

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**“SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
OURO PARA FINS BIOTECNOLÓGICOS E COSMÉTICOS”**

ANDRESSA ALVES DA SILVA

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Materiais**

Versão corrigida

São Paulo

2016

DEDICATÓRIA

*Ao meu noivo Luiz Fernando
Distadio que sempre esteve ao meu
lado e que me incentiva a cada dia a
ser uma pessoa melhor.*

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Junior e Rosangela que me instruíram a acreditar e a conquistar todos os meus sonhos e aos meus irmãos Priscila, Gustavo e Patrick meus amigos e parceiros para toda vida.

“A coragem não é a ausência de medo, mas o triunfo sobre ele. O homem corajoso não é aquele que não sente medo, mas aquele que conquista por cima do medo”.

Nelson Mandela

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Ademar Benévolo Lugão pela orientação, dedicação e interesse e principalmente pela oportunidade de aprendizagem.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP) pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

À Dra. Adriana Napoleão Geraldes por todo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho, confiança e amizade.

À Dr. Larissa Otubo pela ajuda durante meu mestrado e por disponibilizar o uso de microscopia no CCTM.

Aos Srs. Celso Vieira, Nildemar Ferreira e Glauson Machado do Centro de Ciência e Tecnologia dos Materiais (CCTM) IPEN/CNEN-SP, pelas análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Ao Dr. Nilton Lincopan do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB – USP) por disponibilizar o uso do equipamento de DLS em seu laboratório e por toda ajuda prestada com entendimento dos dados.

À Dr. Regina Affonso do CB - IPEN por disponibilizar o uso de seu laboratório e da centrífuga além de sua ajuda e incentivo.

Ao Johnny do CB – IPEN por seu incentivo e persistência para me ajudar.

Ao Pablo e ao Paulinho do Centro de Tecnologia das Radiações (CTR) por me ajudarem com as irradiações das amostras.

Aos meus amigos do CQMA: Cristina Angioletto, Jéssica Leal, Maria, Mara Melo, Mara Alcântara, Lina, Kamila, Mayeli, Janaína, Henrique, João, Takeshi, Val, Heloísa Zen, Sandra, Beth, Liana, Maria Eugênia, Nelson, Maria Claudia Felinto, Rebeca, e Sr. Antônio por todo apoio, incentivo e amizade.

Às minhas amigas: Ana Carolina Clerice, Jéssica Candido, Jéssica Oliveira e Josiane Rodrigues pelo apoio emocional, incentivo, carinho e amizade de sempre.

À CAPES pela bolsa concedida.

SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA FINS BIOTECNOLÓGICOS E COSMÉTICOS

Andressa Alves da Silva

RESUMO

As sínteses de nanopartículas de ouro (AuNPs) com os agentes redutores e estabilizantes citrato de sódio e goma arábica bem como sua caracterização foram estudadas neste trabalho. As sínteses foram realizadas por meio de aquecimento e uso de radiação gama em fonte de ^{60}Co nas doses 1, 7,5 e 15 kGy. Neste contexto, foram estudadas as propriedades e a estabilidade das AuNPs formadas por meio de técnicas de caracterização tais como espectroscopia de absorção UV-Vis, verificando as bandas características das AuNPs assim como a estabilidade física das mesmas. As amostras sintetizadas com citrato de sódio (AuCit) apresentaram comprimentos de onda que variaram entre 520 e 525 nm e as amostras sintetizadas com goma arábica (AuGA) apresentaram comprimentos de onda entre 530 e 540 nm. A análise de espalhamento de luz dinâmica, do inglês "*Dynamic Light Scattering*" (DLS) foi utilizada para determinar o tamanho hidrodinâmico das nanopartículas formadas no período de três meses, demonstrando que as amostras AuCit apresentaram tamanhos hidrodinâmicos médios que variaram de 20 a 50 nm enquanto que as amostras AuGA sintetizadas por aquecimento e com uso de radiação gama apresentaram tamanhos hidrodinâmicos médios que variaram de 50 a 115 nm. As análises de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram utilizadas para determinar a distribuição real de tamanhos das nanopartículas e sua forma geométrica. Nesta caracterização as AuGA apresentaram diâmetros menores do que os analisados por DLS, sugerindo assim possível encapsulamento das AuNPs.

**SYNTHESIS AND STABILIZATION OF GOLD
NANOPARTICLES FOR BIOTECHNOLOGICAL AND
COSMETICS USES**

Andressa Alves da Silva

ABSTRACT

This study focuses on the synthesis and characterization of gold nanoparticles (AuNPs) with reducing agents and stabilizing sodium citrate and gum arabic. The synthesis was carried out by heating and use of gamma radiation source ^{60}Co in doses 1, 7.5 and 15 kGy. In this context, we studied the properties and stability of AuNPs formed through characterization techniques such as UV-Vis absorption, checking the characteristics of AuNPs bands as well as the physical stability thereof. The samples synthesized with sodium citrate (AuCit) showed wavelengths ranging from 520 to 525 nm and the samples synthesized with gum arabic (AuGA) showed wavelengths between 530 and 540 nm. The dynamic light scattering analysis (DLS) was used to determine the hydrodynamic diameter of nanoparticles formed during a period of three months, demonstrating that AuCit samples showed mean hydrodynamic sizes ranging from 20 to 50 nm while AuGA samples synthesized by heating and the use of gamma radiation had mean hydrodynamic sizes ranging 50 - 115 nm. Analysis of scanning electron microscope with field emission (SEM - FEG) and transmission electron microscopy (TEM) were used to determine the actual size distribution of nanoparticles and their geometric shape. The characterization of the AuGA showed smaller diameters in comparison to the one resulted from the DLS analysis, thus suggesting possible encapsulation of AuNPs.

SUMÁRIO

<u>1</u>	<u>INTRODUÇÃO.....</u>	<u>1</u>
<u>2</u>	<u>OBJETIVO.....</u>	<u>4</u>
<u>3</u>	<u>FUNDAMENTOS TEÓRICOS</u>	<u>5</u>
3.1	Nanopartículas de ouro	5
3.2	Nanopartículas de ouro na biotecnologia	7
3.3	Nanopartículas de ouro em cosméticos	10
<u>4</u>	<u>SÍNTESES DE NANOPARTÍCULAS DE OURO</u>	<u>14</u>
4.1	Citrato de sódio	15
4.2	Goma arábica.....	17
<u>5</u>	<u>RADIAÇÃO GAMA E RADIÓLISE DA ÁGUA</u>	<u>21</u>
<u>6</u>	<u>PURIFICAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO</u>	<u>24</u>
<u>7</u>	<u>PARTE EXPERIMENTAL.....</u>	<u>27</u>
7.1	Materiais.....	27
7.2	Métodos de preparação	27
7.2.1	AuNPs com citrato de sódio e aquecimento	27
7.2.2	AuNPs com citrato de sódio e radiação gama	28
7.2.3	Solução de goma arábica	29
7.2.4	AuNPs com goma arábica e aquecimento.....	29
7.2.5	AuNPs com goma arábica e radiação gama.....	29

7.3	Método de purificação	30
7.4	Caracterização das nanopartículas de ouro	31
7.4.1	Espectroscopia na região do UV-Visível (UV-Vis).....	31
7.4.2	Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS), potencial Zeta (ζ) e índice de polidispersão (PDI).....	32
7.4.3	Microscopias Eletrônicas	33

8 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....34

8.1	Aspecto das amostras de AuNPs sintetizadas com citrato de sódio	34
8.2	Aspecto das amostras de AuNPs sintetizadas com goma arábica.....	35
8.3	Espectrofotometria na região do Uv-Visível	36
8.3.1	Amostras sintetizadas com citrato de sódio	36
8.3.2	AuNPs sintetizadas com goma arábica	40
8.4	Espalhamento de luz dinâmico (DLS) e Índice de Polidispersão (PDI).....	46
8.4.1	DLS das AuNPs sintetizadas com citrato de sódio	46
8.4.2	PDI das AuNPS sintetizadas com citrato de sódio.....	48
8.4.3	DLS das AuNPs sintetizadas com goma arábica.....	48
8.4.4	PDI das AuNPS sintetizadas com goma arábica	50
8.4.5	Potencial zeta (ζ)	51
8.4.6	Análise das AuNPs purificadas	52
8.5	Microscopias Eletrônicas.....	55
8.5.1	Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo (MEV-FEG)	55
8.5.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	61

9 CONCLUSÃO.....69

10 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....71

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... Error! Bookmark not defined.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Processos de purificação com parâmetros de centrifugação para cada tamanho de nanopartícula de ouro e sua aplicação.....	25
TABELA 2. Preparo e nomenclatura das amostras sintetizadas com citrato de sódio	28
TABELA 3. Preparo e nomenclatura das amostras sintetizadas com goma arábica	30
TABELA 4. Valores de referências para o PDI	33
TABELA 5. PDI das AuNPs sintetizadas com citrato de sódio.....	48
TABELA 6. PDI das AuNPs sintetizadas com goma arábica	51
TABELA 7. Potencial Zeta das amostras sintetizadas	51
TABELA 8. DLS e PDI das amostras purificadas.....	54

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Fórmula estrutural do citrato de sódio [64].	16
FIGURA 2. Modelo do ancoramento de citratos nas nanopartículas de ouro (AuNPs) [63].	17
FIGURA 3. Estrutura da goma arábica; Galp = D-galactopiranosose; Rhap = L-raminopiranosose; Araf = L-arabinofuranose e G.A. = ácido D-glucurônico [75].	18
FIGURA 4. Esquema da reação de síntese de AuNPs com citrato de sódio e sua purificação [63].	25
FIGURA 5. Foto do espectrofotômetro SpectraMax I3 com leitor para microplaca.	31
FIGURA 6. Foto da microplaca utilizada em leituras de espectrofotômetro SpectraMax I3.	32
FIGURA 7. AuNPs sintetizadas com citrato de sódio e aquecimento.	34
FIGURA 8. AuNPs sintetizadas com citrato de sódio e radiação gama; (a) 1 kGy; (b) 7,5 kGy e (c) 15 kGy.	35
FIGURA 9. AuNP sintetizada com goma arábica e aquecimento. AuGA55 (a); AuGA70 (b).	35
FIGURA 10. AuNPs sintetizadas com goma arábica e radiação gama; AuGA_1kGy (a); AuGA_7,5 kGy (b) e AuGA_15 kGy (c).	36
FIGURA 11. Espectro de UV-Vis da amostra AuCit monitorada durante três meses.	37
FIGURA 12. Espectros de UV-Vis das amostras AuCit irradiadas e monitoradas durante um mês.	39
FIGURA 13. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA55 durante síntese de 4 horas.	40
FIGURA 14. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA70 durante síntese de 4 horas.	41
FIGURA 15. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA55 no período de 3 meses	42
FIGURA 16. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA70 no período de 3 meses	43

FIGURA 17. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA_1kGy no período de 3 meses.	44
FIGURA 18. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA_7,5kGy no período de 3 meses.	45
FIGURA 19. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA_15kGy no período de 3 meses.	46
FIGURA 20. Análise de DLS das AuNPs sintetizadas com citrato de sódio no período de 3 meses.	47
FIGURA 21. Análise de DLS das AuNPs sintetizadas com goma arábica e aquecimento no período de 3 meses.	49
FIGURA 22. Análise de DLS das AuNPs sintetizadas com goma arábica e irradiação no período de 3 meses.	50
FIGURA 23. Espectros de UV-Vis das amostras purificadas. AuNPs recém preparadas (a) e após um mês (b).	53
FIGURA 24. Análise por MEV-FEG da amostra AuCit (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).	56
FIGURA 25. Análise por MEV-FEG da amostra AuGA55 (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).	57
FIGURA 26. Análise por MEV-FEG da amostra AuGA70 (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).	58
FIGURA 27. Análise por MEV-FEG da amostra AuGA_1kGy (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).	59
FIGURA 28. Análise por MEV-FEG da amostra AuGA_7,5 kGy (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).	60
FIGURA 29. Análise por MEV-FEG da amostra AuGA_15 kGy (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).	61
FIGURA 30. Análise por MET da amostra AuCit (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).	62
FIGURA 31. Imagens de MET da amostra AuGA55 (a, b, c) e histograma da distribuição de tamanhos (d).	63
FIGURA 32. Imagens de MET da amostra AuGA70 (a, b, c) e histograma da distribuição de tamanhos (d).	64
FIGURA 33. Imagens de MET da amostra AuGA_1kGy (a, b, c) e histograma da distribuição de tamanhos (d).	65

FIGURA 34. . Imagens de MET da amostra AuGA_7,5kGy (a, b, c) e histograma da distribuição de tamanhos (d).	66
FIGURA 35. Imagens de MET da amostra AuGA_15kGy (a, b, c) e histograma da distribuição de tamanhos (d).	67

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma área que cresce em vários campos interdisciplinares, por apresentar potenciais aplicações de nanomateriais como na fabricação de componentes eletrônicos, na incorporação em filmes poliméricos e em pigmentos, na composição de biomateriais, no sistema de entrega de fármacos e na aplicação em cosméticos melhorando assim o transporte de ativos entre as camadas da pele. O grande interesse em torno das nanopartículas ocorre devido ao comportamento físico e químico resultante do tamanho pequeno e dos efeitos que proporcionam quando comparados a uma partícula [1,2]

Os nanomateriais são materiais que apresentam como característica dimensões na escala de 1 – 100 nanômetros (nm). Um nanômetro (nm) corresponde a 10^{-9} metros [1].

As atenções focam-se preferencialmente nos nanomateriais manufacturados (NM) que englobam aqueles que são sintetizados deliberadamente para um fim específico, porque constituem um novo desafio, em termos de saúde pública. Efetivamente, depositam-se grandes expectativas nas tecnologias baseadas nestes NM como impulsionadores do crescimento econômico dos países industrializados, devido ao seu potencial para melhorar a qualidade e o desempenho de muitos tipos de produtos e de processos [3].

Atualmente nanomateriais também são utilizados em produtos cosméticos e levaram ao desenvolvimento de cosméticos de alta tecnologia, os chamados “cosméticos *high tech*”, que consistem em partículas de até 500 nanômetros (nm), que apresentam uma série de propriedades únicas, sendo possível encapsular ativos que forneçam vitalidade, hidratação e ação antioxidante para a pele e para o cabelo [4]. Entretanto, o uso de nanomateriais em produtos cosméticos depende de como são definidos, alguns nanomateriais podem apresentar maior compatibilidade ou toxicidade cutânea, por conseguinte, a potencial absorção pela pele é considerada como importante fator de segurança [5]. A nanotecnologia voltada para a cosmética tem como foco, sobretudo, os produtos destinados à aplicação na pele do rosto e do corpo, com ação de

antienvelhecimento e de fotoproteção, capazes de penetrar nas camadas mais profundas da pele, potencializando os efeitos do produto [6]. Nanopartículas de ouro, assim como outras nanopartículas metálicas, vem sendo estudadas no campo da cosmetologia devido às suas propriedades antibacterianas, podendo ser aplicadas em produtos como desodorantes e pastas de dente [7].

Nanopartículas também oferecem uma oportunidade para criar diagnósticos multifuncionais em modalidades terapêuticas e inovadoras para várias doenças [8].

As nanopartículas de ouro (AuNPs) tem sido amplamente exploradas devido as suas propriedades singulares como o tamanho, a distribuição de tamanhos, a forma, a morfologia e a funcionalização da superfície. Estudos recentes direcionam potenciais aplicações das AuNPs na área biomédica, sendo promissora em estratégias com uso de não-invasivos dessa forma atuando sem o rompimento cirúrgico da pele e tecidos para o diagnóstico e tratamento do câncer [9].

O citrato de sódio tem sido reportado como um agente redutor e estabilizante de nanopartículas de ouro em dispersões coloidais desde 1951 com a primeira síntese realizada por Turkevich et al. e posteriormente aperfeiçoada por Frens na década de 70. A nanotecnologia verde utiliza antioxidantes ou fitoquímicos, os quais são compostos encontrados naturalmente em plantas e vegetais, presentes como na goma arábica, na quitosana, na soja, no chá verde, na canela, na centella asiática, entre outros que apresentam a capacidade de formar nanopartículas a fim de fornecer potenciais aplicações *in vivo* [10 – 15].

A biocompatibilidade das nanopartículas de ouro associada à sua funcionalização com goma arábica (AuNPs-GA) pode apresentar diâmetros que variam entre 12 e 18 nm e com tamanho hidrodinâmico próximo de 85 nm o que permite penetrabilidade através da vascularização sanguínea e dos poros tumorais. Resultados de investigações terapêuticas *in vivo* demonstraram alta afinidade das AuNPs-GA em ratos portadores de enxertos de tumor de próstata humano. As propriedades radioativas do ^{198}Au (ouro 198), emissor de raios beta (β) resultou na regressão de tumores e um controle eficaz de seu crescimento ao longo de 30 dias [16].

Como motivação para realização desse trabalho o uso de radiação ionizante apresenta como vantagens possibilidade de realização da síntese em menor tempo com maior quantidade de amostras e possível esterilização.

A proposta do presente trabalho é apresentar um estudo das sínteses de nanopartículas de ouro de forma que possam desempenhar um papel significativo com potencial aplicações em diagnósticos clínicos, na nanomedicina, em aplicações terapêuticas e no desenvolvimento de cosméticos.

2 OBJETIVO

A proposta do presente trabalho é desenvolver um estudo sobre a caracterização de nanopartículas de ouro sintetizadas e estabilizadas por citrato de sódio e goma arábica utilizando métodos de preparação com o uso de aquecimento e radiação gama para potenciais aplicações biotecnológicas e cosméticas.

3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

3.1 Nanopartículas de ouro

O ouro é um metal de coloração dourada, de aspecto brilhante, resistente à corrosão, dúctil e maleável. Sua rara beleza fez desse elemento um metal ilustre aos povos antigos. Objetos mais antigos feitos de ouro (datados de 4.600 - 4.200 a.C.) foram encontrados em sepulcros na Bulgária. Os egípcios já faziam uso de nanopartículas de ouro em suspensão para a formação do famoso “elixir da longa vida” em forma de bebida (4.000 a. C.), consideravam o ouro capaz de estimular a mente e restaurar a juventude. É possível verificar registros do uso do ouro em hieróglifos egípcios (2.600 a.C.), na bíblia e na América pré-Colombiana (900 – 500 a.C.) [17].

Elemento 79 na tabela periódica, o ouro ocupa uma posição notável na história da ciência e da tecnologia como nos trabalhos de Michael Faraday com ouro coloidal e Ernest Rutherford, conhecido devido à arquitetura básica do átomo, utilizando em sua pesquisa interações entre partículas alfa e folhas de ouro. Eletrodos contendo ouro foram utilizados nos primeiros circuitos integrados, os chips, que lançaram a revolução da informação [18].

Com o desenvolvimento da nanotecnologia, a utilização do ouro na medicina, principalmente em estudos envolvendo diagnósticos em terapia do câncer tem aumentado. O uso de nanopartículas de ouro também cresce no setor cosmético com aplicações em tratamentos estéticos como no rejuvenescimento e hidratação facial devido ao ouro ser um material que sofre pouca oxidação e por apresentar propriedades antioxidantes [12].

O tamanho ou forma das nanopartículas metálicas causa alterações em sua coloração, como, por exemplo, o ouro em esferas apresenta uma coloração vermelha, enquanto que a prata em esferas apresenta coloração amarela. Fatores como, a técnica utilizada para a síntese de nanopartículas, o tempo de reação, a temperatura, a intensidade de agitação, agente de formação

utilizado, o material de cobertura (revestimento ou material que recobre a nanopartícula) ou material de dispersão utilizado para evitar aglomerações, determinam o tamanho e a forma da nanopartícula gerada. A forma pode ser esférica, cilíndrica, em hastes, cubos, discos, fios, tubos, ramificada, prismas triangulares, bastões ou tetraédricas [19, 20].

O ouro apresenta como grandes vantagens a biocompatibilidade quando utilizado em pequenas proporções [21], propriedades físicas, químicas, ópticas, elétricas, catalíticas [22], uma síntese relativamente simples, o controle do tamanho das nanopartículas, a facilidade de modificação química de sua superfície e a facilidade de caracterização devido à presença de uma banda de superfície plasmônica ressonante originando a alteração da coloração das nanopartículas formadas [23]. O efeito de ressonância de plasma de superfície promove uma banda de superfície plasmônica, que é uma oscilação da densidade de carga longitudinal, ao longo da interface de dois meios com constantes dielétricas de sinais opostos, onde um é metal e outro, um dielétrico. [24]. Quando as nanopartículas de ouro (AuNPs) absorvem luz, seus elétrons são excitados. A excitação na frequência de ressonância plasmônica causa uma oscilação coletiva dos elétrons livres. A frequência de ressonância plasmônica é uma importante característica das AuNPs que pode ser detectada por meio de espectroscopia na região do UV-Visível e apresenta comprimentos de onda (λ) de aproximadamente 510 e 530 nm para nanopartículas de ouro com diâmetro entre 4 a 50 nm, podendo haver variações no comportamento do comprimento de onda quando são reportados outros diâmetros como comprimentos de onda verificados entre 520 e 570 nm [25, 26]. A ligação e proximidade de moléculas de superfície das nanopartículas podem modificar o comprimento de onda de absorção demonstrando alterações na largura e definição das bandas formadas [27].

Os colóides de ouro são preparados por redução química de um precursor de ouro adequado, normalmente HAuCl_4 (ácido tetracloroáurico) ou NaAuCl_4 (tetracloroaurato de sódio) e um agente redutor que pode ser um sal, ácido orgânico, açúcar, aldeído, álcool, polímeros e outros agentes redutores fortes. Há uma relação entre a morfologia, o tamanho e a cinética de reação das AuNPs com as variáveis de processo, tais como concentrações dos reagentes, temperatura, pH, presença de surfactantes e aditivos, entre outros [28].

As AuNPs são instáveis devido a sua alta energia de superfície, para prevenir agregação e controlar o tamanho das nanopartículas, deve-se adicionar um agente estabilizante adequado [12].

Uma variedade de métodos e técnicas são relatados para preparação de nanopartículas de ouro como termólise, irradiação ou ainda com métodos mais convencionais envolvendo redução de sais de ouro por agentes redutores como citrato de sódio, borohidreto de sódio ou glucose [29].

A redução química por citrato de sódio é o método mais convencional utilizado para preparar nanopartículas de ouro monodispersas assim como o método de síntese por borohidreto de sódio que se destaca pelo considerável rendimento gerado no processo de produção de nanopartículas [28]. Nanopartículas, exclusivamente coloidais, em uma curta distância, são atraídas uma para perto das outras devido a força de Van der Waals (que são forças de atração ou de repulsão originadas entre os grupos presentes nas moléculas) , não havendo forças contrárias as partículas irão se agregar e o sistema coloidal será desestabilizado [30].

O método utilizando radiação gama com fonte de Co^{60} (Cobalto) tem sido considerado efetivo devido as suas vantagens como: o processo é realizado a temperatura ambiente, o rendimento de AuNPs é alto e podem ser puramente preparadas sem contaminação por não apresentar excesso de agente redutor químico e íons Au^{3+} como resíduos [31], portanto é considerado um método não poluente e há a possibilidade de produção em massa [32].

3.2 Nanopartículas de ouro na biotecnologia

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), no Brasil, o câncer de próstata é o segundo mais comum entre os homens (atrás apenas do câncer de pele não-melanoma). A estimativa prevista para 2016 é de 61.200 novos casos e sua taxa de incidência é cerca de seis vezes maior nos países desenvolvidos em comparação aos países em desenvolvimento [33].

O avanço da biotecnologia, como o controle de sínteses e funcionalização de materiais na escala nanométrica, motivaram o aumento de pesquisas utilizando nanopartículas de ouro (AuNPs) em aplicações como sistemas de entrega de fármacos, detecção de imagens para diagnósticos,

biomarcadores celulares que atuam como medidas experimentais indicando ocorrência ou não de determinadas disfunções ou patologias e agentes terapêuticos utilizado para tratar doenças [34]. O conhecimento sobre nanopartículas de ouro e suas características permite que haja modificação ou definição de sua superfície para entrega de drogas em células ou órgãos específicos do corpo [20].

As AuNPs têm sido amplamente utilizadas como agentes na detecção biomédica e contrastante de imagem devido às suas propriedades que combinam: biocompatibilidade, facilidade de bioconjugação com outras células quando recobertas por marcadores específicos e propriedades ópticas facilitando assim seu reconhecimento com uso de técnicas específicas. As propriedades do ouro radioativo são: ^{198}Au ($\beta_{\text{max}}=0,96$ MeV; $t_{1/2} = 2,7$ dias) e ^{199}Au ($\beta_{\text{max}} =0,46$ MeV; $t_{1/2} = 3,14$ dias), fazendo deste um forte candidato a aplicações radioterapêuticas devido ao tempo de meia vida ($t_{1/2}$) e emissão de radiação beta máxima (β_{max}) apresentando assim energia cinética e poder de penetração no alvo desejado. Além desse fato, ambos os isótopos têm emissões de raios gama (γ) que podem ser utilizadas para dosimetria e estudos farmacocinéticos já que apresentam alta quantidade de energia e maior penetrabilidade no alvo quando comparada aos raios β . Os agentes terapêuticos derivados de AuNPs radioativas fornecem elevada eficiência terapêutica no tumor porque cada AuNP contém grande quantidade de átomos de ouro emissores de radiação [35, 36, 37].

Trabalhos recentes são direcionados ao desenvolvimento de AuNPs híbridas produzidas por meio do revestimento dessas nanopartículas com biomoléculas específicas como anticorpos, peptídeos, aptâmeros e outros substratos específicos de um receptor [37].

