

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

MATEUS SIRAQUE

**SENSOR PLASMÔNICO BASEADO EM NANOPARTÍCULAS DE
OURO PARA DETECÇÃO DE COMBUSTÍVEL ADULTERADO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**APUCARANA
2018**

MATEUS SIRAQUE

**SENSOR PLASMÔNICO BASEADO EM NANOPARTÍCULAS DE
OURO PARA DETECÇÃO DE COMBUSTÍVEL ADULTERADO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado ao curso superior de Licenciatura em Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Johny Paulo Monteiro

APUCARANA

2018



Ministério da Educação
**Universidade Tecnológica Federal do
Paraná**
Câmpus Apucarana
COLIQ – Coordenação do Curso
Superior de Licenciatura em Química



TERMO DE APROVAÇÃO
SENSOR PLASMÔNICO BASEADO EM NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA
DETECÇÃO DE COMBUSTÍVEL ADULTERADO

por

Mateus Siraque

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado aos 21 dias do mês de novembro do ano de 2018, às 14 horas, como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciado em Química, linha de pesquisa Biossensores Plasmônicos, do Curso Superior de Licenciatura em Química da UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O candidato foi arguido pela banca examinadora composta pelos professores/servidores abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Johny Paulo Monteiro – ORIENTADOR

Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins – EXAMINADOR

Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafe – EXAMINADOR

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelas oportunidades recebidas, saúde proporcionada, força e sabedoria para enfrentar as dificuldades do dia a dia.

Agradeço a minha família que sempre me apoiou durante essa jornada chamada graduação, que durante os momentos difíceis e de crises me incentivaram a encarar e superar cada obstáculo.

Aos meus amigos, em especial Douglas (Jhow), Matheus (Jovem), Duany Alessandra, Luara, Patrícia, Luciano, Taynna e aos demais amigos que estiveram ao meu lado durante toda graduação e que os considero como minha segunda família, agradeço pelas risadas, companheirismo, ajudas e conselhos que me ofereceram e proporcionaram.

Um agradecimento especial ao meu orientador, professor Dr. Johny Paulo Monteiro, que proporcionou a oportunidade de desenvolver este projeto sob sua supervisão, agradeço pela paciência, pelos ensinamentos, experiências passada e por toda ajuda, pois graças a ele esse trabalho pode ser concretizado. Aos professores com quem tive a oportunidade de ter aula, fica o meu agradecimento pelos saberes passados.

Por fim agradeço a música, que me fez feliz durante meus estudos nesse curso, principalmente as bandas Linkin Park e Blink-182, que me ajudaram a concentrar e relaxar nos momentos de confusão, no laboratório e na escrita deste Trabalho de conclusão de curso.

RESUMO

SIRAQUE, M. Sensor plasmônico baseado em nanopartículas de ouro para detecção de combustível adulterado. 2018. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2018.

Os sensores plasmônicos baseados em nanopartículas de ouro (AuNPs) tem como base o efeito de Ressonância de Plasmon de Superfície Localizado (LSPR) a qual é capaz de monitorar variações de índice de refração (IR) do meio de contato com a superfície do metal. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo sintetizar e caracterizar nanoesferas de ouro (AuNSs) para obtenção de uma plataforma plasmônica. A síntese de AuNSs foi realizada utilizando o método descrito por Turkevich a qual consiste na união de um sal precursor de ouro com solução de citrato de sódio, em um meio reacional em ebulição sob-refluxo. AuNSs foram caracterizadas por espectrofotometria UV-Vis. Na sequência AuNSs foram imobilizadas sobre vidro ativado com (3-aminopropil)trietóxisilano e a sensibilidade da plataforma frente a variações de índice de refração foi determinada. Diferentes composições de mistura etanol/água foram preparadas para testar a resposta plasmônica do sensor e para obter uma curva analítica. Foram obtidas AuNSs de diferentes diâmetros, próximos a 20 nm e homogênea, empregando diferentes quantidades de citrato de sódio. As suspensões coloidais apresentaram valores de comprimentos de onda no máximo de absorção ($\lambda_{m\acute{a}x}$) e largura de banda na meia altura (FWHM) considerados bons para aplicação em sensores plasmônicos. Os testes realizados com os substratos revelaram que, após a produção do substrato plasmônico, os valores de FWHM e $\lambda_{m\acute{a}x}$ apresentaram um aumento, possivelmente pela diminuição das distâncias interpartículas que ocorrem durante a imobilização de AuNSs sobre o vidro. O substrato que apresentou a melhor sensibilidade foi para a amostra sintetizada com 2,5 mL de solução de citrato de sódio e 1 hora de tempo de ativação, sendo 198,36 nm/UIR, na qual mostrou que é capaz de detectar misturas etanol/água de diferentes concentrações. Por fim, devido a estabilidade apresentada pelo substrato em solventes orgânicos, sugere-se que outros combustíveis como diesel ou gasolina possam ser testados.

Palavras-chave: Nanoesferas. Ouro. SPR. LSPR.

ABSTRACT

SIRAQUE, Mateus. Sensor plasmônico baseado em nanopartículas de ouro para detecção de combustível adulterado. 2018. 41 f. Plasmonic sensor based on gold nanoparticles for adulterated fuel detection (Chemistry Graduation), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2018.

Plasmonic sensors based on gold nanoparticles (AuNPs) are based on the Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) effect which is capable of monitoring variations in the refractive index (IR) of the contact medium with the metal surface. In this sense, the objective of this work was to synthesize and characterize gold nanospheres (AuNSs) to obtain a plasmon platform. The synthesis of AuNSs was performed using the method described by Turkevich which consists of the union of a gold precursor salt with sodium citrate solution in a boiling reaction medium under reflux. AuNSs were characterized by UV-Vis spectrophotometry. In the sequence AuNSs were immobilized on glass using (3-Aminopropyl)triethoxysilane and the sensitivity of the platform to variations in refractive index was determined. Different ethanol/water blending compositions were prepared to test the plasmon response of the sensor and to obtain an analytical curve. AuNSs of different diameters, close to 20 nm and homogeneous, were obtained using different amounts of sodium citrate solution. The colloidal suspensions presented values of wavelengths at maximum absorption ($\lambda_{\text{máx}}$) and full width at half maximum (FWHM) considered good for application in plasmonic sensors. The tests performed with the substrates revealed that, after the plasmonic substrate production, the values of FWHM and $\lambda_{\text{máx}}$ showed an increase, possibly due to the decrease of the interparticle distances that occur during the immobilization of AuNSs on the glass. The substrate that presented the best sensitivity was for the sample synthesized with 2,5 mL of sodium citrate solution and 1 hour of activation time, being 198,36 nm/UIR, in which it was able to detect ethanol/water of different concentrations. Finally, due to the stability presented by in organic solvents, it is suggested that other fuels such as diesel or gasoline can be tested.

Keywords: Nanospheres. Gold. SPR. LSPR.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Proporções de Etanol anidro/Água.....	19
Tabela 2 – Comprimento de onda do máximo de absorção e largura de banda na meia altura para soluções de AuNPs nos diferentes volumes de solução de citrato de sódio 1% (m/v)	21
Tabela 3 – Comprimento de onda do máximo de absorção e largura de banda na meia altura para substratos plasmônicos obtidos com tempo de incubação de 1 hora no APTES.....	27
Tabela 4 – Comprimento de onda do máximo de absorção e largura de banda na meia altura para substratos plasmônicos obtidos com tempo de incubação de 4 horas no APTES.....	28
Tabela 5 – Índice de refração para soluções de sacarose em água	29
Tabela 6 – Dados obtidos para os melhores substratos	33
Tabela 7 – Água e compostos orgânicos com seus respectivos IR	34
Tabela 8 – Proporções Etanol/Água e seus respectivos IR	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de nanoesferas de ouro	13
Figura 2 - Diagrama esquemático ilustrando a formação dos plasmons de superfície localizado em partículas esféricas.....	14
Figura 3 - Espectro de extinção de nanoesferas de ouro	15
Figura 4 - Esquema do sistema experimental utilizado na síntese.....	17
Figura 5 - Escala de cores produzidas a partir das soluções de AuNPs. Do menor para maior volume de solução de citrato de sódio 1% (m/v) vai da esquerda para direita	20
Figura 6 - Espectros de absorção de suspensões coloidais de AuNPs sintetizadas pelo método de Turkevich sob adição de diferentes volumes de solução aquosa de citrato de sódio 1% (m/v).....	21
Figura 7 - Estabilização de partículas de ouro por citrato de sódio	23
Figura 8 - Imagens de TEM de AuNPs preparadas em solução aquosa em diferentes magnificações	24
Figura 9 - Representação esquemática das etapas reacionais envolvidas com a imobilização de AuNPs sobre superfície do vidro	25
Figura 10 - Substratos plasmônicos produzidos com APTES 1% (m/v) com tempo de imobilização de 4 horas para condução de 7,0 mL de citrato de sódio	25
Figura 11 - Espectros de absorção dos substratos plasmônicos baseados em nanopartículas de ouro obtidos com tempo de incubação em substrato ativado sob 1 h de APTES.....	27
Figura 12 - Espectros de absorção dos substratos plasmônicos baseados em nanopartículas de ouro obtidos com tempo de incubação em substrato ativado sob 4 h de APTES.....	28
Figura 13 - Espectros de absorção do substrato plasmônico, amostra 2,5 mL – 1H, frente as diferentes concentrações de soluções de sacarose	30
Figura 14 - Curva de sensibilidade para substrato, amostra 2,5 mL – 1H, para diferentes concentrações de soluções de sacarose	31
Figura 15 - Curva de sensibilidade para substrato, amostra 5,0 mL – 4H, para diferentes concentrações de soluções de sacarose	31
Figura 16 - Curva de sensibilidade para substrato, amostra 6,5 mL – 4H, para diferentes concentrações de soluções de sacarose	32
Figura 17 - Curva de sensibilidade para substrato, amostra 7,0 mL – 4H, para diferentes concentrações de soluções de sacarose	32
Figura 18 - Espectros de absorção do substrato plasmônico, amostra 2,5 mL – 1H, frente ao emprego dos diferentes compostos orgânicos	35
Figura 19 - Curva de sensibilidade para substrato, amostra 2,5 mL – 1H, para o emprego dos diferentes compostos orgânicos	35
Figura 20 - Espectros de absorção do substrato plasmônico 2,5 mL – 1H frente as diferentes proporções Etanol/Água	37
Figura 21 - Curva de sensibilidade para substrato 2,5 mL – 1H para as diferentes misturas etanol/água	38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	11
3.1 SENSORES.....	11
3.2 SENSORES ÓPTICOS.....	11
3.3 RESSONÂNCIA DE PLASMON DE SUPERFÍCIE (SPR)	12
3.4 RESSONÂNCIA DE PLASMON DE SUPERFÍCIE LOCALIZADA (LSPR)	13
3.5 SENSOR LSPR BASEADOS EM NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA DETECÇÃO DE COMBUSTÍVEL ADULTERADO.....	14
4 MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO EM FORMATOS ESFÉRICOS.....	17
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO ESFÉRICAS	18
4.3 PRODUÇÃO DE SUBSTRATOS PLASMÔNICOS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE OURO ESFÉRICAS.....	18
4.4 CARACTERIZAÇÃO DA SENSIBILIDADE DOS SUBSTRATOS PLASMÔNICOS	18
4.5 CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA RESPOSTA PLASMÔNICA DO DISPOSITIVO EM COMBUSTÍVEL	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5.1 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS ESFÉRICAS	20
5.2 SUBSTRATO PLASMÔNICO	24
5.3 SENSIBILIDADE DOS SUBSTRATOS LSPR	29
5.4 SENSIBILIDADE DOS SUBSTRATOS LSPR EM COMPOSTOS ORGÂNICOS	33
5.5 APLICAÇÃO DOS SUBSTRATOS LSPR PARA DETERMINAÇÃO DE MISTURAS ÁGUA/ETANOL	36
6 CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o emprego de nanopartículas metálicas tem sido crescente em áreas como engenharia e medicina, no que tange desde a miniaturização de dispositivos até a produção de biossensores. Nanopartículas de ouro (AuNPs) tem sido utilizada na área biomédica para construção de biossensores empregados na detecção de células cancerígenas (BALLESTEROS, 2012).

