



UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, INOVAÇÃO E
DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO

COORDENADORIA DE PESQUISA E
PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS

Avaliação da Incorporação de Nanopartículas de
Ouro em Filmes Automontados de Polieletrólitos
Fracos

Tatiane Michele Popiolski

Caxias do Sul

2011

Tatiane Michele Popiolski

Avaliação da Incorporação de Nanopartículas de Ouro em Filmes
Automontados de Polieletrólitos Fracos

“Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Materiais da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção do grau de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais”, com a orientação da Profª Drª Giovanna Machado, e a co-orientação da Profª Drª Janaina da Silva Crespo.

Caxias do Sul, 2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
UCS - BICE - Processamento Técnico

P828a Popiolski, Tatiane Michele, 1986-
Avaliação da incorporação de nanopartículas de ouro em filmes
automontados de polieletrólitos fracos / Tatiane Michele Popiolski. -
2011.
xiii, 87 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul,
Programa de Pós-Graduação em Materiais, 2011.
Orientadora: Profª. Drª. Giovanna Machado; co-orientadora:
Profª. Drª. Janaina da Silva Crespo.

1. Nanotecnologia. 2. Filmes finos. I. Título.

CDU: 620.3

Índice para o catálogo sistemático:

- | | |
|-------------------|---------|
| 1. Nanotecnologia | 620.3 |
| 2. Filmes finos | 621.794 |

Catalogação na fonte elaborada pela Bibliotecária
Marcia Carvalho Rodrigues – CRB 10/1411

“Avaliação da incorporação de nanopartículas de ouro em filmes automontados de polieletrólitos fracos.”

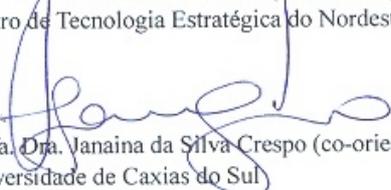
Tatiane Michele Popiolski

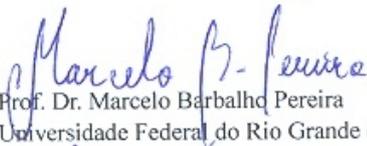
Dissertação de Mestrado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Materiais da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais, Área de Concentração: Processamento e Simulação de Materiais.

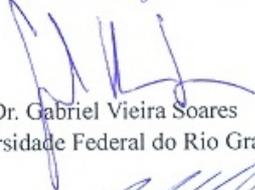
Caxias do Sul, 08 de julho de 2011.

Banca Examinadora:


Prof. Dra. Giovanna Machado (orientadora)
Centro de Tecnologia Estratégica do Nordeste


Prof. Dra. Janaina da Silva Crespo (co-orientadora)
Universidade de Caxias do Sul


Prof. Dr. Marcelo Barbalho Pereira
Universidade Federal do Rio Grande do Sul


Prof. Dr. Gabriel Vieira Soares
Universidade Federal do Rio Grande do Sul


Prof. Dr. Márcio Ronaldo Farias Soares
Universidade de Caxias do Sul


Prof. Dr. Rudinei Fiorio
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul

TRABALHOS APRESENTADOS

Congresso: 7th International Macromolecular Colloquium, 2010, Gramado-RS.

Título: Adsorption of Gold Nanoparticles in Multilayers of Weak Polyelectrolytes.

Autores: Tatiane M. Popiolski, Nicolle Dal'Acqua, Cíntia L. Amorin, Renato B. Silva, Janaina S. Crespo e Giovanna Machado.

Congresso: IX Brazilian MRS Meeting, 2010, Ouro Preto-MG.

Título: Adsorption of Gold Nanoparticles in Multilayers of Weak Polyelectrolytes.

Autores: Tatiane M. Popiolski, Nicolle Dal'Acqua, Raquel Milani, Renato B. Silva, André Galembeck, Marcelo B. Pereira e Giovanna Machado.

Congresso: The Polymer Processing Society, 27th Annual Meeting, 2011, Marrakesh - Marroco.

Título: Evaluation of the Diffusion Gold Nanoparticles in Films of Weak Polyelectrolytes.

Autores: Tatiane M. Popiolski, Cíntia L. Amorin, André Galembeck, Marcelo B. Pereira, Janaina S. Crespo e Giovanna Machado.

Congresso: 3rd French Brazilian Meeting on Polymers

Título: Gold Nanoparticles stabilized with PVP and sodium citrate in multilayer films.

Autores: Tatiane M. Popiolski, Nicolle Dal'Acqua, Cíntia L. Amorin, Renato B. Silva, Marcelo B. Pereira, Janaina S. Crespo e Giovanna Machado.

Congresso: 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Título: Estudo de Nanopartículas de Ouro estabilizadas com PVP e reduzidas com citrato de sódio em filmes multicamadas de polieletrólitos fracos.

Autores: Tatiane M. Popiolski, Nicole Dal'acqua, Cíntia L. Amarin, André Galembeck, Renato B. Silva, Marcelo Pereira, Janaina S. Crespo, Giovanna Machado.

ARTIGO SUBMETIDO

Tatiane M. Popiolski, Nicolle Dal'Acqua, Cíntia L. Amarin, Renato B. Silva, André Galembeck, Marcelo B. Pereira, Marcelo Giovanela, Janaina S. Crespo e Giovanna Machado; *“Evaluation of the Gold Nanoparticles Diffusion in Films of Weak Polyelectrolytes”*, Journal of Nanoscience and Nanotechnology.

“De tudo, sobraram três coisas...

A certeza de que estamos sempre começando
A certeza de que é preciso continuar
A certeza de que sempre seremos interrompidos antes de terminar
Portanto devemos fazer
Da interrupção, um caminho novo
Da queda, um passo de dança
Do medo, uma escada
Do sonho, uma ponte
Da procura, um encontro.”

Fernando Sabino

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Giovanna Machado, não apenas uma orientadora, mas um exemplo. Obrigada pela orientação, ensinamentos, amizade e paciência.

À Prof^a. Dr^a. Janaina da Silva Crespo, pela orientação desse trabalho e pela amizade. Ao CNPq pela Bolsa de Estágio no País.

Às Professores Dr. Rudinei Fiorio e Dr. Márcio Soares pelas correções e contribuições que enriqueceram essa dissertação.

À Nicolle Dal'Aqua e Rosiana Boniati, bolsistas do Projeto, pelo inestimável apoio na execução das amostras.

À Raquel Milani por todo apoio, amizade e ajuda no decorrer deste trabalho.

À Cíntia L. G. Amorin pela atenção e paciência com as análises de raios X.

Ào Prof. Dr. Marcelo Pereira, pelas análises de espectroscopia e pelas contribuições nesta dissertação.

Ao Renato Barbosa, pelas soluções de ouro estabilizadas por PVP.

Ao Prof. Dr. Gabriel Soares pelas análises de RBS e também pelas contribuições neste trabalho.

Aos meus pais, Avelino e Clarice L.K. Popiolski, e toda minha família, por tudo...

À Juliane Bernardi, Ana Cláudia, e Francine Girardello, pela amizade e presença constante.

