostics. *ACS Nano* **2011** 5 (3), 2109-2117.
- <sup>42</sup> Hirsch, L. R.; Stafford, R. J.; Bankson, J. A.; Sershen, S. R.; Rivera, B.; Price, R. E.; Hazle, J. D.; Halas, N. J.; West, J. L., Nanoshell-Mediated Near-Infrared Thermal Therapy of Tumors under Magnetic Resonance Guidance. *Biological Sciences – Medical Sciences* **2003** 100 (23), 13549-13554.
- <sup>43</sup> Chen, J.; Saeki, F.; Wiley, B. J.; Cang, H.; Cobb, M. J.; Li, Z.; Au, L.; Zhang, H.; Kimmey, M. B.; Li, X.; Xia, Y., Gold Nanocages: Bioconjugation and Their Potential Use as Optical Imaging Contrast Agents. *Nano Letters* **2005** 5 (3), 473-477.

- <sup>44</sup> Park, C.; Yoon, J.; Thomas, E. L., Enabling Nanotechnology with Self-Assembled Block Copolymer Patterns. *Polymer* **2003** *44* (22), 6725-6760.
- <sup>45</sup> Förster, S.; Plantenberg, T., From Self-Organizing Polymers to Nanohybrid and Biomaterials. *Angew. Chem.* **2002** *41* (5), 688-714.
- <sup>46</sup> Bucknall, D. G.; Anderson, H. L., Polymers Get Organized. *Science* **2003** *302*, 1904-1905.
- <sup>47</sup> Giacomelli, C.; Tese de Doutorado. BORDEAUX 1, **2007**.
- <sup>48</sup> Allen, C.; Maysinger, D.; Eisenberg, A., Nano-Engineering Block Copolymer Aggregates for Drug Delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **1999** *16*, 3-27.
- <sup>49</sup> Jana, N. R.; Gearheart, L.; Murphy, C. J., Seeding Growth for Size Control of 5-40 nm Diameter Gold Nanoparticles. *Langmuir* **2001** *17* (22), 6782-6786.
- <sup>50</sup> da Silva, E.; da Silva, M.; Meneghetti, S.; Machado, G.; Alencar, M.; Hickmann, J.; Meneghetti, M., Synthesis of Colloids Based on Gold Nanoparticles Dispersed in Castor Oil. *Journal of Nanoparticle Research* **2008** *10*, 201-208.
- <sup>51</sup> Sakai, T.; Alexandridis, P., Mechanism of Gold Metal Ion Reduction, Nanoparticle Growth and Size Control in Aqueous Amphiphilic Block Copolymer Solutions at Ambient Conditions. *The Journal of Physical Chemistry B* **2005** *109* (16), 7766-7777.
- <sup>52</sup> Goy-López, S.; Taboada, P.; Cambón, A.; Juárez, J.; Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A.; Mosquera, V., Modulation of Size and Shape of Au Nanoparticles Using Amino-X-Shaped Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide) Block Copolymers. *The Journal of Physical Chemistry B* **2010** *114* (1), 66-76.
- <sup>53</sup> Longenberger, L.; Mills, G., Formation of Metal Particles in Aqueous Solutions by Reactions of Metal Complexes with Polymers. *The Journal of Physical Chemistry* **1995** *99* (2), 475-478.
- <sup>54</sup> Liu, S.; Weaver, J. V. M.; Tang, Y.; Billingham, N.C.; Armes, S. P.; Tribe, K., Synthesis of Shell Cross-Linked Micelles with pH-Responsive Core Using ABC Triblock Copolymers. *Macromolecules* **2002** *35* (16), 6121-6131.
- <sup>55</sup> Giacomelli, C.; Schmidt, V.; Borsali, R., Specific Interactions Improve the Loading Capacity of Block Copolymer Micelles in Aqueous Media. *Langmuir* **2007** *23* (13), 6947-6955.