Estudos de Hainfeld et al. [38] realizados *in vivo* (utilizando ratos) relacionaram as quantidades de nanopartículas de ouro injetadas em tumores com ativação por meio do uso de raios-x. Pode ser observado que o aumento de ablação que ocorreu de forma segura nos tumores é dependente da quantidade de ouro injetada. As AuNPs apresentaram níveis de toxicidade e grande parte foi eliminada pelo organismo por intermédio dos rins.

A nanotecnologia oferece novas soluções para a transformação de biosistemas e fornece uma ampla plataforma tecnológica para aplicações em áreas como bioprocessamento na indústria ou na medicina molecular como o uso

para detecção e tratamento de doenças, na medicina regenerativa, na cirurgia em nanoescala e na síntese e direcionamento de sistemas de entrega de fármacos, assim como dispositivos para diagnósticos de gravidez e detecção de *salmonella* [39, 17].

Kattumuri et al. [37] reporta em seus estudos nanopartículas de ouro que foram sintetizadas e estabilizadas simultaneamente com o uso de goma arábica (GA) e com o aminoácido não tóxico Tris (hidroximetil)fosfina)+D/Lalanina (THPAL) que foi utilizado para potencializar a ação redutora do sal de ouro. As nanopartículas sintetizadas puderam ser utilizadas em análises farmacocinéticas *in vivo* (realizadas em suínos) e *in vitro*. As AuNPs foram utilizadas para obter a localização específica de órgãos e no uso em diagnósticos por imagem por meio de análise com medidas de contraste utilizando raios-x com nanopartículas de ouro e goma arábica (AuNPs-GA) como vetores. Os resultados demonstram que as AuNPs-GA apresentaram comprimento de onda em aproximadamente 540 nm confirmando a formação de AuNPs e tamanhos que variaram de 15 a 20 nm observados por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e raio hidrodinâmico de 27,6 nm em 75% das nanopartículas observado por meio de medida de DLS que corresponde ao espalhamento de luz dinâmico. Neste estudo a goma arábica apresentou excelente controle de estabilidade nas AuNPs demonstrando que pode ser utilizada para a fabricação de AuNPs biocompatíveis e prontamente administráveis no uso geral da nanomedicina como em diagnósticos por imagem e em terapias do câncer.

Estudos de Venditti et al. [40] demonstram a síntese de nanopartículas de ouro estabilizadas por um polímero hidrofílico que tem sido utilizado para a imobilização de soro bovino. Os resultados demonstraram comprimentos de onda que variaram de 525 a 540 nm e tamanhos que variaram de 20 a 200 nm em função do aumento do pH ocorrido ao longo de 40 dias. Sínteses que promovam a funcionalização dessas nanopartículas por meio de uma enzima de interesse podem ser aplicadas em terapias para o câncer.

O uso da soja para a estabilização de nanopartículas de ouro é apresentado em estudo realizado por Shukla et al. [14] em que é evidenciada a capacidade de redução química dos sais de ouro por intermédio de fitoquímicos. Os fitoquímicos são compostos químicos produzidos naturalmente por plantas e vegetais com a capacidade de serem ativados biologicamente com função

antioxidante. Esses compostos estão presentes na soja, podendo haver dessa forma revestimento subsequente das proteínas, e uma série de outros fitoquímicos presentes sobre as nanopartículas de ouro recém-geradas com vantagem de ocorrer em uma única etapa.

3.3 Nanopartículas de ouro em cosméticos

Produtos cosméticos consistem em formulações preparadas para serem aplicadas em diferentes partes externas, tais como epiderme, unhas, pelos, dentes e que possam agir na mucosa como nos lábios, mucosa bucal e órgãos genitais externos. Por consequência podem emitir fragrâncias como em perfumes, alterar o aspecto como em alisamentos químicos de cabelo e podem proteger contra odores corporais como em desodorantes [41].

As aplicações atuais das nanopartículas de ouro (AuNPs) abrangem o setor cosmético sendo comercializadas para melhorar o desempenho de produtos que incluem diferentes públicos atuando na saúde, na beleza e no bem estar. Recentemente AuNPs são utilizadas em produtos para a pele presentes em cremes faciais auxiliando no anti-envelhecimento cutâneo e em batons e *shampoos* provendo maior brilho [42 - 43].

O uso de cosméticos contendo nanopartículas evolui tendo em vista a capacidade de transportar ingredientes em menor quantidade promovendo maior difusão para camadas da pele ou do cabelo.

Autoridades regulatórias como a *Food and Drug Administration* (FDA) e o regulamento cosmético da União Européia não possuem uma única definição de nanomaterial, mas atualmente adotam orientações como:

- O material ou produto final deve apresentar pelo menos uma dimensão da estrutura interna ou de superfície dentro da nanoescala (1 a 100 nm) ou;
- O material deve exibir propriedades ou fenômenos, incluindo propriedades físicas e químicas ou efeitos biológicos, atribuíveis à sua dimensão, mesmo que essa dimensão alcance até um micrômetro (μm) [44].

As nanoemulsões são comumente utilizadas em produtos como condicionadores e loções, combinando ingredientes tradicionais como água, óleos e surfactantes em um sistema bifásico no qual uma quantidade ínfima de

partículas com tamanhos entre 50 – 100 nm estão dispersas. Já os lipossomas utilizados como veículo para carrear cosméticos apresentam diâmetros médios entre 25 e 5.000 nm, garantindo assim a estabilidade e penetrabilidade de ativos cosméticos como anti-oxidantes e vitaminas [45]. Os resultados mais eficientes de proteção em protetores solares contendo dióxido de titânio (TiO₂) foram obtidos com partículas de tamanho de 62 nm, porém um valor aceitável para produtos de consumo consiste em diâmetros entre 25 – 200 nm [46].

O tamanho pequeno é uma característica necessária para a garantia da penetrabilidade na pele. Idealmente estas nanopartículas devem transportar princípios ativos por meio de poros cutâneos na barreira cutânea primária e apresentar baixas taxas de irritabilidade, em virtude da deposição profunda e ação prolongada do ativo transportado. Além disso, esses produtos devem ser capazes de se adaptar às variações fisiológicas da pele [47].

Estudos realizados por Marisca et al. [48] utilizam o colágeno, a proteína mais abundante nos mamíferos, como revestimento de nanopartículas de ouro demonstrando baixa toxicidade e altos níveis de absorção, tendo em vista a aplicação em sistemas de entregas de fármacos e biomarcadores para contrastes de imagem. Esse é um dos tipos de aplicação que pode ser utilizado em cosméticos atuando no rejuvenescimento cutâneo.

Araújo et al. [49], demonstram em seus estudos os efeitos dos processos de *peeling* ultrasônico, ionização e eletroporação, que consiste em aplicação de pulsos elétricos com alta voltagem, aplicando cosméticos na pele incorporando fluidos de nanopartículas de ouro. Esses processos auxiliam na permeação de substâncias na pele. O uso de fluidos contendo AuNPs auxilia na promoção de renovação cutânea, uma vez que o ouro em nanoesferas demonstra efeitos positivos em úlceras de pele sem causar reações adversas. Após análises histológicas observou-se aumento da epiderme com grande número de fibroblastos e colágeno em neoformação nos grupos que receberam tratamento contendo ouro.

Filon et al. [50] apresentam em seus estudos que AuNPs podem ser absorvidas através da pele humana em ensaios *in vitro*. Acreditam que pode haver efeito hidratante resultando em efeitos positivos quando a aplicação das nanopartículas acontece em menor dosagem, o que causa maior absorção na pele. A solução de AuNPs apresentou $\lambda = 268$ nm aproximadamente o que

confirma a formação de AuNPs. Os resultados de permeação na pele foram obtidos por análises de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Espectrometria de Emissão Atômica (ICP-AES) para confirmação da presença de ouro nas diferentes camadas da pele. Os ensaios foram realizados com dois grupos de pele: pele intacta e pele com danos. Os resultados sugerem que não há diferença estatisticamente significativa na quantidade de permeação do ouro nesses dois grupos estudados. Esse tipo de nanopartícula tem capacidade de permear facilmente na pele apresentando perspectivas importantes em aplicações biomédicas e pode ser um transportador para a realização de entrega transdérmica .

Estudos como de Fathi-Azarbayjani et al. [51] apresentam uma máscara facial anti-rugas nanofibrosa contendo ácido ascórbico, ácido retinóico, nanopartículas de ouro, e colágeno. As AuNPs foram preparadas pela redução química do sal de ouro (HAuCl_4) com citrato de sódio em solução de PVA (álcool poli-vinílico). Uma vez umedecida, o conteúdo da máscara deve gradualmente dissolver e libertar os ingredientes ativos assegurando uma penetração máxima na pele. O uso de AuNPs nesse estudo é devido a propriedades como o aumento da circulação sanguínea, a elasticidades cutânea, o poder de rejuvenescimento facial por meio da redução da formação de rugas e o seu potencial na entrega transdérmica. A máscara facial foi caracterizada por Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV- FEG), difração de raios-X (DRX) e Espectroscopia de Infravermelho (FTIR). O ouro não causou qualquer variação significativa na permeação da pele juntamente com o ácido ascórbico, mas o grupo indica que estudos futuros devem ser feitos para avaliar o efeito das nanopartículas de ouro e do ouro sobre a superfície da pele e para investigar os efeitos toxicológicos.

Uckaya et al. [41] apresentam um estudo com o propósito de determinar a similaridade entre estruturas presentes nos produtos químicos utilizados em cosméticos que são permitidos ou proibidos avaliando o método criado pelo professor Dr. Yaşar Demir. O grupo ainda analisa grupos funcionais que são frequentemente encontrados nesses produtos. Os produtos químicos utilizados em cosméticos interagem com as enzimas, por meio de processos catalíticos, para propósitos benéficos ou de destruição depois que os cosméticos entram em nossos organismos. As características geométricas estruturais assim

como os grupos funcionais dos produtos químicos podem contribuir com a avaliação da segurança dos produtos cosméticos, considerando as limitações das seções catalíticas. Foram testados dois cosméticos, a espuma de barbear e a pasta de dente, comprovando resultados positivos do método utilizado e que esses cosméticos são seguros.

Uma série de estudos relatam que AuNPs podem ser aplicadas em produtos cosméticos, já que são biocompatíveis e podem atuar com o intuito de melhorar as propriedades dos produtos que já existem.

4 SÍNTESES DE NANOPARTÍCULAS DE OURO

A síntese de nanopartículas (AuNPs) professa a mesma rota fundamental, a redução de tamanho por meio de técnicas que reduzem quimicamente o sal de ouro na presença de um agente redutor e estabilizante para prevenir aglomeração.

O preparo das nanopartículas pode ocorrer por meio de métodos físicos como irradiação [52], método sonoquímico, radiação ultravioleta, ablação por laser, processo termolítico e processo fotoquímico. A rota química emprega agentes redutores como citrato de sódio ou borohidreto de sódio, os mais comumente utilizados. Outra rota para a síntese de AuNPs faz uso de tecnologia de fluido supercrítico, substância que apresenta pressão e temperatura acima de seu ponto crítico não havendo distinção entre as fases do material. Essa rota ocorre quando o soluto, contendo ouro é dissolvido por um solvente miscível com o fluido supercrítico mas imiscível ao soluto, ocorrendo a precipitação e resultando na formação de nanopartículas. Métodos biológicos também são utilizados com aplicação de fungos ou bactérias como fonte para a produção de nanopartículas, sendo uma alternativa para evitar o uso de solventes orgânicos [20].

Nanopartículas de ouro sintetizadas por meio do uso de borohidreto de sódio (NaBH_4) como agente redutor são amplamente utilizadas desde quando Brust et al. [53] verificaram a obtenção dessas nanopartículas em nanocristais com controle de tamanhos, entre 1 e 3 nm, ocorrendo sob temperatura ambiente. Essa síntese foi realizada com HAuCl_4 (ácido tetracloroáurico) distribuído em um sistema bifásico de água e tolueno, em que a passivação das nanopartículas acontece devido a formação de ligações covalentes entre a superfície do ouro e alcanotóis.

Diversos estudos têm reportado a síntese de nanopartículas de ouro com diferentes agentes redutores e diversos fins.

Em estudo realizado por Das et al. [54] a obtenção de AuNPs ocorre por meio do uso de extrato de folhas de *Centella asiática*, uma vez que fitoquímicos presentes no extrato atuam como efetivos agentes redutores e de estabilização, funcionando ainda como uma proposta alternativa para reduzir o uso de agentes químicos, contribuindo para com a química verde já que reduz os riscos ao meio ambiente .

Assim como a *Centella asiática*, o uso de quitosana para a síntese de nanopartículas de ouro tem sido estudado recentemente [55, 56] devido à abundância natural e propriedades como biodegradabilidade, bioatividade além de não apresentar toxicidade. A quitosana ainda apresenta outras vantagens como baixo custo para aplicações em cosméticos, produtos farmacêuticos, em alimentos e na biotecnologia além de ser um material renovável. A presença de grupos $-NH_2$ na quitosana faz com que esse polímero seja adotado para estabilizar nanopartículas de ouro [57 - 59]. Estudos de Vo et al. [29] reportam AuNPs sintetizadas e com quitosana e uso de radiação ionizante que apresentam comprimento de onda em aproximadamente 520 nm e com estabilidade durante 14 dias.

O polímero Poli(vinilpirrolidona) (PVP), também tem sido utilizado como estabilizante em colóides metálicos, pois pode associar-se ao metais devido a grupos funcionais como $C=O$, ao N (nitrogênio) e a presença de longas cadeias poliméricas. Os grupos funcionais contendo pares de elétrons isolados ajudam na estabilização das nanopartículas metálicas em sua superfície por interação covalente, considerando que a cadeia de polímero restringe a agregação das nanopartículas metálicas por impedimento estérico [30 - 60]. O Poly(vinil álcool) (PVA) é outro polímero muito utilizado como agente estabilizante, grupos hidroxila ($-OH$) ativos no PVA são capazes de se ligar a íons metálicos por meio de ligações secundárias havendo encapsulamento estérico [30].

4.1 Citrato de sódio

A redução química de sais metálicos (Au^{3+}) em ouro metálico (Au^0) baseia-se em métodos clássicos como o introduzido por Turkevich et al. [61] que utiliza citrato de sódio e que promove obtenção de nanopartículas com

aproximadamente 20 nm de diâmetro, método esse refinado por Frens na década de 70 [11, 62]

A molécula de citrato de sódio apresenta três grupos carboxilas (COO^-) responsáveis pelo ancoramento do citrato na superfície do ouro [63], sua fórmula estrutural pode ser observada na FIG. 1.

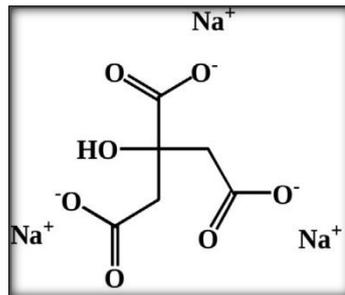


FIGURA 1. Fórmula estrutural do citrato de sódio [64].

Em estudos realizados aprimorando a técnica já conhecida com aplicação da radiação em nanopartículas de ouro as AuNPs puderam ser obtidas pelo método citrato via radiação UV ou raios-X em temperatura ambiente [65].

Verificou-se que a estabilidade eletrostática que surge durante a síntese e o crescimento das AuNPs faz com que haja definição do tamanho e da forma da nanopartícula fazendo com que coexistam em tamanhos diferentes em uma mesma solução [66]. Em estudos recentes Doyen et al. [67] sugere que o citrato de sódio forma agregados com os átomos Au^+ e/ou Au^0 e se comporta como uma ligação molecular auxiliando na formação das nanopartículas. O aumento da degradação radiolítica (que consiste na oxidação com a descarboxilação) do citrato pelo oxigênio dissolvido e catalisado pelo ouro tem como vantagem o efeito de formação das AuNPs [66].

Por meio da FIG. 2 é possível observar como ocorre o ancoramento do citrato de sódio na interface da nanopartícula de ouro formada e dessa forma atua promovendo a estabilização.

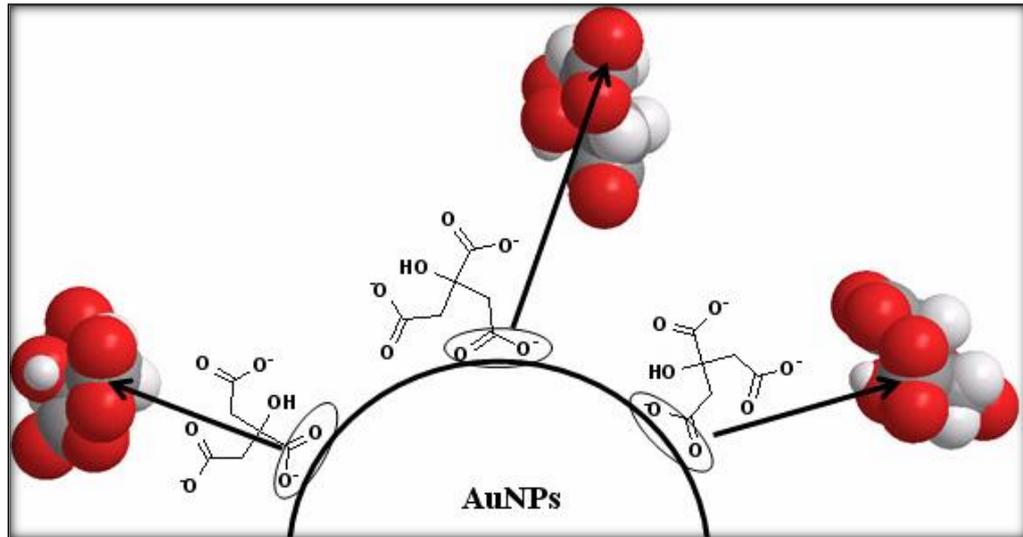


FIGURA 2. Modelo do ancoramento de citratos nas nanopartículas de ouro (AuNPs) [63].

As AuNPs com citrato de sódio são formadas por meio da redução dos íons AuCl_4^- por citrato de sódio em meio aquoso sob aquecimento, dando origem a uma solução de ouro coloidal que apresenta estabilidade e uniformidade de tamanho de partículas. A formação da suspensão coloidal envolve a redução de Au^{3+} para Au^0 pela adição do citrato, que atua como agente redutor, resultando na formação de nanopartículas que pode apresentar planos cristalográficos de rede cúbica de face centrada [68] ou formato esférico [10] com variação de tamanho dependendo da concentração de agente redutor.

4.2 Goma arábica

A goma arábica (GA) é um polissacarídeo natural e comestível, derivado do exsudato das árvores *Acacia Senegal* e *Acacia Seyal*, que consiste de aminoácidos e grupos hidroxilas em suas cadeias, podendo reduzir partículas metálicas por meio do mecanismo de oxidação. Recentemente tem sido utilizada com êxito para síntese de AuNPs realizando redução e estabilização, agindo como um protetor para evitar agregação [69 - 71].

A goma arábica como encontrada na natureza possui misturas de cálcio, magnésio e sais de potássio de um polissacarídeo ácido (ácido arábico) [72]. A GA é constituída por três principais componentes: a porção mais abundante em massa molecular (em torno de 88,4% do total de goma) é da

arabinogalactana que apresenta massa molecular de $2,79 \times 10^5$ com valor baixo em proteína (0,44% p/p). A segunda maior fração da GA é do complexo de proteína-arabinogalactana que representa 10,4% do total e tem alta massa molecular de $1,45 \times 10^6$ contendo grande porção de proteína (9,18% p/p). A terceira e menor fração é de glicoproteína, que representa 1,2 % do total da goma, com massa molecular de $2,5 \times 10^5$ essa fração apresenta grande quantidade de proteína (50% p/p). O peso molecular (PM) médio da GA é de $3,06 \times 10^5$, pois varia de acordo com a extração da goma [73, 74].

Estudos de Osman et al. [74] indicam que a GA é um polímero altamente ramificado que consiste em uma cadeia principal de arabinogalactose com cadeias laterais ramificadas contendo galactose, arabinose, ramnose e ácidos glucurônicos. Por meio da FIG. 3 é possível observar a estrutura da goma arábica.

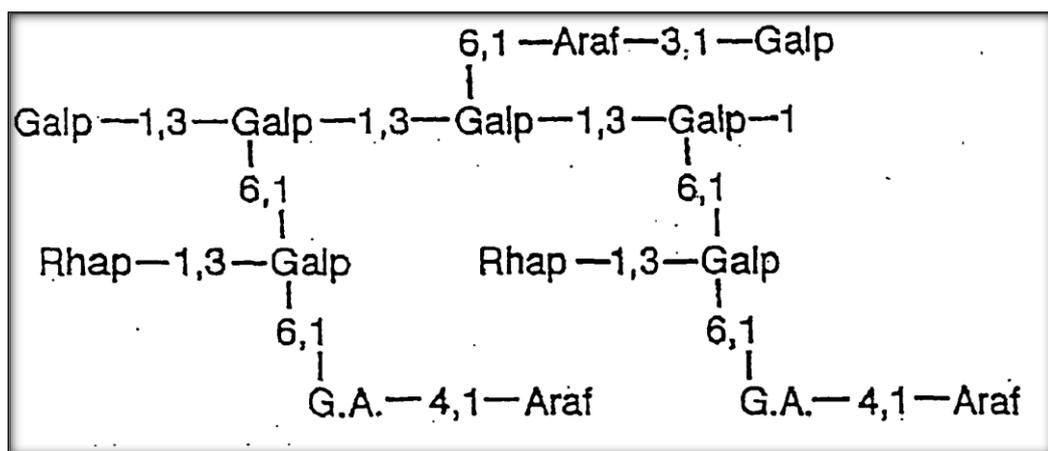


FIGURA 3. Estrutura da goma arábica; Galp = D-galactopiranosose; Rhap = L-raminopiranosose; Araf = L-arabinofuranose e G.A. = ácido D-glucurônico [75].

Nanopartículas metálicas como de ouro tendem a se aglomerar devido à ressonância plasmônica de superfície. Quando as nanopartículas são estabilizadas com o uso da goma arábica há diminuição desses aglomerados. Isso ocorre devido a interações intramoleculares e intermoleculares com os grupos funcionais presentes na GA (como H, -COOH e OH-) e dessa forma as nanopartículas metálicas ficam separadas entre si. Com a aplicação da irradiação, ou por meio de aquecimento, as nanopartículas metálicas são ancoradas dentro da cadeia polimérica da GA havendo associação entre a superfície metálica das

nanopartículas e o átomo 'O' (oxigênio) dos grupos funcionais (-COOH e OH-) [73].

O uso de GA como agente redutor e estabilizante apresenta como vantagens: solubilidade em água, é um material naturalmente não-tóxico, AuNPs estabilizadas com goma arábica oferecem compatibilidade para aplicações farmacêuticas e biomédicas, a ampla disponibilidade devido a ocorrência natural faz com que os processos sejam possíveis em escala industrial e é um excelente emulsificante [76]. A estabilidade das nanopartículas metálicas é alcançada quando as forças de repulsão e as forças de atração se equilibram havendo estabilidade eletrostática e/ou estabilidade estérica na solução contendo nanopartículas metálicas [30].

Kattumuri et al. [37] reporta nanopartículas de ouro sintetizadas e estabilizadas com o uso de goma arábica (GA) que podem ser utilizadas em análises farmacocinéticas *in vivo* (realizado em suínos) e *in vitro*. As análises são realizadas para obter a localização específica de órgãos e no uso em diagnósticos por imagem por meio de medidas de contraste utilizando raios-x com nanopartículas de ouro e goma arábica (GA-AuNPs) como vetores. Os resultados demonstram que a goma arábica apresenta excelente controle de estabilidade nas AuNPs, pode ser utilizada para a fabricação de AuNPs biocompatíveis e prontamente administráveis no uso geral da nanomedicina como em diagnósticos por imagem e em terapias do câncer.

Estudos de Fent et al. [77] descrevem experimentos realizados com goma arábica (GA) e maltose (MALT) como estabilizantes de AuNPs. O experimento avalia a hipótese de que o estabilizante das AuNPs as conduz para tecidos específicos dentro do organismo e que a mudança do revestimento das AuNPs pode direcioná-las para outros órgãos. Após administração intravenosa em suínos os resultados das coletas demonstraram que não há diferença entre o uso de GA ou MALT indicando que a unidade funcional utilizada para revestir e estabilizar as AuNPs foram encontradas no fígado e no pulmão para ambos revestimentos.

Diversas pesquisas envolvem o uso de goma arábica como o estudo do grupo de Banerjee et al. [78] que desenvolveu um nano-adsorvente magnético tratando nanopartículas de óxido de ferro III (Fe_3O_4) com goma arábica. O nano-adsorvente foi desenvolvido para remover íons de cobre de soluções aquosas e a

interação da goma com o Fe_3O_4 ocorreu por meio das interações entre os grupos carboxílicos da goma arábica e os grupos hidroxilas superficiais do Fe_3O_4 . Essa interação deu origem a nanopartículas magnéticas modificadas com goma arábica (GA-MNP). A modificação da superfície do Fe_3O_4 permitiu a formação de nanopartículas secundárias com diâmetros na faixa entre 13 e 67 nm além da mudança do ponto isoelétrico. Além disso, os íons de cobre puderam ser soltos das GA-MNP usando uma solução de ácido exibindo assim uma boa reutilização.

5 RADIAÇÃO GAMA E RADIÓLISE DA ÁGUA

Os raios gama são radiações eletromagnéticas emitidas durante as transições nucleares. A busca por uma configuração mais estável de energia faz com que um núcleo atômico excitado elimine seu excesso de energia na forma de radiação gama. A fonte de radiação mais comum é proveniente de Cobalto (^{60}Co), que é um radionuclídeo, produzido em reator nuclear após irradiação do Cobalto, elemento absorvedor de prótons, que posteriormente deve ser encapsulado em uma estrutura de aço para que não ocorra possíveis vazamentos do material [79].