Aos professores e colegas do Mestrado em Materiais, e todos mais que colaboraram direta ou indiretamente na elaboração deste trabalho.

E em especial a Deus, pela grande força concedida para a realização de mais uma etapa em minha vida.

A todas as demais pessoas, que me ajudaram nesta dissertação, eis aqui o meu muito obrigado!

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE SIGLAS E ABREVIACÕES.....	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO I.....	4
1.1 Filmes Finos Nanoestruturados.....	4
1.2 Deposição <i>Layer by layer</i> (LbL).....	4
1.2.1 Técnicas de Obtenção de Filmes Finos.....	7
1.2.1.1 LbL por “Dip Coating”.....	7
1.2.1.2 “Spin Coating”.....	8
1.2.1.3 “Casting”.....	9
1.3 Preparaco de Materiais Nanoestruturados: Planar e Coloidal.....	10
1.4 Polieletrólitos.....	12
1.4.1 Classificaco dos Polieletrólitos.....	12
1.4.2 Caracterizaco e Aplicações dos Filmes Automontados de Polieletrólitos Fracos.....	14
1.5 Nanopartículas de Ouro (Au).....	18
1.6 Filmes Automontados de Polieletrólitos Fracos contendo Nanopartículas Metálicas.....	22
CAPÍTULO II.....	24
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
2.1 Preparaco e Limpeza das Amostras.....	24
2.2 Metodologia para Preparaco de Multicamadas de Polieletrólitos.....	24
2.3 Método de Reduco de Nanopartículas de Ouro por Citrato de Sódio.....	26

2.4 Nanopartículas de Ouro estabilizadas por PVP.....	26
2.5 Incorporação das Nanopartículas nos Filmes Finos.....	26
2.6 Técnicas de Caracterização dos Filmes Finos contendo NPs Au.....	27
2.6.1 Espectroscopia UV VIS – NIR.....	27
2.6.2 Difração de Raios X (DRX).....	28
2.6.3 Microscopia de Força Atômica (MFA).....	29
2.6.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	30
2.6.5 Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford (RBS)	31
CAPÍTULO III.....	33
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
3.1 Avaliação da Protonação dos Polieletrólitos Fracos.....	33
3.2 Espectroscopia UV VIS – NIR.....	34
3.3 Difração de Raios X (DRX).....	40
3.4 Microscopia de Força Atômica (MFA).....	43
3.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	52
3.6 Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford (RBS)	59
CAPÍTULO IV.....	64
4 CONCLUSÕES.....	64
CAPÍTULO V.....	67
5 REFERÊNCIAS.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema do processo de deposição usando lâminas de vidro. As etapas 1 e 3 representam a adsorção do poliânion e polication, respectivamente, e as etapas 2 e 4 são as lavagens em água deionizada em cada uma das etapas anteriores.....	5
Figura 2: Representação esquemática do processo de obtenção de filmes por <i>dip coating</i>	8
Figura 3: Representação esquemática do processo de obtenção de filmes por <i>spin coating</i>	9
Figura 4: Representação esquemática do processo de obtenção de filmes por <i>casting</i>	10
Figura 5: Fórmula estrutural dos polieletrólitos, PEI (poli(etileno imina)), PAH (Hidroclorato de Polialilamina) e PAA (poli(ácido acrílico)), utilizados neste estudo.....	14
Figura 6: Ilustração do processo de deposição dos filmes automontados de polieletrólitos.....	25
Figura 7: Espectros de UV VIS – NIR. (a) Soluções de NPs Au. Filmes automontados contendo NPs Au, (b) (PAH ₄ /PAA ₇) ₂₀ , (c) (PEI ₄ /PAA ₇) ₂₀ , (d) (PAH ₄ /PAA ₄) ₂₀ , (e) (PEI ₄ /PAA ₄) ₂₀ , (f) (PAH ₇ /PAA ₄) ₂₀ e (g) (PEI ₇ /PAA ₄) ₂₀	35
Figura 8: Espectros de UV VIS – NIR dos filmes automontados contendo NPs Au: (a) (PAH ₄ /PAA ₇) ₂₀ , (b) (PEI ₄ /PAA ₇) ₂₀ , (c) (PAH ₄ /PAA ₄) ₂₀ , (d) (PEI ₄ /PAA ₄) ₂₀ , (e) (PAH ₇ /PAA ₄) ₂₀ e (f) (PEI ₇ /PAA ₄) ₂₀	37
Figura 9: Difratogramas de raios X dos filmes contendo NPs Au estabilizadas com citrato ou PVP: (a) (PAH ₄ /PAA ₇) ₂₀ , (b) (PEI ₄ /PAA ₇) ₂₀ , (c) (PAH ₄ /PAA ₄) ₂₀ , (d) (PEI ₄ /PAA ₄) ₂₀ , (e) (PAH ₇ /PAA ₄) ₂₀ e (f) (PEI ₇ /PAA ₄) ₂₀	41
Figura 10: Imagens de MFA topografia e fase: a.1 (PAH ₄ /PAA ₇) ₂₀ , b.1 (PAH ₄ /PAA ₇) ₂₀ NPs Au PVP, c.1 (PAH ₄ /PAA ₇) ₂₀ NPs Au Citrato, a.2 (PEI ₄ /PAA ₇) ₂₀ , b.2 (PEI ₄ /PAA ₇) ₂₀ NPs Au PVP e c.2 (PEI ₄ /PAA ₇) ₂₀ NPs Au Citrato.....	44
Figura 11: Imagens de MFA topografia e fase: a.1 (PAH ₄ /PAA ₄) ₂₀ , b.1 (PAH ₄ /PAA ₄) ₂₀ NPs Au PVP, c.1 (PAH ₄ /PAA ₄) ₂₀ NPs Au Citrato, a.2 (PEI ₄ /PAA ₄) ₂₀ , b.2 (PEI ₄ /PAA ₄) ₂₀ NPs Au PVP e c.2 (PEI ₄ /PAA ₄) ₂₀ NPs Au Citrato.....	47
Figura 12: Imagens de MFA topografia e fase: a.1 (PAH ₇ /PAA ₄) ₂₀ , b.1 (PAH ₇ /PAA ₄) ₂₀ NPs Au PVP, c.1 (PAH ₇ /PAA ₄) ₂₀ NPs Au Citrato, a.2 (PEI ₇ /PAA ₄) ₂₀ , b.2 (PEI ₇ /PAA ₄) ₂₀ NPs Au PVP e c.2 (PEI ₇ /PAA ₄) ₂₀ NPs Au Citrato.....	49