- <sup>56</sup> Harris, D. C., *Análise Química Quantitativa*. LTC, Rio de Janeiro, **2005**.
- <sup>57</sup> Giacomelli, F. C.; Stepanek, P.; Giacomelli, C.; Schmidt, V.; Jager, E.; Jager, A.; Ulbrich, K., pH-triggered Block Copolymer Micelles based on a pH-responsive PDPA (poly-[2-(diisopropylamino)ethyl methacrylate]) Inner Core and a PEO (poly-(ethylene oxide)) Outer Shell as a Potential Tool for the Cancer Therapy. *Soft Matter* **2011** 7, 9316-9325.
- <sup>58</sup> Sabir, T. S.; Yan, D.; Milligan, J. R.; Aruni, A. W.; Nick, K. E.; Ramon, R. H.; Hughes, J. A.; Chen, Q.; Kurti, R. S.; Perry C. C., Kinetics of Gold Nanoparticle Formation Facilitated by Triblock Copolymers. *J. Phys. Chem. C* **2012** 116, 4431-4441.
- <sup>59</sup> Wang, S.; Qian, K.; Bi, X. Z.; Huang, W., Influence of Speciation of Aqueous H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> on the Synthesis, Structure, and Property of Au Colloids. *J. Phys. Chem. C* **2009** 113, 6505-6510.
- <sup>60</sup> Torigo K.; Esumi K., Preparation of Colloidal Gold by Photoreduction of AuCl<sub>4</sub><sup>-</sup>-Cationic Surfactant Complexes. *Langmuir* **1992** 8, 59-63.
- <sup>61</sup> Ojea-Jimenez, I.; Romero, F. M.; Bastus, N. G., Puentes V., Small Gold Nanoparticles Synthesized with Sodium Citrate and Heavy Water: Insights into the Reaction Mechanism. *J. Phys. Chem. C* **2010** 114, 1800-1804.
- <sup>62</sup> Tatarchuk, V. V.; Sergievskaya, A. P.; Druzhinina, I. A.; Zaikovskiy V. I., Kinetics and Mechanism of the Growth of Gold Nanoparticles by Reduction of Tetrachloroauric Acid by Hydrazine in Triton N-42 Reverse Micelles. *J Nanopart Res* **2011** 13, 4997-5007.
- <sup>63</sup> Ivanova, S.; Petit, C.; Pitchon V., A New Preparation Method for the Formation of Gold Nanoparticles on an Oxide Support. *Applied Catalysis A: General* **2004** 267, 191-201.
- <sup>64</sup> Bohren, C. F.; Huffman, R. D., Absorption and Scattering of Light by Small Particles. John Wiley & Sons, New York, **1998**.
- <sup>65</sup> Sau, T. K.; Murphy, C. J., Seeded High Yield Synthesis of Short Au Nanorods in Aqueous Solution. *Langmuir* **2004** 20 (15), 6414-6420.
- <sup>66</sup> Rodríguez-Fernández, J.; Pérez-Juste, J.; Mulvaney, P.; Liz-Marzán, L. M., Spatially-Directed Oxidation of Gold Nanoparticles by Au(III)-CTAB Complexes. *The Journal of Physical Chemistry B* **2005** 109 (30), 14257-14261.

- <sup>67</sup> Edgar, J. A.; McDonagh, A. M.; Cortie, M. B.; Formation of Gold Nanorods by a Stochastic “Popcorn” Mechanism. *ACS Nano* **2012** 6 (2), 1116-1125.
- <sup>68</sup> Shields, S. P.; Richards, V. N.; Buhro, W. E., Nucleation Control of Size and Dispersity in Aggregative Nanoparticle Growth. A Study of the Coarsening Kinetics of Thiolate-Capped Gold Nanocrystals. *Chem. Mater.* **2010** 22, 3212-3225.
- <sup>69</sup> Njoki, P. N.; Luo, J.; Kamundi, M. M.; Lim S.; Zhong C., Aggregative Growth in the Size-Controlled Growth of Monodispersed Gold Nanoparticles. *Langmuir* **2010**, 26 (16), 13622-13629.
- <sup>70</sup> Streszewski, B.; Jaworski, W.; Paclawski, K.; Csapó, E.; Dékány, I.; Fitzner K., Gold Nanoparticles Formation in the Aqueous System of Gold(III) Chloride Complex Ions and Hydrazine Sulfate - Kinetic Studies. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2012** 397, 63-72.
- <sup>71</sup> Newman, J. D. S.; Blanchard, G. J., Formation of Gold Nanoparticles Using Amine Reducing Agents. *Langmuir* **2006** 22, 5882-5887.
- <sup>72</sup> Subramaniam, C.; Tom, R.; Pradeep, T., On the Formation of Protected Gold Nanoparticles from  $[\text{AuCl}_4]^-$  by the Reduction Using Aromatic Amines. *Journal of Nanoparticle Research* **2005** 7, 209-217.
- <sup>73</sup> Dahmane, S.; Lasia, A.; Zhao, Y., Electrochemically Active Block Copolymer Micelles Containing Coumarin Moieties. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2008** 209, 1065-1072.
- <sup>74</sup> Longenberger, L.; Mills, G., Formation of Metal Particles in Aqueous Solutions by Reactions of Metal Complexes with Polymers. *The Journal of Physical Chemistry* **1995** 99, 475-478.
- <sup>75</sup> Ray, D.; Aswal, V.K.; Kohlbrecher, J., Synthesis and Characterization of High Concentration Block Copolymer-Mediated Gold Nanoparticles. *Langmuir* **2011** 27, 4048-4056.
- <sup>76</sup> Badwaik, V.; Bartonjojo, J.; Evans, J.; Sahi, S.; Willis, C.; Dakshinamurthy R., Single-Step Biofriendly Synthesis of Surface Modifiable, Near-Spherical Gold Nanoparticles for Applications in Biological Detection and Catalysis. *Langmuir* **2011** 27, 5549-5554.

<sup>77</sup> Ma, Y.; Tang, Y.; Billingham, N.C.; Armes, S.P.; Lewis, A.L.; Lloyd, A.W.; Salvage, J.P., Well-Defined Biocompatible Block Copolymers via Atom Transfer Radical Polymerization of 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine in Protic Media. *Macromolecules* **2003** *36*, 3475-3484.

<sup>78</sup> Vo, C. D.; Armes, S.P.; Randall, D.P.; Sakai, K.; Biggs, S., Synthesis of Zwitterionic Diblock Copolymers without Protecting Group Chemistry. *Macromolecules* **2007** *40*, 157-167.