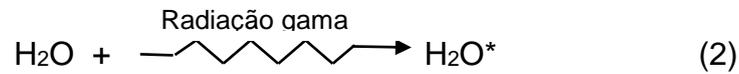
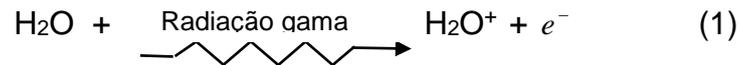
O ^{60}Co é um emissor betagama com meia-vida de 5,273 anos, apresentando alto poder de penetração. Em seu espectro pode-se observar dois picos de decaimento correspondentes à emissão gama, com energias de 1,172 MeV e 1,332 MeV, apresentando uma energia média de 1,25 MeV [79].

A radiação de alta energia produz ionização e excitação na molécula dos polímeros. Estas moléculas ionizadas e excitadas, ao interagirem com moléculas poliméricas provocam dissociação, reações de adição e de decomposição que conduzem a uma mudança química na estrutura do polímero [80].

As soluções contendo goma arábica juntamente com o NaAuCl_4 , ao serem submetidas a radiação apresentam redução do ouro (Au^{3+} para Au^0) e formação de nanopartículas. As espécies redutoras podem ser distribuídas uniformemente na solução que contém nanopartículas metálicas dispersas e o possível controle de tamanho pode ser obtido variando-se a dose e a taxa de dose de irradiação [81].

Em doses mais baixas (100 Gy) não são observadas mudanças de coloração nas amostras, podendo afirmar que não há indício de formação de nanopartículas [82].

A radiólise da água ocorre da mesma forma quando utilizado feixe de elétrons ou radiação gama e está representada pelas reações (1 e 2) [79, 52].



Os elétrons tornam-se hidratados, segundo a reação (3).



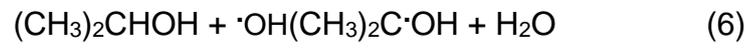
A radiação ionizante causa radiólise da água, principalmente formação de radical hidrogênio ($\text{H}\cdot$), radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), e elétrons hidratados (e_{aq}^-) [82]. Essas espécies excitadas, podem sofrer tanto quebra homolítica quanto quebra heterolítica, representadas nas reações (4 e 5) [79]:



Espécies radioativas reativas podem reduzir espécies iônicas para um estado de valência zero, resultando na formação de metais aglomerados e conseqüentemente nanopartículas [82].

Soluções aquosas irradiadas geram radicais transientes através da radiólise da água causando interferências no momento da irradiação do material [60]. Para reduzir essas interferências faz-se uso de álcool isopropílico que funciona como *scavenger* diminuindo assim a formação de espécies e radicais livres altamente reativos [29, 30]. Os elétrons solvatados (e_{aq}^-) e átomos de hidrogênio ($\text{H}\cdot$) são fortes agentes redutores, enquanto que os radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$) são capazes de oxidar os ions ou os átomos em um estado de oxidação mais elevado e, portanto, balanceando as reações de redução. Por esta razão, o

álcool isopropílico é usado como *scavenger* , convertendo os radicais ($\cdot\text{OH}$) na solução para radicais $((\text{CH}_3)_2\text{C}\cdot\text{OH})$ como representado na reação (6) [38, 83].



6 PURIFICAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO

O método de purificação da solução de nanopartículas de ouro é uma etapa particularmente importante e necessária para remoção de quantidades substanciais de impurezas ou de agente redutor em excesso. Essa etapa também oferece maior flexibilidade de variação do volume final de amostra tratada das AuNPs em suspensão [84]

Os métodos de purificação que têm sido mais adotados para remover componentes não desejados incluem centrifugação (utilizada neste trabalho) [63], troca iônica [85], extração com solvente [86], diálise [87] e diafiltração [88].

Estudos de Wulandar et al. (2008) [63] reportam a estrutura dos citratos adsorvidos nas AuNPs e a influência do tempo, da velocidade e da quantidade de repetições da centrifugação na etapa de purificação para obter resultados. Os resultados mostram que após quatro centrifugações o método alcançou o estágio de purificação. Nesse estudo processos para a retirada do excesso de citrato e a precipitação das nanopartículas foram necessários para a realização de análises por meio de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR). Os resultados confirmam que os ions citrato são estáveis o suficiente para se manter ancorados na superfície das AuNPs durante e após o processo de purificação.

A FIG. 4 mostra esquematicamente a reação de síntese de AuNPs recobertas por citrato e o resultados após a etapa de purificação.

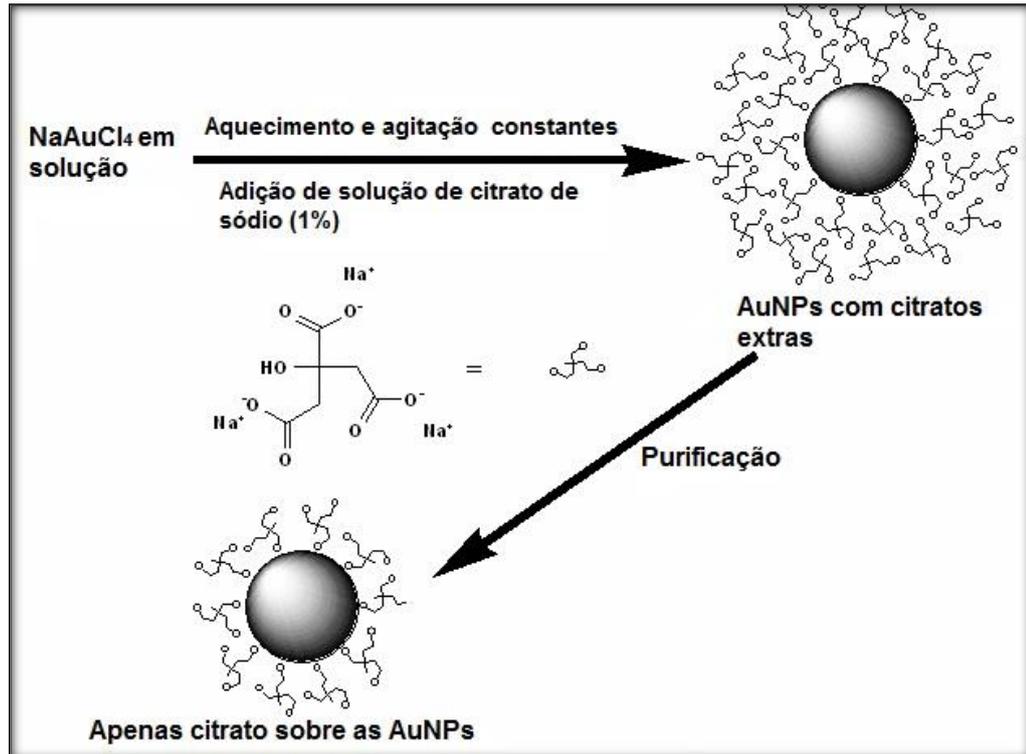


FIGURA 4. Esquema da reação de síntese de AuNPs com citrato de sódio e sua purificação [63].

Estudos sobre a eficiência de processos de purificação para cada tipo de nanopartícula de ouro bem como sua aplicação pode ser observado na TAB. 1 [84].

TABELA 1. Processos de purificação com parâmetros de centrifugação para cada tamanho de nanopartícula de ouro e sua aplicação.

Tamanho da AuNP (nm)	Parâmetro de centrifugação	Estudo/ Aplicação
15,5	15.000 g por 45 min.	Microscopias eletrônicas
17 nm	11.930 g por 20 min.	AuNPs conjugadas com DNA para biodeteccção
20 nm	10.000 rpm por 30 min (3 vezes)	Avaliar estrutura de citratos adsorvidos

20 nm	10.000 rpm por 20 min	Para ensaios de citotoxicidade
24 nm	6000 rpm por 20 min	Com albumina sérica bovina para fármacos
55-65 nm	3500 rpm por 2 h	AuNPs com hidrogel para entrega de fármaco
16, 20, 28, 38, 43 e 55 nm	3500 rpm por 10 min.	Interações que ocorrem naturalmente com macromoléculas orgânicas

Fonte – Balasubramanian et al (2010).

Estudos de Balasubramanian et al. [84] relatam o desenvolvimento de um procedimento de centrifugação para remover o máximo de componentes em excesso no meio aquoso. Para nanopartículas que apresentam tamanhos médios de 20 nm sintetizadas com citrato de sódio, foi desenvolvida uma metodologia de centrifugação aplicando-se 7.000 g (força g) com duração de 20 minutos sob temperatura ambiente, lavando-se quantas vezes se achar necessário até observar o sobrenadante com aspecto límpido e transparente. Observou-se que maiores velocidades como 11.000 g resultam em AuNPs aglutinadas nas paredes do frasco dificultando a dispersão em água para realização subsequente das análises. A estabilidade das nanopartículas também foi observada durante 30 dias por meio de análises de MET e DLS demonstrando que as AuNPs mantiveram-se estáveis durante 20 dias sob refrigeração de ± 4 °C.

7 PARTE EXPERIMENTAL

7.1 Materiais

Os materiais utilizados para a síntese e estabilização das nanopartículas de ouro foram utilizados como adquiridos sem nenhuma modificação. Todas as soluções foram preparadas utilizando água de osmose reversa com resistividade de 18,2 Ω .cm a 25 °C e seguem listados abaixo:

- Sal tetracloroaurato de sódio di-hidratado ($\text{NaAuCl}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) – adquirido da Sigma-Aldrich (99.9%);
- Citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) – adquirido da Synth (99,0%);
- Goma Arábica pura (em pó) – adquirida da Synth;
- Ácido Nítrico (HNO_3) – adquirido da Sigma-Aldrich (70%);
- Ácido Clorídrico (HCl) – Sigma-Aldrich (36.5%);
- Álcool Isopropílico (99.5%) – adquirido da Synth.

Primeiramente todas as vidrarias foram lavadas com água régia (HCl/HNO_3 na proporção 3:1) para garantir a limpeza e a não influência de sujeiras na formação das nanopartículas.

7.2 Métodos de preparação

7.2.1 AuNPs com citrato de sódio e aquecimento

Uma solução padrão de citrato de sódio (10 mg.mL^{-1}) foi preparada dissolvendo-se 1 g de citrato de sódio em balão volumétrico de 100 mL. Baseando-se no método desenvolvido por Turkevich et al. (1951) [10], foi adicionado 420 μL de NaAuCl_4 ($0,125 \text{ mol.L}^{-1}$) em um béquer contendo 94,6 mL de água ultrafiltrada. O béquer foi colocado sob aquecimento e agitação tampado com vidro de relógio até atingir temperatura de 90 °C. Adicionou-se então 5 mL de

citrato de sódio (10 mg.mL^{-1}) e aguardou-se por 20 minutos sob temperatura e agitação constantes. Após essa etapa a solução foi gradualmente resfriada sob temperatura ambiente e conservada em geladeira ($\pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$).

7.2.2 AuNPs com citrato de sódio e radiação gama

As amostras foram preparadas primeiramente acondicionando-se frascos de vidro com, capacidade para 20 mL, em caixas de isopor contendo cubos de gelo para garantir menor influência do aumento da temperatura durante todo o processo. As soluções foram preparadas partindo-se de $420 \text{ }\mu\text{L}$ de NaAuCl_4 ($0,125 \text{ mol.L}^{-1}$) em um béquer contendo $94,6 \text{ mL}$ de água ultrafiltrada. Em seguida adicionou-se 5 mL de citrato de sódio (10 mg.mL^{-1}) e tudo foi misturado com o uso de uma bagueta de vidro. Pipetou-se 15 mL em cada frasco de vidro e em seguida adicionou-se $150 \text{ }\mu\text{L}$ de álcool isopropílico. Os frascos foram tampados, agitados 3 vezes de forma idêntica e encaminhados imediatamente para irradiação. As amostras foram realizadas em triplicatas.

Na TAB. 2 encontram-se sumarizadas as nomenclaturas de cada amostra e as respectivas características das sínteses com citrato de sódio.

TABELA 2. Preparo e nomenclatura das amostras sintetizadas com citrato de sódio

Amostra	V_{Au} (μL)	$V_{\text{água}}$ (mL)	V_{Cit} (mL)	$V_{\text{álcool}}$ (μL)	T ($^\circ\text{C}$)	Dose (kGy)
AuCit	420	94,6	5	-	90	-
AuCit_1 kGy	420	94,6	5	150	25	1
AuCit_7,5 kGy	420	94,6	5	150	25	7,5
AuCit_15 kGy	420	94,6	5	150	25	15

V_{Au} = volume de solução de NaAuCl_4 ($0,125 \text{ mol.L}^{-1}$); $V_{\text{água}}$ = volume de água ultrafiltrada; V_{Cit} = volume de solução de citrato de sódio (10 mg.mL^{-1}); $V_{\text{álcool}}$ = volume de álcool isopropílico; T = temperatura.

Após as sínteses todos os frascos contendo as amostras foram mantidos sob refrigeração constante ($\pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$).

7.2.3 Solução de goma arábica

A solução de goma arábica (10 mg.mL^{-1}) foi preparada pesando-se 1 g de goma arábica em um béquer, em seguida adicionou-se 80 mL de água deionizada e a solução foi aquecida sob temperatura de $\pm 35 \text{ }^\circ\text{C}$ sob agitação para melhor solubilizá-la. Após a solubilização e resfriamento a temperatura ambiente, a solução foi avolumada em balão volumétrico de 100 mL, filtrada em filtro para seringa CHROMAFIL® Xtra PVDF – 20/25 e armazenada sob refrigeração constante ($\pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$).

7.2.4 AuNPs com goma arábica e aquecimento

As nanopartículas de ouro (AuNPs) foram preparadas pelo método adaptado da literatura [12, 89] Foram feitas reações partindo-se de 14,9 mL de solução de goma arábica (10 mg.mL^{-1}) em frascos de vidro variando-se a temperatura em 55 e 70 $^\circ\text{C}$ sob agitação constante, com finalidade de verificar possíveis alterações nas sínteses. Após a solução de goma arábica atingir a temperatura pretendida adicionou-se 36 μL de solução de NaAuCl_4 ($0,125 \text{ mol.L}^{-1}$). A reação foi deixada sob agitação por 4 horas e alíquotas foram retiradas de hora em hora para avaliar a reação de síntese completa. As amostras foram preparadas em triplicatas.

7.2.5 AuNPs com goma arábica e radiação gama

As AuNPs sintetizadas com goma arábica por radiação foram realizadas baseando-se em método adaptado da literatura [29, 73] e utilizando radiação gama em fonte de Co^{60} (Cobalto) no Irradiador Gama Multipropósito no Centro Tecnológico das Radiações (CTR) no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN).

As amostras foram preparadas primeiramente acondicionando-se frascos de vidro em caixas de isopor contendo cubos de gelo para garantir menor influência do aumento da temperatura durante todo o processo. As soluções foram preparadas partindo-se de 14,9 mL de solução de goma arábica (10 mg.mL^{-1}) e adição de 36 μL de solução de NaAuCl_4 ($0,125 \text{ mol.L}^{-1}$), adicionou-

se então 150 μL de álcool isopropílico. Os frascos foram tampados e agitados 3 vezes de forma idêntica.

Borbulhou-se gás nitrogênio (N_2) durante 5 minutos em cada amostra para diminuir influência de radicais formados no momento da irradiação. As amostras foram expostas às doses de radiação de 1, 7,5 e 15 kGy com taxa de dose de 5 kGy/h. As amostras foram preparadas em triplicatas e encaminhadas imediatamente para irradiação.

Na TAB. 3 estão apresentadas as nomenclaturas de cada amostra e as respectivas características das sínteses com goma arábica.

TABELA 3. Preparo e nomenclatura das amostras sintetizadas com goma arábica

Amostra	V_{Au} (μL)	V_{GA} (mL)	$V_{\text{álcool}}$ (μL)	T ($^{\circ}\text{C}$)	Dose (kGy)
AuGA_55	36	14,9	-	55	-
AuGA_70	36	14,9	-	70	-
AuGA_1kGy	36	14,9	150	25	1
AuGA_7,5kGy	36	14,9	150	25	7,5
AuGA_15kGy	36	14,9	150	25	15

V_{Au} = volume de solução de NaAuCl_4 ($0,125 \text{ mol.L}^{-1}$); V_{GA} = volume de solução de Goma arábica (10 mg.mL^{-1}); $V_{\text{álcool}}$ = volume de álcool isopropílico; T = temperatura.

7.3 Método de purificação

O método de purificação utilizado baseou-se na centrifugação das amostras sintetizadas com citrato de sódio e com goma arábica [84, 63] realizada em centrífuga Thermo Fischer Scientific 2010, modelo Sorvall ST 16R com potência de 1400 watts e frequência de 50/60 Hz com rotor de 3655. As centrifugações foram feitas sob temperatura constante de $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, com 7000 g durante 20 minutos por quatro vezes, a fim de retirar o excesso de agente estabilizante e avaliar as nanopartículas.

7.4 Caracterização das nanopartículas de ouro

7.4.1 Espectroscopia na região do UV-Visível (UV-Vis)

A espectroscopia na região do UV-Visível (UV-Vis) utiliza a luz na faixa do visível (Vis) e do ultravioleta (UV). A técnica é utilizada para a caracterização de propriedades ópticas das nanopartículas de ouro formadas.

Os espectros na região do UV-Vis foram efetuados em espectrofotômetro SpectraMax I3 com software Softmax 6.4. (FIG. 5).



FIGURA 5. Foto do espectrofotômetro SpectraMax I3 com leitor para microplaca.

As leituras foram realizadas em microplacas com capacidade para 200 μL , como demonstrado na FIG. 6. Foram adicionados 200 μL das amostras em cada poço de leitura da microplaca. Os espectros foram registrados entre os comprimentos de onda (λ) 260 e 750 nm para as AuNPs com goma arábica recém preparadas, a fim de avaliar a presença de bandas características da goma arábica e da formação de AuNPs.

Para as AuNPs sintetizadas com citrato de sódio as leituras foram realizadas entre os comprimentos de onda 450 e 650 nm a fim de confirmar a existência de uma banda característica de ressonância plasmônica de superfície das nanopartículas de ouro. As leituras foram realizadas em temperatura ambiente.

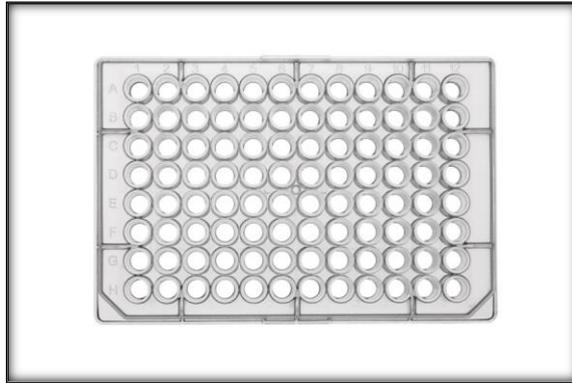


FIGURA 6. Foto da microplaca utilizada em leituras de espectrofotômetro SpectraMax I3

7.4.2 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS), potencial Zeta (ζ) e índice de polidispersão (PDI)

O impacto das moléculas de um solvente em partículas presentes na solução faz com que haja movimentos aleatórios. O movimento denominado browniano depende da frequência e amplitude desses deslocamentos aleatórios, assim como do tamanho da partícula e da viscosidade do solvente. Dessa forma partículas com tamanhos pequenos aumentam a frequência do movimento Browniano e podem ser detectadas por equipamento de DLS [90]. O equipamento de DLS ao emitir feixe de luz que atinge as partículas presentes na solução a ser analisada, causa o movimento Browniano das partículas que então é captado e gera o tamanho das partículas. O DLS é uma das técnicas mais utilizadas para determinar tamanhos de nanopartículas visto que, gera resultados em curto período.

O potencial Zeta (ζ) indica as alterações ocorridas na superfície das partículas assim como alterações na força de repulsão interpartícula, refletindo o potencial elétrico que é influenciado por alterações ocorridas na superfície das partículas com o meio que se encontra [90].

Análises de espalhamento de Luz Dinâmico (DLS), potencial Zeta e índice de polidispersão foram realizados em equipamento Brookhaven Instruments Corporation com ângulo de 90 graus sob temperatura ambiente utilizando o software Zetaplus analyzer que baseia-se na técnica do movimento de partículas. Para a realização das análises de DLS e Potencial Zeta as

amostras foram filtradas em filtro para seringa CHROMAFIL® Xtra PVDF – 20/25 e acondicionadas em cubetas de acrílico próprias do equipamento com 2,5 mL de amostra. A TAB.4 refere-se aos valores de referência para o PDI [90].

TABELA 4. Valores de referências para o PDI

PDI	Características
0,00 – 0,05	Partículas produzidas como monodispersas
0,05 – 0,08	Amostra quase monodispersa
0,08 – 0,70	Polidispersividade média
> 0,70	Alto grau de polidispersão; deve-se ter cuidado com a interpretação dos resultados, pois a amostra não deve ser caracterizada apenas por DLS

Fonte – Costa, P. R. [90].

7.4.3 Microscopias Eletrônicas

As Microscopias Eletrônicas de Transmissão (MET) foram efetuadas em um Microscópio Eletrônico de Transmissão Jeol modelo JEM-2100 (200 kV). As amostras ficaram sob refrigeração (± 4 °C) até o momento da análise. As análises foram realizadas no Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais (CCTM-IPEN).

As Microscopias Eletrônicas de Varredura por Emissão de Campo (MEV-FEG) foram efetuadas em equipamento Jeol modelo JSM6701-F. As análises foram realizadas no CCTM-IPEN.

Os histogramas foram determinados a partir da contagem de 500 nanopartículas no sistema estudado utilizando o programa *Lince Linear Intercept 2.4.2 β* .

8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.1 Aspecto das amostras de AuNPs sintetizadas com citrato de sódio

A síntese de nanopartículas de ouro com citrato de sódio realizada por aquecimento apresentou coloração vermelha o que indica formação de nanopartículas de ouro provavelmente de forma esférica conforme indicado em literatura [91], sem presença de precipitados e com característica translúcida como pode ser verificado por meio da FIG. 7. Após três meses foi possível observar as mesmas características.



FIGURA 7. AuNPs sintetizadas com citrato de sódio e aquecimento.

A síntese com citrato de sódio por radiação pode ser realizada com dose de 1 kGy, mas o mesmo não foi passível de reprodução por irradiação com as doses de 7,5 e 15 kGy . As amostras apresentaram colorações variadas como é possível verificar por meio da FIG.8. A amostra representada pela FIG. 7 (a) foi irradiada com 1kGy e apresentou coloração rosa claro, indicativo inicial da formação de nanopartículas de ouro, sem presença de precipitados e com característica translúcida. A amostra representada pela FIG. 7 (b) foi irradiada com 7,5 kGy e apresentou coloração preta e com muitos precipitados, indicativo

não característico da formação de AuNPs e rápida aglomeração de nanopartículas. A amostra representada pela FIG. 7 (c) foi irradiada com 15 kGy e apresentou coloração cinza claro, indicativo não característico da formação de nanopartículas de ouro., com característica translúcida e precipitados concentrados no fundo do frasco. Após uma semana todas as amostras apresentaram precipitado e turbidez.

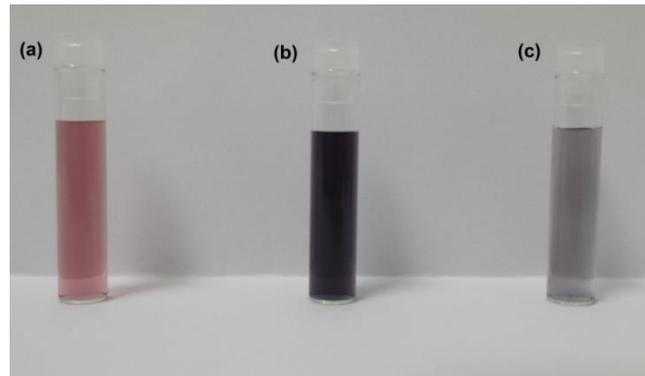


FIGURA 8. AuNPs sintetizadas com citrato de sódio e radiação gama; (a) 1 kGy; (b) 7,5 kGy e (c) 15 kGy.

8.2 Aspecto das amostras de AuNPs sintetizadas com goma arábica

As nanopartículas sintetizadas com goma arábica por aquecimento a 55 °C (AuGA55) e a 70 °C (AuGA70) apresentaram coloração rosa, indicativo da formação de nanopartículas de ouro, com características translúcidas e sem presença de precipitados (FIG. 9). Após três meses foi possível observar as mesmas características.

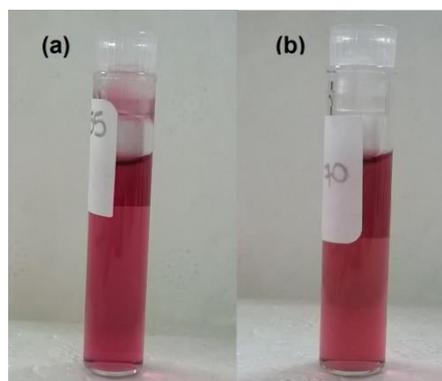


FIGURA 9. AuNP sintetizada com goma arábica e aquecimento. AuGA55 (a); AuGA70 (b).

As nanopartículas sintetizadas com goma arábica e irradiadas apresentaram coloração roxo claro como pode ser observado por meio da FIG. 10. Todas as amostras apresentaram característica translúcida e sem formação de precipitados. As amostras irradiadas com 1 kGy (FIG. 10 (a)), 7,5 kGy (FIG. 10 (b)) e 15 kGy (FIG. 10 (c)) apresentaram tonalidades semelhantes e sem formação de precipitados ao longo de 3 meses.