Figura 2: Gráfico de rugosidades dos sistemas estudados.....	51
Figura 14: Imagem de MET dos filmes com incorporação de NPs Au PVP: (a) (PAH ₄ /PAA ₇) ₂₀ , (b) (PEI ₄ /PAA ₇) ₂₀ , (c) (PAH ₇ /PAA ₄) ₂₀ (d) (PEI ₇ /PAA ₄) ₂₀ e nas respectivas figuras (a1), (b1), (c1) e (d1) os histogramas das distribuições de tamanho das NPs Au estabilizadas com PVP.....	54
Figura 15: Imagem de MET dos filmes com incorporação de NPs Au estabilizadas com Citrato de sódio: (a) (PAH ₄ /PAA ₇) ₂₀ , (b) (PEI ₄ /PAA ₇) ₂₀ , (c) (PAH ₇ /PAA ₄) ₂₀ , (d) (PEI ₇ /PAA ₄) ₂₀ e nas respectivas figuras (a1), (b1), (c1) e (d1) os histogramas da distribuição de tamanho das NPs.....	56
Figura 16: Espectros de RBS das amostras: a) Espectro completo; Em detalhe região característica de cada filme: b) (PAH ₄ /PAA ₇) ₂₀ ; c) (PEI ₄ /PAA ₇) ₂₀ ; d) (PAH ₄ /PAA ₄) ₂₀ ; e) (PEI ₄ /PAA ₄) ₂₀ ; f) (PAH ₇ /PAA ₄) ₂₀ ; g) (PEI ₇ /PAA ₄) ₂₀ . Em linha com quadrados está representada a curva NPs Au PVP e em linha com triângulos os filmes com NPs Au Citrato.....	60

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

θ	Ângulo theta
cm ²	Centímetros quadrados
pKa	Cologaritmo da constante de acidez
λ	Comprimento de onda
Ka	Constante de acidez
DRX	Difração de Raios X
RBS	Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford (<i>Rutherford Backscattering Spectrometry</i>)
g	Gramas
°C	Graus Celsius
PAH	Hidrocloro de poli(alilamina)
NIR	Infravermelho Próximo
JCPDS	<i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards</i>
kHz	kilo Hertz
LbL	<i>Layer by layer</i>
L	Litros
MeV	Mega elétron volts
μm	Micrômetros
μm^2	Micrômetros quadrados
mm	Milímetros
mL	Mililitros
mmol	Milimol
m Ω	Mili ohms
MFA	Microscopia de Força Atômica
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
M	Molar
PEM	Multicamadas de polieletrólitos
NPs Au	Nanopartículas de ouro
nm	Nanômetros
PAA	Poli (ácido acrílico)

PEI	Poli (etileno imina)
PVP	Poli (vinilpirrolidona)
%	Porcentagem
K α	Radiação característica emitida por elemento
SA	<i>Self-assembly</i>
UV	Ultravioleta
VIS	Visível

RESUMO

A Nanotecnologia trouxe alguns novos desafios, como o desenvolvimento de qualidade e processos de síntese relativa a nanoestruturas baseado em substâncias inorgânicas e orgânicas. O desenvolvimento de novos materiais com compostos orgânicos e inorgânicos, em escala nanométrica, tem recebido destaque em primeiro plano na Ciência dos Materiais devido à grande potencialidade para aplicações, tais como compósitos, catálise, óptica não linear, sensores e sistemas microeletrônicos [1, 2]. O desenvolvimento de materiais nanoestruturados tem atraído grande interesse para a nova realidade tecnológica, devido ao amplo alcance de aplicações incluindo as propriedades catalíticas, magnéticas e fotônicas [3, 4]. Contudo o objetivo dessa dissertação foi obter filmes automontados de polieletrólitos fabricados através da adsorção sequencial de soluções aquosas de polieletrólitos fracos baseados na interação eletrostática de polímeros com cargas opostas e posteriormente analisar a incorporação de nanopartículas de ouro (NPs Au) estabilizadas por citrato de sódio e por poli(vinilpirrolidona) (PVP). Neste trabalho foram utilizados os seguintes polieletrólitos, o PEI (poli(etileno imina)) e o PAH hidrocloreto de poli(alilamina) como polications e o PAA (poli(ácido acrílico)) como poliânion. A presença das nanopartículas de ouro foi confirmada por Espectroscopia UV VIS – NIR e Difração de Raios X (DRX). A morfologia e distribuição dos filmes automontados com nanopartículas de ouro foram analisadas por Microscopia de Força Atômica (MFA) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). A quantificação e espessura das amostras foram analisadas por Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford (RBS) e posteriormente avaliadas em conjunto com as técnicas de espectroscopia UV VIS – NIR e MET. As abordagens experimentais utilizadas neste trabalho mostraram a grande importância do pH para a fabricação de filmes automontados, devido à sua influência nos grupos funcionais dos polieletrólitos, afetando a interação eletrostática entre os mesmos e também entre as nanopartículas posteriormente difundidas. Quanto menor a densidade de carga da molécula de polieletrólito, maior será o número necessário das mesmas para compensar uma determinada carga superficial do substrato e/ou camada inferior. Com o aumento desse número, maior será a quantidade de sítios presentes passíveis de interação eletrostática. Dentre os sistemas estudados, o que mostrou-se mais eficiente foi o (PAH₇/PAA₄)₂₀, o qual apresentou uma maior incorporação de NPs Au, e conseqüentemente a maior quantidade de NPs Au no sistema.

ABSTRACT

Nanotechnology has brought some new challenges such as the development of quality and synthesis processes on nanostructures based on inorganic and organic substances. The development of new materials with organic and inorganic compounds on the nanometer scale, has been featured at the forefront of materials science due to the large potential for applications such as composites, catalysis, nonlinear optics, sensors and microelectronic systems [1, 2, 3]. The development of nanostructured materials has attracted great interest for the new technological reality, due to the wide range of applications including catalytic properties, magnetic and photonic [4, 5, 6]. However the objective of this dissertation was to obtain self-assembled polyelectrolyte films fabricated by sequential adsorption of aqueous solutions of weak polyelectrolytes based on electrostatic interaction of polymers with opposite charges and analyze the distribution of gold nanoparticles (Au NPs) stabilized by sodium citrate and poly (vinylpyrrolidone) (PVP). In this work we used the following polymers, PEI (poly (ethylene imine)) and PAH hydrochloride poly (allylamine) as polycations and PAA (poly (acrylic acid)) as polyanion. The presence of gold nanoparticles was confirmed by UV VIS – NIR spectroscopy and X-ray Diffraction (XRD). The morphology and distribution of films with self-assembled gold nanoparticles was analyzed by Atomic Force Microscopy (AFM) and transmission electron microscopy (TEM). Quantification and thickness of the samples were analyzed by Rutherford backscattering spectrometry (RBS), and then evaluated in conjunction with the techniques of UV VIS – NIR spectroscopy and TEM. The experimental approaches used in this work showed the great importance of pH for the fabrication of LbL self-assembled films due to its influence on the functional groups of polyelectrolytes, affecting the electrostatic interaction between them and between the nanoparticles subsequently disseminated. Smaller the charge density of the polyelectrolyte molecule, greater the required number of them to compensate a given surface charge of the substrate and/or lower layer. With the increase of that number, the greater the amount of sites present subject of electrostatic interactions. Among the systems studied, the most efficient was (PAH₇/PAA₄)₂₀, which showed a greater incorporation of Au NPs, and consequently the greatest amount of Au NPs in the system.