<sup>79</sup> Zheng, P.; Jiang, X.; Zhang, X.; Zhang, W.; Shi L., Formation of Gold@Polymer Core-Shell Particles and Gold Particle Clusters on a Template of Thermoresponsive and pH-Responsive Coordination Triblock Copolymer. *Langmuir* **2006** *22*, 9393-9396.

## **CAPÍTULO 7. ANEXOS**

## **Anexo A – Revisão sobre espalhamento de luz dinâmico (DLS)**

Técnicas de espalhamento de luz baseiam-se no espalhamento de luz causada por um conjunto de partículas, sem interações entre si e suficientemente pequenas em comparação ao comprimento de onda da luz incidente. Cientistas como Lord Rayleigh e Tyndall foram os primeiros a estudar o fenômeno na teoria e na prática respectivamente.

O mecanismo de espalhamento de luz por uma partícula se dá a partir da indução de um dipolo momentâneo que é resultante da interação da radiação eletromagnética com a partícula. Assim o vetor elétrico da onda de luz interage com os átomos nela contidos e retira os elétrons da posição de equilíbrio, o que gera o dipolo. Uma vez que a partícula é pequena, comparada ao comprimento de onda de luz, pode-se assumir que, em qualquer instante, toda a extensão da partícula esteja sujeita ao mesmo campo elétrico. O vetor elétrico da onda de luz flutua em magnitude com tal frequência, e devido a isto, o dipolo oscilante emite energia continuamente na forma de radiação eletromagnética na mesma frequência que o vetor elétrico (também conhecida como radiação secundária), dessa forma ocorre o espalhamento da luz incidida.

Características do sistema irradiado (interações, forma e tamanho) podem ser úteis para informações como a estrutura e a dinâmica molecular do meio espalhador; já que mudanças na frequência, na intensidade da radiação espalhada, a polarização e a distribuição angular delas são dependentes.

A técnica de espalhamento de luz dinâmico, DLS do inglês “dynamics light scattering” é fundamentada no espalhamento de luz devido ao movimento browniano (ou aleatório) das partículas na dispersão. Nas medidas de DLS são consideradas as flutuações na intensidade de luz espalhada em função do tempo medido e estas são definidas pela forma, tamanho, interações moleculares, repulsões das partículas, ou seja, das características físico-químicas que elas apresentam.

Na técnica de DLS é possível identificar todas as populações de variados tamanhos diâmetros, não somente um valor médio de diâmetro. Além de determinar as populações e seus diâmetros, no DLS o raio medido é o hidrodinâmico que leva em consideração a camada de solvatação das partículas, sendo assim, considerado mais efetivo.

Em um meio líquido as partículas nele dispersas movem-se ao acaso e sua velocidade depende do tamanho delas de forma que partículas menores movem-se mais rapidamente ao passo que as maiores têm um movimento mais lento e, portando partículas menores possuem

um coeficiente de difusão (D) maior. Para uma dispersão de partículas esféricas, com viscosidade,  $\eta$  e temperatura constante, T; o coeficiente de difusão é inversamente proporcional ao raio hidrodinâmico,  $R_H$  das partículas, segundo a equação de Stokes-Einsten (**eq. 1**), onde  $\kappa$  é a constante de Boltzmann.

$$R_H = \frac{\kappa T}{3\pi\eta D_0} \quad (\text{equação 1})$$

Devido ao movimento browniano, a intensidade da luz espalhada por um conjunto de partículas sofre flutuações ao longo do tempo. Como a janela através da qual a luz espalhada pelas partículas alcança um detector possui dimensão reduzida, a intensidade da luz que atinge o detector irá flutuar devido ao movimento dessas partículas. Essa flutuação da intensidade de luz espalhada ocorrerá com maior velocidade quando as partículas presentes na dispersão forem menores, pois as mesmas passam diante da janela um número maior de vezes dentro de um intervalo de tempo. Logo, existe uma relação entre a velocidade de flutuação da luz espalhada e o coeficiente de difusão das partículas.

Existe ainda uma função de autocorrelação da intensidade de luz espalhada que para o caso de partículas pequenas diminui mais rapidamente com o tempo que no caso de partículas grandes. A função de autocorrelação,  $G(t)$  é apresentada na **equação 2**, onde  $I(t_0)$  e  $I(t_0 + t)$  são as intensidades de luz espalhada nos instantes  $t_0$  e  $(t_0 + t)$  respectivamente.

$$G(t) = \langle I(t_0) \times I(t_0 + t) \rangle \quad (\text{equação 2})$$

No tempo  $t = t_0 = 0$ , a intensidade de espalhamento é  $I(0)$  e a função de autocorrelação possui um valor máximo. Com o passar do tempo a intensidade de espalhamento em um tempo  $(t_0 + t)$  terá cada vez menos correlação com a intensidade de espalhamento inicial, e a média sobre os produtos das intensidades, que é  $G(t)$ , tende a zero. Admite-se que a função de autocorrelação decai exponencialmente com o passar do tempo.