As nanopartículas metálicas apresentam propriedades que as diferenciam do comportamento observado para a sua forma macroscópica. Elas possuem a capacidade de gerar um efeito denominado de ressonância de plasmon de superfície localizado (LSPR, do inglês *localized surface plasmon resonance*) as quais dão origem a intensas absorções de luz na região do visível. O efeito LSPR ocorre quando há incidência e aprisionamento ressonante de luz ao longo de uma interface metal-dielétrico gerando os plasmons de superfície, as quais são responsáveis pelas propriedades distintas observadas para nanopartículas metálicas.

O uso de nanopartículas na construção de biossensores ocorre porque o efeito LSPR do nanomaterial é altamente dependente do índice de refração na interface metal-dielétrico. Sendo assim, mudanças físico-químicas ocorridas na superfície do metal podem ser avaliadas por meio de medidas de absorção óptica que sofre mudança quando ocorre a adsorção de uma biomolécula de interesse, por exemplo.

A forma de nanopartícula mais comum e facilmente obtida é a esférica. Um método relatado para produção de nanopartículas de ouro esféricas é baseado na metodologia descrita por Turkevich et al. (1951). Esse método é bastante simples na qual nanoesferas de ouro são obtidas em uma única etapa. Por esse método, as nanopartículas são produzidas a partir da união, sob ebulição, de soluções aquosas de um sal precursor de ouro com uma solução de citrato de sódio, a qual atua tanto como agente redutor quanto como estabilizante. Nanoesferas de ouro (AuNSs) tem sido empregadas na construção de sensores plasmônicos vislumbrando detecção de diferentes biomoléculas, como a detecção da atividade enzimática (HUTTER; MAYSINGER, 2013), a utilização de nanotubos de carbono junto à nanopartículas de ouro para identificação de colesterol (CAI et al., 2013) e a combinação de nanopartículas de ouro com Fibronectin Anticorpo para construção de um biossensor

para detecção de Fibronectin em matrizes extracelulares de cultura de células (NEKOUIAN, 2013) .

Uma possível aplicação para um sensor baseado em AuNSs poderia ser na detecção de combustível adulterado. O efeito LSPR é capaz de monitorar variações de índices de refração no entorno de AuNPs. Assim, a presença de substâncias estranhas poderiam ser detectadas tendo em vista que a sua inserção no combustível deve mudar o índice de refração do produto. O apelo para construção de um dispositivo dessa natureza se justifica, pois, as oscilações dos preços dos combustíveis levam motoristas a procurar estabelecimentos com uma oferta mais barata, mesmo desconhecendo a procedência do produto. Dessa forma, é possível que os consumidores estejam adquirindo combustível adulterado devido à adição proibida de produtos químicos. Isso faz com que o mesmo não mais atenda as especificações estabelecidas pela Agência Nacional do Petróleo (ANP) e possa causar desde a perda de rendimento até problemas nos motores veiculares.

Com base nisso, este trabalho objetivou-se sintetizar AuNSs através do método proposto por Turkevich para construção de uma plataforma plasmônica sensível para detecção de combustível adulterado.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um dispositivo óptico de alta sensibilidade baseado no fenômeno LSPR gerado em AuNSs para detecção de álcool em combustível adulterado.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Sintetizar e caracterizar por técnica espectrofotométrica UV-Vis suspensão de nanoesferas de ouro;
- II. Imobilizar AuNPs sobre substrato de vidro (produção de uma plataforma plasmônica);
- III. Avaliar a sensibilidade óptica do substrato plasmônico baseado em AuNPs frente a variações de índice de refração;
- IV. Determinar sensibilidade e reprodutibilidade da plataforma plasmônica com respeito à variação de índice de refração em sua superfície;
- V. Testar a resposta plasmônica da plataforma em relação a presença de misturas etanol/água em diferentes proporções;
- VI. Realizar a determinação real da concentração de etanol em combustíveis coletados em postos locais (Apucarana).

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 SENSORES

Nos últimos anos a nanotecnologia vem despertando cada vez mais a atenção de pesquisadores, sobretudo com relação a obtenção de nanopartículas metálicas devido ao seu grande potencial de emprego em diferentes áreas. Aplicações mais destacadas são no desenvolvimento de sensores, biossensores ou dispositivos de análises (ROCHA-SANTOS, 2014).

Os sensores, especialmente os sensores químicos, são dispositivos capazes de realizar a coleta de dados em um sistema, sem que o mesmo sofra grandes interferências (LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006). Um sensor possui como base de funcionamento duas partes, um receptor, que possui a função de identificar o analito desejado, e um transdutor, responsável por receber a informação e gerar um sinal analítico útil (DAMOS et al., 2004). Algumas características são importantes para que um sensor possa ser utilizado, tais como um baixo limite de detecção, elevada sensibilidade, reprodutibilidade, capacidade de reutilização e especificidade (MONTEIRO, 2015).

Os sensores são normalmente classificados com base no meio transdutor que possuem, podendo ser baseados em uma interação com o campo magnético que o metal apresenta, ou baseado em uma leitura de uma resposta elétrica gerada por uma interação analito/eletrodo, ou através de um acúmulo de massa devido à presença de moléculas na superfície do sensor, ou até mesmo baseado no monitoramento de mudanças em propriedades ópticas do material. Baseando-se nisso os diferentes sensores são ditos magnéticos, eletroquímicos, piezoelétricos ou ópticos (ROCHA-SANTOS, 2014). Dentre esses, os sensores ópticos tem se destacado no emprego em sensores e biossensores.

3.2 SENSORES ÓPTICOS

Os sensores ópticos podem operar monitorando diferentes propriedades ópticas que sofrem mudanças devido a presença de um analito-alvo, como por exemplo a quimiluminescência ou espalhamento, transmitância ou absorção de luz

(ROCHA-SANTOS, 2014). Nesse sentido, os sensores ópticos baseados no efeito LSPR gerado em nanopartículas tem tido destaque em muitas aplicações. Isso ocorre pois eles apresentam boas características analíticas como a alta sensibilidade, seletividade, velocidade e confiabilidade em análises. Isso faz com que os dispositivos LSPR estejam cada vez mais em evidência (SILVA et al., 2014) principalmente no monitoramento de biomoléculas, como proteínas, enzimas e também na identificação de doenças como câncer e diabetes (MASSON, 2017).

3.3 RESSONÂNCIA DE PLASMON DE SUPERFÍCIE (SPR)

O fenômeno de ressonância de plasmon de superfície (SPR, *surface plasmon resonance*), da qual o efeito LSPR é derivado, consiste em ondas que se propagam ao longo da interface entre metal-dielétrico, quando há uma incidência de luz, com um comprimento de onda adequado, de forma que parte da luz incidida sobre o metal fica aprisionada devido a sua interação com os elétrons livres da superfície. A interação entre as cargas da superfície e o campo eletromagnético da luz resulta em propriedades únicas, como a elevada sensibilidade a variações de índices de refração (BARNES et al., 2003).

A escolha do metal que será utilizada é uma parte importante, visto que o metal deve conter elétrons livres em sua superfície, tais como ouro, prata, cobre e alumínio, para que ocorra a propagação da onda plasmônica. O ouro e a prata são os mais utilizados devido sua inércia a processos oxidativos, boa reatividade e uma condutividade elétrica alta (CRUZ, 2010; ZAMARION, 2008). O ouro é mais utilizado para desenvolvimento de biossensores pois exhibe uma química de superfície mais rica a qual permite imobilização de biomoléculas mais facilmente. A prata exhibe bandas plasmônicas mais intensas, entretanto são menos estáveis que o ouro (PETRYAYEVA; KRULL, 2011). As aplicações práticas são amplamente dominadas pelo emprego de ouro, principalmente na construção de biossensores para detecção na área médica.

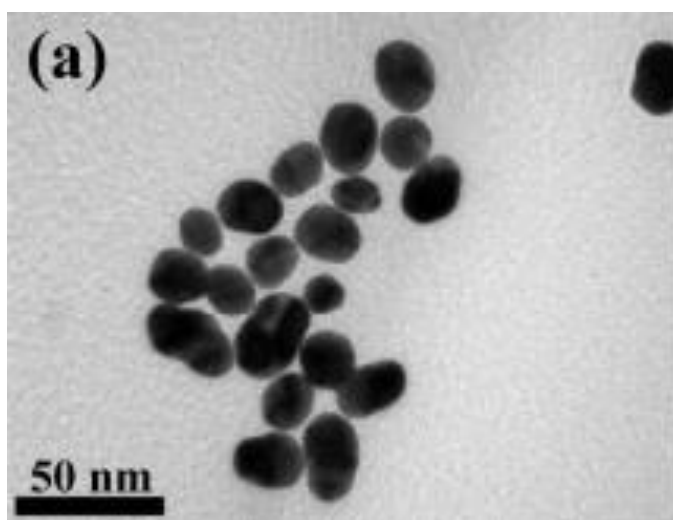
Os sensores baseados em SPR possuem algumas vantagens que os destacam em meio a outros métodos. É possível obter respostas em tempo real do monitoramento de biomoléculas, o que é uma característica excelente para aplicação na medicina. Eles ainda são dispositivos que apresentam baixo limite de

detecção, habilita detecção de moléculas pequenas e identificação de uma larga escala de reagentes (SHANKARAN et al., 2007).

3.4 RESSONÂNCIA DE PLASMON DE SUPERFÍCIE LOCALIZADA (LSPR)

Nanopartículas metálicas, tais como as de ouro mostradas na Figura 1, apresentam dimensões menores que o comprimento de onda de radiações eletromagnéticas da região do visível. Por esse motivo, o efeito SPR gerado na sua superfície é chamado de “localizado”, já que ocorre em um ambiente muito confinado. Assim o efeito SPR confinado é conhecido de LSPR.