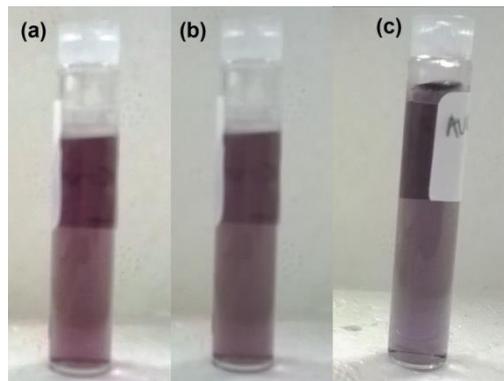


FIGURA 10. AuNPs sintetizadas com goma arábica e radiação gama; AuGA_1kGy (a); AuGA_7,5 kGy (b) e AuGA_15 kGy (c).

8.3 Espectrofotometria na região do Uv-Visível

8.3.1 Amostras sintetizadas com citrato de sódio

Por meio da FIG 11 é possível comprovar a formação de nanopartículas de ouro (AuNPs) que são confirmadas pela banda de ressonância plasmônica do ouro observada no comprimento de onda 525 nm aproximadamente, indicando que o citrato atuou como agente redutor e formou nanopartículas de ouro por meio da redução do sal NaAuCl_4 [10, 13, 61, 62]. É possível observar também que após um mês (AuCit_1 mês) houve aumento na intensidade de absorbância, indicando que o citrato pode ter dado continuidade em seu processo de formação de nanopartículas de ouro, aumentando assim a concentração de AuNPs. Pode-se observar também que a amostra manteve-se estável no mês seguinte (AuCit_2 meses). Após 3 meses (AuCit_3 meses) observou-se que houve uma diminuição da intensidade de absorbância, sugerindo

que nanopartículas podem ter permanecido retidas nas paredes do frasco e conseqüente diminuindo a concentração de nanopartículas de ouro na solução analisada.

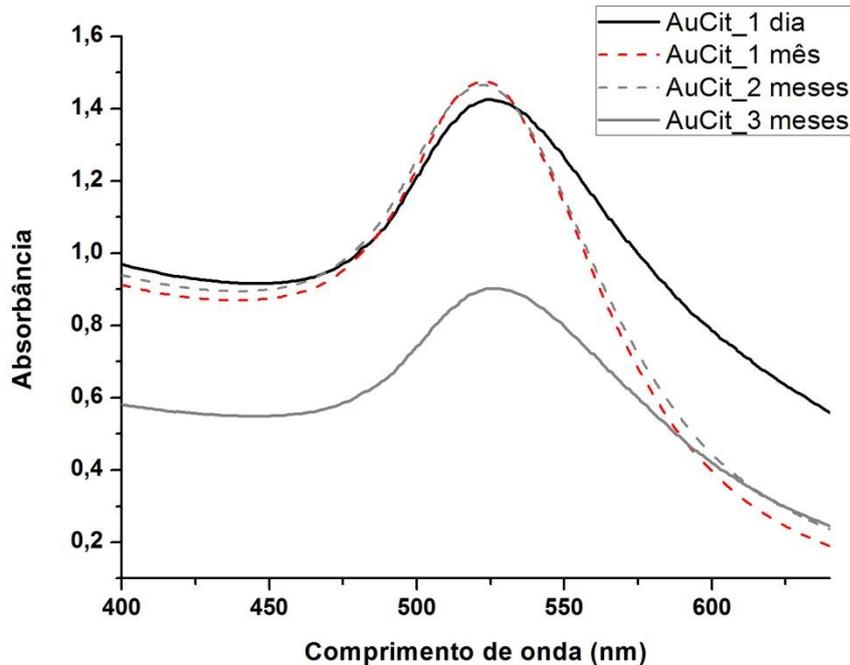


FIGURA 11. Espectro de UV-Vis da amostra AuCit monitorada durante três meses.

O espectro das AuNPs sintetizadas com citrato de sódio por meio da aplicação de radiação gama pode ser observada na FIG. 12. Pode-se observar por meio da FIG. 12 (a), que as doses de 1 kGy (AuCit_1 kGy) e de 7,5 kGy (AuCit_7,5 kGy) apresentaram comprimentos de onda em torno de 520 nm comprovando a formação de AuNPs. Após um mês (FIG. 12 (b)) observou-se que a amostra AuCit_1kGy apresentou uma banda de superfície plasmônica mais definida, mas que permaneceu em 520 nm e com maior intensidade de absorbância, o que pode indicar maior formação de nanopartículas de ouro.

É possível observar que a amostra AuCit_7,5 kGy manteve-se estável durante o período de um mês quando avaliados comprimento de onda e absorbância. A banda menos acentuada e com linha de base mais larga em $\lambda = 520$ nm aproximadamente, indica maior absorção devido à presença de diferentes

tamanhos de nanopartículas formadas, indicando possível nanopartículas maiores ou aglomerações [25, 63]

A amostra AuCit_15 kGy, que foi sintetizada com aplicação de radiação gama de 15 kGy não produziu AuNPs (FIG. 12 (a)), dado que não houve formação de banda característica, possivelmente isso deveu-se a degradação radiolítica do citrato de sódio [66].

No monitoramento realizado após um mês não se observou a banda característica da formação de nanopartículas de ouro para nenhuma das amostras sintetizadas com citrato de sódio por meio da aplicação de radiação gama.

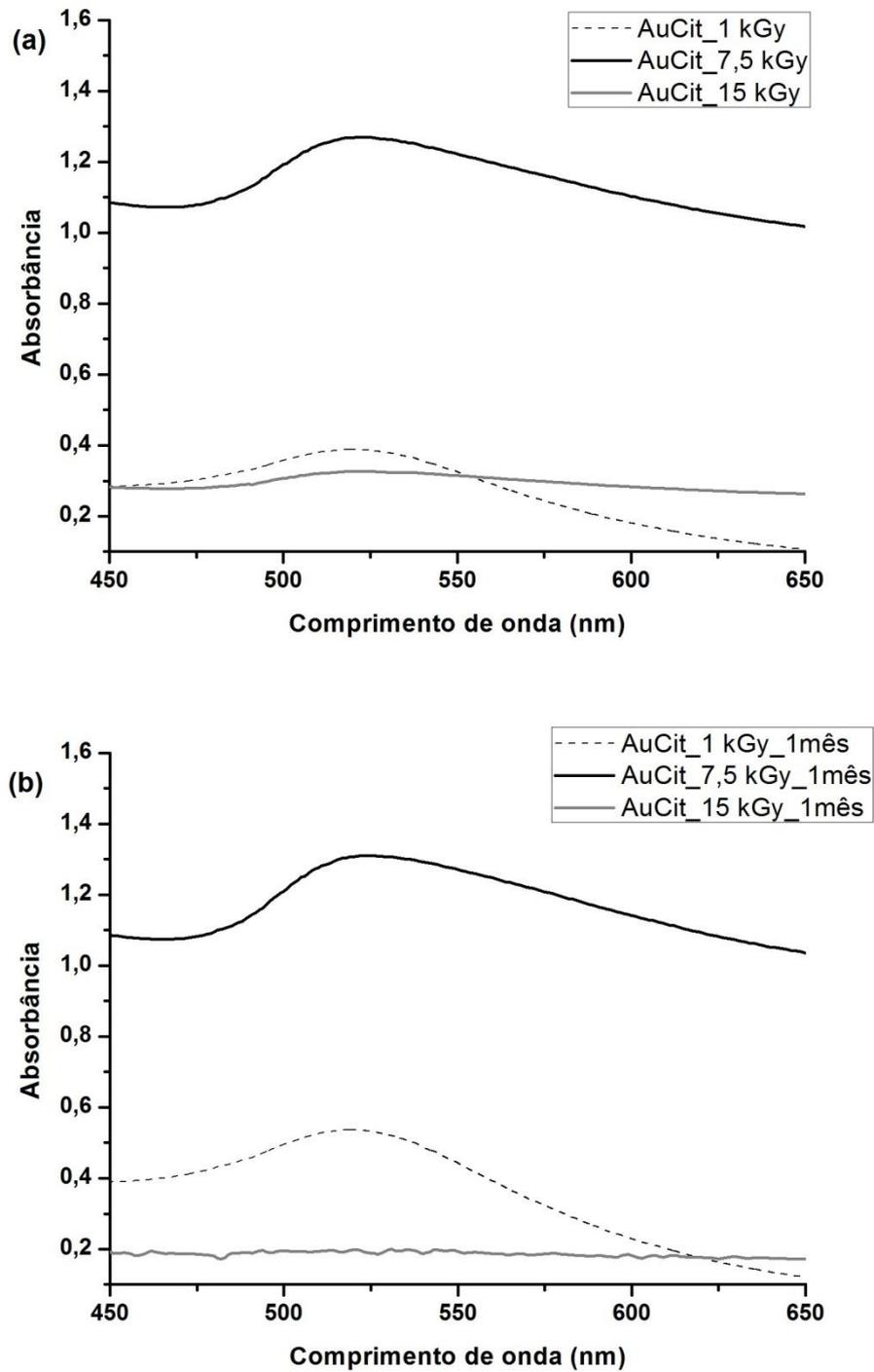


FIGURA 12. Espectros de UV-Vis das amostras AuCit irradiadas e monitoradas durante um mês.

8.3.2 AuNPs sintetizadas com goma arábica

As análises de UV-Vis das amostras sintetizadas com goma arábica por aquecimento foram realizadas durante o período de 4 horas a fim de verificar a conclusão da reação.

A amostra sintetizada a temperatura de 55 °C (AuGA55) apresentou banda acentuada no comprimento de onda em 530 nm aproximadamente (FIG. 13) o que confirma a formação de nanopartículas de ouro [13]. Após três horas de reação a síntese manteve-se estável dado que os valores das intensidades do comprimento de onda e de absorbância n mantiveram-se com valores muito próximos no período de três a quatro horas. É possível observar que a formação das nanopartículas na amostra AuGA55 ocorreu de forma mais regular com banda acentuada e definida entre os comprimentos de onda 470 e 570 nm, demonstrando possível formação de tamanhos menores e de ocorrência mais uniforme das AuNPs formadas durante a síntese.

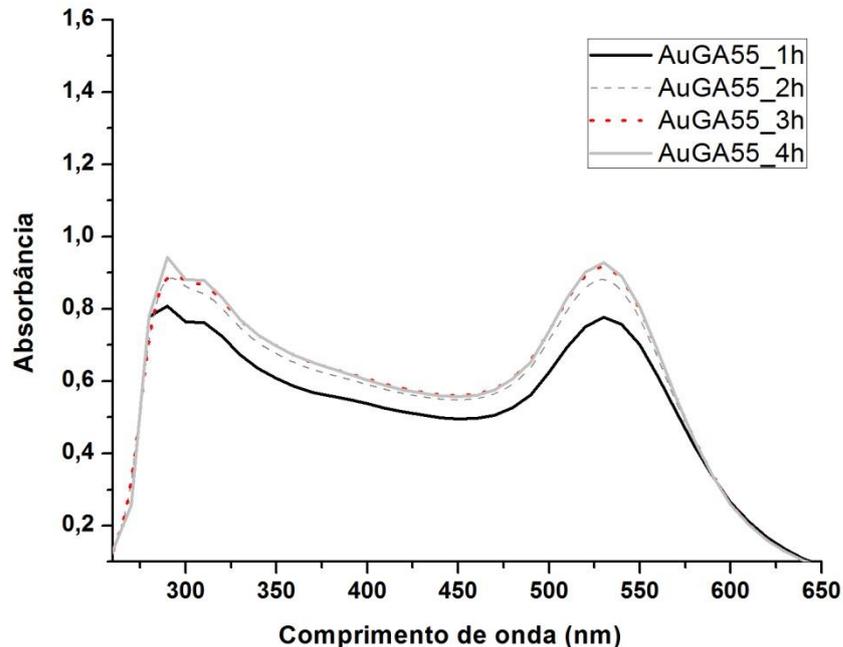


FIGURA 13. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA55 durante síntese de 4 horas.

A reação de síntese da amostra AuGA70, que ocorreu a temperatura de 70 °C durante 4 horas, pode ser avaliada por meio da FIG. 14 que demonstra a

formação de nanopartículas de ouro confirmadas pela presença de banda característica em comprimento de onda de aproximadamente 530 nm [13]. Não há alterações consideráveis a partir de duas horas de síntese como pode ser verificado por meio dos valores de intensidade de absorbância em 530 nm que se mantiveram constantes. É possível observar que a síntese das nanopartículas da amostra AuGA70 ocorreu de forma regular com banda mais acentuada entre os comprimentos de onda 480 e 560, sugerindo possível formação de tamanhos menores e mais uniformes das AuNPs formadas.

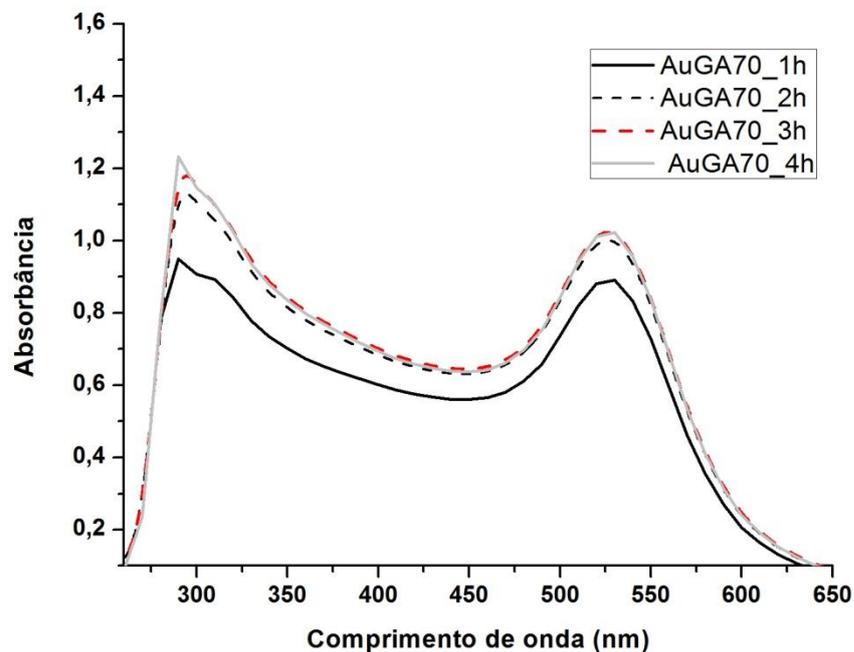


FIGURA 14. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA70 durante síntese de 4 horas.

Por meio das FIG.13 e FIG.14 é possível observar a presença de uma banda com pico de absorção característico em aproximadamente 290 nm em razão da presença da proteína arabinogalactana da estrutura da goma arábica [92].

A FIG. 15 apresenta o espectro de UV-Vis da amostra AuGA55 após o período de 3 meses. Pode-se verificar que a banda característica das AuNPs permaneceu constante no comprimento de onda 530 nm com pequena diminuição da intensidade de absorbância ao longo dos meses. Observa-se que o pico

característico da proteína arabinogalactana em aproximadamente $\lambda = 290$ nm demonstrou alterações a partir do segundo mês com variação para $\lambda = 320$ nm.

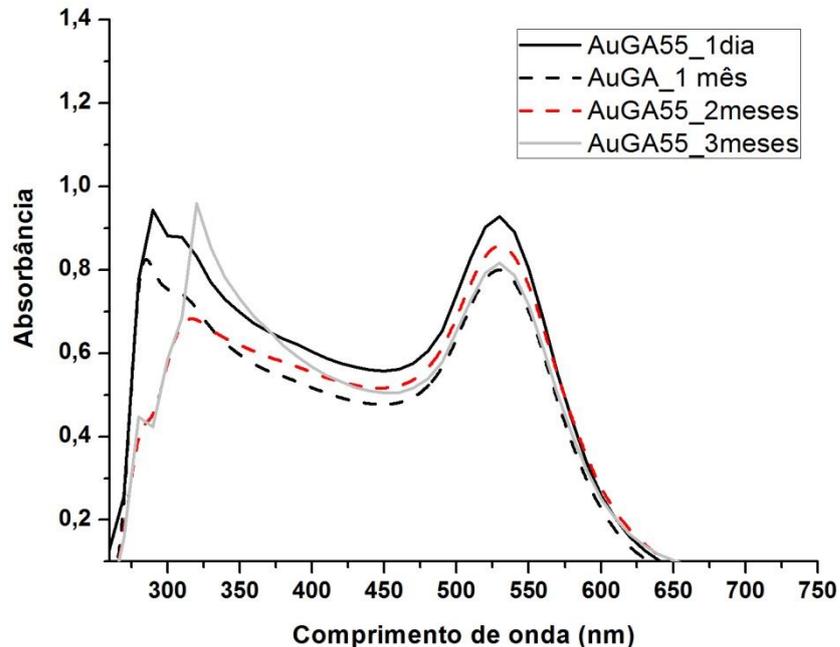


FIGURA 15. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA55 no período de 3 meses

O espectro de UV-Vis da amostra AuGA70 representado na FIG. 16 apresenta a estabilidade das AuNPs formadas após o período de 3 meses. Pode-se verificar que a banda característica das AuNPs permaneceu constante no comprimento de onda 530 nm com pequena diminuição da intensidade de absorbância após o primeiro mês. Observa-se que o pico característico da proteína arabinogalactana em aproximadamente $\lambda = 290$ nm demonstrou alterações a partir do segundo mês com variação para $\lambda = 320$ nm assim como ocorreu com a amostra AuGA55 (FIG. 15).

Após três meses observou-se (FIG. 16) maior intensidade de absorbância e o prolongamento do espectro após o comprimento de onda 570 nm o que indica presença de tamanhos diferentes na solução analisada ou formação de nanopartículas maiores como efeito de aglomerações.

As bandas mais definidas e com comprimentos de onda constantes observados nas amostras AuGA55 (FIG. 15) e AuGA70 (FIG. 16) sugerem tamanhos mais regulares e AuNPs estáveis durante o período analisado.

As soluções das AuNPs formadas com goma arábica e uso de aquecimento apresentaram coloração vermelha característica do comprimento de onda entre 520 e 530 nm [89].

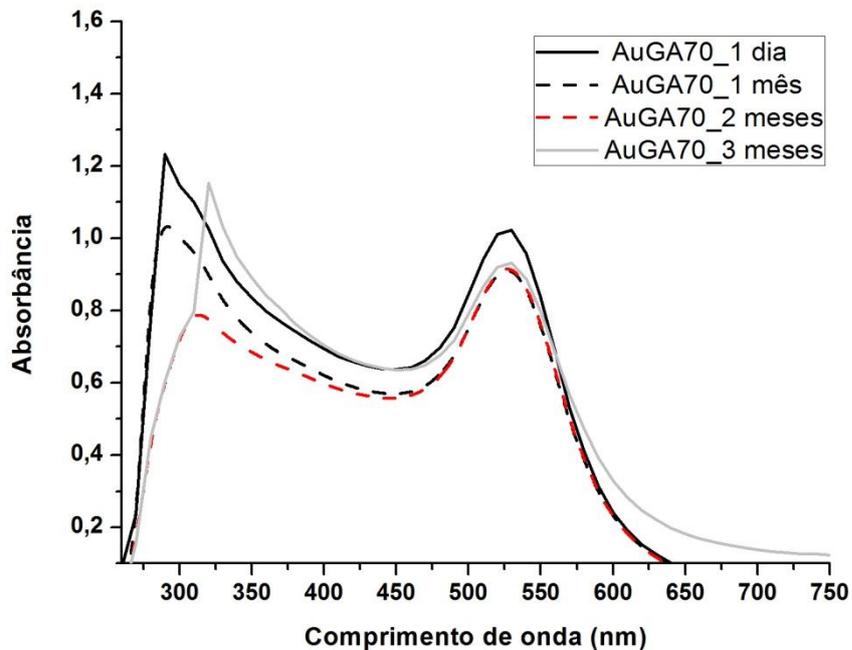


FIGURA 16. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA70 no período de 3 meses

Os espectros de Uv-Vis obtidos das amostras sintetizadas com goma arábica e irradiadas com 1 kGy (AuGA_1kGy), 7,5 kGy (AuGA_7,5kGy) e 15 kGy (AuGA_15kGy) foram realizados durante 3 meses a fim de avaliar a estabilidade das AuNPs formadas.

Por meio da FIG. 17 É possível observar que a amostra AuGA_1kGy apresentou comprimento de onda característico da formação de AuNPs em aproximadamente 540 nm de forma estável ao longo de três meses com pouca variação na intensidade de absorbância. O espectro apresenta banda menos definida entre os comprimento de onda 500 e 600 nm que sugere formação de AuNPs com diferentes tamanhos e menor estabilidade devido a menor distância interpartículas.

É possível observar alterações ocorridas durante o primeiro e o segundo mês nos valores de comprimento de onda do pico característico da presença da proteína arabinogalactana. No primeiro dia e no terceiro mês a amostra

apresentou pico em $\lambda = 290$ nm enquanto que no primeiro e segundo mês apresentou pico em $\lambda = 320$ nm.

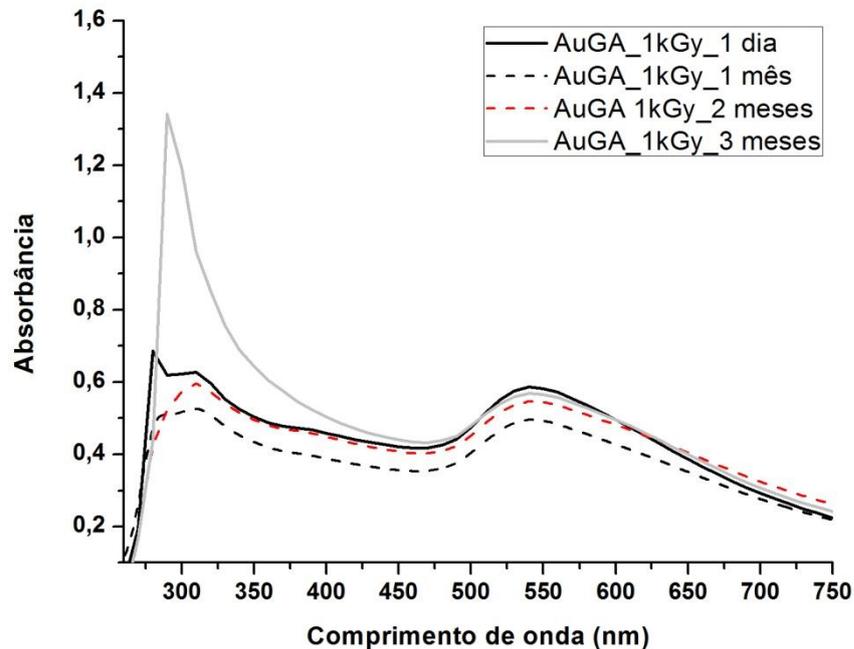


FIGURA 17. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA_1kGy no período de 3 meses.

A amostra AuGA_7,5 kGy (FIG.18) apresentou comprimento de onda característico da formação de AuNPs em aproximadamente 540 nm de forma estável ao longo de três meses com pouca variação na intensidade de absorbância. É possível observar a formação de uma banda menos acentuada entre os comprimentos de onda 500 e 600 nm que sugere formação de AuNPs com diferentes tamanhos e menor estabilidade ao longo do tempo em razão da menor distância interpartículas que pode promover aglomerações.

Assim como é verificado na amostra AuGA_1kGy (FIG. 17) é possível observar alterações no pico da proteína arabinogalactana.

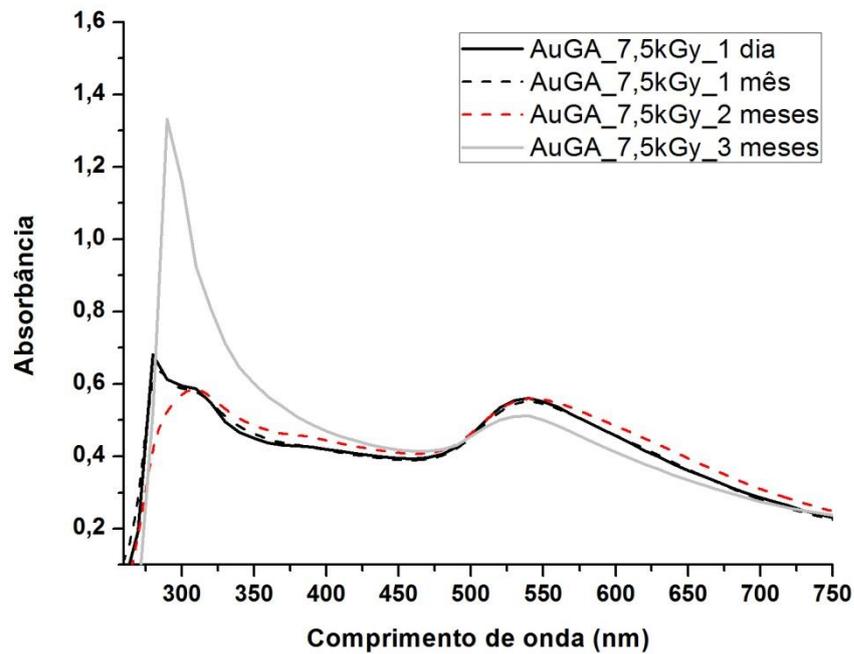


FIGURA 18. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA_7,5kGy no período de 3 meses.

A amostra AuGA_15 kGy (FIG.19) apresentou comprimento de onda característico da formação de AuNPs em aproximadamente 540 nm e demonstrou banda menos acentuada entre os comprimentos de onda 480 e 620 nm indicando assim possível formação de tamanhos maiores e menos regulares das AuNPs formadas. Após três meses observa-se aumento da intensidade de absorbância no pico característico da proteína arabinogalactana ($\lambda = 290$ nm) e na banda característica da AuNPS. Observa-se também o deslocamento da banda inicialmente em 536 nm para 547 nm o que sugere diminuição da distância interpartículas indicando futura aglomeração e aumento de diâmetro.