Através do tratamento de dados relativos às flutuações do sinal de intensidade da luz espalhada pela partícula em função do tempo é conseguido obter o espectro de frequências de flutuação. A função de correlação,  $G(t)$  é obtida pelo valor da meia altura à meia largura da

curva ajustada por tratamento Lorentziana e apresentada na **equação 3**, onde  $B$  é o valor da linha base e  $A$  é o fator pré-exponencial contendo constantes ópticas do equipamento e da amostra e  $\Gamma$  é a constante de decaimento da curva exponencial, ou de relaxação, gerada pela função de autocorrelação.

$$G(t) = Ae^{-2\Gamma t} + B \quad (\text{equação 3})$$

A **equação 3** também pode ser escrita como uma transformada inversa de Laplace, a qual é gerada pelo programa CONTIN ou do algoritmo REPES os quais fazem parte do pacote comercial GENDIST. Na transformada inversa de Laplace  $t$  é o retardo das funções de correlação e a função resultante,  $A(\tau)$  é uma distribuição dos tempos de relaxação (**equação 4**).

$$g_{2(t)-1} = \beta \int A(\tau)^{-t/\tau} d\tau \quad (\text{equação 4})$$

A constante de relaxação é diretamente proporcional ao coeficiente de difusão aparente e ao vetor de onda da luz espalhada que por sua vez é dependente do índice de refração do líquido de dispersa as partículas ( $n$ ), do ângulo de detecção da luz espalhada ( $\theta$ ) e do comprimento de onda da luz incidente ( $\lambda_0$ ) como mostram as **equações 5 e 6**.

$$\Gamma = Dq^2 \quad (\text{equação 5})$$

$$q = \left(4\pi n/\lambda_0\right) \text{sen} \left(\theta/2\right) \quad (\text{equação 6})$$

As distribuições dos tempos de relaxação  $A(\tau)$  foram obtidas usando o programa comercial CONTIN, através da análise da função de autocorrelação. O coeficiente de difusão aparente,  $D$ , foi calculado a partir da variação da frequência de relaxação,  $\Gamma$ , como uma função de  $q^2$  através da **equação 6**. O coeficiente de difusão translacional em diluição infinita,  $D_0$ , foi então calculado por  $D = D_0(1 + k_d C_p)$ , onde  $k_d$  é o coeficiente de concentração virial. Por fim, o raio hidrodinâmico é obtido através da **equação 1**, de Stokes-Einstein.

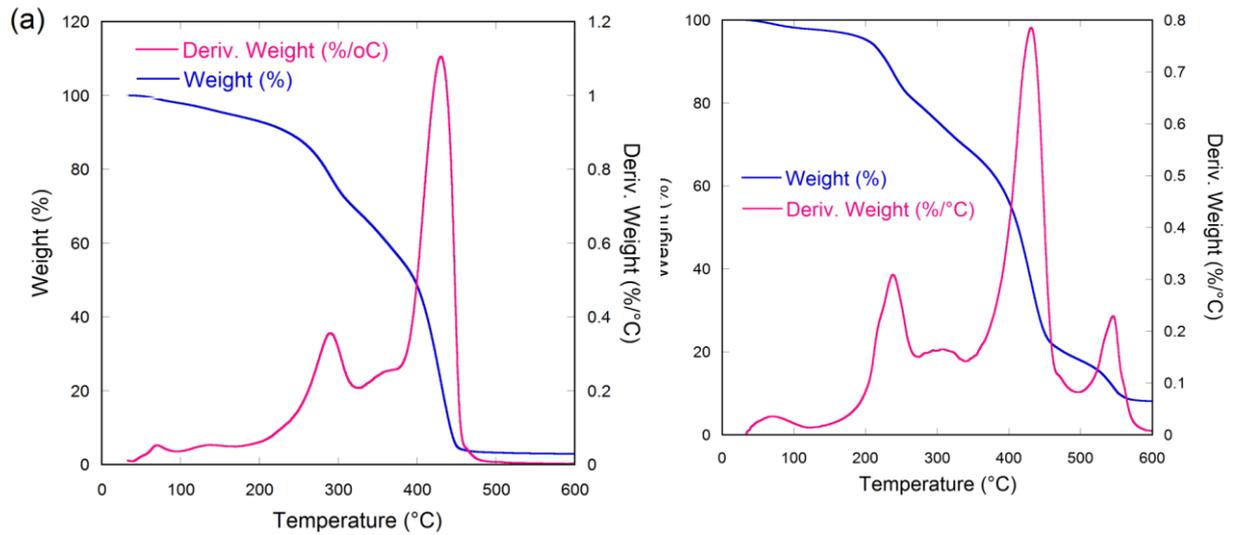
## **Anexo B – Revisão sobre microscopia eletrônica de transmissão (TEM)**

A técnica de microscopia eletrônica de transmissão, atualmente, é a mais utilizada para caracterizar materiais micro e nanoestruturados com aplicações especialmente na área da engenharia de materiais e biológicas. Através da TEM é possível a determinação de morfologias e também de transições destas em sistemas auto-organizáveis poliméricos.