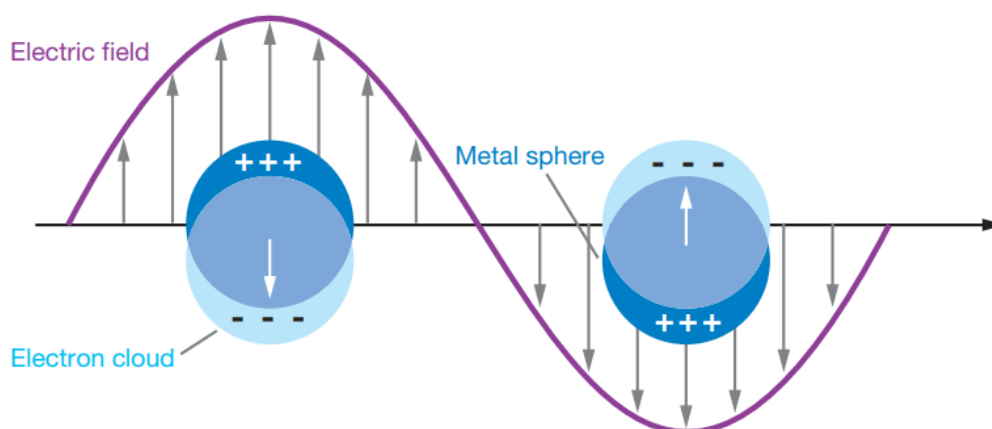
Figura 1 - Imagem de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de nanoesferas de ouro



Fonte: Li et al. (2016).

O campo eletromagnético no efeito LSPR, conforme observado na Figura 2, é muito sensível a pequenas mudanças no índice de refração do meio do seu entorno. Tais alterações podem então ser monitoradas por meio do deslocamento do máximo de absorção ocorrido no espectro de extinção de nanopartículas (PETRYAYEVA; KRULL, 2011). Essa característica que habilita o emprego de AuNPs na construção de dispositivos sensoriais.

Figura 2 - Diagrama esquemático ilustrando a formação dos plasmons de superfície localizado em partículas esféricas

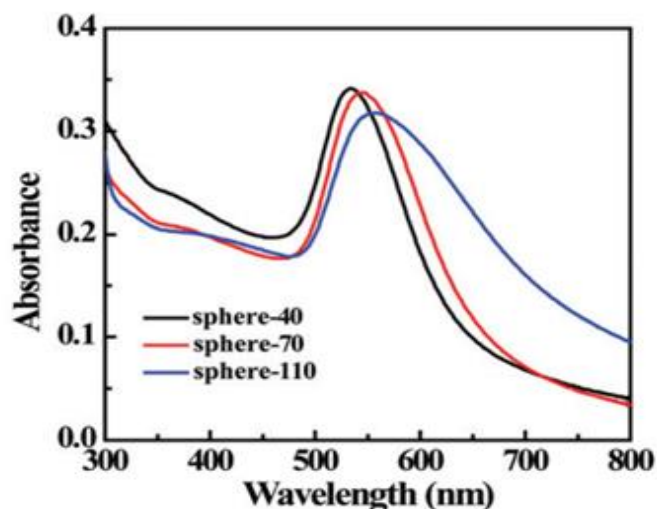


Fonte: Willets; Van Duyne (2007).

3.5 SENSOR LSPR BASEADOS EM NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA DETECÇÃO DE COMBUSTÍVEL ADULTERADO

Visto que as nanopartículas de ouro (AuNPs) são extremamente sensíveis a variações índices de refração, as mesmas podem ser empregadas na obtenção de sensores, por meio de análises de espectros de absorção na região do UV-Visível. A absorções de AuNPs abrangem grande parte do visível, entre 400 a 750 nm, conforme Figura 3 (LEE; EL-SAYED, 2006; CASTRO, 2009). Se o índice de refração do meio entorno das AuNPs é perturbado, através da adsorção ou presença de moléculas próximas ou sobre a superfície metálica, então é possível realizar o monitoramento de tal perturbação por meio da medida de espectros de extinção. Essa é a ideia de operação dos sensores e biossensores LSPR.

Figura 3 - Espectro de extinção de nanoesferas de ouro



Fonte: Li, et al. (2016).

Com base nisso, seria perfeitamente possível aplicar uma plataforma plasmônica baseada em nanopartículas de ouro (AuNPs) para determinação de fraudes em álcool hidratado combustível. A adição de água em etanol combustível (adulteração comum) provoca alteração no índice de refração do líquido resultante. Assim sendo, a plataforma plasmônica poderia ser útil em detectar essa mudança. Um dispositivo assim teria a vantagem de se tratar de um método sensível, rápido (análises são efetuadas em tempo real) direto e baseado em simples medidas ópticas de absorvância visível a qual sofre pouca influência de oscilações de parâmetros ambientais tais como a temperatura.

Atualmente a determinação do teor alcóolico do álcool hidratado é feita com base em medidas de densidade utilizando densímetro de vidro seguindo o procedimento determinado pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). É um método de simples realização e indireto, baseando-se na conversão de medida de densidade em grau alcóolico, segundo a ABNT o método apresenta 95% de confiabilidade. Medidas de densidade sofrem elevada influência de variações de temperatura, além de poder ser facilmente burlada com a adição de aditivos no produto fraudado (ABNT, 2008). Por esse motivo, a utilização de um sensor plasmônico pode dar mais segurança na determinação de combustível adulterado.

A ANP determina que o álcool hidratado combustível tenha entre 92,6 e 93,8%, em massa, para teor alcóolico. A presença de outros compostos ou o não cumprimento do teor mínimo exigido resulta em problemas para os consumidores e seus veículos, visto que pode provocar danos ao motor e outros componentes do

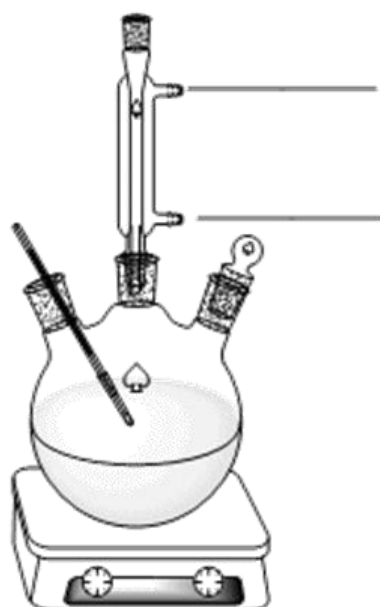
veículo, tais como a perda de potência do motor, aumento do consumo de combustível, maior contaminação do meio ambiente e saúde da população pelos gases emitidos e um rendimento insatisfatório do veículo (NETO, 2005). Por esses motivos, é perfeitamente justificável o desenvolvimento de pesquisas que visam detectar com maior precisão, exatidão e confiabilidade a presença de modificações na composição dos combustíveis comercializados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO EM FORMATOS ESFÉRICOS

O método escolhido para síntese de nanopartículas no formato esférico foi o de Turkevich, abordado por Junior et al. (2012). Inicialmente, um sistema experimental foi montado conforme a Figura 4. Esse arranjo contou com um condensador de serpentina Graham, balão de três bocas com fundo redondo, chapa de aquecimento com agitador magnético e termômetro.

Figura 4 - Esquema do sistema experimental utilizado na síntese



Fonte: Autoria própria (2018).

No balão adicionou-se 100 mL de solução de HAuCl_4 (ácido tetracloroáurico 99,9% 30 wt.% (Aldrich)) $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e o mesmo foi aquecido até a ebulição, sob refluxo e agitação constante. Após isso, diferentes volumes (2,5, 5,0, 6,0, 6,5 e 7,0 mL) de solução de citrato de sódio 1% (m/v) (Synth, pureza 99%) foram adicionados individualmente à solução inicial. O tempo de reação para cada volume foi de 35 minutos. Ao final do tempo de refluxo para cada síntese, as soluções foram rapidamente resfriadas com a ajuda de um banho de gelo até a temperatura de aproximadamente 20°C .

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO ESFÉRICAS

A caracterização das AuNPs fora utilizada a técnica de espectrofotometria UV-Vis (Ocean Optics, USB4000) e microscopia eletrônica de transmissão (TEM, JEOL Shimadzu modelo 1400). Para análise espectral utilizou-se o software OriginLab (OriginPro 8.0).

4.3 PRODUÇÃO DE SUBSTRATOS PLASMÔNICOS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE OURO ESFÉRICAS

A produção dos substratos plasmônicos se deu pela utilização de placas de vidros com 3 cm² de área, as quais foram limpas em solução “piranha” por 10 minutos, a qual foi composta por uma mistura de ácido sulfúrico (H₂SO₄) (Qhemis, pureza 95-98%) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (Synth, pureza 35%) na proporção de 3:1 (v/v). Em seguida, enxaguou-se as lâminas com água mili-Q e etanol (Anidrol, pureza 99,5%) e imersas em solução de (3-aminopropil)trietóxisilano (APTES) (Aldrich, pureza 98%), 1% (v/v), em etanol, por 1 h (1H) e 4 h (4H). Na sequência, retirando os substratos das soluções de APTES, os mesmos foram limpos abundantemente com etanol e água mili-Q e mantidos em estufa a 100°C por 1 h. Retirados da estufa, foram imersos em solução coloidal de AuNPs, preparadas com diferentes volumes de citrato de sódio, para formação de um filme de nanopartículas sobre a superfície do vidro.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DA SENSIBILIDADE DOS SUBSTRATOS PLASMÔNICOS

Para caracterização da sensibilidade dos substratos plasmônicos utilizou-se soluções de sacarose de diferentes concentrações, sendo estas de 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0 e 30,0 g por 100 mL de água. Por fim coletou-se os espectros de absorção UV-Vis de cada substrato imerso nas diferentes soluções de sacarose para determinação da sensibilidade.

A segunda caracterização de sensibilidade dos substratos plasmônicos utilizou-se de reagentes orgânicos: acetona, etanol, hexano, clorofórmio e tolueno.

Repetiu-se o processo descrito para as soluções de sacarose, em que os espectros foram coletados.

Com auxílio de um refratômetro digital obteve-se o índice de refração de cada solução de sacarose e dos compostos orgânicos utilizados.

4.5 CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA RESPOSTA PLASMÔNICA DO DISPOSITIVO EM COMBUSTÍVEL

Foram obtidas diversas misturas (v/v) de etanol anidro/água, sendo elas descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Proporções de Etanol anidro/Água

Etanol anidro (%)	Água (%)
0	100
20	80
40	60
60	40
80	20
100	0

Fonte: Autoria própria (2018).

Na sequência, em uma cubeta, o substrato plasmônico foi imerso em cada mistura preparada e obteve-se os espectros de absorção.

Com auxílio de um refratômetro digital obteve-se o índice de refração de cada mistura de água/etanol produzida.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS ESFÉRICAS

As nanopartículas esféricas obtidas com a síntese baseada no método de Turkevich apresentaram colorações que variaram entre vermelho e roxo, conforme a Figura 5. Essas colorações são características de suspensões coloidais de AuNSs (NATH; CHILKOTI, 2004). As diferentes tonalidades devem estar associadas a obtenção de suspensões com partículas de raio médio ligeiramente distinto, devido ao emprego de diferentes proporções de citrato de sódio durante a síntese.