Introdução

Os filmes automontados de cargas opostas ganharam um considerável interesse científico devido a suas inúmeras aplicações em nanotecnologia, dentre elas a construção de dispositivos ópticos como diodos orgânicos e biosensores [5, 6]. Esse processo de fabricação foi proposto por Iler e colaboradores [7] que descreveu a adsorção alternada de partículas coloidais de cargas opostas. Porém o trabalho pioneiro foi de Sagiv e colaboradores [8, 9], onde os autores relatam a formação de sistemas de multicamadas formadas por ligações covalentes entre camadas adjacentes. Neste caso, tem-se como limitação o requisito de que as moléculas envolvidas devem apresentar funcionalidades específicas a fim de ocorrerem as ligações químicas necessárias. Dessa forma, na década de 1990, Decher e colaboradores [10], publicaram um método de fabricação de filmes finos baseado em interações físicas de moléculas com cargas opostas. O método basicamente consiste na imersão alternada de um substrato em soluções catiônicas e aniônicas. Esse processo de automontagem eletrostática, camada por camada, é denominado LbL (*Layer-by-Layer*) ou SA (*self-assembly*) e os filmes produzidos são designados como filmes LbL.

A versatilidade das multicamadas obtidas através destes polieletrólitos tem sido demonstrada pela fabricação de uma gama de materiais compósitos que incorporam compostos orgânicos [11], biopolímeros [12] ou coloides inorgânicos [13, 14, 15], devido à facilidade de obtenção das mesmas em soluções à temperatura ambiente, e à fácil aderência em diversos tipos de substratos sem a necessidade de pré-tratamento.

Alguns trabalhos [16] têm demonstrado mudanças drásticas na espessura e rugosidade de uma camada adsorvida que pode ser induzida por pequenas mudanças no pH da solução eletrolítica. Rubner e Cohen estudaram PEM, produzidos por

polieletrólitos fracos, para ligar íons inorgânicos. Diferentes íons metálicos apresentam diferentes atividades de ligações que dependem do tipo de polieletrólitos e pH. Nanopartículas metálicas em PEM são obtidas reduzindo os íons por vários processos, como luz ultravioleta (UV), atmosfera de H₂ ou agentes de redução, como tetraidroborato de sódio (NaBH₄) ou dimetilamina borano (DMAB).

Metais contendo compostos poliméricos são de particular interesse para a produção de materiais com interface elétrica e propriedades óticas [17]. O controle de tamanho de nanopartículas tem também sido um desafio, pois muitas vezes nanopartículas metálicas apresentam propriedades que diferem daquelas dos metais em “*bulk*”. Dentre estas propriedades podem-se destacar as aplicações em áreas como catálise, magnetização e sensores.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi:

- Desenvolver e caracterizar filmes finos de polieletrólitos fracos, formados pela técnica de deposição camada por camada (LbL);
- Avaliar o comportamento difusional de nanopartículas de ouro (NPs Au) estabilizadas por citrato de sódio e por poli(vinilpirrolidona) (PVP).
- Em particular, dando ênfase, para as propriedades físico-químicas da superfície dos novos materiais obtidos (composição, estrutura e topologia).

Neste sentido, para a preparação dos filmes automontados foram utilizados os seguintes polieletrólitos, o PEI (poli(etileno imina)) e o PAH (hidroclorato de poli(alilamina)) como policátions e o PAA (poli(ácido acrílico)) como poliânion [18].

Esta dissertação foi dividida em cinco capítulos. No Capítulo I são abordados os aspectos teóricos relativos à técnica de deposição de filmes automontados utilizados neste trabalho, os polieletrólitos escolhidos, bem como os tipos de nanopartículas

utilizadas. Os procedimentos experimentais aplicados e as técnicas de caracterização selecionadas para o seu estudo são descritos no Capítulo II. Os resultados e as discussões são apresentados no Capítulo III, e as conclusões e referências utilizadas são abordadas no Capítulo IV e V, respectivamente.

1.1 Filmes Finos Nanoestruturados

O termo filme se aplica à matéria condensada disposta em camadas inseridas em uma superfície. Quanto à espessura, os filmes finos podem ser classificados em nanométricos, micrométricos e milimétricos referindo-se as faixas de 0,1–100 nm, 0,1–100 μm e 0,1–100 mm, respectivamente [19].

Com relação aos filmes, o termo deposição refere-se ao método no qual átomos ou moléculas são adicionados à superfície do filme que está sendo preparado sobre um determinado substrato.

Os filmes nanoestruturados são modulados sobre nanômetros em escalas de comprimento zero a três dimensões. Eles podem ser montados na modulação de aglomerados de átomos ou filamentos, em multicamadas, em revestimentos ou camadas enterradas ou com dimensionalidades intermediárias [20].

Ao se escolher o método de preparação de filmes finos deve-se levar em consideração as características específicas que se pretende obter do material, entre elas a composição, tipos de aplicações, tamanho físico e tipo de substrato, assim restringindo as técnicas que possivelmente podem ser aplicadas.

A preparação de materiais em forma de filmes finos apresenta vantagens como, tamanho e facilidade de integração e leva a obtenção de propriedades características diferentes do material em *bulk*, decorrente de sua microestrutura e bidimensionalidade [19].

1.2 Deposição *Layer by layer* (LbL)

A técnica de deposição de camada por camada (LbL) é uma técnica versátil para deposição de filmes finos e ultrafinos e tem atraído muita atenção devido à

simplicidade de preparação, à rentabilidade, ao processo ser ambientalmente correto [21] e à possibilidade de utilização de uma grande variedade de materiais. Polieletrólitos sintéticos, tais como polímeros, proteínas, e polissacarídeos são frequentemente utilizados para esta finalidade [34].

No processo de automontagem, um substrato com uma superfície carregada negativamente, é mergulhado numa solução contendo um polieletrólito catiônico para formar uma camada do policátion. Em seguida, o substrato é imerso na solução aniônica a fim de que o poliânion seja adsorvido sobre a camada de policátion previamente depositada. Ao final do processo, obtêm-se a primeira bicamada. Repetindo-se os passos, obtêm-se o número de camadas desejadas, como mostra a Figura 1.

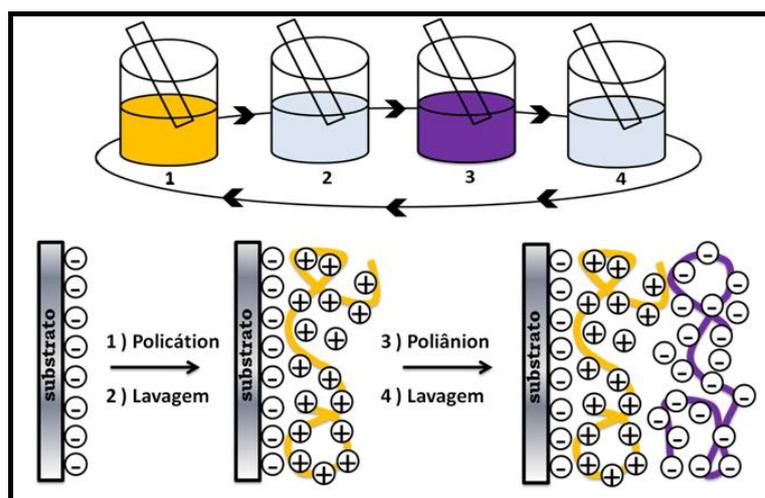


Figura 3: Esquema do processo de deposição usando lâminas de vidro. As etapas 1 e 3 representam a adsorção do poliânion e policátion, respectivamente, e as etapas 2 e 4 são as lavagens em água deionizada em cada uma das etapas anteriores [22].