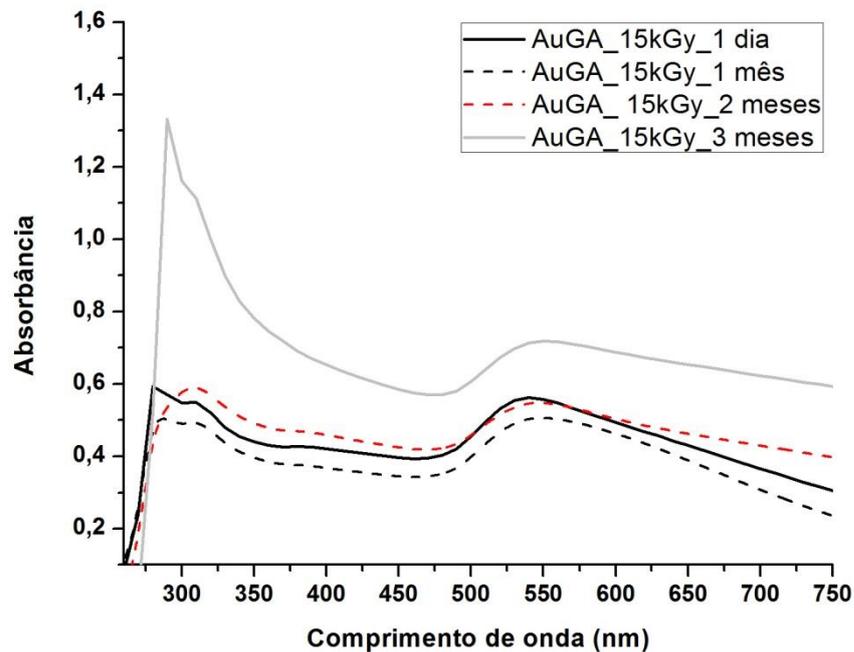


FIGURA 19. Espectro de UV-Vis da amostra AuGA_15kGy no período de 3 meses.

As nanopartículas sintetizadas com uso de goma arábica e irradiadas apresentaram pico característico da presença da proteína arabinogalactana que demonstrou variações no comprimento de onda característico em 290 nm para 320 nm assim como na intensidade de absorbância ao longo dos meses. O comprimento de onda característico das AuNPs obtido em 540 nm pode inferir-se ao fato de a solução ter apresentado coloração roxa.

8.4 Espalhamento de luz dinâmico (DLS) e Índice de Polidispersão (PDI)

8.4.1 DLS das AuNPs sintetizadas com citrato de sódio

As amostras sintetizadas com citrato de sódio por aquecimento (AuCit) apresentaram tamanhos hidrodinâmicos que variaram entre 26 e 54 nm no prazo de 90 dias como pode ser verificado por meio da FIG. 20. É possível observar que a amostra AuCit demonstrou diâmetro médio de $26,9 \pm 0,4$ nm no primeiro dia,

diâmetro médio de $32,6 \pm 0,2$ nm após o período de 30 dias, diâmetro médio de $40,4 \pm 0,3$ nm após 60 dias e diâmetro médio de $54,8 \pm 0,4$ nm após 90 dias.

As amostras sintetizadas com citrato de sódio e irradiação com 1 kGy (AuCit_1kGy) e 7,5 kGy (AuCit_7,5 kGy) apresentaram tamanhos hidrodinâmicos médio de $69,1 \pm 2,4$ e de $85,1 \pm 0,4$ respectivamente (FIG.20). Percebeu-se que doses maiores de irradiação nas amostras contendo citrato de sódio, não apresentam o mesmo comportamento esperado em literatura, pois menores doses deveriam gerar nanopartículas maiores. Pode-se então atribuir esse fenômeno a degradação radiolítica do citrato de sódio, que dessa forma apresentou dificuldade em manter a estabilidade das AuNPs [66]

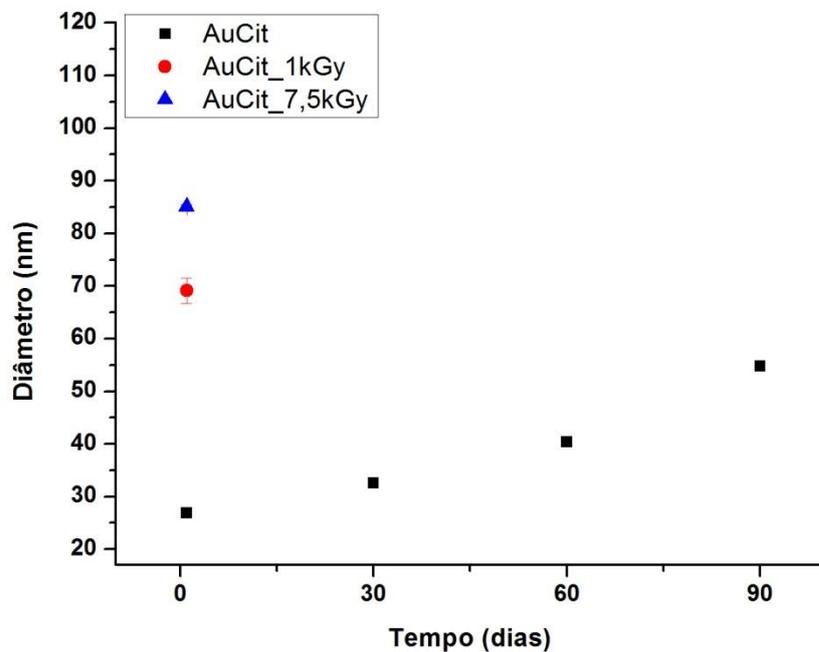


FIGURA 20. Análise de DLS das AuNPs sintetizadas com citrato de sódio no período de 3 meses.

As amostras sintetizadas com citrato de sódio por meio de irradiação não puderam ser avaliadas após 30 dias, pois apresentaram formação de precipitado que ficou retido no filtro, não havendo nanopartículas na solução que pudessem ser quantificadas pelo equipamento de DLS. Este fato pode ser associado ao espectro de Uv-Vis (FIG. 12) que demonstrou banda menos definida o que sugere formação de AuNPs com diferentes tamanhos e menor estabilidade devido a menor distância interpartículas

8.4.2 PDI das AuNPS sintetizadas com citrato de sódio

Na TAB.5 são apresentados os valores do índice de polidispersão (PDI) das nanopartículas de ouro sintetizadas com citrato de sódio. É possível observar que os valores de PDI estão na faixa de 0,08 – 0,70 estando assim dentro da faixa considerada como de polidispersividade média. A polidispersão das AuNPs sintetizadas com citrato apresentaram valores próximos durante os meses seguintes. Desse modo os valores de DLS podem ser considerados para análise de tamanhos. Os valores das nanopartículas sintetizadas com citrato e irradiadas não puderam ser avaliados nos meses seguintes por parte do equipamento e devido às soluções apresentarem precipitado, embora tenham apresentado valores considerados de médio PDI no primeiro dia de leitura em DLS.

TABELA 5. PDI das AuNPs sintetizadas com citrato de sódio

Amostra	PDI- 1 dia	PDI – 1 mês	PDI – 2 meses	PDI – 3 meses
AuCit	0,19	0,331	0,356	0,260
AuCit_1kGy	0,28	-	-	-
AuCit_7,5kGy	0,33	-	-	-

8.4.3 DLS das AuNPs sintetizadas com goma arábica

Por meio da análise de DLS foi possível avaliar o tamanho obtido das amostras sintetizadas com goma arábica a 55 °C (AuGA55) e a 70 °C (AuGA70). Na FIG. 21 é possível verificar que a amostra AuGA55 apresentou tamanhos hidrodinâmicos médios de $55 \pm 0,8$ nm no primeiro dia, $62,2 \pm 0,2$ nm no primeiro mês, $71,5 \pm 0,4$ nm no segundo mês e $95,5 \pm 0,7$ nm no terceiro mês. A amostra AuGA70 apresentou $55,4 \pm 0,7$ nm no primeiro dia, $57,4 \pm 0,4$ nm no primeiro mês, $66,1 \pm 1,3$ nm no segundo mês e $73,2 \pm 0,3$ nm no terceiro mês. Isso demonstra que a síntese com aquecimento a 70 °C é mais estável do que a síntese a 55 °C, uma vez que a amostra AuGA70 apresentou menor variação de tamanho ao longo de três meses quando comparada a amostra AuGA55.

Os resultados de DLS demonstram que a análise de UV-Vis não pode ser avaliada isoladamente para definição de estabilidade dado que demonstrou bandas sem grandes alterações no período de 90 dias como pode ser observado anteriormente nas FIG.15 e FIG. 16.

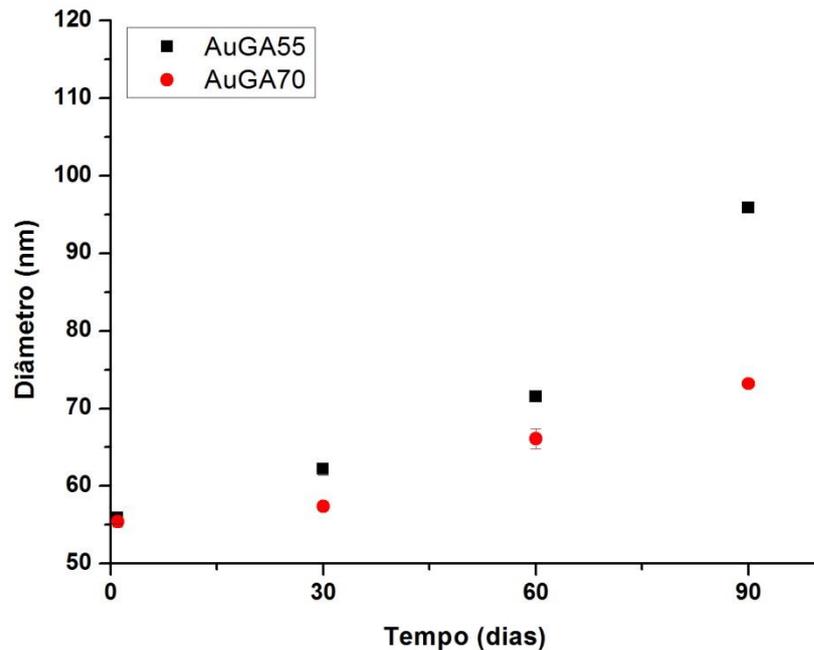


FIGURA 21. Análise de DLS das AuNPs sintetizadas com goma arábica e aquecimento no período de 3 meses.

A FIG. 22 representa o tamanho médio das AuNPs sintetizadas com goma arábica com uso de radiação gama. É possível verificar que a amostra irradiada com 1 kGy (AuGA_1kGy), apresentou tamanho médio de $72,2 \pm 0,9$ nm no primeiro dia, $92,1 \pm 0,2$ nm no primeiro mês, $105 \pm 0,2$ nm no segundo mês e $118,7 \pm 0,4$ nm no terceiro mês.

A amostra irradiada com 7,5 kGy (AuGA_7,5kGy) apresentou tamanho médio de $59,1 \pm 0,5$ nm no primeiro dia, $82,7 \pm 0,3$ nm no primeiro mês, $86,1 \pm 0,2$ nm no segundo mês e $92,8 \pm 0,2$ nm no terceiro mês (FIG. 22).

A amostra irradiada com 15 kGy (AuGA_15kGy) apresentou tamanho médio de $62,6 \pm 0,6$ nm no primeiro dia, $84,5 \pm 0,2$ nm no primeiro mês, $94,2 \pm 0,2$ nm no segundo mês e $115,9 \pm 0,2$ nm no terceiro mês (FIG. 22).. Esses valores inferem que o uso da radiação gama com maiores doses produzem AuNPs com

diâmetros menores e mais estáveis ao longo do tempo, uma vez que as amostras AuGA_7,5kGy e AuGA_15kGy apresentaram menor variação de tamanhos.

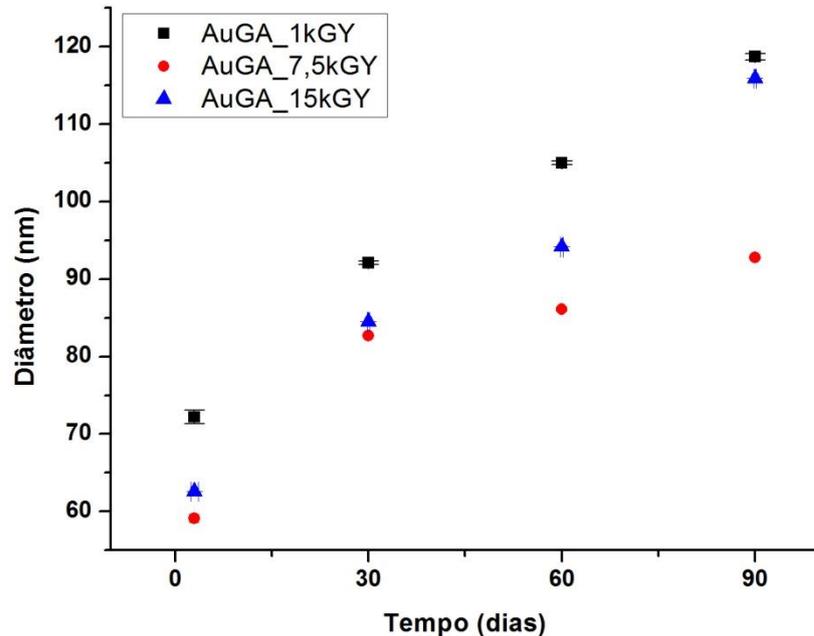


FIGURA 22. Análise de DLS das AuNPs sintetizadas com goma arábica e irradiação no período de 3 meses.

Os resultados de DLS apresentados na FIG. 22 sugerem ocorrências de aglomerações de partículas no período de 90 dias uma vez que os diâmetros médios aumentaram o que condiz com os espectros de UV-Vis anteriormente demonstrados na FIG.17, na FIG. 18 e na FIG. 19 com bandas apresentando pouca definição e linha de base larga sugerindo futuras aglomerações.

8.4.4 PDI das AuNPS sintetizadas com goma arábica

Na TAB.6 são apresentados os valores do índice de polidispersão (PDI) das nanopartículas de ouro sintetizadas com goma arábica. É possível observar que os valores de PDI estão dentro da faixa de 0,08 – 0,70 e dessa forma as AuNPs podem ser consideradas como de polidispersividade média. A polidispersão das AuNPs sintetizadas com goma arábica apresentaram valores

sem grandes variações nos meses seguintes. Desse modo os valores de DLS podem ser considerados para complementar análise de tamanhos.

TABELA 6. PDI das AuNPs sintetizadas com goma arábica

Amostra	PDI –dia 1	PDI -1 mês	PDI- 2 meses	PDI – 3 meses
AuGA55	0,289	0,289	0,290	0,323
AuGA70	0,317	0,317	0,314	0,311
AuGA_1kGy	0,338	0,338	0,347	0,342
AuGA_7,5kGy	0,352	0,352	0,345	0,350
AuGA_15kGy	0,359	0,359	0,309	0,343

8.4.5 Potencial zeta (ζ)

A Tabela 7 sumariza os valores de potencial zeta obtidos para as nanopartículas sintetizadas com exceção das amostras com citrato de sódio que foram irradiadas, as quais não obtiveram resultados interpretados pelo equipamento devido a grande quantidade de precipitado na solução.

Elevados valores de potencial Zeta , acima de 30 mV, sendo positivos ou negativos, sugerem suspensões de nanopartículas mais estáveis, uma vez que a repulsão interpartícula previne que ocorra aglomeração. Os potenciais mostram carga negativa (TAB. 7) para todas as nanopartículas de ouro sintetizadas. As nanopartículas sintetizadas com goma arábica a 55 °C (AuGA55) apresentaram potencial zeta mais negativo o que sugere maior estabilidade.

TABELA 7. Potencial Zeta das amostras sintetizadas

Amostra	Potencial Zeta (mV)
AuCit	-16,76 ± 1,15
AuGA55	-18,43 ± 0,9
AuGA70	- 15,94 ± 0,6

AuGA_1kGy	- 8,90 ± 1,3
AuGA_7,5 kGy	- 10,47 ± 0,68
AuGA_15 kGy	- 13,13 ± 1,13

8.4.6 Análise das AuNPs purificadas

Para esta etapa do trabalho foram realizadas purificações, utilizando o método de centrifugação das amostras recém preparadas a 7000 g durante 20 minutos, retirando o sobrenadante e lavando a amostra com água ultrafiltrada 4 vezes. As análises de Uv-Vis para as amostras recém purificadas e após um mês podem ser avaliadas por meio da FIG.23. Pode-se observar que após a purificação das amostras recém preparadas (FIG. 23(a)) os comprimentos de onda e as intensidades de absorbância das amostras analisadas mantiveram-se próximos aos valores obtidos das amostras sem a etapa de purificação. Após um mês da etapa de purificação (FIG. 23 (b)), observou-se que a amostra AuGA55 se manteve mais estável, enquanto que a amostra AuCit apresentou valor de comprimento de onda constante, mas valor de absorbância menor, indicando menor concentração de AuNPs na solução.. Todas as outras amostras analisadas apresentaram alterações nos valores de comprimento de onda, os quais aumentaram e nos valores de intensidade de absorbância que diminuíram. Esses resultados sugerem que as nanopartículas sofreram aglomerações na solução permanecendo no fundo do frasco e dessa forma não foram analisadas por UV-Vis.

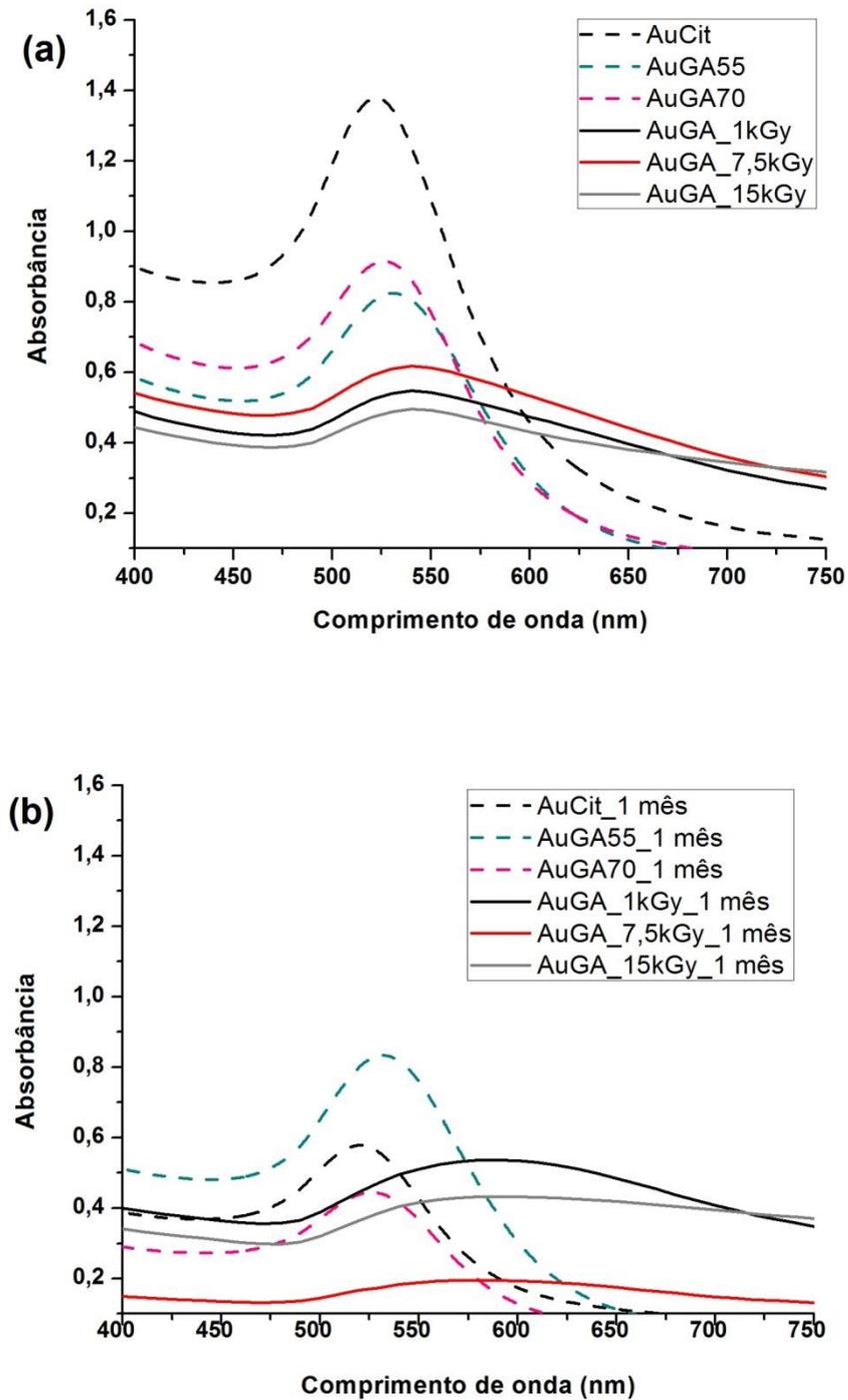


FIGURA 23. Espectros de UV-Vis das amostras purificadas. AuNPs recém preparadas (a) e após um mês (b).

As análises de tamanhos médios por DLS e de polidispersividade (PDI) foram avaliadas com as amostras recém purificadas e após o período de um mês e estão representadas na TAB 8. Pode-se observar que as amostras

apresentaram diâmetros médios superiores aos tamanhos médios das amostras que não foram purificadas. Isso se deve ao fato de que o excesso de citrato de sódio assim como de goma arábica foi retirado da solução promovendo maior aglomeração das nanopartículas e dessa forma originando valores maiores de DLS. Pode-se observar também que houve aumento nos valores de PDI ao longo de um mês para todas as amostras, o que indica maior polidispersão das nanopartículas. A amostra que foi sintetizada com citrato de sódio por aquecimento (AuCit) demonstrou maior estabilidade em relação ao seu tamanho quando comparada às amostras sintetizadas com goma arábica após a etapa de purificação.

TABELA 8. DLS e PDI das amostras purificadas

Amostra	DLS 1 (nm)	DLS 2 (nm)	PDI 1	PDI 2
AuCit	37,3 ± 0,6	39,5 ± 0,2	0,253	0,267
AuGA55	67 ± 0,2	71,5 ± 0,2	0,259	0,276
AuGA_1kGy	99,3 ± 0,2	103,1 ± 0,2	0,307	0,315
AuGA_7,5 kGy	67,4 ± 0,8	81,5 ± 0,2	0,321	0,328
AuGA_15 kGy	100,6 ± 0,2	113,3 ± 0,3	0,297	0,312

DLS 1 = DLS da amostra recém preparada; DLS 2 = DLS realizado após 1 mês;
PDI 1 = PDI da amostra recém preparada; PDI 2 = PDI realizado após 1 mês.

8.5 Microscopias Eletrônicas

8.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo (MEV-FEG)

Nas análises de microscopia eletrônica de varredura por Emissão de campo (MEV-FEG), das amostras reduzidas e estabilizadas com citrato de sódio e com goma arábica os tamanhos médios das nanopartículas foram determinados pelo programa *Lince* e os dados obtidos foram tratados em programa *OriginPro*, versão 8 para gerar os histogramas de distribuição de tamanho.

As amostras AuCit são demonstradas por meio da FIG. 24 em que é possível verificar que grande quantidade de nanopartículas com pouca dispersão com grupos aglomerados que apresentam distância interpartículas pequena (FIG. 24 (a)). A distribuição de tamanhos da amostra AuCit pode ser verificada por meio do histograma na FIG. 24 (d). Foi observado que os tamanhos das nanopartículas variaram de 3 a 80 nm e que os tamanho de maior frequência ocorreram entre 15 e 20 nm.

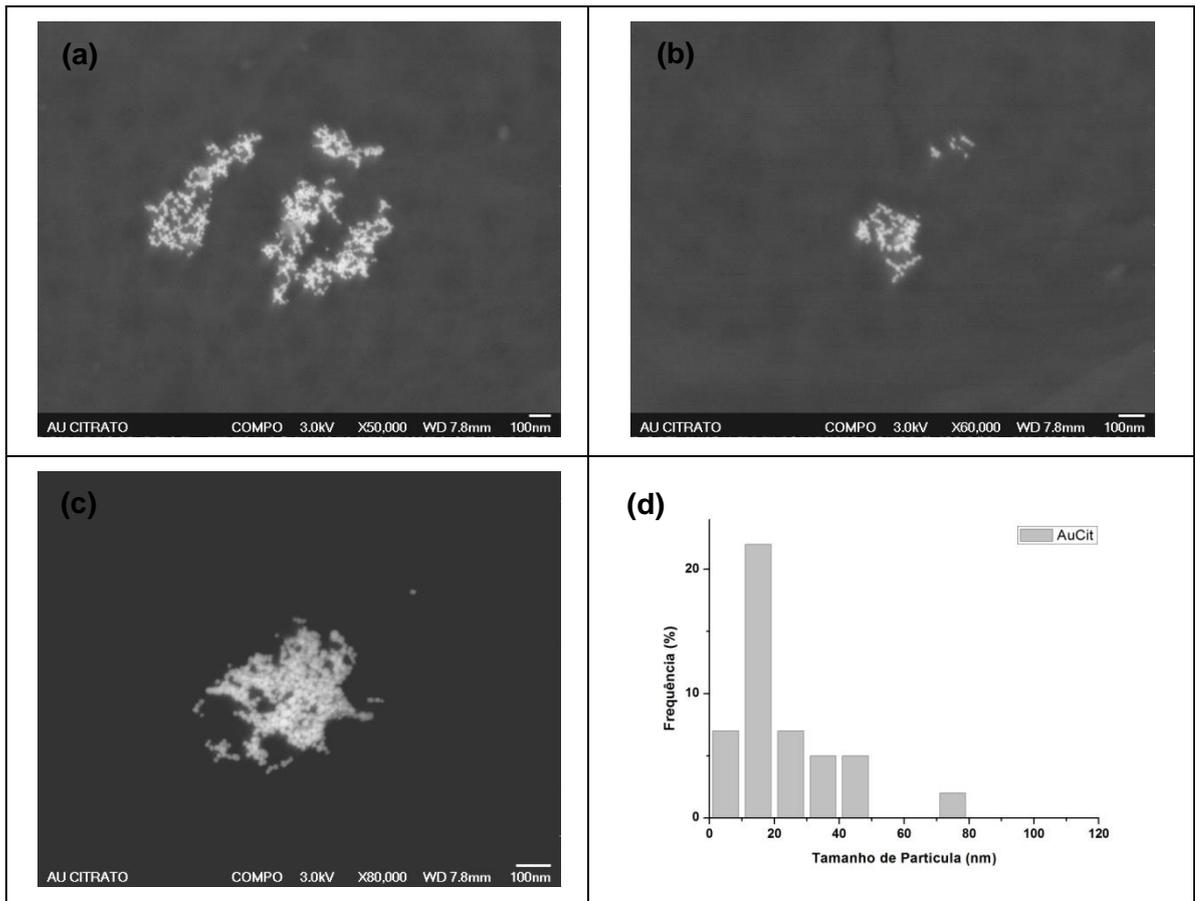


FIGURA 24. Análise por MEV-FEG da amostra AuCit (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).