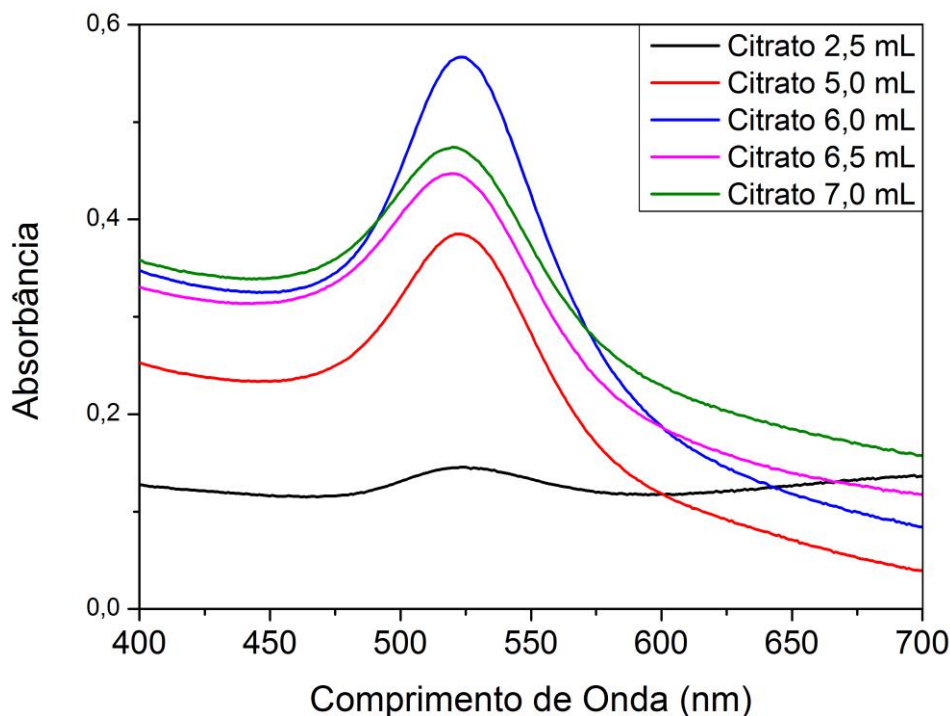
Figura 5 - Escala de cores produzidas a partir das soluções de AuNPs. Do menor para maior volume de solução de citrato de sódio 1% (m/v) vai da esquerda para direita



Fonte: Autoria própria (2018).

O emprego de diferentes volumes de solução de citrato de sódio, resultou em suspensões de nanopartículas com espectros de extinção apresentando diferentes posições de comprimentos de onda máximo e larguras de banda. Os espectros das mesmas podem ser observados na Figura 6. Apenas uma banda simétrica na região do visível foi obtida em todas condições. Isso novamente sugere a obtenção de nanopartículas com formato esférico.

Figura 6 - Espectros de absorção de suspensões coloidais de AuNPs sintetizadas pelo método de Turkevich sob adição de diferentes volumes de solução aquosa de citrato de sódio 1% (m/v)



Fonte: Autoria própria (2018).

A Tabela 2 apresenta os comprimentos de onda no máximo de absorção ($\lambda_{\text{máx}}$) e de largura de banda na meia altura (FWHM – *full width at half maximum*) obtidos para as nanoesferas sintetizadas cujos espectros foram apresentadas na Figura 6.

Tabela 2 – Comprimento de onda do máximo de absorção e largura de banda na meia altura para soluções de AuNPs nos diferentes volumes de solução de citrato de sódio 1% (m/v)

CITRATO (ml)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	FWHM (nm)
2,5	523,1	105,1
5,0	523,0	47,3
6,0	523,0	48,2
6,5	520,0	48,6
7,0	520,0	49,4

Fonte: Autoria própria (2018).

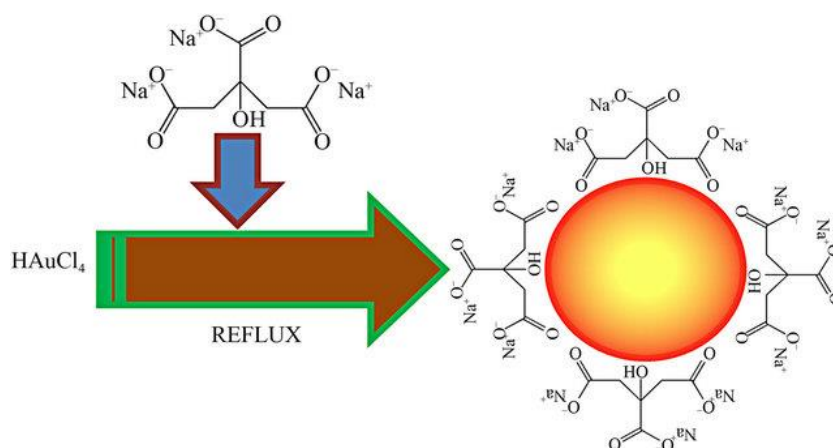
A largura da banda na meia altura é um parâmetro que está associado com a homogeneidade obtida com respeito a distribuição de tamanhos das partículas obtidas, ou seja, ela representa a polidispersividade do meio (PIMPANG, 2010). Quanto mais larga a banda, menos homogêneo o tamanho das partículas da suspensão. Com o auxílio da Tabela 2 é possível observar que, no geral, foram obtidas nanopartículas homogêneas, com baixa FWHM que ocorreu em torno de 48 nm. Exceção feita a suspensão coloidal sintetizadas utilizando 2,5 mL de solução de citrato de sódio, que exibiu FWHM alto de aproximadamente 105 nm. Um baixo valor para a FWHM é algo desejado para nanopartículas a serem utilizadas em sensores, visto que garante bandas de absorção mais estreitas o que facilita a visualização do deslocamento espectral (CAO, 2011; STEWART, 2008).

O comprimento de onda do máximo de absorção possui relação com o diâmetro médio das partículas. Para as partículas sintetizadas, conforme pode ser observado na Tabela 2, o $\lambda_{\text{máx}}$ se deu próximo a 520 nm, característico de nanopartículas de ouro com tamanho de partícula de 20 nm (MONTEIRO, 2015). Um comprimento de onda mais próximo do infravermelho indica partículas maiores com plasmon de superfície de energia menor. Nas condições de volumes de 2,5 até 6,5 mL de solução de citrato de sódio, as nanopartículas foram obtidas com dimensões semelhantes entre si e relativamente menores do que em volumes maiores de agente redutor. Por outro lado, comprimentos de onda menores indicam presença de nanopartículas menores e mais instáveis pois possuem maior energia de superfície. Assim sendo, possuem uma mais alta tendência de naturalmente sofrerem aglomeração para redução da energia superficial. Por esse motivo que elas foram obtidas em uma condição em que se tem uma quantidade maior de íons citrato (estabilizante) no sistema (6,5 e 7,0 mL de solução). Apesar de serem mais instáveis, as nanopartículas obtidas sob condição de volumes maiores exibem mais alta intensidade de absorção e espectros menos influenciados por possíveis ruídos de sinal. Para escolha da melhor condição, um equilíbrio entre baixa largura de banda, alta intensidade de absorção e posição do $\lambda_{\text{máx}}$ deve ser o melhor caminho.

O citrato de sódio utilizado na síntese possui duas funções importantes, a primeira é a redução do ouro ($\text{Au}^{+3} \rightarrow \text{Au}^0$) e a segunda viria a ser a estabilização das AuNPs. Os materiais nanoparticulados tendem a sofrer aglomeração para redução da energia superficial, sendo assim somente mantem o estado nanoparticulado se houver a presença de um agente estabilizante. A Figura 7

exemplifica a ação de estabilização do íon citrato, no qual ele adsorve na superfície das AuNPs promovendo a formação de uma densidade de carga negativa, estabilizando-as, prevenindo a sua agregação através de forças repulsivas. Uma concentração mais alta de citrato de sódio permitiu a obtenção de nanopartículas menores (maior área superficial), pois nessas condições, o sistema possui uma maior capacidade de estabilizar superfície.

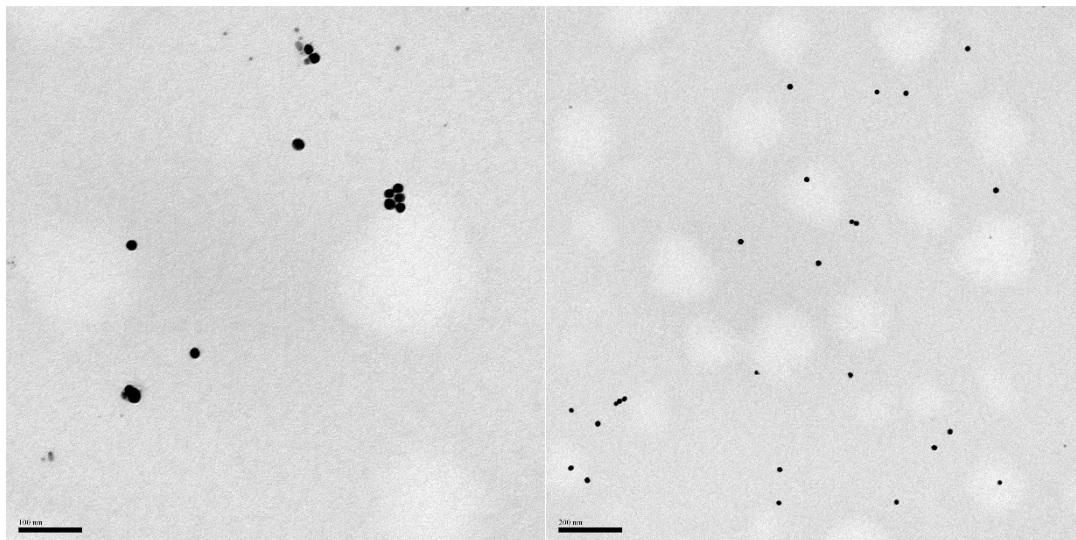
Figura 7 - Estabilização de partículas de ouro por citrato de sódio



Fonte: Turkevich et al., (1951)

A Figura 8 apresenta imagens de TEM, em diferentes magnificações, para as AuNSs obtidas na síntese utilizando 6,5 mL de solução de agente redutor. As partículas obtidas apresentaram forma aproximadamente esférica e com pequenas variações em seu diâmetro médio, conforme esperado para essa amostra com base na cor e espectros já discutidos.

Figura 8 - Imagens de TEM de AuNPs preparadas em solução aquosa em diferentes magnificações



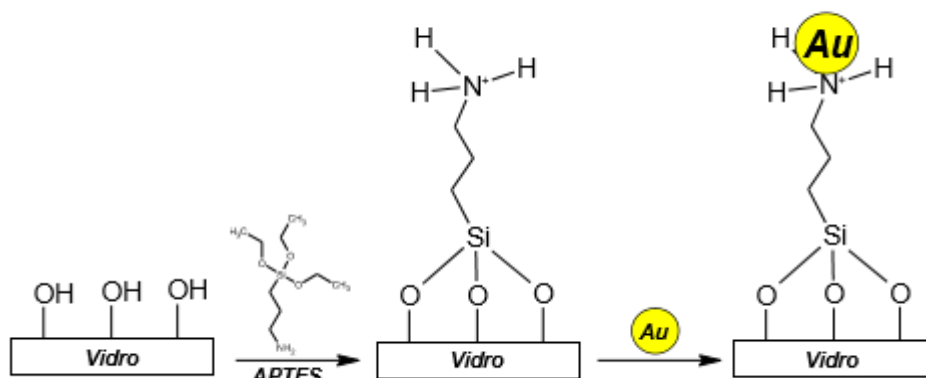
Fonte: Aatoria própria (2018)

5.2 SUBSTRATO PLASMÔNICO

As suspensões de AuNPs foram então empregadas para produção de substratos plasmônicos, as quais foram obtidos através da imobilização do material nanoparticulado sobre vidro ativado. Para isso as lâminas de vidro foram inicialmente imersas em “solução piranha”, a qual possui duas funções: a primeira é a limpeza do material e a segunda é de promover hidroxilação da superfície do vidro. Desse modo, moléculas de APTES podem ser adsorvidas, através da condensação com grupos $-OH$ da superfície do vidro.