A principal força motriz no conjunto de multicamadas é a atração eletrostática entre polímeros carregados com cargas opostas, com uma densidade de carga mínima. Além disso, interações secundárias de curto alcance, como as ligações de hidrogênio e repulsões estéricas, também podem determinar a estrutura de multicamadas. Interações

de longo e curto alcance geralmente levam a inversão da carga nas multicamadas após cada etapa de deposição [33]. Existem muitas outras interações utilizadas com sucesso para a deposição de múltiplas camadas, incluindo: interações doador/receptor, adsorção/ciclos de secagem, ligações covalentes ou formação de estereocomplexos [32]. Em geral, precisa-se apenas de uma interação para a obtenção de um filme, porém podem ser várias interações diferentes, entre os reagentes, a fim de incorporá-los em um sistema LbL. A interação pode ser facilmente testada em solução antes da execução da deposição, se ambos os componentes do filme são solúveis no mesmo solvente [32].

Inicialmente, a arquitetura das multicamadas de polieletrólitos (PEM) foi pensada como uma estrutura de lamela, constituído por camadas moleculares, onde poliânions e polications estão intimamente interligados um ao outro. No entanto, posteriormente foi demonstrado que os PEM são dinâmicos e não muito bem definidos, com uma alteração difusa entre as camadas interpenetrantes [33].

A técnica de deposição LbL, é também uma técnica de montagem assistida. Nesse caso, a mesma pode ser adaptada para permitir a montagem de diversos compostos, produzindo filmes nanoestruturados, de acordo com as seguintes categorias [23]:

1. Adaptação das interações à superfície: cada objeto interage com seu ambiente através de sua superfície. Assim, todas as propriedades são ditadas em função dessa interação por funcionalidade de superfície, a qual pode ser adaptada para diversas aplicações (por exemplo, proteção contra corrosão, revestimentos anti-reflexão, revestimentos anti-estático, viscosidade, hidroflicidade ou hidrofobicidade, biocompatibilidade, propriedades antibactericidas, reconhecimento molecular, sensoriamento químico ou biosensores, micro canais de controle de fluxo, entre outras).

2. Fabricação de dispositivos baseados em superfície: a sequência de deposição dos diferentes materiais define a arquitetura em multicamadas e, portanto, as propriedades do dispositivo.

A seguir será realizada uma breve descrição dos métodos de preparação de filmes finos pela técnica camada por camada, dando ênfase à técnica de LbL - *Dip Coating*, a qual foi utilizada neste trabalho.

1.2.1 Técnicas de Obtenção de Filmes Finos

Existem diversas técnicas para a deposição de filmes finos entre elas pode-se citar a *Layer-by-Layer*, que pode ser dividida em *casting*, *spin coating* e *dip coating*.

1.2.1.1 LbL por “Dip coating”

A técnica *Dip Coating* utilizada neste trabalho consiste em mergulhar perpendicularmente um substrato dentro da solução contendo a substância de interesse e depois retirá-lo da mesma. O processo de imersão e emersão deve apresentar velocidade controlada e sem nenhum tipo de vibração a fim de permitir uma deposição homogênea. Além disso, o tempo de deposição também é um fator importante na qualidade do filme. A técnica de *Dip Coating* está representada na Figura 2.

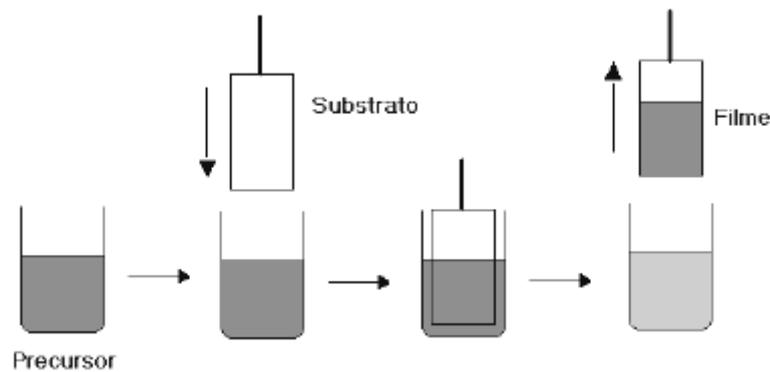


Figura 4: Representação esquemática do processo de obtenção de filmes por *dip coating* [24].

Alguns parâmetros na obtenção são decisivos na espessura das camadas do filme tais como velocidade de imersão/emersão do substrato, ângulo de inclinação do substrato com relação à superfície do líquido, concentração e viscosidade da solução [25].

1.2.1.2 "Spin Coating"

O método *Spin Coating* (Figura 3) resume-se em depositar gotas da solução inicial sobre um substrato que apresente um movimento de rotação. A evaporação dos solventes mais voláteis, no momento da deposição, permite acelerar os processos de hidrólise e condensação iniciados quando em contato com a umidade do ambiente. Nesta técnica, a viscosidade da solução, tempo e velocidade de rotação são parâmetros importantes para a deposição de um filme estável e homogêneo [26].

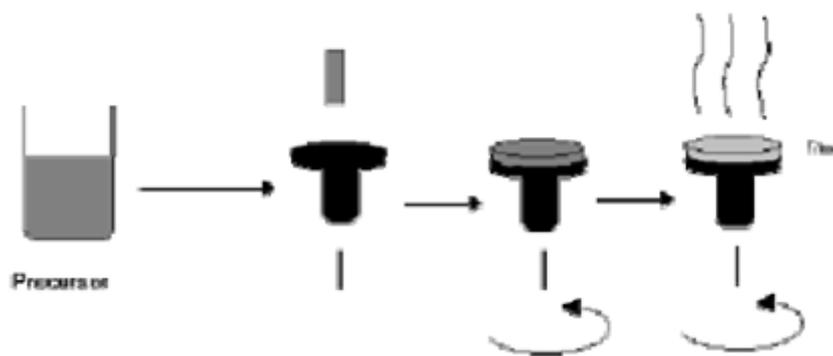


Figura 5: Representação esquemática do processo de obtenção de filmes por *spin coating*.

Lakiss e colaboradores prepararam um filme fino nanoporoso dopado com clusters de cobre pela técnica *spin coating* em placas de vidro. Verificou-se que as propriedades dos filmes, incluindo rugosidade superficial, aderência, porosidade e espessura, são fortemente determinadas pela estabilidade das nanopartículas coloidais nas suspensões de recobrimento. Além disso, o tipo de agente ligante, as condições de spin e *annealing* (procedimento realizado após a deposição para aliviar tensões) dos filmes influenciam na porosidade e propriedades ópticas dos filmes obtidos [26].