As análises de MEV-FEG das amostras reduzidas e estabilizadas com goma arábica a temperatura de 55 °C (AuGA55) são demonstradas por meio da FIG. 25. É possível verificar que as amostras produziram quantidade significativa de nanopartículas dispersas com grande distância interpartículas e com poucos aglomerados. Por meio da FIG. 25 (a) é possível verificar presença de excesso de goma arábica em algumas áreas da matriz das AuNPs .

A distribuição de tamanhos da amostra AuGA55 pode ser verificada por meio do histograma na FIG. 25 (d). Foi observado que os tamanhos das nanopartículas variaram de 12 a 37 nm e que o tamanho de maior frequência ocorreu em 17 nm, mas também é possível observar outra grande população em 22 nm.

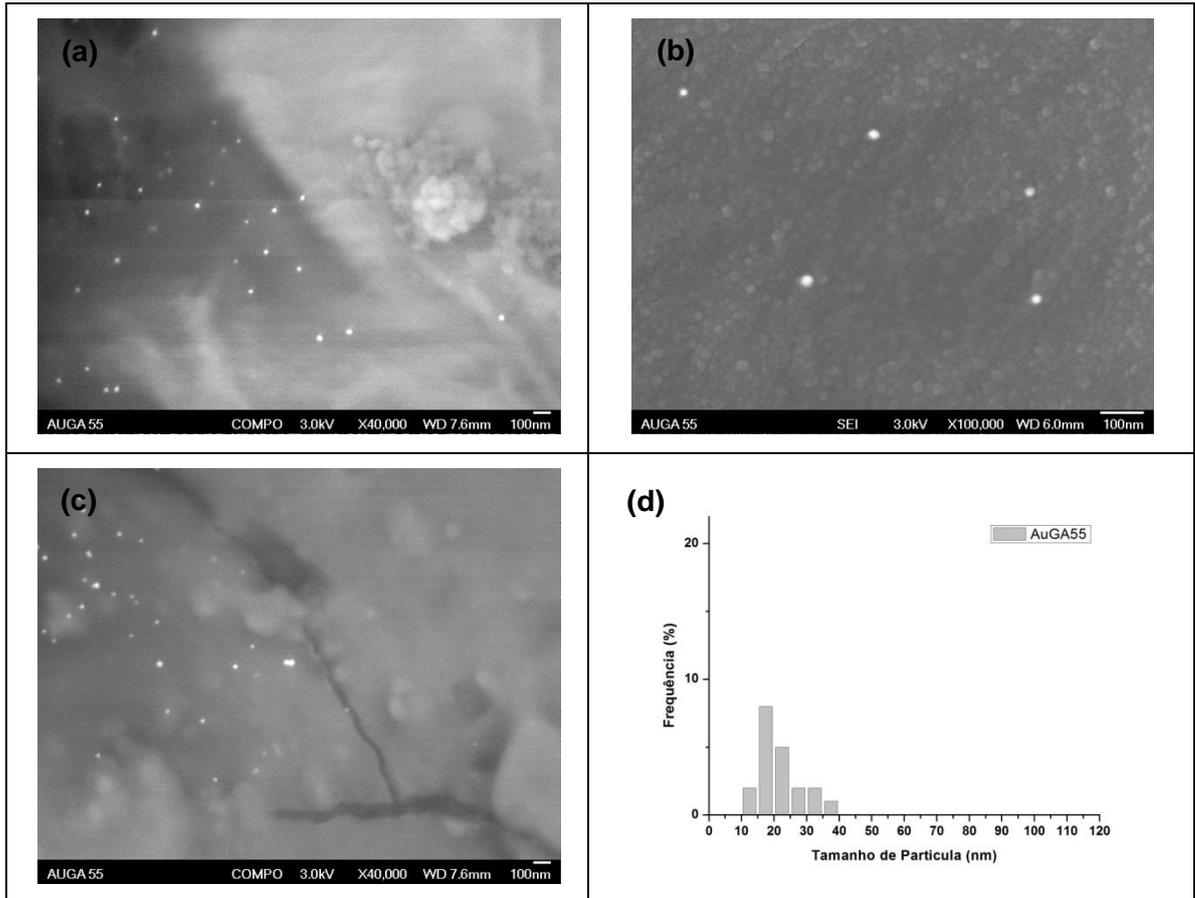


FIGURA 25. Análise por MEV-FEG da amostra AuGA55 (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).

Os resultados de MEV-FEG das amostras reduzidas e estabilizadas com goma arábica a temperatura de 70 °C (AuGA70) são demonstradas por meio da FIG. 26. É possível verificar que as amostras produziram grande quantidade de nanopartículas com morfologia circular e poucos aglomerados. As figuras sugerem possível presença de excesso de goma arábica ou de sujidade na solução das amostras (FIG. 26(b)).

A distribuição de tamanhos de partículas da amostra AuGA70 analisada pode ser verificada por meio do histograma na FIG. 26 (d). Foi observado que os tamanhos das nanopartículas variaram de 8 a 30 nm e que o tamanho predominante ocorre em 17 nm. Outras grandes populações de tamanhos podem ser observadas entre 13 e 15 nm. Ambas sínteses realizadas por aquecimento, demonstram tamanhos mais uniformes e regulares.

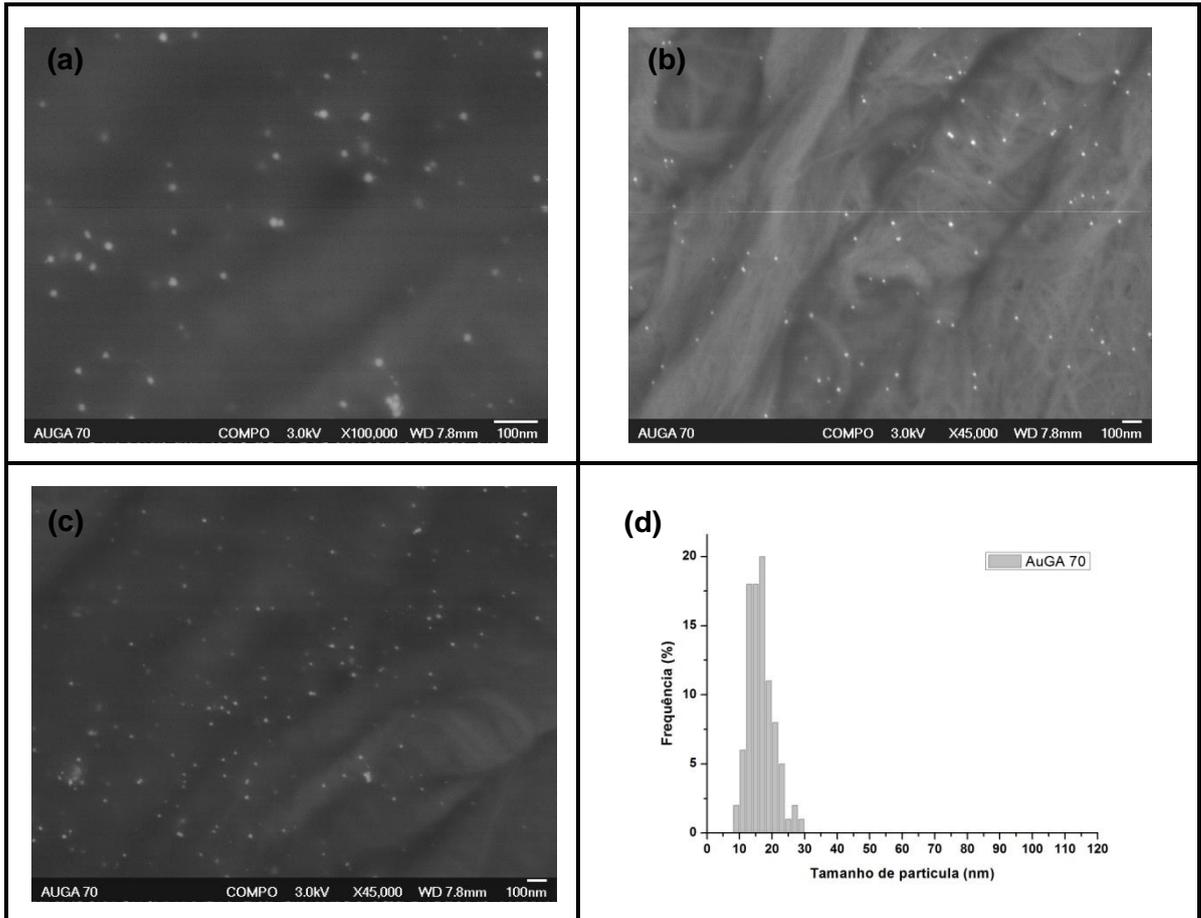


FIGURA 26. Análise por MEV-FEG da amostra AuGA70 (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).

As figuras de MEV-FEG das amostras sintetizadas com goma arábica por meio da irradiação de 1 kGy (AuGA_1kGy) são demonstradas na FIG. 27. É possível verificar que as amostras produziram pouca quantidade de nanopartículas (FIG. 27 (a)) com presença de aglomerados.

A distribuição de tamanhos de partículas da amostra AuGA_1kGy pode ser verificada por meio do histograma na FIG. 27 (d). Foi observado que os tamanhos das nanopartículas variaram de 25 a 65 nm e que os tamanhos de maior frequência ocorreram entre 30 e 50 nm.

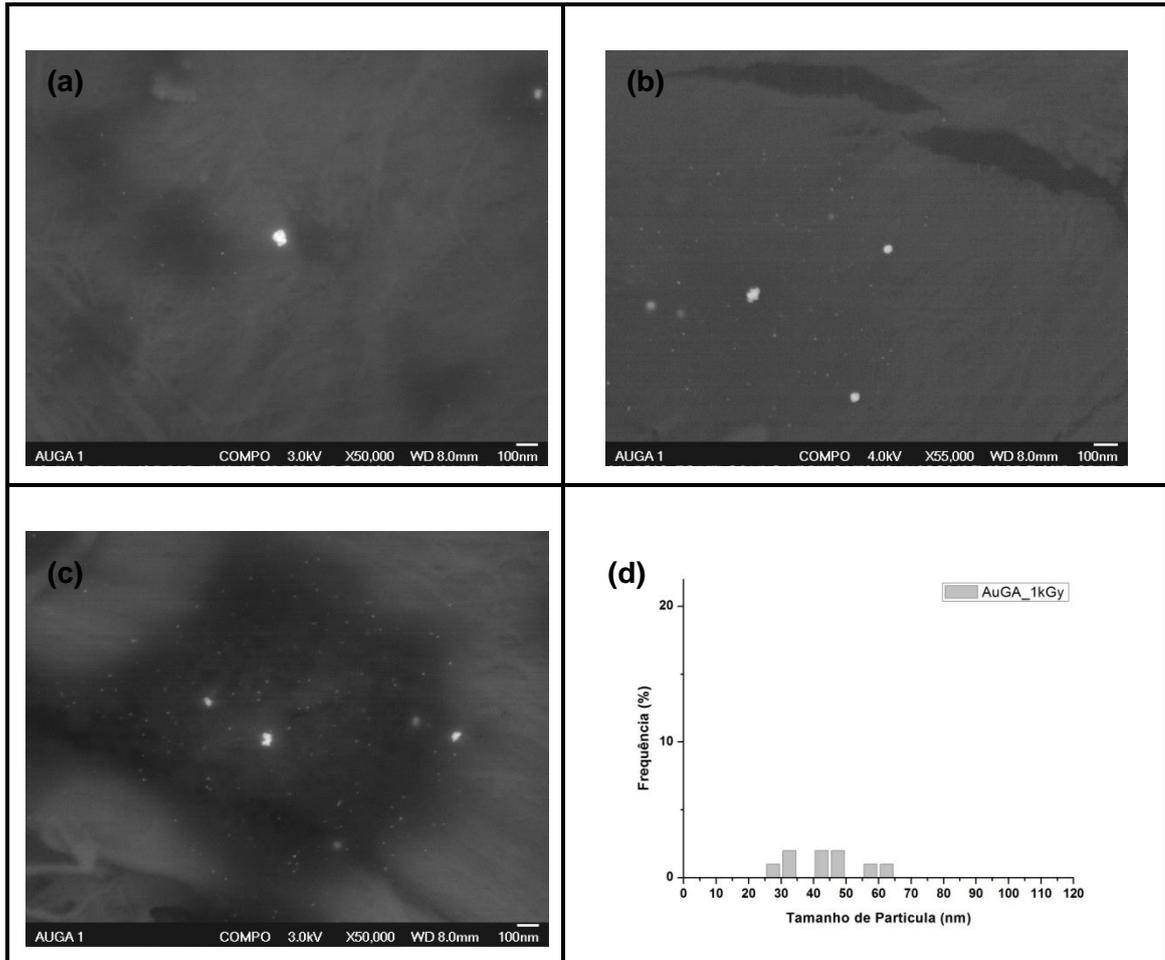


FIGURA 27. Análise por MEV-FEG da amostra AuGA_1kGy (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).

As imagens de MEV-FEG das amostras sintetizadas com goma arábica por meio da irradiação de 7,5 kGy (AuGA_7,5kGy) são mostradas na FIG. 28. É possível verificar que as amostras produziram elevada quantidade de nanopartículas (FIG. 28 (a)) de morfologia circular e com formação de aglomerados (FIG. 28 (b)).

A distribuição de tamanhos de partículas da amostra AuGA_7,5kGy, pode ser verificada por meio do histograma na FIG. 28 (d). Foi observado que os tamanhos das nanopartículas variaram de 3 a 110 nm e que o tamanho de maior frequência ocorreu em 55 nm. A elevada variação de tamanhos pode ser atribuída as aglomerações presentes na solução contendo as AuNPs.

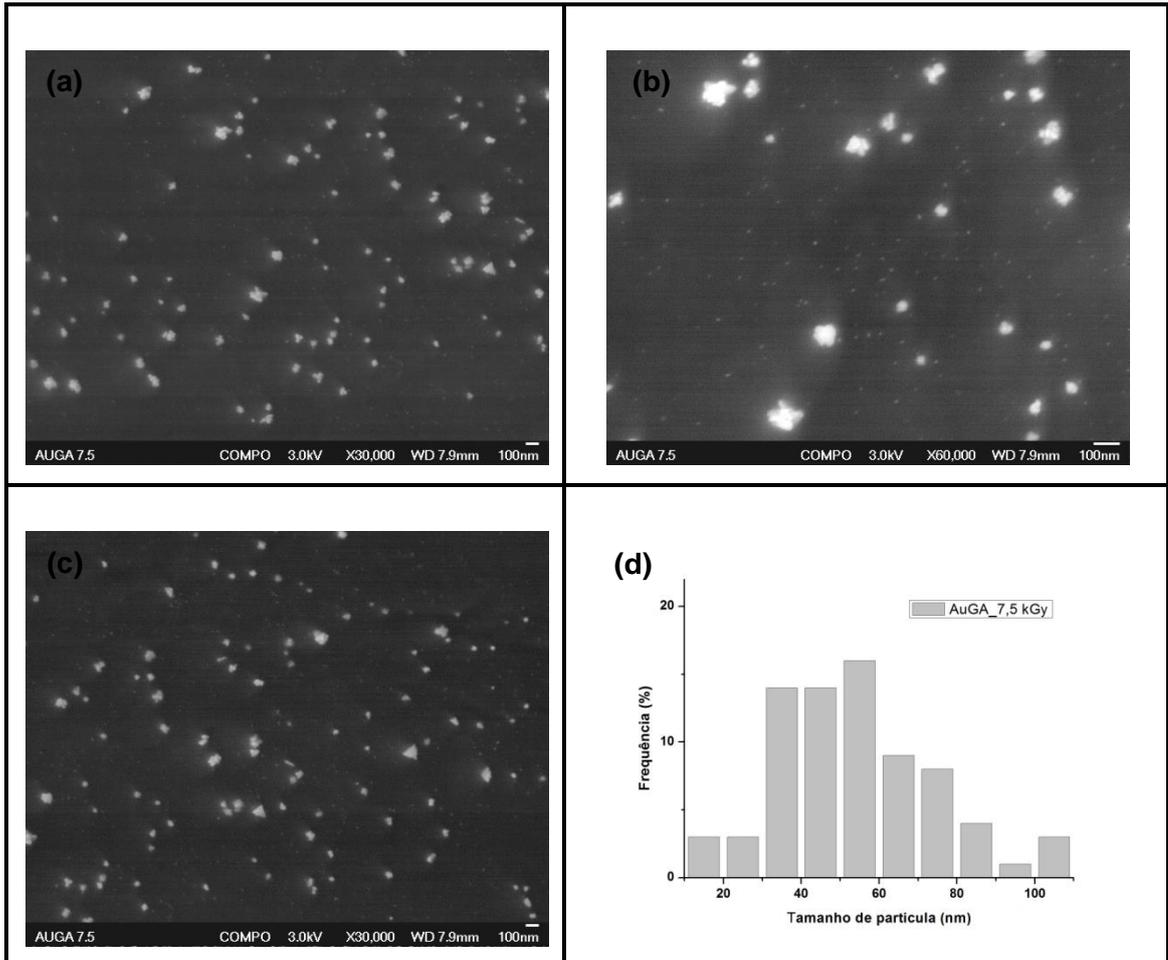


FIGURA 28. Análise por MEV-FEG da amostra AuGA_7,5 kGy (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).

As imagens de microscopia MEV-FEG das amostras sintetizadas com goma arábica por meio da irradiação a 15 kGy (AuGA_15 kGy) são mostradas na FIG. 29. É possível verificar que as amostras produziram grande quantidade de nanopartículas com morfologia circular e havendo formações de aglomerados (FIG. 29 (b)).

É possível verificar também, por meio do histograma (FIG. 29 (d)) que há elevada distribuição de tamanhos das nanopartículas que variaram de 8 a 109 nm e que os tamanhos de maior frequência ocorreram entre 8 e 15 nm.

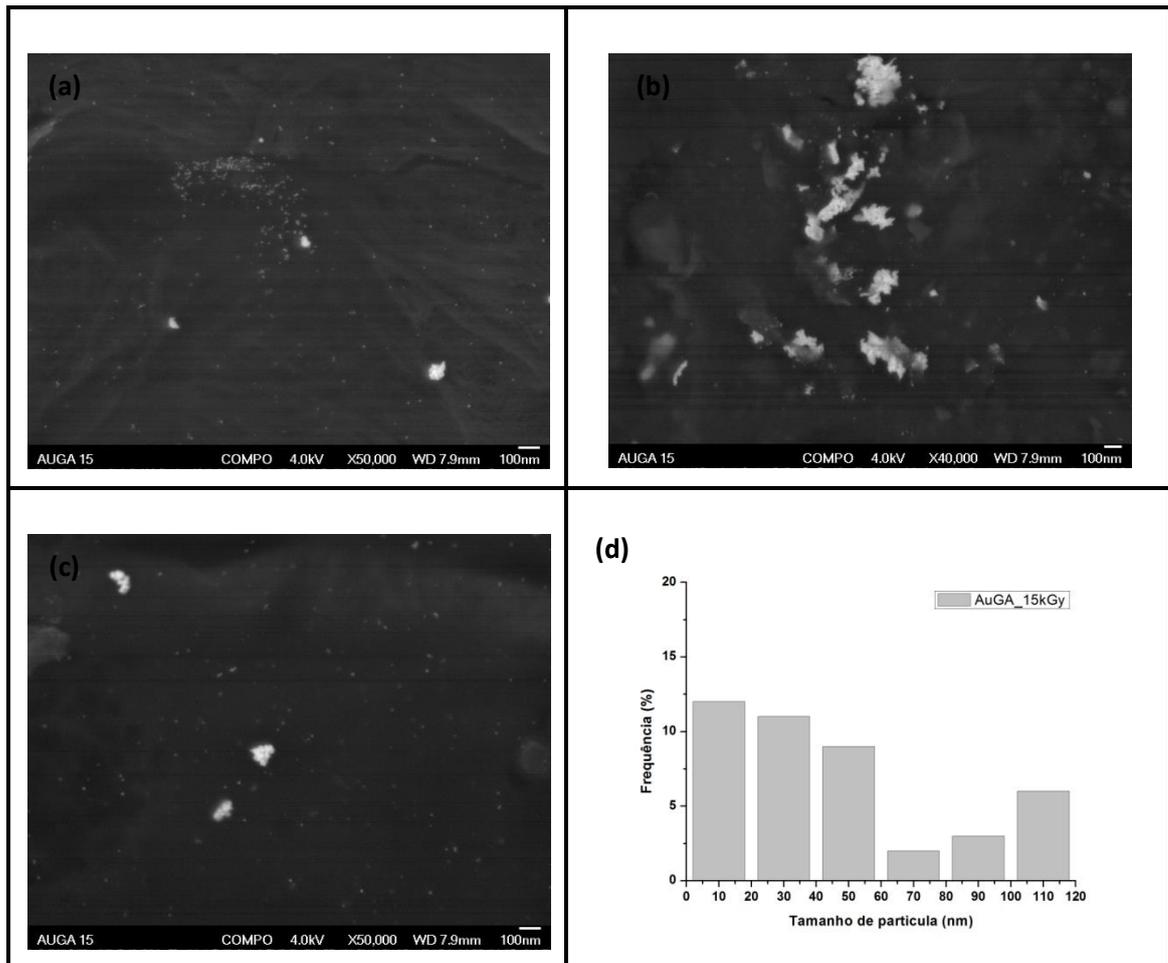


FIGURA 29. Análise por MEV-FEG da amostra AuGA_15 kGy (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).

8.5.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A técnica de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) foi utilizada para estudar mais detalhadamente a morfologia e o diâmetro das nanopartículas obtidas nas amostras sintetizadas.

A amostra AuCit apresentou nanopartículas com morfologia circular FIG. 30 com pequena distância interpartícula e aglomerados de aproximadamente 40 nm. A distribuição de tamanhos pode ser analisada por meio do histograma de distribuição de tamanhos (FIG. 30(d)) em que as nanopartículas variaram de 6 a 40 nm apresentando maior predominância entre 10 e 20 nm.

A análise por MET permitiu melhor verificação da forma da nanopartícula e apresentou resultado similar ao das análises de MEV-FEG demonstrando predominância de tamanho em 17 nm.

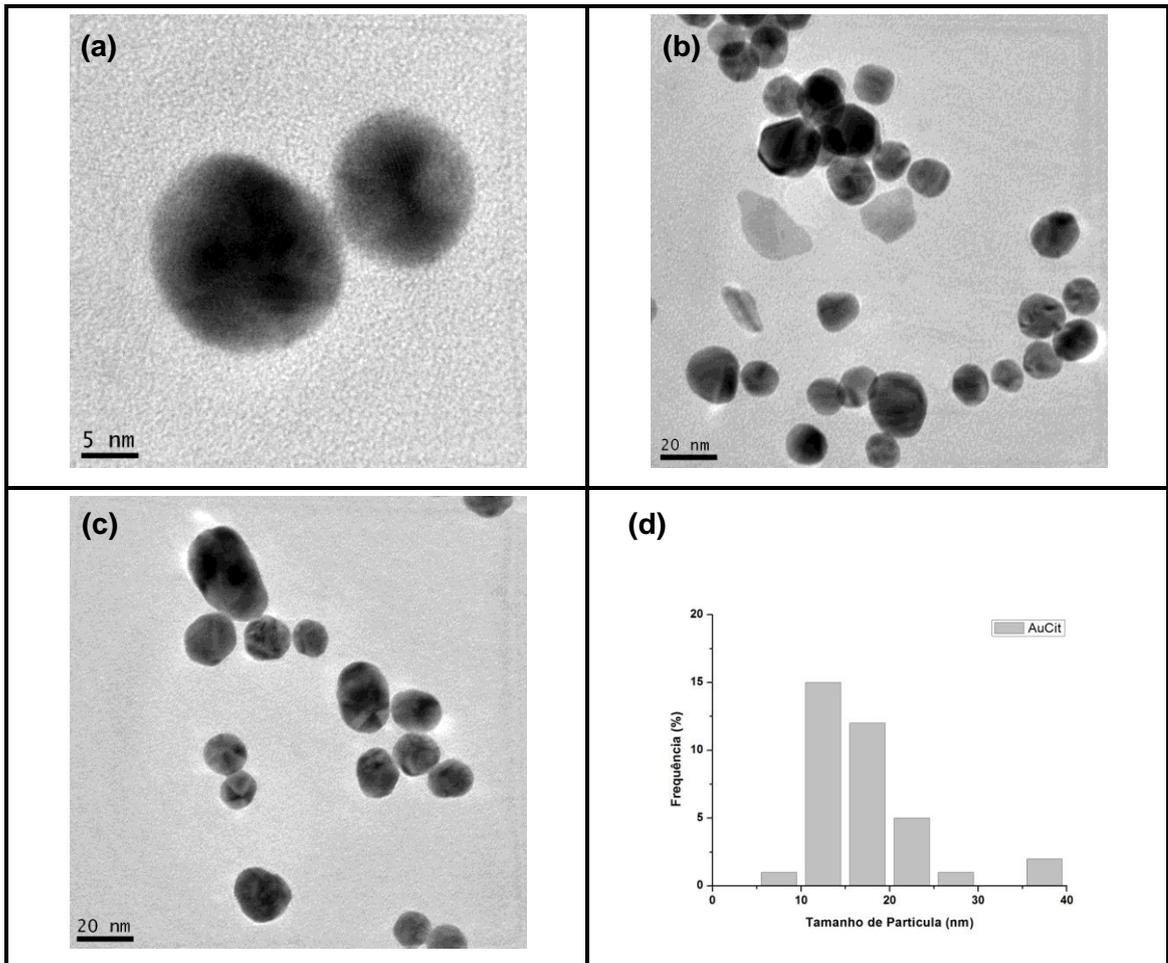


FIGURA 30. Análise por MET da amostra AuCit (a, b, c) e histograma de distribuição de tamanhos (d).