As moléculas de APTES imobilizada sobre vidro hidroxilado permitem a imobilização de AuNPs através de interação física com agrupamento amina protonada. As etapas reacionais envolvidas no processo de imobilização das AuNPs sobre o vidro estão esquematicamente mostradas na Figura 9.

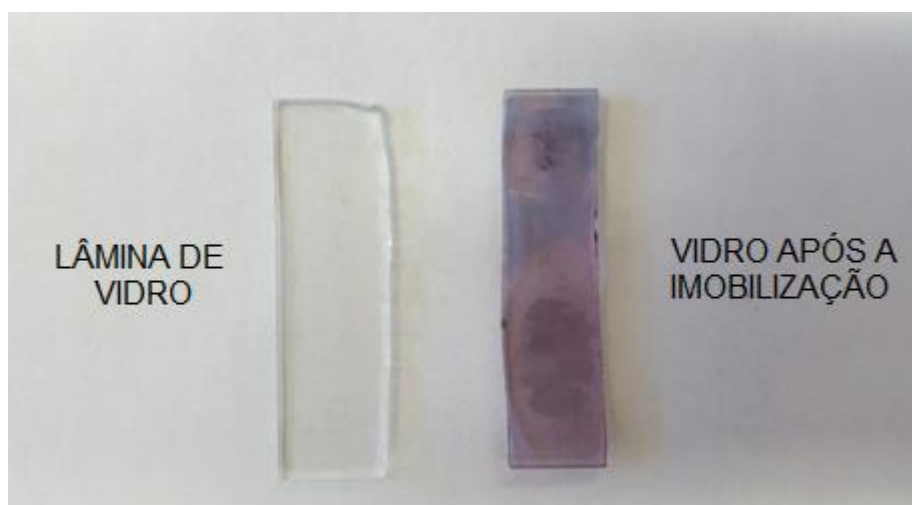
Figura 9 - Representação esquemática das etapas reacionais envolvidas com a imobilização de AuNPs sobre superfície do vidro



Fonte: Miranda (2015)

Os substratos foram produzidos utilizando todas as condições de nanopartículas sintetizadas e dois tempos de APTES, 1 e 4 horas. A Figura 10 é uma imagem do substrato produzido a partir de solução de AuNSs sintetizada com 7,0 mL de solução de citrato de sódio por meio da imobilização descrita anteriormente. A cor vermelho/roxo indica que houve depósito de nanopartículas sobre a superfície do vidro.

Figura 10 - Substratos plasmônicos produzidos com APTES 1% (m/v) com tempo de imobilização de 4 horas para condução de 7,0 mL de citrato de sódio



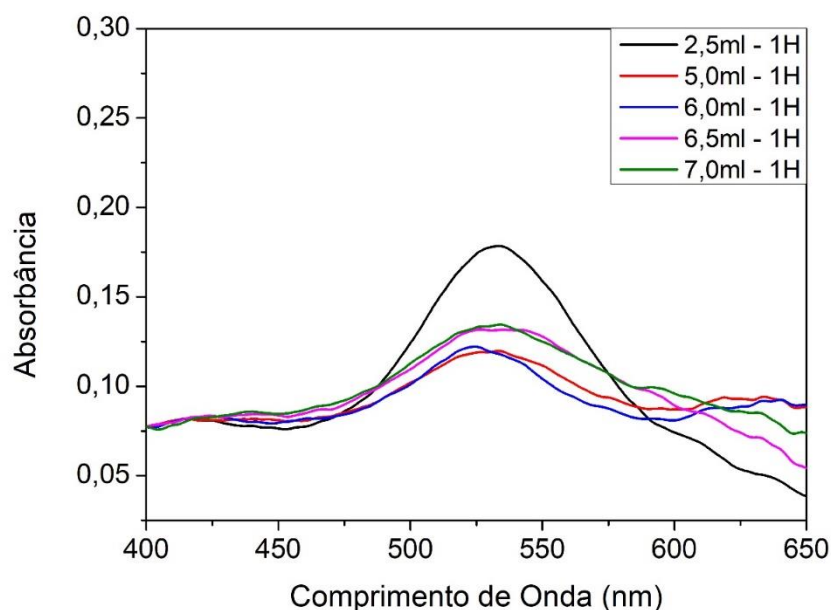
Fonte: Autoria própria (2018)

Como pode ser observado na Figura 10 (e o mesmo ocorreu para os demais substratos preparados), ocorreram a formação de manchas de colorações roxo escuro. Isso indica que houve uma aglomeração de partículas na área, podendo resultar em um aumento do valor de FWHM. Tentou-se contornar, sempre que possível, essa falta de homogeneidade de imobilização por meio da limpeza rigorosa das lâminas de vidro e homogênea ativação com APTES.

Os espectros dos substratos foram obtidos a fim de verificar o deslocamento do $\lambda_{\text{máx}}$ e a FWHM, visto que são fatores importantes para o emprego de nanopartículas como sensor.

A Figura 11 apresenta os espectros obtidos para os substratos produzidos com 1 hora de incubação no APTES. A partir dos dados obtidos foi construída a Tabela 3 com o $\lambda_{\text{máx}}$ e a FWHM.

Figura 11 - Espectros de absorção dos substratos plasmônicos baseados em nanopartículas de ouro obtidos com tempo de incubação em substrato ativado sob 1 h de APTES



Fonte: Autoria própria (2018).

Tabela 3 – Comprimento de onda do máximo de absorção e largura de banda na meia altura para substratos plasmônicos obtidos com tempo de incubação de 1 hora no APTES

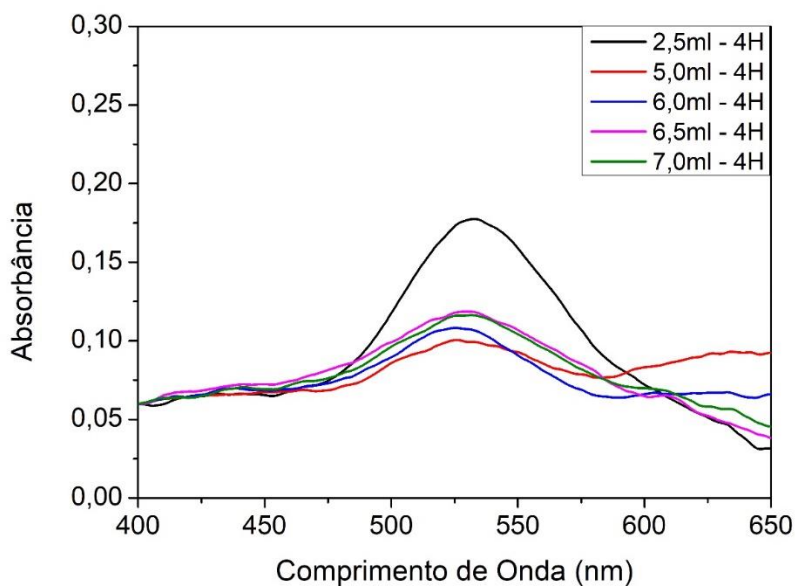
CITRATO (mL)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	FWHM (nm)
2,5	533,4	63,8
5,0	533,2	63,2
6,0	524,6	50,9
6,5	526,8	92,1
7,0	534,2	74,6

Fonte: Autoria própria (2018).

Como pode ser observado, houve um deslocamento do $\lambda_{\text{máx}}$ para maiores valores e um alargamento da FWHM quando comparados aos valores da Tabela 2 (AuNSs em suspensão aquosa). Isso ocorre devido à menor distância interpartícula após a produção do filme. É possível observar ainda um aumento nas larguras de banda para as AuNPs nos substratos plasmônicos, com exceção do substrato produzido com 2,5 mL de solução de citrato de sódio, no geral, as bandas ficaram mais alargadas indicando menor homogeneidade de tamanho, possivelmente por conta de processos de agregação ocorrido durante a produção do filme.

A Figura 12 apresenta os espectros obtidos para os substratos produzidos com 4 horas de incubação no APTES. A partir dos dados obtidos foi construída a Tabela 4 com o $\lambda_{\text{máx}}$ e a FWHM.

Figura 12 - Espectros de absorção dos substratos plasmônicos baseados em nanopartículas de ouro obtidos com tempo de incubação em substrato ativado sob 4 h de APTES



Fonte: Autoria própria (2018).

Tabela 4 – Comprimento de onda do máximo de absorção e largura de banda na meia altura para substratos plasmônicos obtidos com tempo de incubação de 4 horas no APTES

CITRATO (mL)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	FWHM (nm)
2,5	532,8	66,9
5,0	525,8	63,3
6,0	525,4	53,2
6,5	531,0	68,5
7,0	531,4	61,1

Fonte: Autoria própria (2018)

As mesmas características observada para os substratos produzidos com 1 hora foram também tidas para os substratos produzidos com 4 horas de ativação do APTES. Houve um deslocamento do $\lambda_{\text{máx}}$ para maiores valores (partículas maiores ou mais juntas) e um alargamento da FWHM, quando comparados aos valores da

Tabela 2. A mudança de comportamento indica que as características espectrais de avaliação do sistema (posição de $\lambda_{\text{máx}}$, FWHM e intensidade de banda) para escolha da provável melhor condição só pode ser feita após a imobilização de AuNPs sobre o substrato. Além disso, deve ser destacado que o pior FWHM é inerente ao processo de adsorção de AuNSs sobre vidro e devem sempre ser esperadas. Finalmente, não foi observada uma melhora sensível na qualidade dos substratos obtidos com o emprego de ativação por 4 h, como esperado.

5.3 SENSIBILIDADE DOS SUBSTRATOS LSPR

Todos os substratos produzidos foram submetidos a testes de sensibilidade com o objetivo de determinar possíveis aplicações em sensores.