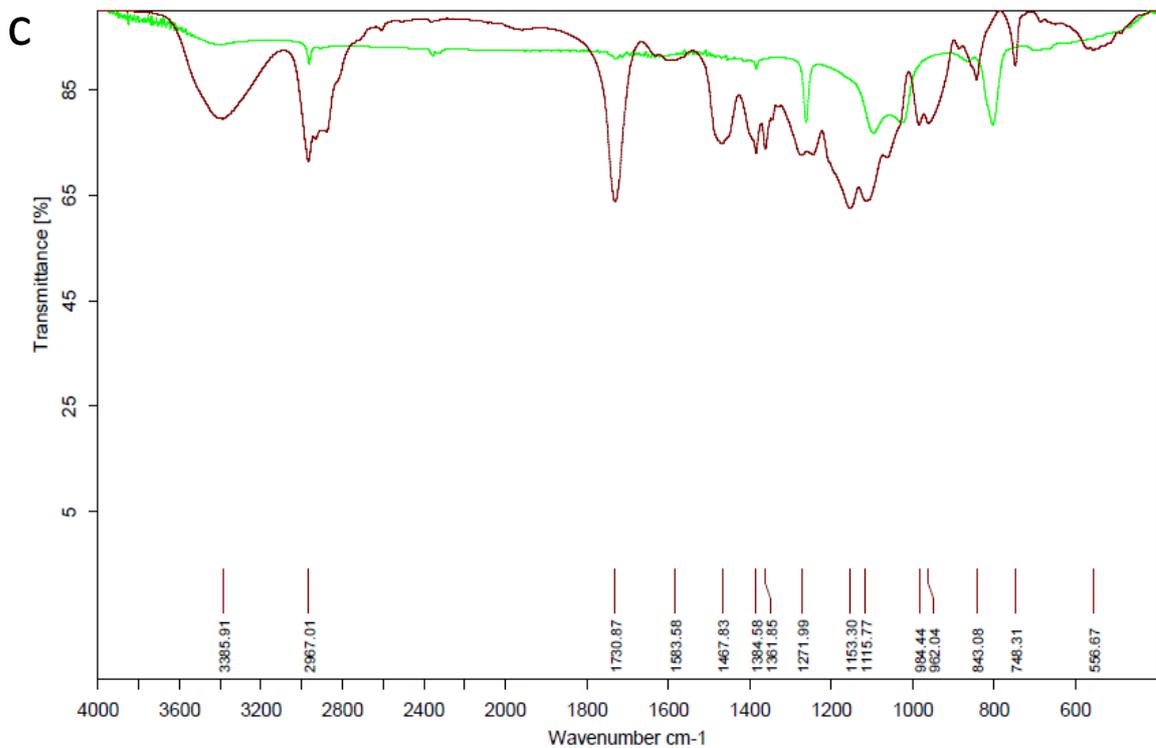
A técnica consiste no bombardeamento de elétrons em direção a uma amostra ultrafina e que interage com a mesma. A interação dos elétrons transmitidos através da amostra forma uma imagem que é ampliada e focada em um dispositivo de imagem, como uma tela fluorescente em uma camada de filme fotográfico, ou então a imagem é detectada por uma câmera com sensor de dispositivo de carga acoplada (CCD).

Os elementos constituintes dos microscópios eletrônicos de transmissão são basicamente um emissor de elétrons de alta tensão (filamento de tungstênio ou uma fonte de hexaboreto de lantânio) que geram um feixe de elétrons, os quais vão em direção à amostra que se encontra na parte inferior do microscópio. Os elétrons espalhados pela amostra geram através de lentes de aumento magnéticas uma imagem no detector. Ao longo da coluna do microscópio existem aberturas responsáveis pela qualidade da imagem, como contraste e resolução. Para que os elétrons não interajam com as moléculas presente no ar, a coluna é evacuada a baixas pressões, da ordem de  $10^{-4}$  Pa.