1.2.1.3 “Casting”

A técnica de *casting* é baseada no espalhamento da solução precursora da amostra sobre um substrato (geralmente uma placa de vidro). Após a evaporação total do solvente utilizado, o filme é formado sobre a superfície do substrato. A evaporação do solvente pode ser acelerada por aquecimento. A espessura do filme pode ser controlada ajustando-se a concentração da amostra na solução. Esse método não é eficiente na construção de filmes muito finos como produzidos pelas técnicas de *spin e dip-coating*. A Figura 4 resume o procedimento para preparação de um filme *casting*.

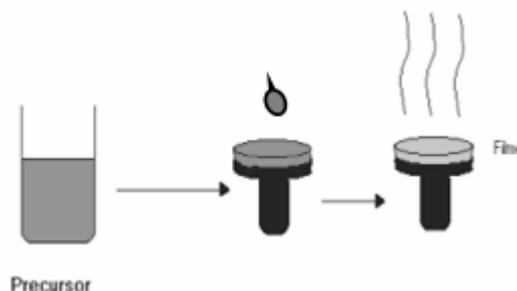


Figura 6: Representação esquemática do processo de obtenção de filmes por *casting*.

Filmes obtidos pela técnica *casting* apesar de não apresentarem organização, representam uma maneira fácil e rápida de se modificar a superfície de eletrodos para obtenção de sensores eletroquímicos [27].

1.3 Preparação de Materiais Nanoestruturados: Planar e Coloidal

Embora o controle fino das propriedades é proporcionado pelo tipo de espécies LbL montadas, a morfologia e a composição dos modelos também desempenham um papel crucial na determinação das propriedades e, portanto, nas potenciais aplicações dos materiais gerados. As duas principais classes de modelos utilizados para a preparação de materiais nanoestruturados são os modelos planar e coloidal, descritos a seguir [33].

Modelos Planares: a automontagem no modelo planar envolve substratos sólidos, como lâminas de quartzo ou vidro, *wafers* de silício e eletrodos de metal. O uso de modelos planares porosos para a automontagem permite a elaboração de materiais com morfologias tridimensionais bem definidas. Por exemplo, LbL em membranas com poros cilíndricos (seguido pela remoção do material da superfície do modelo) dá origem a tubos (cilindros ocos). O diâmetro exterior, o comprimento, a composição e a

espessura dos tubos são controlados pelo diâmetro dos poros, pela espessura da membrana, pelo tipo de espécies depositadas e pelo número de camadas montadas, respectivamente. As extremidades abertas e a grande área superficial associada aos tubos, torna-os úteis para diversas aplicações, já que podem ser facilmente carregados com grandes quantidades de espécies hóspedes. Os nanotubos têm sido fabricados a partir desta técnica, onde polieletrólitos e nanopartículas metálicas são automontados e depositados no modelo de nanoporos [33].

Modelo coloidal: cápsulas de nanométricas são importantes para uma gama de diferentes aplicações, incluindo o encapsulamento e a liberação controlada de substâncias (por exemplo, drogas, genes, corantes, tintas, cosméticos, pesticidas, produtos alimentícios, etc.), catálise e sensoriamento remoto. Um meio versátil de se preparar cápsulas é a técnica de automontagem com modelo coloidal. A técnica envolve a deposição de filmes automontados sobre a superfície externa das partículas coloidais, sendo posteriormente retirados através de meios químicos ou térmicos. Este método permite um controle sem precedentes sobre as propriedades da cápsula (tamanho, composição, espessura, permeabilidade), e também sua posterior função, através da escolha dos colóides e dos componentes do filme. Tanto o diâmetro, como a espessura da casca das cápsulas inorgânicas podem ser controlados através do número das camadas de nanopartículas depositadas.

No caso do encapsulamento de fármacos, existem vários métodos para se preparar nanopartículas, entretanto, muitos requerem o uso de solventes clorados nocivos e tensoativos. Um método alternativo para a criação de partículas poliméricas para a liberação de drogas é o encapsulamento dentro de uma capa macromolecular, que pode ser feita por automontagem [28, 29]. Nanopartículas de ouro também têm sido

utilizadas como modelos para a preparação de cápsulas de automontagem. Nesses casos, as nanopartículas de ouro são eficientemente removidas após a exposição ao cianeto de potássio. A grande maioria das cápsulas preparadas a partir desses modelos foram montadas pela deposição de polímeros alternados com carga positiva e negativa [33].

1.4 Polieletrólitos

Um polieletrólito é um polímero no qual os monômeros são sais de grupos iônicos e não-metálicos, provenientes do encadeamento de moléculas menores. Em solução, esses grupos são parcialmente ionizados, e dessa forma pode-se obter diversas densidades de carga na cadeia [18]. São, em geral solúveis em solventes polares [30].

Sendo assim, os polieletrólitos são preparados em solução aquosa e são utilizados para fabricação de filmes automontados camada por camada.

1.4.1 Classificação dos Polieletrólitos

Os polieletrólitos podem ser classificados como fortes ou fracos, dependendo do intervalo de pH em que o macro-íon se dissocia em solução.

Pode-se ter uma diferente classificação quanto à natureza eletroquímica dos grupos ionizáveis. Os poliácidos com grupos carboxila ($-\text{COOH}$) e o grupo sulfônico ($-\text{SO}_3\text{H}$) podem dissociar em poliânions e prótons H^+ . As polibases com grupos amina ($-\text{NH}_2$) podem se ligar a um próton gerando policátions. Polieletrólitos que possuem tanto grupos ácidos e básicos são denominados *polianfóteros*, sendo carregados positivamente ou negativamente em pH baixo ou alto, respectivamente [30].

Outra classificação dos polieletrólitos é dada em função do pKa (cologaritmo da constante de acidez, ou seja, $(pKa = -\log Ka)$) do grupo ácido. Dado um ácido fraco HA, sua dissolução em água fica sujeito a um equilíbrio (Equação 1).



A constante de acidez, ou constante de dissociação ácida Ka , é definida como (Equação 2):

$$Ka = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad \text{Equação 2}$$

A constante de acidez Ka é proporcional à concentração dos íons formados. Quanto maior o valor de Ka , mais ionizado é o ácido e conseqüentemente maior a sua força de ionização. Como o pKa é o cologaritmo da constante de acidez, um baixo valor de pKa indica um aumento da acidez.

A fim de compreender os fatores que controlam as interações entre esses polieletrólitos opostamente carregados, deve-se considerar a distinção entre os polieletrólitos fortes e fracos. A manipulação da força iônica é usada para controlar a morfologia e espessura das multicamadas, sendo essa, restrita a baixas concentrações de sal, pois um aumento da força iônica pode ocasionar problemas de solubilidade e decomposição da multicamada.

Por exemplo, o poli (ácido acrílico) (PAA) é um poliácido sintético fraco, devido ao fato de não acontecer a ionização dos grupos carboxila em muitos solventes. O poli

(estireno sulfonado) é um políácido forte, pois quando dissociado em água os grupos sulfônicos se ionizam [30].