Para isso foram preparadas soluções de sacarose com concentrações crescentes e obtidos os índices de refração (IR) para cada solução. Os dados obtidos podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 – Índice de refração para soluções de sacarose em água

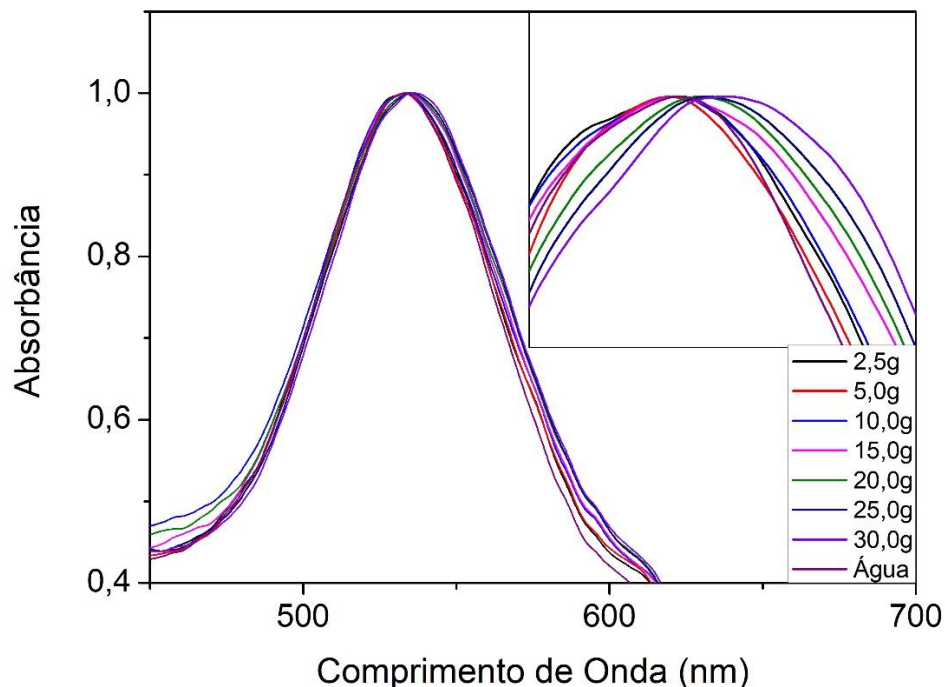
Sacarose (g)/50 mL Água	IR
2,5000	1,3403
5,0000	1,3464
10,0000	1,3613
15,0000	1,3756
20,0000	1,3838
25,0000	1,4041
30,0000	1,4166

Fonte: Autoria própria (2018).

A variação no índice de refração é uma das maneiras de se validar a utilização de AuNPs como sensor, visto que essa mudança no IR do meio deve perturba sensivelmente o LSPR gerado nas partículas resultando em uma variação observável na posição do $\lambda_{\text{máx}}$, ou seja, deslocamento para maiores comprimentos de onda no máxima de absorção.

A Figura 13 apresenta os espectros de um dos substratos obtidos para o teste com as diferentes soluções de sacarose.

Figura 13 - Espectros de absorção do substrato plasmônico, amostra 2,5 mL – 1H, frente as diferentes concentrações de soluções de sacarose



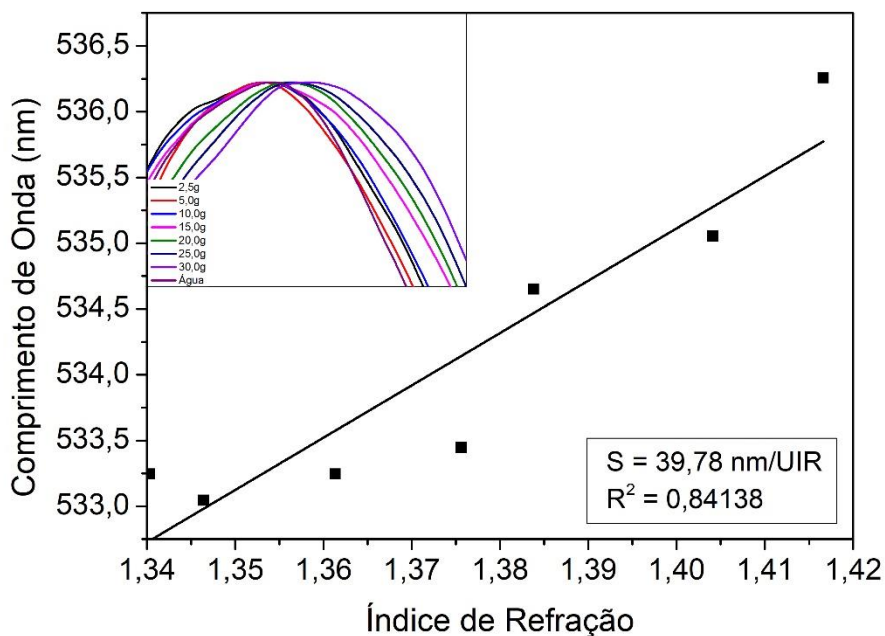
Fonte: Autoria própria (2018).

Fica evidente o deslocamento da banda para maiores comprimentos de onda à medida que o IR aumentou. Esse é um comportamento buscado, já que isso mostra que os substratos respondem às variações de índices de refração sobre a superfície dos mesmos. Sendo assim a presença de moléculas adsorvidas na superfície poderiam hipoteticamente serem detectadas através do monitoramento de espectros de absorção utilizando esse substrato.

A partir dos espectros foram obtidos todos os $\lambda_{\text{máx}}$ para os substratos e plotados contra os Índices de refração apresentados na Tabela 5. A inclinação da curva obtida é denominada de sensibilidade (S) e é utilizado para identificar a resposta do sensor frente as variações de IR, além de ser um parâmetro quantitativo para comparação com outros dispositivos.

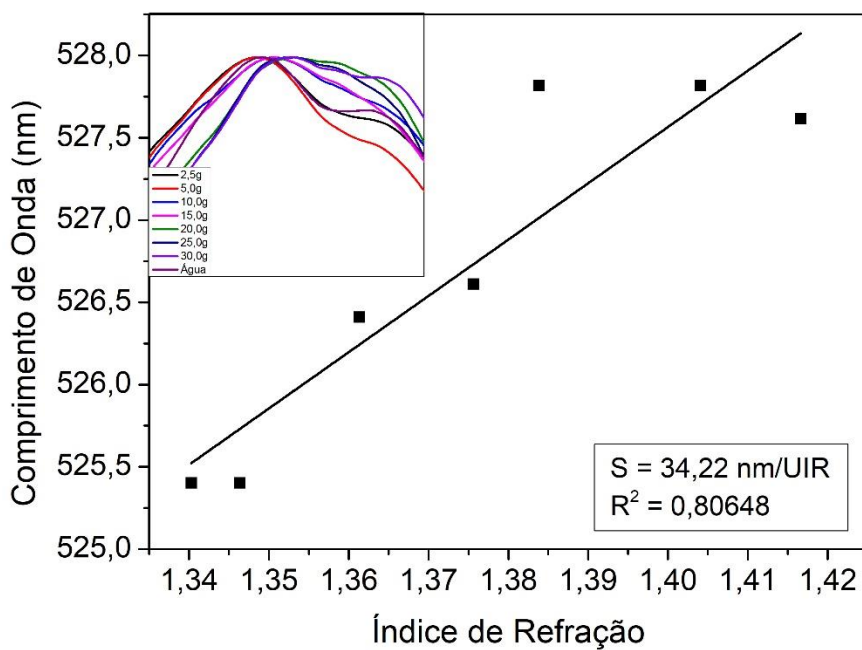
As Figuras 14, 15, 16 e 17 apresentam os gráficos de sensibilidade dos substratos que apresentaram as melhores respostas frente as variações de IR.

Figura 14 - Curva de sensibilidade para substrato, amostra 2,5 mL – 1H, para diferentes concentrações de soluções de sacarose



Fonte: Autoria própria (2018).

Figura 15 - Curva de sensibilidade para substrato, amostra 5,0 mL – 4H, para diferentes concentrações de soluções de sacarose



Fonte: Autoria própria (2018).

Figura 16 - Curva de sensibilidade para substrato, amostra 6,5 mL – 4H, para diferentes concentrações de soluções de sacarose

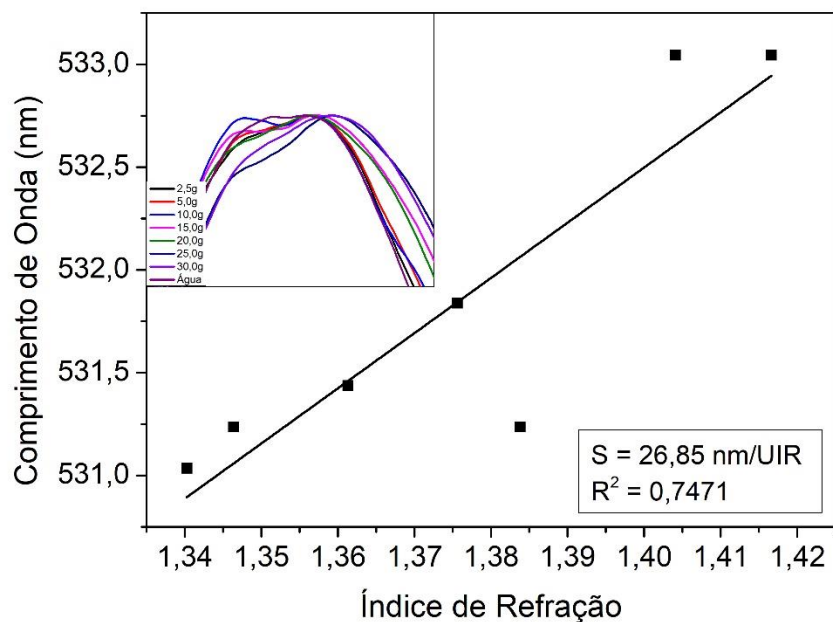
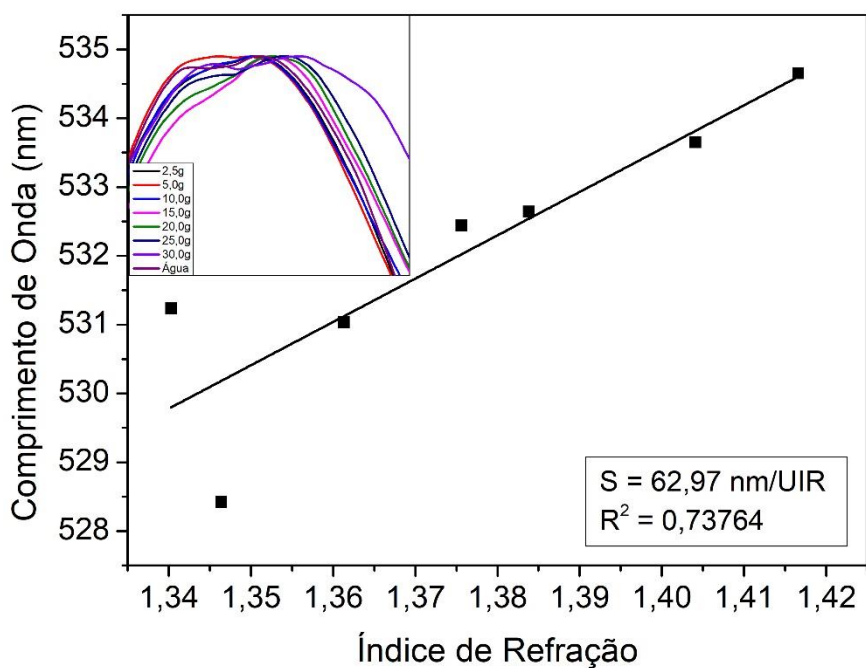


Figura 17 - Curva de sensibilidade para substrato, amostra 7,0 mL – 4H, para diferentes concentrações de soluções de sacarose



A Tabela 6 apresenta os dados que foram utilizados para construção das curvas de calibração das Figuras 14, 15, 16 e 17.