**Anexo C – Termogramas da perda de massa em função da temperatura e espectros de absorção no infravermelho.**

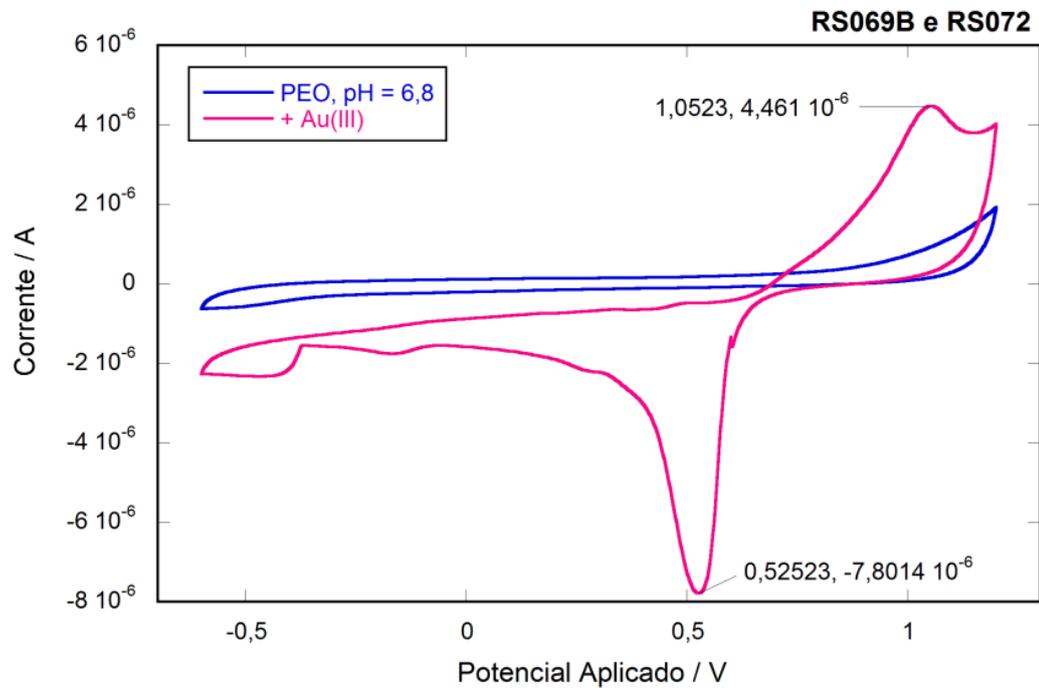


**Figura C1.** Termogramas do copolímero **tribloco-1**, PEO<sub>113</sub>-*b*-PG2MA<sub>30</sub>-*b*-PDPA<sub>50</sub> em (a) e para o sistema híbrido AuNP@**tribloco-1** em (b). 1,0 mg/mL **tribloco-1** e 0,275 mM HAuCl<sub>4</sub>

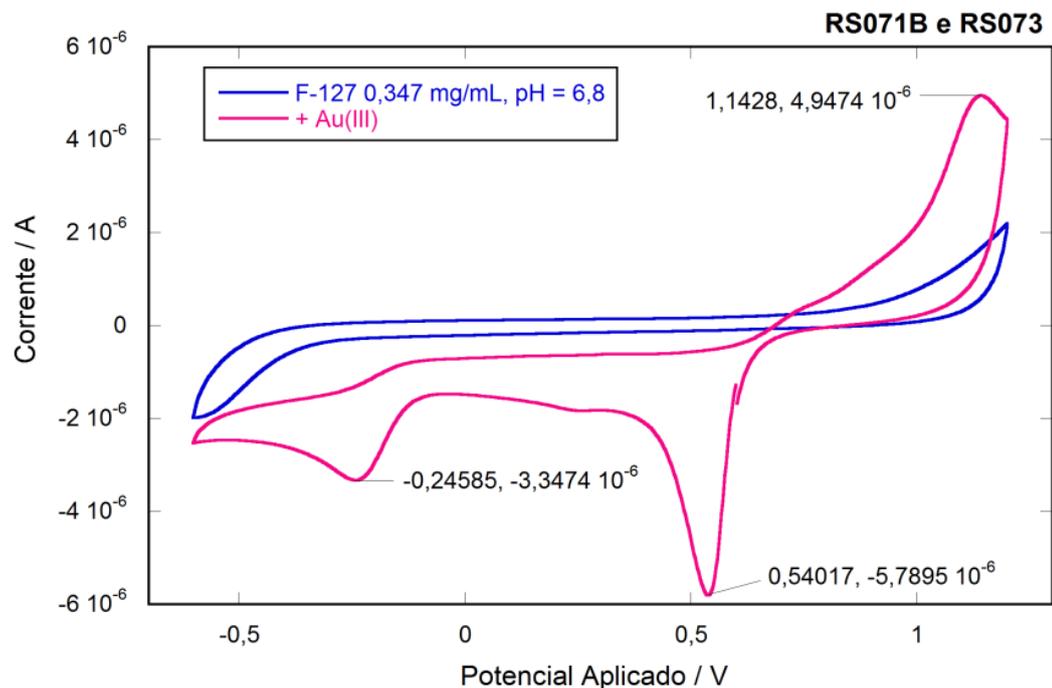


**Figura C2.** Espectro de infravermelho do copolímero **tribloco-1** puro (marrom) e do sistema híbrido AuNP@**tribloco-1** (verde).

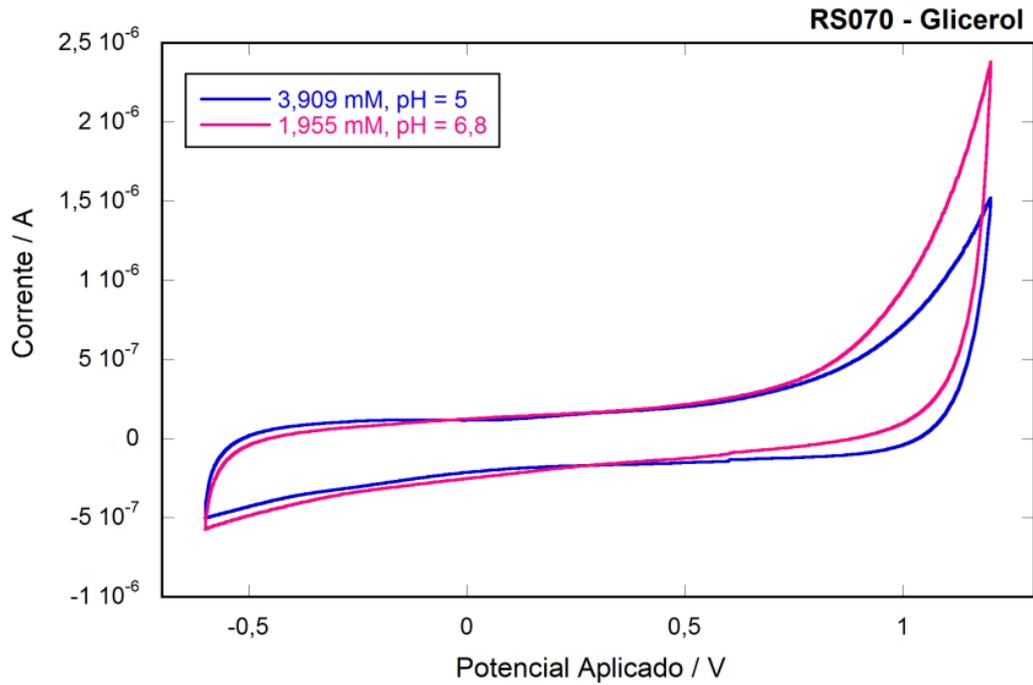
Anexo D – Voltamogramas cíclicos e espectros de absorção no UV-vis