O uso de polieletrólitos fracos produz sistemas com propriedades mais interessantes, porque os mesmos são sensíveis, não apenas à força iônica, mas também a mudanças no pH. Além disso, em filmes formados por polieletrólitos fracos, é frequentemente observado o crescimento exponencial da espessura e da quantidade de polímeros adsorvidos com o número de ciclos do processo de deposição [31].

Neste trabalho foram utilizados o poli(etileno imina) (PEI) e hidrocloreto de poli(alilamina) (PAH) como policações fracos e o poli(ácido acrílico) (PAA) como poliânion. A Figura 5, mostra as fórmulas estruturais desses polieletrólitos.

O comportamento desses polieletrólitos em uma sistema LbL será discutido no Capítulo III.

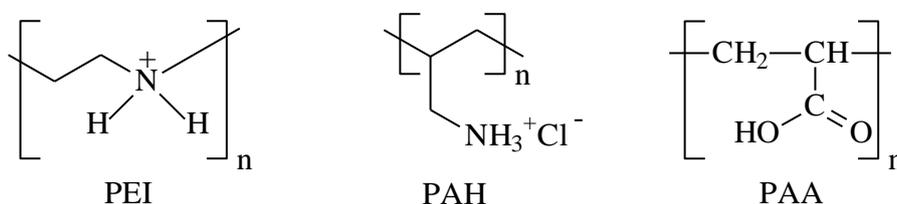


Figura 7: Fórmula estrutural dos polieletrólitos, PEI (poli(etileno imina)), PAH (Hidrocloreto de Polialilamina) e PAA (poli(ácido acrílico)), utilizados neste estudo.

1.4.2 Características e Aplicações dos Filmes Automontados de Polieletrólitos Fracos

A técnica LbL permite o controle em escala nanométrica da espessura, da composição e da estrutura molecular dos filmes multicamadas depositados [12]. O

desenvolvimento dos sistemas multicamadas utilizando polieletrólitos exibe uma característica única, que é o ajuste das propriedades dos filmes através da simples alteração do pH da solução de imersão [32]. As propriedades dos filmes automontados podem ser facilmente ajustadas simplesmente variando o tipo de espécies adsorvidas, o número de camadas depositadas, e as condições empregadas (tempo de deposição, secagem e/ou lavagem dos filmes, etc.) durante os processos de montagem [33].

A densidade de massa de multicamadas depende de uma complexa relação entre a densidade de carga, a rigidez da cadeia e o balanço hidrofílico/hidrofóbico. Estes parâmetros são essenciais para o controle da estrutura química de polieletrólitos. Além do impacto da densidade, a permeabilidade dos filmes poliméricos pode ser ajustada com o número de camadas de polieletrólitos montadas e com a concentração da solução de sais, pois a camada aumenta de espessura em função da força iônica da solução de imersão. O entendimento e o controle de porosidade em multicamadas fornecem maneiras atraentes de liberação controlada de compostos encapsulados, e abre novas aplicações dos filmes de polieletrólitos. O modelo de “pinhole”, é descrito como uma camada de polímero impenetrável composto de muitos pequenos furos, que servem de canais para moléculas penetrantes. As multicamadas também podem ser consideradas como uma fase homogênea (modelo de membrana), através do qual ocorre difusão homogênea de espécies diferentes [33].

Multicamadas de polieletrólitos montados a partir de polímeros de cargas opostas tem diversas aplicações nas áreas de biossensores, de dispositivos eletrônicos, na liberação controlada de drogas, em membranas e micro recipientes para o encapsulamento de moléculas [21, 34]. Atualmente, os filmes finos podem ser aplicados em praticamente qualquer tipo de substrato independentemente da sua forma e/ou

origem, podem ser pequenas moléculas orgânicas ou compostos inorgânicos, macromoléculas, biomacromoléculas tais como proteínas ou DNA ou mesmo colóides (colóides metálicos, óxidos ou partículas de látex), incluindo até mesmo enzimas, proteínas e nanopartículas. Além disso, a incorporação de materiais com funcionalidades, tais como biomoléculas, células, dendrímeros e nanopartículas inorgânicas em PEM têm aumentado as potenciais aplicações dos filmes poliméricos [35].

A deposição de camada por camada (LbL) envolve a adsorção de uma única espécie em cada etapa e produz um filme de múltiplas camadas com uma camada definida por sequência. Embora as moléculas sejam sintetizadas em diversas etapas consecutivas da reação, um filme multicomposto é fabricado em várias etapas de adsorção.

Os filmes automontados LbL de polieletrólitos fracos sofrem mudanças quando se altera o pH da solução do polímero. Sob influência do pH, a adsorção polimérica pode dar origem a camadas espessas, uma vez que as moléculas tendem a enovelar-se, devido à menor repulsão eletrostática entre os monômeros. Então, ajustando-se o valor de pH, pode-se alterar a ionização dos polieletrólitos, aumentando ou diminuindo a força iônica da solução e resultando num aumento ou diminuição da repulsão entre as cargas eletrostáticas da molécula de polieletrólito, gerando alterações na espessura e rugosidade do filme à medida que este é depositado.

Os trabalhos de Decher e seus colaboradores [57, 36] iniciaram com a deposição de camadas alternadas de compostos anfifílicos catiônicos e aniônicos sobre substratos de quartzo modificados superficialmente por silanos. Os compostos anfifílicos utilizados eram constituídos por moléculas longas, com um grupo rígido no centro, para evitar a

adsorção da molécula paralelamente à superfície do substrato. Esta estratégia foi utilizada com o objetivo de manter os grupos iônicos das moléculas disponíveis para interação com camadas subsequentes. Através de medidas de espectroscopia de UV-VIS, Decher e seus colaboradores constataram um aumento linear da absorvância do filme formado, à medida que cada camada era depositada, uma vez que, sendo a absorvância diretamente proporcional à quantidade de material, cada camada depositada contribuiu com aproximadamente uma mesma quantidade de material. Assim, o método permite controle da espessura do filme por camada depositada. A fixação das cadeias é estabilizada pelo grande número de ligações estabelecidas entre o substrato e os polieletrólitos, que em geral possuem uma grande quantidade de grupos funcionais que podem ter interação ao longo de sua cadeia polimérica. Outro aspecto importante é o da super compensação de cargas; quando o substrato é imerso na solução contendo o polieletrólito ocorre a fixação de suas cadeias, acompanhada pela neutralização das cargas do substrato. Contudo, se apenas ocorresse a neutralização, a deposição de uma nova camada não seria possível, devido a falta de cargas na superfície da camada adsorvida, que servem como grupos funcionais de ancoragem para uma nova camada. Portanto, o que ocorre é uma compensação de cargas, caracterizada pela inversão do sinal da carga líquida inicial do substrato [8].

A quantidade de material depositada no filme pode ser regulada pela variação de condições das soluções poliméricas empregada, tais como pH, tipo de dopante, concentração do polímero, tempos de adsorção, força iônica e temperatura, mas em geral a janela de processamento é bastante ampla [23]. Por exemplo, para as soluções de pH elevado a quantidade de material transferida para o filme é maior, pois diminui o grau de protonação das cadeias dos polieletrólitos e conseqüentemente, a repulsão

eletrostática intercadeias diminui, favorecendo a aproximação e acomodação do material no substrato [8, 36].