Tabela 6 – Dados obtidos para os melhores substratos

IR	Substrato	Substrato	Substrato	Substrato
	2,5 mL–1H	5,0 mL–4H	6,5 mL–4H	7,0 mL–4H
1,3403	533, 2458	525,4030	531,0349	531,2360
1,3464	533,0448	525,4030	531,2360	528,4209
1,3613	533, 2458	526,4092	531,4370	531,0350
1,3756	533,4466	526,6103	531,8390	532,4419
1,3838	534,6521	527,8174	531,2360	532,6429
1,4041	535,0539	527,8174	533,0448	533,6476
1,4166	536,2590	527,6163	533,0448	534,6521

Fonte: Autoria própria (2018).

Como pode ser observado, os substratos apresentaram respostas que variam de 26 a 62 nm/UIR e R^2 próximos a 0,75, o que não seria o ideal já que é buscada curvas de sensibilidade com R^2 próximos a 1. Contudo, pode ser verificado que o comportamento mais confiável e a sensibilidade mais equilibrada foi visualizada para a amostra 2,5 mL – 1H.

5.4 SENSIBILIDADE DOS SUBSTRATOS LSPR EM COMPOSTOS ORGÂNICOS

Diante da determinação dos melhores substratos a partir do teste de sensibilidade com sacarose, um novo teste de sensibilidade com compostos orgânicos foi também executado para todas as condições. Isso foi feito tendo em vista dois objetivos: o primeiro é avaliar o comportamento dos substratos em diferentes meios e o segundo seria obter uma curva de sensibilidade com uma faixa de IR maior e com maiores intervalos quando comparados com os IR obtidos para soluções de sacarose.

Inicialmente foi avaliada a possível deterioração do substrato frente a aplicação em diferentes solventes orgânicos, dentre eles acetona, etanol, hexano, clorofórmio e tolueno. Não foi observado lixiviamento de AuNSs após a exposição

dos substratos nos diferentes solventes testados. Isso indica que os substratos aqui propostos possam ter uma gama maior de aplicabilidade, já que foram estáveis em diversos meios.

Com relação ao teste de sensibilidade, os diferentes compostos orgânicos foram selecionados visando uma faixa de IR maior e com maiores intervalos e a partir deles foi construída a Tabela 7 em que estão representados os respectivos IR de cada solvente orgânico utilizado e também o IR da água.

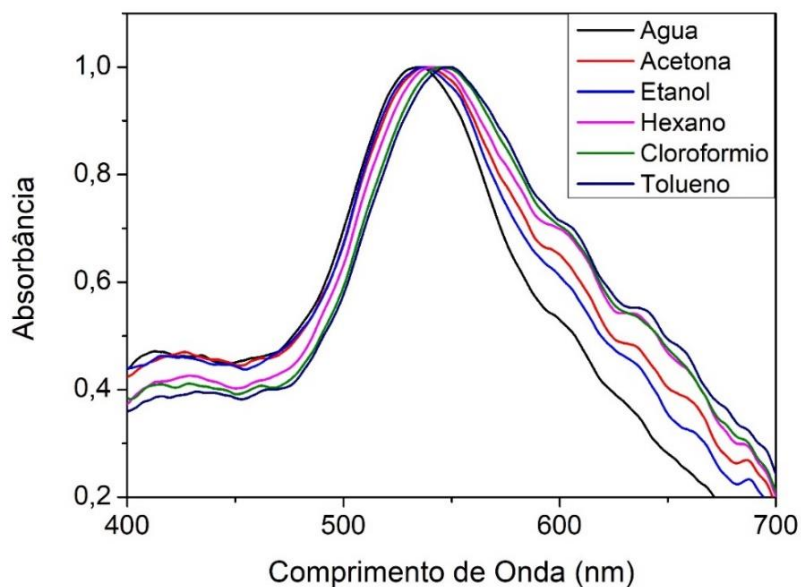
Tabela 7 – Água e compostos orgânicos com seus respectivos IR

Compostos Orgânicos	IR
Água	1,33
Acetona	1,359
Etanol	1,361
Hexano	1,381
Clorofórmio	1,446
Tolueno	1,497

Fonte: A autoria própria (2018).

Após os substratos serem submetidos ao teste, os espectros foram analisados. A Figura 18 apresenta o espectro referente a melhor condição de substrato, em que fica claro o deslocamento da posição do $\lambda_{\text{máx}}$ conforme a perturbação do meio, algo positivo para obtenção de um sensor.

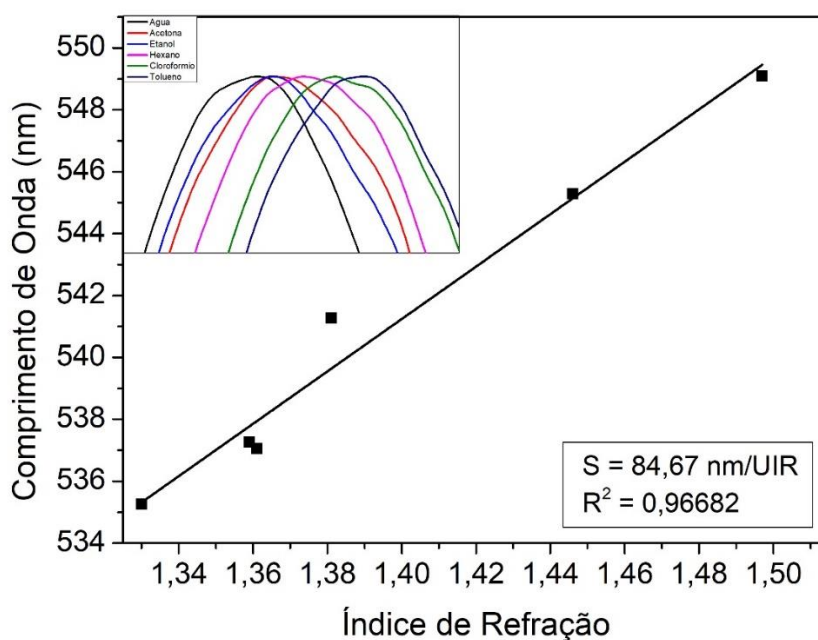
Figura 18 - Espectros de absorção do substrato plasmônico, amostra 2,5 mL – 1H, frente ao emprego dos diferentes compostos orgânicos



Fonte: Autoria própria (2018).

Os $\lambda_{\text{máx}}$ foram destacados e plotados contra o IR para verificar a sensibilidade, conforme a Figura 19.

Figura 19 - Curva de sensibilidade para substrato, amostra 2,5 mL – 1H, para o emprego dos diferentes compostos orgânicos



Fonte: Autoria própria (2018).

A utilização de compostos que englobam uma maior faixa IR representou uma significativa melhora tanto na sensibilidade, indo de 39,78 para 84,67 nm/UIR, quanto no R^2 , onde valores entre 0,84138 e 0,96682 foram visualizados. Isso indica que os substratos plasmônicos possam apresentar melhor aplicabilidade em situações de maiores faixas e intervalos de IR.

Novamente o melhor substrato foi a amostra 2,5 mL – 1H. Isso pode ser justificado pois, dentre todos substratos produzidos, nele que foi visualizada a maior intensidade de absorção e umas das mais baixas FWHM (63,8 nm, olhar Tabela 3). Esses são fatores que devem ter contribuído para esse resultado. Além disso, para essa amostra especificamente, uma das bandas LSPR menos energética foi obtida, ocorrendo em $\lambda_{\text{máx}} = 533,4$ nm (olhar Tabela 3). Modos plasmônicos menos energéticos contribuem para obtenção de substratos mais sensíveis (MONTEIRO, 2013). De maneira geral, o equilíbrio entre todos os parâmetros espectrais é que fez dessa amostra a escolhida para teste em aplicação como sensor de combustível adulterado.

5.5 APLICAÇÃO DOS SUBSTRATOS LSPR PARA DETERMINAÇÃO DE MISTURAS ÁGUA/ETANOL

Diante dos testes realizados anteriormente, determinou-se que a melhor condição para construção de um sensor são os substratos produzidos com nanopartículas sintetizadas com 2,5 mL de solução de citrato de sódio e com tempo de 1 h para ativação de substrato com APTES.

Dada a melhor condição, a mesma foi submetida a um teste para verificar sua sensibilidade e possível aplicabilidade para etanol combustível. Para isso foram obtidas soluções com diferentes proporções de etanol/água e os IR foram obtidos. A Tabela 8 apresenta os resultados de IR para cada mistura.

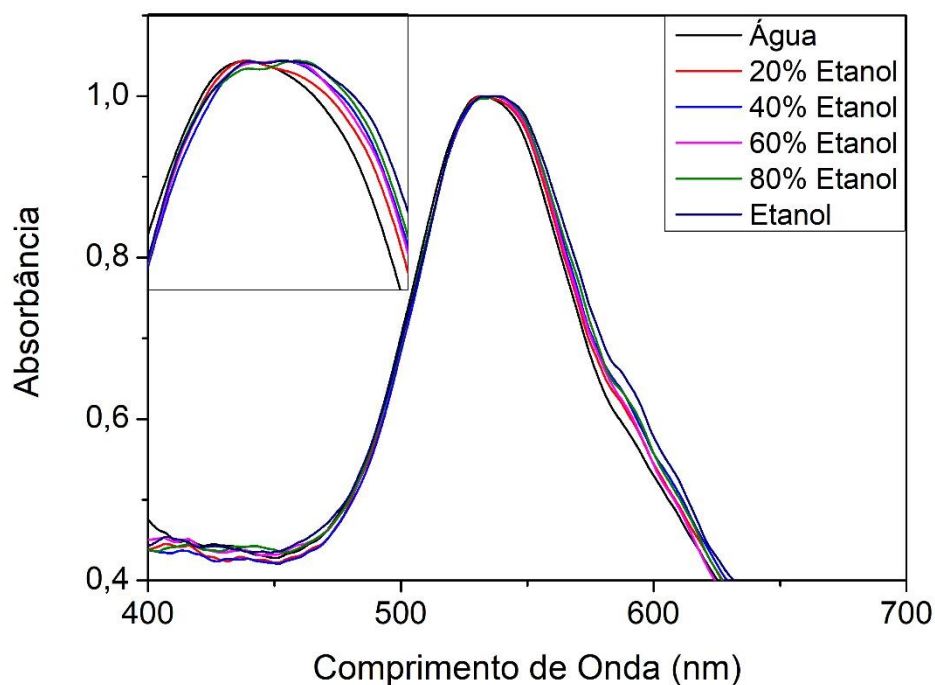
Tabela 8 – Proporções Etanol/Água e seus respectivos IR

Etanol (%)	Água (%)	IR
0	100	1,3300
20	80	1,3446
40	60	1,3539
60	40	1,3614
80	20	1,3642
100	0	1,3639

Fonte: Autoria própria (2018).

Os espectros obtidos após imersão da amostra 2,5 mL – 1H em cada mistura etanol/água são apresentados na Figura 20.