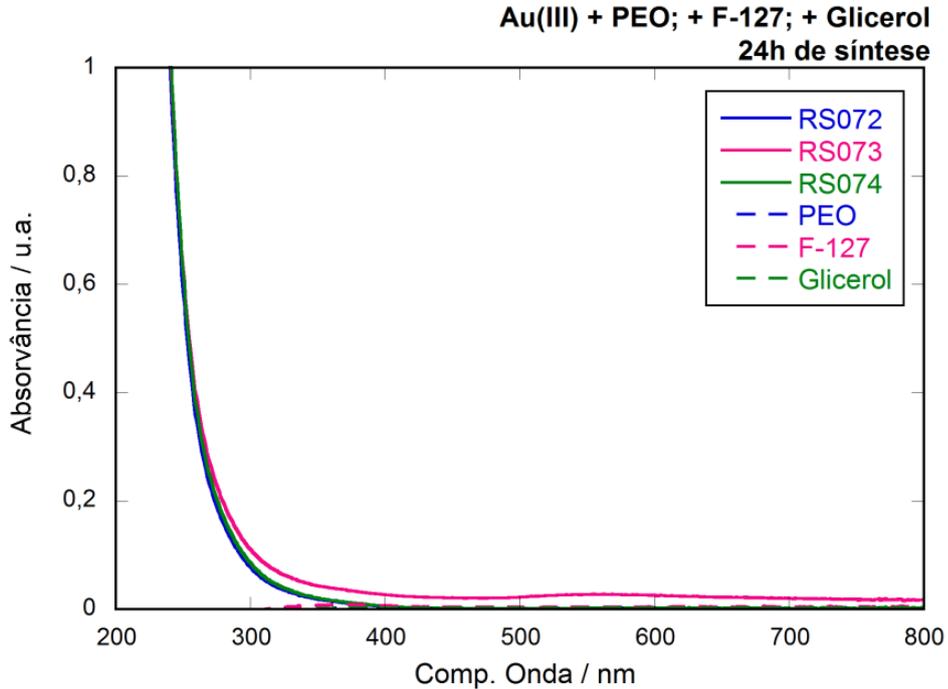
**Figura D1.** Voltamogramas cíclicos medidos a 50 mV/s em solução aquosa de PEO 0,242 mg/mL e após a mistura com  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM pH 4,0 e usando  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1 M como eletrólito.



**Figura D2.** Voltamogramas cíclicos medidos a 50 mV/s em solução aquosa de PEO-PPO-PEO 0,347 mg/mL e após a mistura com  $\text{HAuCl}_4$  0,275 mM pH 4,0 e usando  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1 M como eletrólito.

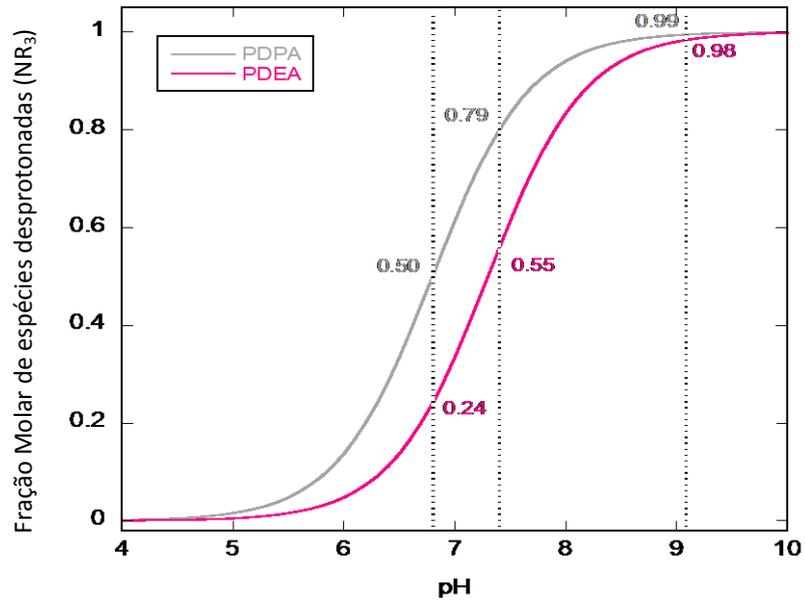


**Figura D3.** Voltamogramas cíclicos medidos a 50 mV/s em solução aquosa de glicerol em pH 5 e 6,8 e usando  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1 M como eletrólito.