Por meio da FIG. 31 (a) é possível verificar que a amostra AuGA55 apresentou morfologia predominantemente circular mas a imagem sugere presença de outras morfologias como piramidal e alguns indícios da presença de AuNPs com morfologia octaédrica (FIG. 31 (c)) [93]. É possível verificar pouca distância interpartícula promovendo início de aglomerações (FIG. 31 (b)). A distribuição de tamanhos da amostra AuGA55 ocorre com variação de 7 a 30 nm com predominância em 17 nm como pode ser observado no histograma (FIG. 31 (d)). Por meio da análise de MEV-FEG na FIG. 25(d) foi possível confirmar maiores frequências de tamanhos em 17 e 22 nm complementando assim os resultados realizados por MET.

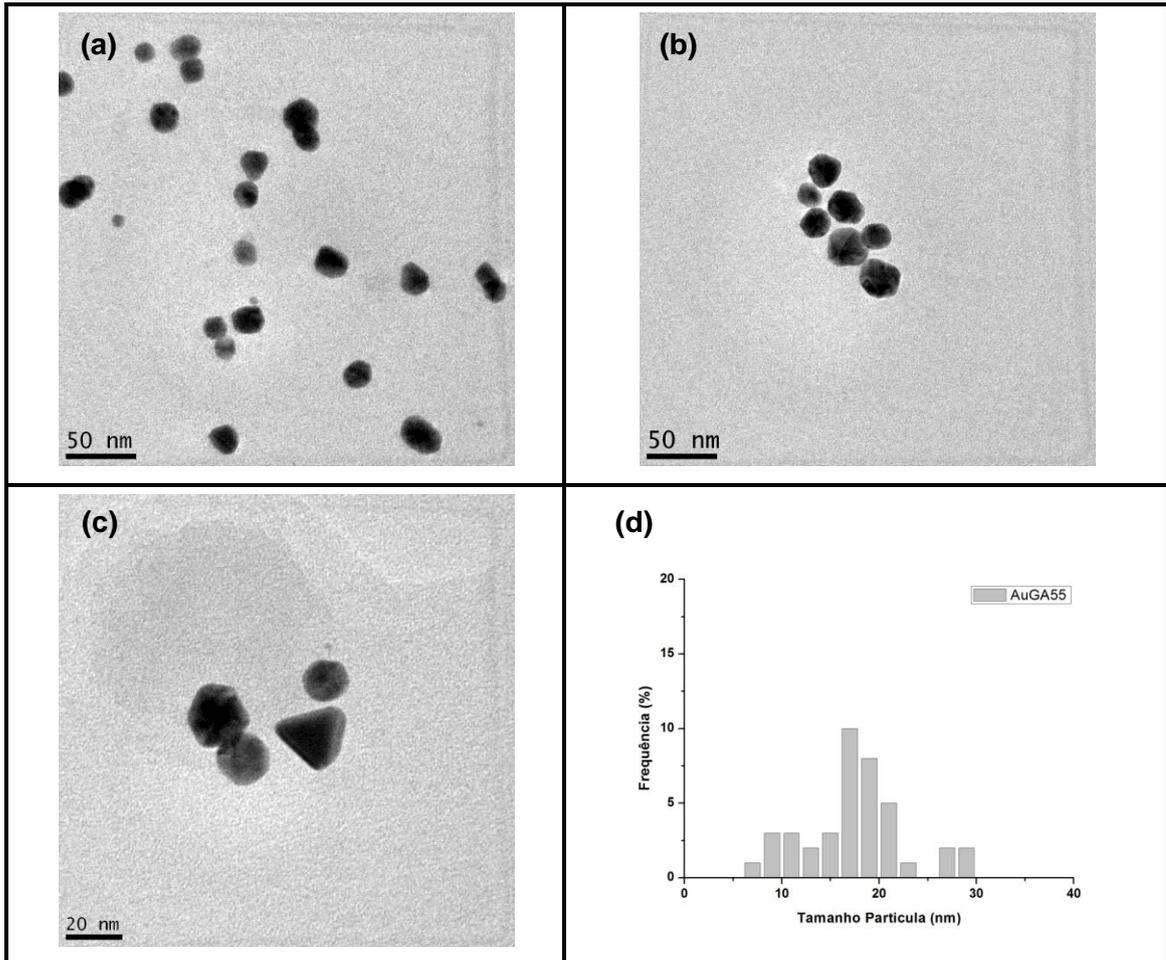


FIGURA 31. Imagens de MET da amostra AuGA55 (a, b, c) e histograma da distribuição de tamanhos (d).

A amostra AuGA70 apresentou morfologia predominantemente circular com AuNPs dispersas na maior parte da amostra (FIG. 32 (a)) e início de aglomerações em algumas áreas como pode ser verificado na FIG. 32 (b) e na FIG. 32 (c). A distribuição de tamanhos de partículas da amostra AuGA70 ocorreu com variação de 2 a 22 nm com predominância em 9 nm como pode ser observado no histograma (FIG. 32 (d)).

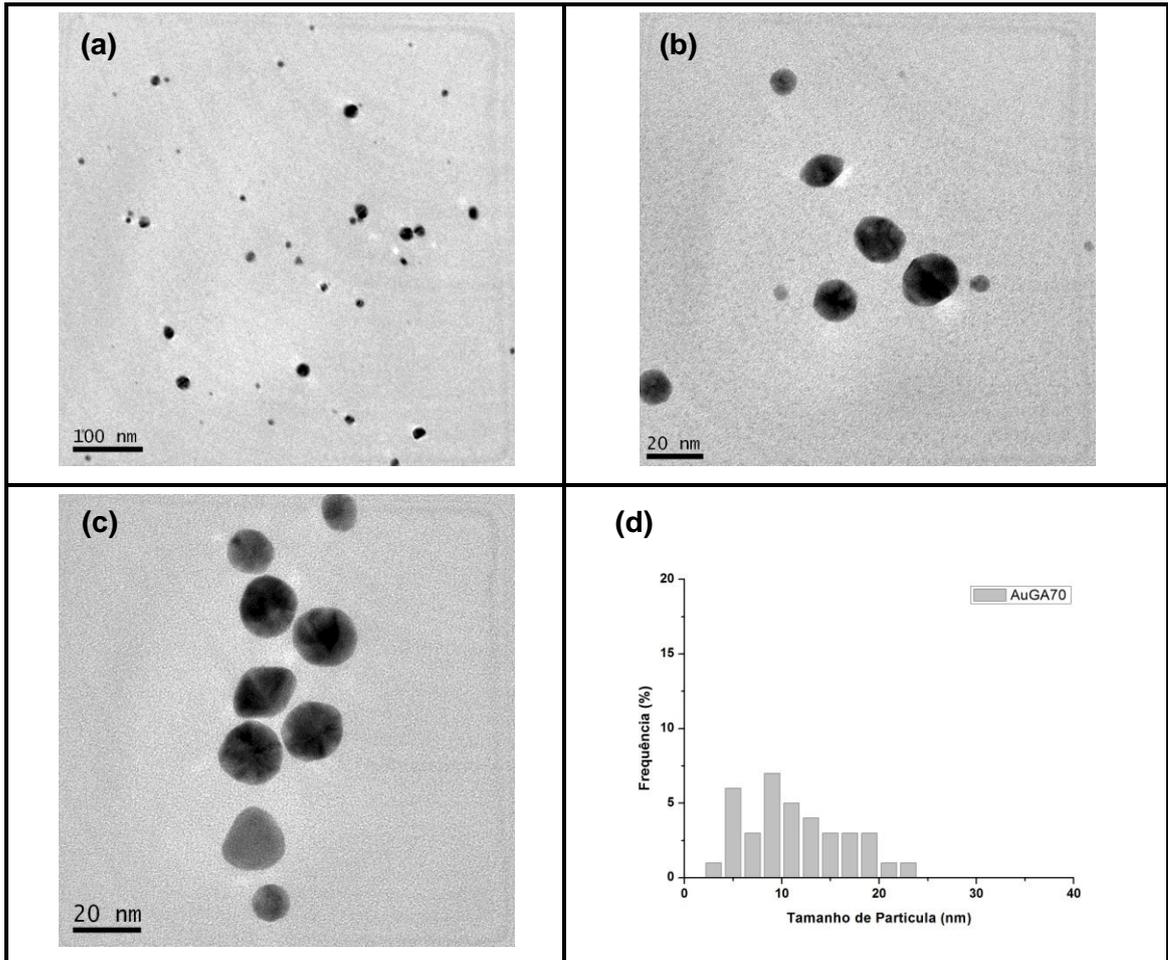


FIGURA 32. Imagens de MET da amostra AuGA70 (a, b, c) e histograma da distribuição de tamanhos (d).

A amostra AuGA_1kGy apresentou morfologia predominantemente circular com AuNPs dispersas na maior parte da amostra (FIG. 33 (c)) e indícios de aglomerações entre partículas em algumas áreas como pode ser verificado na FIG. 33 (a,b). A distribuição de tamanhos da amostra AuGA_1kGy ocorreu com variações entre 2 e 9 nm com predominância em 4 nm como pode ser observado no histograma (FIG. 33 (d)).

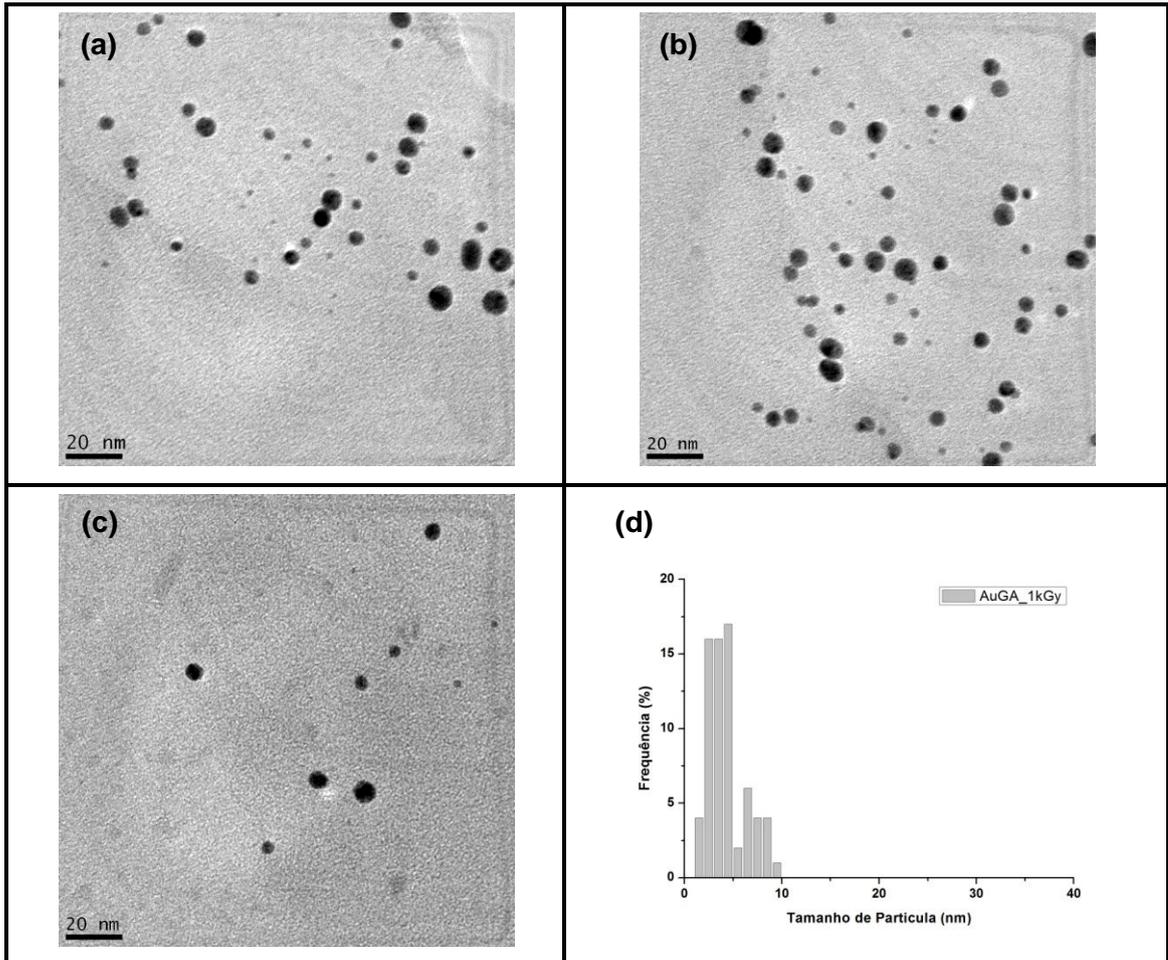


FIGURA 33. Imagens de MET da amostra AuGA_1kGy (a, b, c) e histograma da distribuição de tamanhos (d).

A amostra AuGA_7,5 kGy apresentou morfologia predominantemente circular com AuNPs dispersas na maior parte da amostra (FIG. 34 (b)) sem indícios de aglomerações e com curta distância interpartícula como pode ser verificado mais detalhadamente na FIG. 34 (c). A distribuição de tamanhos da amostra AuGA_7,5kGy ocorreu com variação entre 2 e 13 nm com maior frequência em 9 nm como pode ser observado no histograma (FIG. 34 (d)).

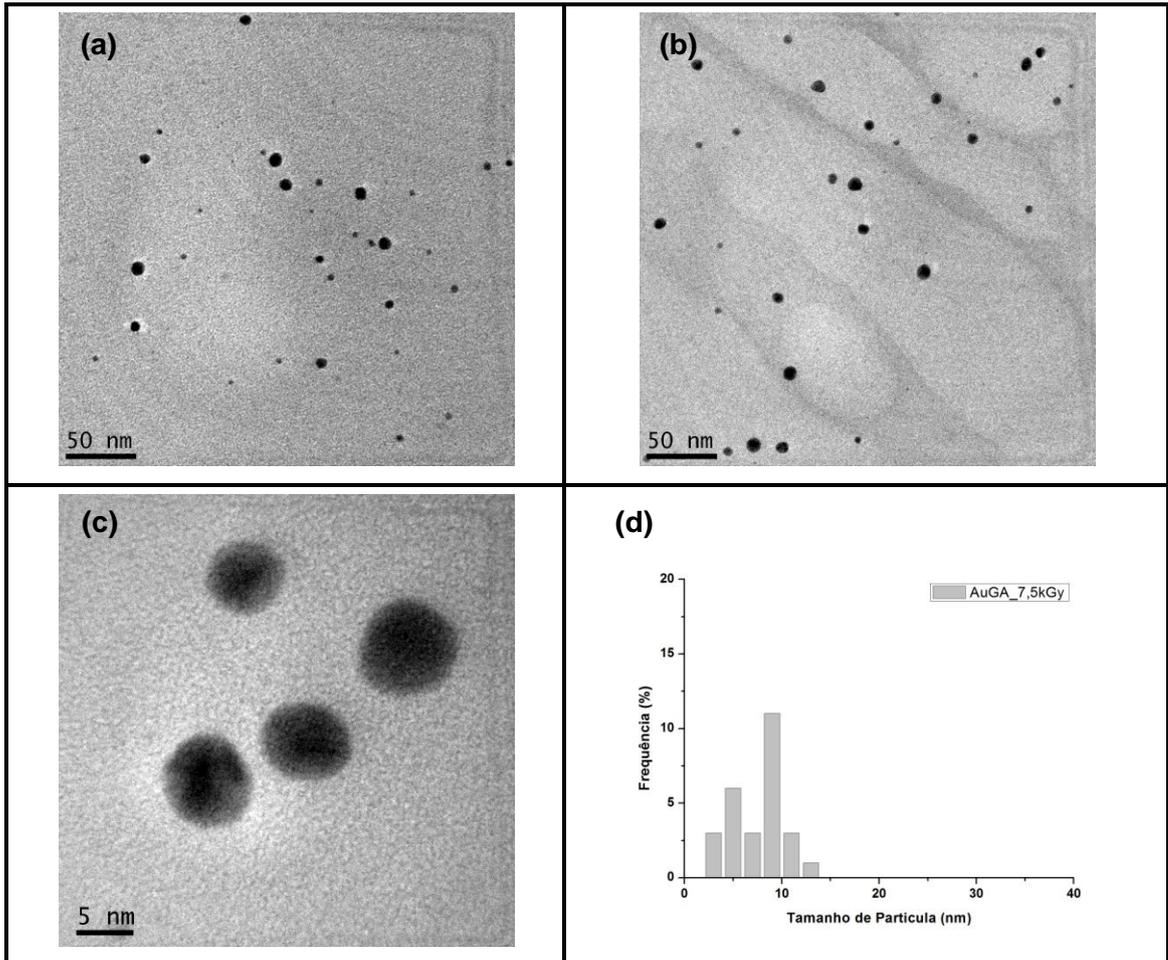


FIGURA 34. . Imagens de MET da amostra AuGA_7,5kGy (a, b, c) e histograma da distribuição de tamanhos (d).

A amostra AuGA_15 kGy apresentou morfologia circular com indícios de aglomerações formando partículas maiores como pode ser observado na FIG. 33 (a,b) e curta distância interpartículas (FIG. 35 (c)). A distribuição de tamanhos da amostra AuGA_15kGy ocorreu com variação de tamanhos entre de 2 a 27 nm com predominância em 7 nm como pode ser observado no histograma (FIG. 35 (d)).

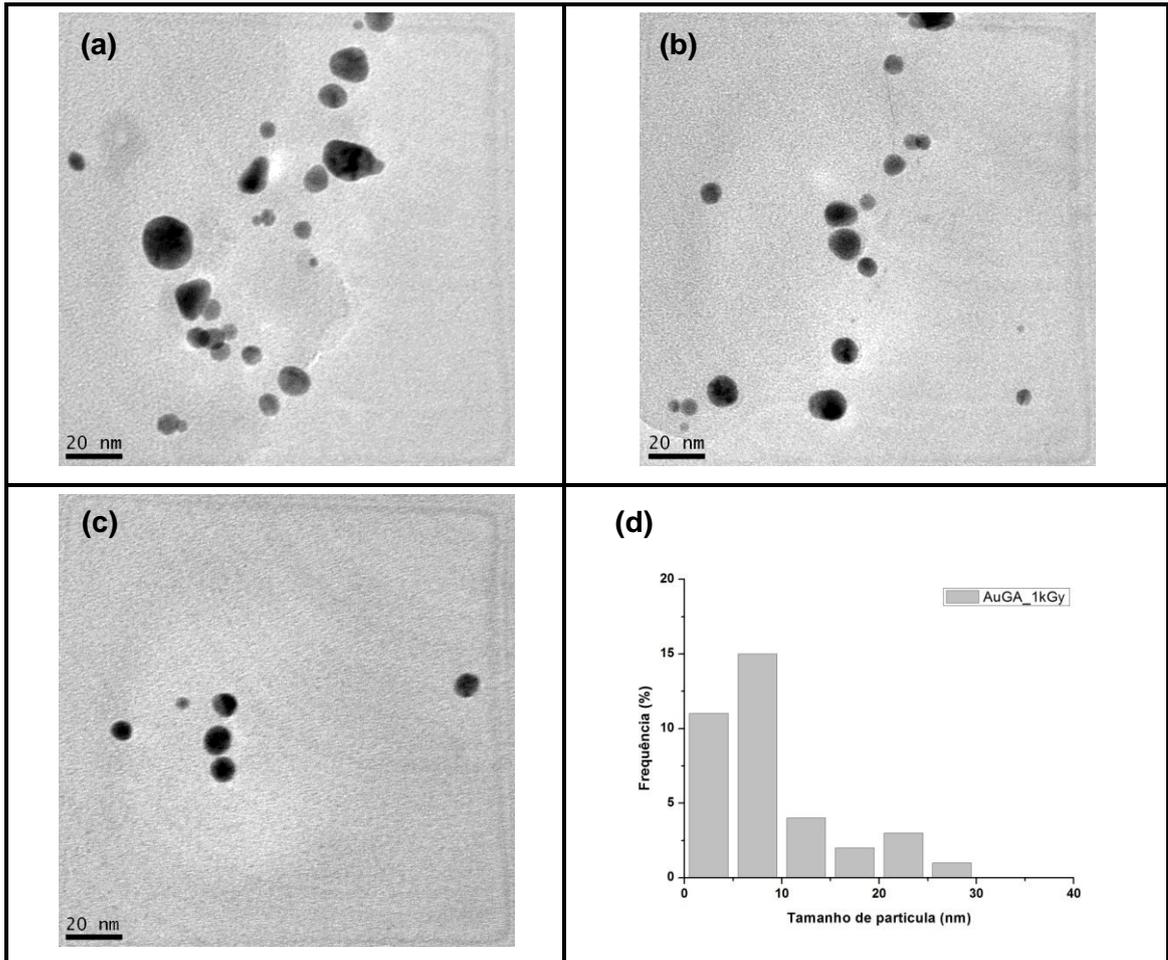


FIGURA 35. Imagens de MET da amostra AuGA_15kGy (a, b, c) e histograma da distribuição de tamanhos (d).

As imagens obtidas por microscopias (FEG e MET) apresentam tamanhos médios de partículas inferiores aos valores dos tamanhos médios obtidos por DLS. A técnica de espalhamento de luz fornece valores referentes aos tamanhos das partículas em suspensão, desse modo quando há aglomeração de partículas a leitura em DLS é referente ao tamanho total que foi agregado. As análises realizadas por microscopia promovem o reconhecimento dos tamanhos individuais de cada nanopartícula.

As diferenças obtidas entre os tamanhos verificados por meio de MET e FEG quando comparados aos tamanhos obtidos por DLS pode implicar no revestimento por parte da GA nas AUNPS formadas e essa diferença de tamanhos de da pela leitura da GA [37]. Katti et al cita como exemplo q o TEM dele deu 15-20 nm e seu DLS deu tem 75% das suas partículas com 27.6 nm

então a cobertura realizada pela goma arábica ocupa aproximadamente 15 nm em torno da sua AuNP. Por isso dessa diferença de tamanhos

9 CONCLUSÃO

As sínteses de nanopartículas de ouro com citrato de sódio ou goma arábica utilizando radiação ou por meio térmico são efetivas e mostraram estabilidade aceitável para aplicações biotecnológicas e cosméticas no período de tempo analisado.

A síntese realizada com aquecimento demonstrou que o citrato de sódio produziu nanopartículas menores e mais estáveis, quando comparadas com a goma arábica observando os resultados de DLS, MEV-FEG e MET. Quando observados os resultados por Uv-Visível nota-se que as AuNPs sintetizadas com GA mostram-se mais estáveis, uma vez que as nanopartículas sintetizadas com citrato demonstraram grande variação na intensidade de absorbância.

Foi observado que utilizando temperatura de 55 °C e 70 °C é possível sintetizar nanopartículas com tamanhos semelhantes e estáveis no período estudado.

O uso da radiação gama demonstrou maior estabilidade quando aplicada na síntese com goma arábica, uma vez que as nanopartículas sintetizadas com citrato de sódio e irradiadas apresentaram precipitado após um mês e não puderam ser analisadas por parte do equipamento de DLS. Observou-se que as amostras sintetizadas com goma arábica que receberam doses de irradiação com 7,5 kGy produziram nanopartículas menores e com maior estabilidade no período de três meses.

Os valores moderados de PDI apresentados juntamente com a variação de tamanhos observada entre as análises de DLS e microscopias eletrônicas sugerem que houve encapsulamento das AuNPs pela goma arábica, uma vez que os diâmetros médios apresentados por MEV-FEG e MET são menores que os tamanhos hidrodinâmicos obtidos por DLS.

Após o processo de purificação das amostras foi observada diminuição da intensidade de absorbância, aumento do PDI e do diâmetro verificado por DLS, o que sugere que após as centrifugações foi retirado o excesso de agente

estabilizante resultando em maior aglomeração de partículas e dessa forma promovendo alteração no diâmetro médio.

A goma arábica por ser biocompatível e por fornecer síntese de nanopartículas com tamanhos relativamente pequenos, considerando a escala nanométrica, poderia ser empregada em sistemas de “*drug delivery*” ou em cosméticos já que o presente estudo demonstrou que sofre pouca variação com alta estabilidade ao longo do tempo. Os resultados da análise de potencial zeta demonstraram que as AuNPs produzidas com goma arábica com aquecimento a 55 °C apresentaram resultados com valores mais negativos indicando que são mais estáveis podendo ser consideradas uma excelente fonte de AuNPs estáveis para fins cosméticos.