Figura 20 - Espectros de absorção do substrato plasmônico 2,5 mL – 1H frente as diferentes proporções Etanol/Água



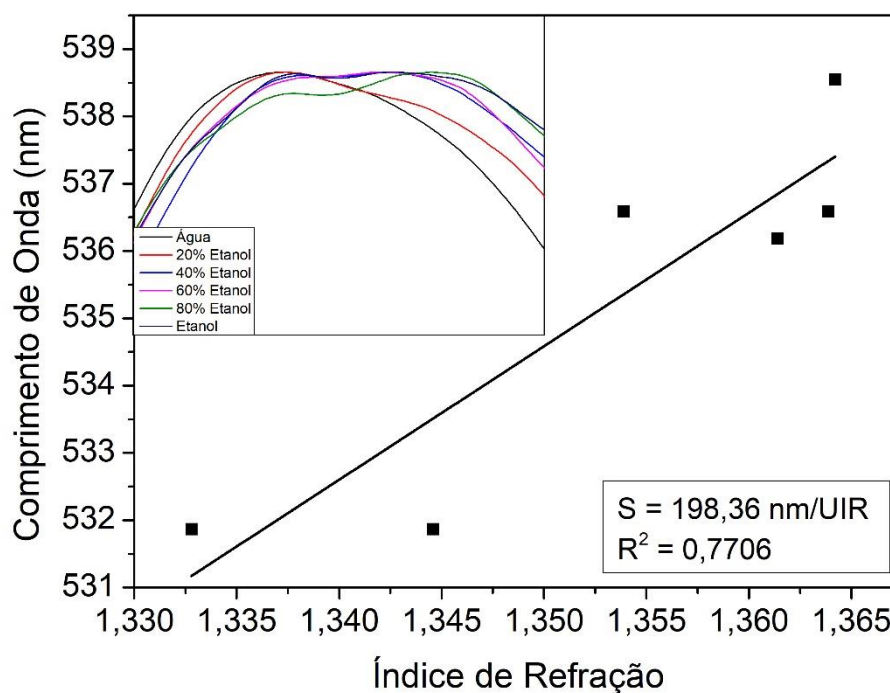
Fonte: Autoria própria (2018).

O deslocamento da banda para maiores comprimentos de onda acontece à medida que o IR aumentou, isto é, a medida que a proporção de etanol na mistura

aumentou. Entretanto de maneira menos acentuada que para os compostos orgânicos (olhar Figura 18). Esse comportamento pode ser justificado pelos IR próximos, visto que variam de 1,3300 a 1,3639. Já tinha sugerido que a sensibilidade do substrato seria menor para situações a faixa de IR fosse pequena.

Em posse dos IR e dos $\lambda_{\text{máx}}$ foi possível obter uma curva de calibração, Figura 21, ao qual é obtida a sensibilidade do sistema.

Figura 21 - Curva de sensibilidade para substrato 2,5 mL – 1H para as diferentes misturas etanol/água



Fonte: Autoria própria (2018).

A inclinação da curva obtida foi de 198,36 nm/UIR, a qual é um valor considerado bom tendo em vista dos valores obtidos para os diferentes testes de sensibilidades desenvolvidos ao longo do trabalho. Contudo, o valor de R^2 de 0,7706 mostra que o substrato é pouco confiável para a determinação precisa utilizando esse ajuste. O desempenho analítico ainda pode ser melhorado se for utilizada substratos mais otimizados, com respeito à uma maior homogeneidade das AuNSs e uma posição mais deslocada para o vermelho do $\lambda_{\text{máx}}$. Além disso, a produção de substratos com múltiplas camadas de AuNSs deve aumentar muito a intensidade de

banda para o substrato. Isso também pode ser buscado. Tem-se notado que a intensidade de banda deva ser o fator que principalmente influencia na melhora da sensibilidade do substrato.

6 CONCLUSÃO

Foram obtidas AuNSs de diferentes diâmetros (ao redor de 20 nm) e com boa homogeneidade empregando quantidades diferentes de citrato de sódio

Os substratos contendo filme de AuNSs de diferentes diâmetros foram obtidos e ficou evidenciado que a largura de banda tende a piorar e as partículas tendem a absorção em maiores comprimentos de onda devido ao processo de adsorção.

O aumento do tempo de ativação por APTES não surgiu o efeito esperado de aumento de quantidade de partículas e melhora na qualidade do substrato.

A melhor sensibilidade foi para amostra 2,5 mL- 1H. Os testes de sensibilidade mostraram que um desempenho melhor é visto quando uma faixa maior e mais espaçada de IR são aplicados.

O substrato, na melhor condição, mostrou que é capaz de detectar misturas etanol/água de diferentes concentrações com uma sensibilidade relativamente boa. Contudo o ajuste linear não foi satisfatório que indica que o substrato não tem boa confiabilidade em uma determinação quantitativa.

Devido a estabilidade apresentada pelo substrato em diversos meios indica que outros combustíveis como diesel ou gasolina possam ser testados.

REFERÊNCIAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT-NBR – 5992: Álcool etílico e suas misturas com água – **Determinação da massa específica e do teor alcóolico – método de densímetro de vidro**. Rio de Janeiro. Brasil. 2008.

BALLESTEROS, C. A. S. **Síntese e Caracterização de Nanopartículas Fe₃O₄@Au e desenvolvimento de sensores para aplicações em nanomedicina**. 2012. 102 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

BARNES, William L.; DEREUX, Alain; EBBESEN, Thomas W. Surface plasmon subwavelength optics. **nature**, v. 424, n. 6950, p. 824, 2003.

CAI, Xiaojun; GAOA, Xia; WANGA, Lisha; WUA, Qi; LIN, Xianfu. A layer-by-layer assembled and carbon nanotubes/gold nanoparticles-based bienzyme biosensor for cholesterol detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 181, p. 575-583, 2013.

CAO, X.; YE, Y.; LIU, S. Gold nanoparticle-based signal amplification for biosensing. **Anal Biochem**, v. 417, p. 1-16, 2011.

CASTRO, E. G. de. **Nanopartículas de Platina e seus Nanocompósitos com Nanotubos e Outras formas de Carbono: Preparação, Caracterização e Propriedades**. 2009. 181 f. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

CRUZ, D. S. de M. G. **Biosíntese e caracterização de nanopartículas metálicas**. 2010. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciência, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2010.

DA SILVA, Antônio L. C. M.; GUTIERRES Marony G.; THESING, Anderson; LATTUADA, Rafael M.; FERREIRA, Jacqueline. SPR biosensors based on gold and silver nanoparticle multilayer films. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 5, p. 928-934, 2014.

DAMOS, F. S.; MENDES, R. K.; KUBOTA, L. T. Aplicações de QCM, EIS e SPR na investigação de superfícies e interfaces para o desenvolvimento de (bio) sensores. **Química Nova**, v. 27 n. 6, p. 970-979, 2004.

GHOSH, S. K.; Pal, T. Interparticle Coupling Effect on the Surface Plasmon Resonance of Gold Nanoparticles: From Theory to Applications. **Chemical Reviews**, v. 107, p. 4797–4862, 2007.

HUTTER, Eliza; MAYSINGER, Dusica. Gold-nanoparticle-based biosensors for detection of enzyme activity. **Trends in pharmacological sciences**, v. 34, n. 9, p. 497-507, 2013.

JUNIOR, M. A. M.; 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. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872-1878, 2012.

LEE, Kyeong-Seok; EL-SAYED, Mostafa A. Gold and silver nanoparticles in sensing and imaging: sensitivity of plasmon response to size, shape, and metal composition. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 39, p. 19220-19225, 2006.

LI, Jingchao; LI, Jia'En Jasmine; ZHANG, Jing; WANG, Xinlong; KAWAZOE, Naoki; CHEN, Guoping. Gold nanoparticle size and shape influence on osteogenesis of mesenchymal stem cells. **Nanoscale**, v. 8, n. 15, p. 7992-8007, 2016.

LOWINSOHN, Denise; BERTOTTI, Mauro. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318-1325, 2006.

MASSON, Jean-Francois. Surface plasmon resonance clinical biosensors for medical diagnostics. **ACS sensors**, v. 2, n. 1, p. 16-30, 2017.

MIRANDA, Henrique P. P. **Síntese e Caracterização de nanopartículas de ouro de diferentes tamanhos para aplicação em sensores plasmônicos**. 2015. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso II (Licenciatura em Química). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, 2015.

MONTEIRO, Johny P. **Biossensores Baseados Em Ressonância De Plasmon De Superfície Utilizando Arranjos De Nanoburacos, Superfícies Com Grades De Relevo E Compósito De Hidrogel/Nanopartículas De Ouro**. 2015. 125 f. Tese (Doutorado em Química). Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2015.

MONTEIRO, Johny P.; CARNEIRO, leandro B.; RAHMAN, Mohammad M.; BROLO, Alexandre G.; SANTOS, Marcos J. L.; FERREIRA, Jacqueline; GIROTTO, Emerson M. Effect of periodicity on the performance of surface plasmon resonance sensors based on subwavelength nanohole arrays. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 178, p. 366-370, 2013.

NATH, Nidhi; CHILKOTI, Ashutosh. Label-free biosensing by surface plasmon resonance of nanoparticles on glass: optimization of nanoparticle size. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 18, p. 5370-5378, 2004.

NEKOUIAN, Reza; KHALIFE, Najme Javdani; SALEHI, Zahra. Development of Gold Nanoparticle Based Colorimetric Biosensor for Detection of Fibronectin in Lung Cancer Cell Line. **Adv Tech Biol Med**, v. 2, n. 118, p. 2379-1764.1000118, 2014.

NETO, Gaudêncio Jerônimo de Souza; MARINHO, Karoline Lins Câmara; NETO, Otacílio dos Santos Silveira. Responsabilidade Civil dos Distribuidores e Revendedores por Adulteração de Combustíveis à Luz do Direito do Consumidor. In: **Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás**, 3., 2005, Salvador - BA. Anais... Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás - IBP. Rio grande do Norte: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2005. p. 1-6.

PETRYAYEVA, Eleonora; KRULL, Ulrich J. Localized surface plasmon resonance: nanostructures, bioassays and biosensing—a review. **Analytica chimica acta**, v. 706, n. 1, p. 8-24, 2011.

PIMPANG, Pichitchai; CHOOPUN, Supab. Monodispersity and stability of gold nanoparticles stabilized by using polyvinyl alcohol. **Chiang Mai J. Sci**, v. 38, n. 1, p. 31-38, 2011.

ROCHA-SANTOS, Teresa AP. Sensors and biosensors based on magnetic nanoparticles. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 62, p. 28-36, 2014.

SHANKARAN, Dhesingh Ravi; GOBI, K. Vengatajalabathy; MIURA, Norio. Recent advancements in surface plasmon resonance immunosensors for detection of small molecules of biomedical, food and environmental interest. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 121, n. 1, p. 158-177, 2007.

STEWART, M. E.; ANDERTON, C. R.; THOMPSON, L. B.; MARIA, J.; GRAY, S. K.; ROGERS, J. A.; NUZZO, R. G. Nanostructured plasmonic sensors. **Chem. Rev.**, v. 108, p. 494-521, 2008.

TURKEVICH, John; STEVENSON, Peter Cooper; HILLIER, James. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, p. 55-75, 1951.

WILLETS, Katherine A.; VAN DUYN, Richard P. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. **Annu. Rev. Phys. Chem.**, v. 58, p. 267-297, 2007.

ZAMARION, V. **Estudos e aplicações de ressonância plasmônica superficial em nanosondas SERS**. 2008. 90f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.