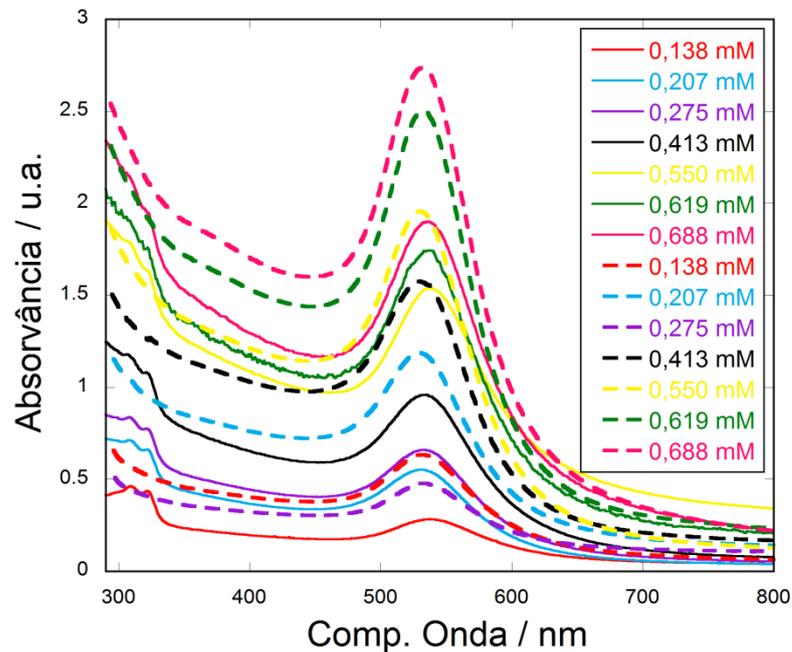
**Figura D.** Espectros de absorção no UV-vis para os polímeros (linhas tracejadas) e para as soluções poliméricas com Au(III) 0,275 mM após 24 horas sob agitação (linhas cheias)

### Anexo E – Fração molar das espécies $RN_3$ em função do pH



**Figura E1.** Distribuição da fração molar dependente do pH das espécies desprotonadas PDPA ( $pK_a = 6,8$ ) e PDEA ( $pK_a = 7,3$ ).

### Anexo F – Espectros de absorção no UV-vis para as soluções coloidais de ouro após 2 meses da síntese



**Figura F1.** Espectros de absorção no UV-vis para os sistemas híbridos AuNP@tribloco-1 em 83 minutos de síntese (linhas cheias) e 2 meses após o fabrico (linhas tracejadas). Tribloco-1 1,0 mg/mL, pH 6,8 e 25°C.

**Anexo G – Artigo submetido e aceito por revista da área**

Elsevier Editorial System(tm) for Journal of Colloid and Interface Science Manuscript Draft

Manuscript Number: JCIS-12-3232R1

Title: Direct Synthesis of Coated Gold Nanoparticles Mediated by Polymers with Amino Groups

Article Type: Regular Article

Section/Category: A. Colloidal Materials and Nanomaterials

Keywords: Gold nanoparticles, synthesis method, kinetics, block copolymers, reducing agent, capping agent.

Corresponding Author: Dr. VANESSA SCHMIDT, Ph.D.

Corresponding Author's Institution: Universtiy of Santa Maria

First Author: ROBERTA B. SCARAVELLI, BSc

Order of Authors: ROBERTA B SCARAVELLI, BSc; ROBSON L DAZZI; FERNANDO C GIACOMELLI, Ph.D.; GIOVANNA MACHADO, Ph.D.; CRISTIANO GIACOMELLI, Ph.D.; VANESSA SCHMIDT, Ph.D.

**Abstract:** The single-step/single-phase synthesis of hybrid organic-inorganic core-shell gold nanoparticles (AuNPs), facilitated by amino-functionalized amphiphilic block copolymers that simultaneously play the roles of reductant and stabilizer, was investigated in this study. Experiments were devised with emphasis on the pH-responsive poly(ethylene oxide)-b-poly(2,3-dihydroxypropyl methacrylate)-b-poly[2-(diisopropylamino)ethyl methacrylate] triblock copolymer, which allows direct chemical cross-linking of the micellar structures to be performed. The polymer structure-reactivity relationship associated with the AuNP formation was established using a set of six structurally related macromolecules. AuNP formation was dependent on the aqueous dissociation equilibrium involving tertiary amino groups, the Au(III) speciation, and electrochemical redox potentials. The effects of these parameters on the synthesis of AuNPs change as the solution pH is increased from pH 3.3 (molecularly dissolved polymer chains; no AuNP formation) to 6.8 or higher (polymer chains self-assembled into spherical micelles; stable gold sols are produced), and Au(III) reduction potentials shift toward the cathodic region whilst the oxidation potential of deprotonated amino groups decreases. Sigmoidal nanoparticle growth kinetics was observed in all cases after a characteristic induction period. Stable, well-defined, uniform polymer-coated gold colloids with localized surface plasmon resonance centered at 530 nm can be conveniently produced in one-pot, two-reactant, no work-up reactions when the stoichiometry is  $[N]/[Au] = 3.5 - 25.0$ .

Artigo disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2013.01.058>

---