10 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- a) Análise de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) para analisar os grupos funcionais presentes nas AuNPs formadas e possíveis alterações ocorridas nos agentes redutores após irradiação;
- b) Ensaios de citotoxicidade para avaliar biocompatibilidade das AuNPs;
- c) Análise de difração de raios X para verificar os planos referentes a estrutura geométrica das AuNPs formadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NATH, D.; BANERJEE, P. Green nanotechnology – A new hope for medical biology. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v. 36, p. 997–1014, 2013.
2. OKUYAMA, K.; LENGGORO, W. Nanoparticle Preparation and Its Application - A Nanotechnology Particle Project in Japan. In: **International Conference on MEMS, NANO and Smart Systems. Banff, AB, Canada: IEEE.**, p. 369 - 372, 2004.
3. LOURO, H.; BORGES, T.; SILVA, M. J. Nanomateriais manufacturados: novos desafios para a saúde pública. **Rev. Port. de Saúde Pública**, v. 31, n. 2, p. 145-147, 2013.
4. RIBEIRO, C. J. **Cosmetologia Aplicada a Dermatologia**. 1. ed. São Paulo: Pharmabooks, v. 1, 2006.
5. KATZ, L. M.; DEWAN, K.; BRONAUGH, R. L. Nanotechnology in cosmetics. **Food Chem. Toxicol.**, v. 85, p. 127–137, 2015..
6. NEVES, K. Nanotecnologia em cosméticos. **Cosmetics Toiletries**, v. 20, p. 22, 2008.
7. DAMASCENO, J. C.; RIBEIRO, A. R.; BALOTTIN, L. B.; GRANJEIRO, J. M. Nanometrology - challenges for health regulation. **Vigil. Sanit. Debate**, v. 1, n. 4, p. 100-109, 2013.
8. KUMAR, C. S. S. R.; MOHAMMAD, F. Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 63, p. 789-808, 2011.
9. BARROS, H. R.; CARDOSO, M. B.; OLIVEIRA, C. C.; FRANCO, C. R. C.; BELAN, D. L.; VIDOTTI, M.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C. Stability of gum arabic-gold nanoparticles in physiological simulated pHs and their selective effect on cell lines. **RSC Adv.**, v. 6, p. 9411–9420, 2016.
10. TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discuss Faraday Soc.**, v. 11, p. 55-75, 1951.
11. FRENS, G. Particle size and sol stability in metal colloids. **Kolloid-Z. u. Z. Polymere**, v. 250, p. 736-741, 1972.

- 12 DJAJADISASTRA, J.; SUTRIYO; PURNAMASARI, P.; PUJIYANTO, A.
. Antioxidant activity of gold nanoparticles using gum arabic as a stabilizing agent. **J. Pharm. Pharm.I Sci.**, v. 6, p. 462-465, 2014.
- 13 NUNE, S. K.; CHANDA, R.; SHUKLA, R.; KATTI, K.; KULKARNI, R. R.;
. THILAKAVATHY, S.; MEKAPOYHULA, S.; KANNAN, R.; KATTI, K. V. Green nanotechnology from tea: phytochemicals in tea as building blocks for production of biocompatible gold nanoparticles. **J. Mater. Chem**, v. 19, p. 2912-2920, 2009.
- 14 SHUKLA, R.; NUNE, S. K.; CHANDA, N.; KATTI, K.; MEKAPOTHULA, S.;
. KULKARNI, R. R.; WELSHONS, W. V.; KANNAN, R.; KATTI, K. V. Soybeans as a Phytochemical Reservoir for the Production and Stabilization of Biocompatible Gold Nanoparticles. **Small**, v. 4, p. 1425-1436, 2008.
- 15 MITTAL, A. K.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Synthesis of metallic
. nanoparticles using plant extracts. **Biotechnol. Adv.**, v. 31, n. 2, p. 346-356, 2013.
- 16 CHANDA, N.; KAN, P.; WATKINSON, L. D.; SHUKLA, R.; ZAMBRE, A.;
. CARMACK, T. L.; ENGELBRECHT, H.; LEVER, J. R.; KATTI, K.; FENT, G. M.; CASTELL, S. W.; SMITH, C. J.; MILLER, W. H.; JURISSON, S.; BOOTE, E.; ROBERTSON, J. D.; CUTLER, C.; DOBROVOLSKAIA, M.; KA. Radioactive gold nanoparticles in cancer therapy: therapeutic efficacy studies of GA-198AuNP nanoconstruct in prostate tumor-bearing mice. **Nanomedicine: NBM**, v. 6, p. 201-209, 2010.
- 17 JUNQUEIRA, J. S. S.; SILVA, P. P.; GUERRA, W. Ouro. **Quim. Nova**, v. 34, p. 45-46, 2012.
- 18 BRODY, H. Gold. **Nature**, v. 495, p. S1, 2013.
- 19 EUSTIS, S.; EL-SAYED, M. A. Why gold nanoparticles are more precious than
. pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **Chem. Soc. Rev.**, v. 35, p. 209-217, 2006.
- 20 KHAN, M. S.; VISHAKANTE, G. D.; SIDDARAMAIAH, H. Gold nanoparticles: A
. paradigm shift in biomedical applications. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 199-200, p. 44-58, 2013.
- 21 BHATTACHARYYA, S; KUDGUS, R. A.; BHATTACHARYYA, R.;
. MUKHERJEE, P. Inorganic nanoparticles in cancer therapy. **Pharm. Res.**, v. 28, p. 237-239, 2011.
- 22 VO, N. K. D.; GUILLON, E.; DUPONT, L.; KOWAND, C.; COQUERET, X.
. Influence of Au(III) Interactions with Chitosan on Gold Nanoparticle Formation. **J. Phys. Chem.**, v. 118, n. 8, p. 4465 - 4474, 2014.

- 23 JAIN, P. K.; EL-SAYED, M. A. Au nanoparticles target cancer. **Nano Today**, v. 2, p. 18-29, 2007.
- 24 CARVALHO, R. M.; RATH, S.; KUBOTA, L. T. SPR - uma nova ferramenta para biossensores. **Quim. Nova**, v. 26, p. 97-104, 2003.
- 25 SIERRA-RODERO, M.; FERNÁNDEZ-ROMERO, J. M.; GÓMEZ-HENS, A. Photometric determination of thioglycolic acid in cosmetics by using a stopped-flow reverse flow-injection system and the formation of gold nanoparticles. **Microchem. J.**, v. 97, p. 243-248, 2011.
- 26 SONAVANE, G.; TOMODA, K.; SANO, A.; OHSHIMA, H.; TERADA, H.; MAKINO, K. In vitro permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: Effect of particle size. **Colloids Surf., B**, v. 65, p. 1-10, 2008.
- 27 SPERLING, R.A.; GIL, P.R.; ZHANG, F.; ZANELLA, M.; PARAK, W.J. Biological applications of gold nanoparticles. **Chem. Soc. Rev.**, v. 37, p. 1896-1908, 2008.
- 28 OLIVEIRA, J.P.; BARBOSA, L.S.; PRADO, A.R.; PONTES, M.J.; RIBEIRO, M.R.N; NOGUEIRA, B.V.; GUIMARÃES, M.C.C. Síntese e caracterização de nanopartículas de ouro por técnicas de microscopia e tomografia eletrônica. **Anais do V Encontro Científico de Física Aplicada [= Blucher Physics Proceedings, n.1, v.1]**, São Paulo, 1, n. 1, 2014. 25-26. Disponível em: <<http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/sntese-e-caracterizao-de-nanopartculas-de-ouro-por-tnicas-de-microscopia-e-tomografia-eletrnica-10986>>. Acesso em: 26 jul. 2015.
- 29 VO, K. D. N.; KOWANDY, C.; DUPONT, L.; COQUERET, X.; HIEN, N. Q. Radiation synthesis of chitosan stabilized gold nanoparticles comparison between e- beam and gamma irradiation. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 94, p. 84-87, 2014.
- 30 ABEDINI, A.; DAUD, A.R.; HAMID, M.A.A.; OTHMAN, N.K.; SAION, E. A review on radiation-induced nucleation and growth of colloidal metallic nanoparticles. **Nanoscale Res. Lett.**, v. 8, p. 474-484, 2013.
- 31 BUCHALLA, R.; SCHÜTTLER, C.; BÖGL, K. W. Effects of Ionizing Radiation on Plastic Food Packaging Materials: A Review. **J. Food Prot.**, v. 56, p. 991-997, 1993.
- 32 DUY, N.N.; DU, D.X.; PHU, D.V.; QUOC, L.A.; DU, B.D.; HIEN, N.Q. Synthesis of gold nanoparticles with seed enlargement size by gamma-irradiation and investigation of antioxidant activity. **Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 436, p. 633-638, 2013.
- 33 INCA. Tipos de câncer. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da

- . Silva, 2016. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/prostata/definicao+>>. Acesso em: 09 Fev. 2016.
- 34 JIANG, W.; KIM, B. Y. S.; RUTKA, J. T.; CHAN, W. C. W. Nanoparticle-mediated cellular response is size-dependent. **Nat. Nanotechnol.**, v. 3, p. 145-150, 2008.
- 35 KANNAN, R; RAHING, V.; CUTLER, C.; PANDRAPRAGADA, R.; KATTI, K. K.; KATTUMURI, V.; ROBERTSON, J. D; CASTEEL, S. J.; JURISSON, S.; SMITH, C.; BOOTE, E.; KATTI, K. V. Nanocompatible chemistry toward fabrication of target-specific gold nanoparticles. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 128, p. 11342-11343, 2006.
- 36 ASHAMALLA, H.; RAFLA, S.; ZAKI, B.; IKORO NNAEMEKA, C.; ROSS, P. Radioactive gold grain implants in recurrent and locally advanced head-and-neck cancers. **Brachytherapy**, v. 1, p. 161–166, 2002.
- 37 KATTUMURI, V.; KATTI, K.; BHASKARAN, S.; BOOTE, E. J.; CASTEEL, S. W.; FENT, G. M.; ROBERTSON, D. J.; CHANDRASEKHAR, M.; KANNAN, R.; KATTI, K. V. Gum Arabic as a Phytochemical Construct for the Stabilization of Gold Nanoparticles: In Vivo Pharmacokinetics and X-ray-Contrast-Imaging Studies. **Small**, v. 2, p. 333-341, 2007.
- 38 HAINFELD, J. F.; SLATKIN, D. N.; SMILOWITZ, H. M. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice. **Phys. Med. Biol.**, v. 49, p. 309-315, 2004.
- 39 ROCO, M. C. Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. **Curr. Opin. Biotechnol.** , v. 14, p. 337-346, 2003.
- 40 VENDITTI, I.; HASSANEIN, T. F.; FRATODDI, I.; FONTANA, L.; BATTOCHIO, C.; RINALDI, F.; CARAFA, M.; MARIANECCI, C.; DIOCIAIUTI, M.; AGOSTINELLI, E.; CAMETI, C.; RUSSO, M. V. Bioconjugation of gold-polymer core-shell nanoparticles with bovine serum amineo xidase for biomedical applications. **Colloids Surf., B: Biointerfaces**, v. 134, p. 314-321, 2015.
- 41 UCKAYA, M.; UCKAYA, F.; DEMIR, N.; DEMIR, Y. Evaluation of the efficiency and safety in cosmetic products. **Int. J. Pharm.** , v. 499, p. 295-300, 2016.
- 42 TAUFIKUROHMAH, T.; SANJAYA, I. G. M.; BAKTIR, A.; SYAHRANI, A. TEM Analysis of Gold Nanoparticles Synthesis in Glycerin: Novel Safety Materials in Cosmetics to Recovery Mercury Damage. **Res. J. Pharm. Biol. Chem.**, v. 5, n. 1, p. 397-407, 2014. ISSN ISSN: 0975-8585.
- 43 LAM, A. T. N.; GANBOLD, Erdene-O.; CHO, Kwang-H.; KANG, D.; JOO, Sang-W. Raman spectroscopy of gold nanoparticle conjugates of cosmetic ingredient kinetin. **Vib. Spectrosc.**, v. 73, p. 15-18, 2014.

- 44 KOUTZ, L. M.; DEWAN, K.; BRONAUGH, R. L. Nanotechnology in cosmetics. **Food Chem. Toxicol.**, 2015.
- 45 PATEL, A.; PRAJAPATI, P.; BOGHRA, R. Overview on application of nanoparticles in cosmetics. **Asian J. Pharm. Sci.Clin. Res.**, v. 1, n. 2, p. 40-55, 2011. ISSN ISSN: 2249-2135.
- 46 POPOV, A. P.; PRIEZZHEV, A. V.; LADEMANN, J.; MYLLYLÄ, R. TiO₂ nanoparticles as an effective UV-B radiation skin-protective compound in sunscreens. **J. Phys. D: Appl. Phys.**, v. 38, p. 2564–2570, 2005.
- 47 ROSA, A. B.; COSTA, M. C. D. **Nanotecnologia e cosmética: utilização, conceitos, efeitos, benefícios e cuidados necessários.** In: Congresso multiprofissional em saúde. [S.l.]: [s.n.]. 2012.
- 48 MARISCA, O. T.; KANTNER, K.; PFEIFFER, C.; ZHANG, Q.; PELAZ, B.; LEOPOLD, N.; PARAK, W. J.; REJMAN, J. Comparison of the in vitro uptake and toxicity of collagen- and synthetic polymer-coated gold nanoparticles. **Nanomaterials**, v. 5, p. 1418-1430, 2015. ISSN ISSN 2079-4991.
- 49 ARAÚJO, H. G.; PACHECO, E. F.; MEYER, P. F.; CARVALHO, M. G.; ARAÚJO NETO, L. G.; OLIVEIRA, E. A. F. Transdermic transport by portable devices: another way to apply cosmetics, in vivo assay. **Revista científica da escola da saúde.** Disponível em: <https://repositorio.unp.br/index.php/catussaba/article/view/698/592>. Acesso em: 09 Fev. 2016.
- 50 FILOM, F. L.; CROSER, M.; ADAMI, G.; BOVENZI, M.; ROSSI, F.; MAINA, G. Human skin penetration of gold nanoparticles through intact and damaged skin. **Nanotoxicology**, v. 5, p. 493-501, 2011.
- 51 FAITH-AZARBAYJANI, A.; QUN, L.; CHAN, Y. W.; CHAN, S. Y. Novel Vitamin and Gold-Loaded Nanofiber Facial Mask for Topical Delivery. **Pharm. Sci. Tech.**, v. 11, n. 3, p. 1164-1170, 2010.
- 52 GACHARD, E.; REMITA, H.; KHATOURI, J.; KEITA, B.; NADJO, L.; BELLONI, J. Radiation-induced and chemical formation of gold clusters. **New J. Chem.**, v. 22, p. 1257-1265, 1998.
- 53 BRUST, M.; WALKER, M.; BETHELL, D.; SCHIFFRIN, D. J.; WHYMAN, R. Synthesis of Thiol-derivatised Gold Nanoparticles in a Two-phase Liquid-Liquid System. **J. Chem. Soc., Chem Commun**, v. 7, p. 801-802, 1994.
- 54 DAS, R. K.; BHUSAN, B. B.; BORA, U. Green synthesis of gold nanoparticles using ethanolic leaf extract of *Centella asiatica*. **Mater. Lett.**, v. 64, p. 1445-1447, 2010.

- 55 XIANG, C.; LI, R.; ADHIKARI, B.; SHE, Z.; LI, Y.; KRAATZ, Heinz-Bernhard. . Sensitive electrochemical detection of Salmonella with chitosan–gold nanoparticles composite film. **Talanta**, v. 140, p. 122-127, 2015.
- 56 BAO, J.; HOU, C.; CHEN, M.; LI, J.; HOU, D.; YANG, M.; LUO, X.; LEI, Y. . Plant Esterase–Chitosan/Gold Nanoparticles–Graphene Nanosheet Composite-Based Biosensor for the Ultrasensitive Detection of Organophosphate Pesticides. **J. Agric. Food. Chem.** , v. 63, p. 10319–10326, 2015.
- 57 PASANPHAN, W.; RATTANAWONGWIBOON, T.; CHOOFONG, S. . G. O. . K. . K. Irradiated chitosan nanoparticles as a water-based antioxidant and reducing agent for a green synthesis of gold nanoparticles. **Radiat. Phys. Chem.** , v. 106, p. 360-370, 2015.
- 58 XU, Q.; MAO, C.; LIU, Ni-na; ZHU, Jun-jie; SHENG, J. Direct electrochemistry . of horseradish peroxidase based on biocompatible carboxymethyl chitosan–gold nanoparticle nanocomposite. **Biosens. Bioelectron.** , v. 22, p. 768-773, 2006.
- 59 ZHAO, X.; MAI, Z.; KANG, X.; ZOU, X. Direct electrochemistry and . electrocatalysis of horseradish peroxidase based on clay–chitosan-gold nanoparticle nanocomposite. **Biosens. Bioelectron.** , v. 23, p. 1032-1038, 2008.
- 60 MISRA, N.; BISWAL, J.; A., GUPTA; SAINIS, J.K.; SABHARWAL, S. Gamma . radiation induced synthesis os gold nanoparticles in aqueous polyvinyl pyrrolidone solution and its application for hydrogen peroxide estimation. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 81, p. 195-200, 2012.
- 61 TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. The formation of Colloidal . gold. **J. Phys. Chem.**, v. 57, p. 670-673, 1953.
- 62 FRENS, G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in . monodisperse gold suspensions. **Nature (London) Phys Sci**, v. 241, p. 20-22, 1973.
- 63 WULANDARI, P.; LI, X.; TAMADA, K.; HARA, M. Conformational study of . citrates adsorbed on gold nanoparticles using fourier transform infrared spectroscopy. **J Nonlinear Opt Phys Mater**, v. 17, p. 185-192, 2008.
- 64 WULANDARI, P.; NAGAIHIRO, T.; FUKADA, N.; KIMURA, Y., NIWANO, M.; . TAMADA, K. Characterization of citrates on gold and silver nanoparticles. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 438, p. 244-248, 2015.
- 65 KIMLING, J.; MAIER, M.; OKENVE, B.; KOTAIDIS, V.; BALLOT, H.; PLECH, A. . Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited. **J. Phys. Chem.**, v. 110 B, p. 15700-15707, 2006.

- 66 HANZIC, N.; JURKIN, T.; MAKSIMOVIC, A.; GOTIC, M. The synthesis of gold nanoparticles by a citrate-radiolytical method. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 106, p. 77-82, 2015.
- 67 DOYEN, M.; BARTIK, K.; BRUYKANTS, G. UV-Vis and NMR study of the formation of gold nanoparticles by citrate reduction: observation of gold citrate aggregates. **J Colloid Interface Sci.**, v. 399, p. 1-5, 2013.
- 68 MELO JR, M.A.; SANTOS, L. S. S.; GONÇALVES, M. C.; NOGUEIRA, A. F. . Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Quím. Nova**, v. 35, p. 1872 – 1878, 2012.
- 69 LIU, C.-P.; LIN, F.-S.; CHIEN, C.-T. . T. S.-Y. In-situ Formation and Assembly of Gold Nanoparticles by Gum Arabic as Efficient Photothermal Agent for Killing Cancer Cells. **Macromol. Biosci.**, v. 13, p. 1314 – 1320, 2013.
- 70 WU, C. – C.; CHEN, D.- H. spontaneous synthesis of gold nanoparticles on gum arabic-modified iron oxide nanoparticles as a magnetically recoverable nanocatalyst. **Nanoscale Res. Lett.**, 2012. ISSN 10.1186/1556-276X-7-317. Disponível em: <<http://www.nanoscalereslett.com/content/7/1/317>>. Acesso em: 06 Janeiro 2014.
- 71 DROR, Y.; COHEN, Y.; YERUSHALMI-ROZEN, R. Structure of Gum Arabic in Aqueous Solution. **J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.**, v. 44, p. 3265-3271, 2006.
- 72 ISLAM, A. M.; PHILLIPS, G. O.; SLJIVO, A.; SNOWDEN, M. J.; WILLIAMS, P. A. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v. 11, n. 4, p. 493-505, 1997.
- 73 RAO, Y. N.; BANERJEE, D.; DATTA, A.; DAS, S. K.; GUIN, R.; SAHA, A. . Gamma irradiation route to synthesis of highly re-dispersible natural polymer capped silver nanoparticles. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 79, p. 1240 – 1246, 2010.
- 74 OSMAN, M. E.; WILLIAMS, P. A.; MENZIES, A. R.; PHILLIPS, G. O. . Characterization of commercial samples of gum arabic. **J. Agric. Food Chem.**, v. 41, p. 71-77, 1993.
- 75 TORAY INDUSTRIES. OKANO, F.; YAMADA, K. WATANABE, M.; HARA, N.; SATOH, M.; ITO, T.; YANAI, A.. **Method for stabilizing useful proteins and useful protein compositions**. EP0950663 B1, 1 Ago. 1997, 7 Nov. 2007.
- 76 JOHNSON, W. Final report of the safety assessment of Acacia catechu gum, Acacia concinna fruit extract, Acacia dealbata leaf extract, Acacia dealbata leaf wax, Acacia decurrens extract, Acacia farnesiana extract, Acacia farnesiana flower wax, Acacia farnesiana gum. **Int. J. Toxicol.**, v. 24, p. 75–118, 2005.

- 77 FENT, G. M.; CASTEEL, S. W.; KIM, D. Y.; KANNAN, R.; KATTI, K.; CHANDA, N. C.; KATTI, K. Biodistribution of maltose and gum arabic hybrid gold nanoparticles after intravenous injection in juvenile swine. **Nanomedicine: NBM**, v. 5, p. 128-135, 2009.
- 78 BANERJEE, S. S.; CHEN, D.-H. Fast removal of copper ions by gum arabic modified magnetic nano-adsorbent. **J. Hazard. Mater.**, v. 147, p. 792-799, 2007.
- 79 SILVA, D. F. **Preparação de eletrocatalisadores PtRu/C e PtSn/C utilizando feixe de elétrons para aplicação como anodo na oxidação direta de metanol e etanol em células a combustível de baixa temperatura.** 2009. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- 80 FERRO, W. P. **Estudo do efeito da radiação ionizante nas propriedades da poliamida 6.6 com e sem esforço de fibra de vidro.** 2003. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- 81 AKHAVAN, A.; KALHOR, H.R.; KASSAEE, M.R.; SHEIKH, N.; HASSANLOU, M. Radiation synthesis and characterization of protein gold nanoparticles. **Chem. Eng. J.**, v. 159, p. 230-235, 2010.
- 82 WALKER, C. R.; PUSHPAVANAM, K.; NAIR, D. G.; POTTA, T.; SUTIYOSO, C.; KODIBAGKAR, V. D.; SAPARETO, S.; CHANG, J.; REGE, K. Generation of Polypeptide-Templated Gold Nanoparticles using Ionizing Radiation. **Langmuir**, v. 29, n. 32, p. 10166 – 10173, 2013.
- 83 KRSTIC, J.; SPASOJEVIC, J.; RADOSAVLJEVIC, A.; SILJEGOV, M.; KACAREVIC-POPOVIC, Z. Optical and structural properties of radiolytically in situ synthesized silver nanoparticles stabilized by chitosan/poly(vinyl alcohol) blends. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 96, p. 158-166, 2014.
- 84 BALASUBRAMANIAN, S. K.; YANG, L. Lin-Yue; ONG, Choon-Nam.; ONG, Wei-Yi.; YU, L. E. Characterization, purification, and stability of gold nanoparticles. **Biomaterials**, v. 31, p. 9023-9030, 2010.
- 85 ZHANG, Z.; ROSS, R. D.; ROEDER, R. K. Preparation of functionalized gold nanoparticles as a targeted X-ray contrast agent for damaged bone tissue. **Nanoscale**, v. 2, p. 582-586, 2010.
- 86 SHALKEVICH, N.; ESCHER, W.; BURGI, T.; MICHEL, B.; SI-AHMED, L. On the Thermal Conductivity of Gold Nanoparticle Colloids. **Langmuir**, v. 2, p. 663–670, 2010.
- 87 AQILI, A.; QIU, H.; GREISCH, J., JÉRÔME, R.; DE PAUW, E.; JÉRÔME, C. Coating of gold nanoparticles by thermosensitive poly (N-isopropylacrylamide) end-capped by biotin. **Polymer**, v. 49, p. 1145-1153, 2008.

- 88 HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. Processos de separação com . membranas. Rio de Janeiro: E-Papers, 2006.
- 89 WU, C.; CHEN, D. Facile green synthesis of gold nanoparticles with gum . arabic as a stabilizing agent and reducing agent. *Gold Bull.*, v. 43, n. 4, p. 234-240, 2010.
- 90 COSTA, P. R. Síntese e caracterização de nanopartículas de ouro como . ferramenta terapêutica e diagnóstica. 2012.Dissertação (mestrado) – Instituto de Ciência e Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais, comissão Nacional de Energia Nuclear.
- 91 DREADEN, E.C.; ALKILANY, A.M.; HUANG, X.; MURPHY, C.J.; El-Sayed, . M.A. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chem. Soc. Rev.*, v. 41, p. 2740-2779, 2012.
- 92 TIWARI, A. Gum Arabic-Graft-Polyaniline: An Electrically Active Redox . Biomaterial for Sensor Applications. *J. Macromol. Sci.*, v. 44, p. 735–745, 2007.
- 93 LANGILLE, M. R.; PERSONICK, M. L.; ZHANG, J.; MIRKIN, C. A. Defining . rules for the shape evolution of gold nanoparticles. *J. Amer. Chem. Soc.*, v. 134, p. 14542 - 14554, 2012.