A porosidade nas multicamadas de polieletrólitos foi avaliada por Mendelsohn e colaboradores pela exposição a soluções ácidas [9]. Esse processo foi desenvolvido para proporcionar uma maior área superficial, com alta uniformidade em filmes finos microporosos. Multicamadas de polieletrólitos fracos foram automontadas em substratos específicos (silício ou vidro) através da adsorção sequencial das soluções aquosas catiônicas (PAH) e aniônicas (PAA). Estas multicamadas previamente formadas foram brevemente imersas em solução ácida (pH 2,4) para efetuar uma transformação irreversível na morfologia do filme. A ação ácida nas estruturas microporosas resulta em um aumento de 2 a 3 vezes a espessura dos filmes originais, e possuem uma densidade de carga proporcionalmente reduzida [9, 37].

Multicamadas de polieletrólitos em ambas superfícies, planares ou coloidais, tem sido amplamente utilizados como nano reservatórios para carregar corantes, como alcóxidos de metais (utilizados para revestimentos e catalisadores), e nanopartículas metálicas para a síntese de materiais com aplicações em engenharia. No caso, diferentes materiais (tintas, alcóxidos metálicos, nanopartículas metálicas) são infiltrados ou apenas fisicamente carregadas nos PEM sem ocorrerem reações [33].

1.5 Nanopartículas de Ouro (NPs Au)

Conhecida desde a antiguidade, a síntese de ouro coloidal foi originalmente usada como um método de coloração dos vitrais das igrejas medievais. O método é resultado da forma diferenciada de absorção da luz por partículas coloidais de ouro com tamanhos distintos: empiricamente, os artesãos perceberam que diferentes manipulações com

soluções de ouro levavam à produção de vidros com cores variadas, mesmo sem poderem entender que eram os efeitos de confinamento quântico que ditavam quais cores estariam associadas a que tamanho de partículas de ouro coloidal [8]. A avaliação científica de ouro coloidal começou com os trabalhos de Michael Faraday na década de 1850 [38], que foi o primeiro a reconhecer que a cor foi devido ao diminuto tamanho das partículas de ouro [39]. Em 1898, Richard Adolf Zsigmondy preparou o primeiro ouro coloidal em solução diluída [40]. Em seguida a Zsigmondy, Sevdberg inventou a ultracentrifugação e Mie, também interessou-se em entender a síntese e as propriedades do ouro coloidal [41].

O ouro é um material relativamente inerte do ponto de vista químico e exibe um amplo espectro de aplicações, tendo uma excelente atividade catalítica quando preparado através de técnicas específicas que possibilitem a obtenção de partículas com dimensões miniaturizadas. Para manipular e processar estas partículas, novas técnicas têm sido desenvolvidas para sintetizar nanopartículas por meio de processos orgânicos, particularmente os poliméricos. Técnicas de microemulsão [42], processos polióis [43], redução fotolítica [44], e sistema de multicamadas poliméricas são alguns dos métodos de síntese que podem ser utilizadas para preparar nanopartículas metálicas. Estas nanopartículas têm recebido um enorme interesse em catálise, magnetismo, fotônica, nanoeletrônica, óptica [39], na construção de biossensores, em sistema de liberação gradativa de drogas, lubrificantes, células solares e outros. Para manipular e processar essas nanopartículas para aplicações tecnológicas, geralmente elas são embutidas em matrizes poliméricas como, por exemplo, filmes finos poliméricos. A fim de obter filmes nanoparticulados ordenados e homogêneos, a técnica de automontagem é frequentemente empregada para montar nanopartículas pré-formadas com polieletrólitos

de cargas opostas. Estas nanopartículas pré-formadas são preparadas antes da construção do filme com cargas adequadas e uma modificação de sua superfície em meio estabilizada. Embora a espessura do filme possa ser controlada pela variação dos ciclos de deposição, é difícil modificar o tamanho das partículas durante e após a montagem do filme. Além disso, o controle da concentração de partículas no filme após a montagem também é difícil.

As nanopartículas de ouro (NPs Au) também podem ser utilizadas na metalização de filmes automontados. A integração entre nanotecnologia e biologia tem produzido excelentes resultados no diagnóstico molecular, na detecção de agentes químicos/biológicos e na bioengenharia. As NPs Au apresentam algumas características particulares, tais como suas propriedades colorimétricas e condutividade, que tem potencializado seu emprego para a detecção de moléculas biológicas [45].

Vários são os estabilizantes utilizados para a síntese de nanopartículas, no caso de NPs Au, os polímeros mais usados para a estabilização são poli(vinilpirrolidona) e poli(etileno glicol). O primeiro consiste na síntese *in situ* das nanopartículas no polímero matriz, tanto por redução do metal por sais dissolvidos nessa matriz [9], como por evaporação de metais sobre a superfície do polímero aquecido [46]. A segunda, menos frequentemente usada, envolve a polimerização da matriz em torno das nanopartículas. As nanopartículas preparadas por redução de sais de metais são pequenas, com um estreito tamanho de distribuição [47]. O polímero composto de nanopartículas pode ser gerado a partir de soluções (o modo clássico), ou pode envolver a imobilização por um polímero sólido como, por exemplo, o PVP, sendo um dos utilizados com mais frequência. A redução de íons de metal na presença do polímero é o método mais frequentemente escolhido, visto que a complexação dos cátions metálicos

pelos átomos ligantes do polímero é fundamental antes do processo de redução, o que em particular, limita dramaticamente o tamanho da partícula [8].

Geralmente, as nanopartículas de ouro são produzidas pelo método de redução do ácido tetracloro áurico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), embora existam métodos mais precisos e avançados. Após a dissolução HAuCl_4 , a solução é rapidamente agitada enquanto um agente redutor é adicionado. Isso faz com que íons Au(III) sejam reduzidos à Au(0) . À medida que mais e mais íons formam átomos de ouro, a solução se torna supersaturada, e o ouro gradualmente começa a precipitar na forma de subpartículas nanométricas. O restante dos átomos de ouro que se formam mantém as partículas existentes, e se a solução é agitada vigorosamente o suficiente, as partículas serão bastante uniformes em tamanho. Para evitar que ocorra agregação de partículas, um agente de estabilização, que adere à superfície das nanopartículas, é geralmente adicionado [38].

Entre os métodos convencionais de síntese de NPs Au pela redução de Au(III) , um dos mais populares, por um longo tempo, foi o uso de redução de citrato de HAuCl_4 em água, que foi introduzido por Turkevich e colaboradores em 1951 [48] e refinada por G. Frens em 1970 [49, 50]. Neste método são produzidas nanopartículas esféricas de ouro monodispersas em suspensão na água, com cerca de 10-20 nm de diâmetro [51]. Outro método de síntese de nanopartículas é o método descoberto por Brust e Schiffrin nos anos 1990 [52], e que pode ser usado para produzir nanopartículas de ouro em soluções orgânicas que normalmente não são miscíveis em água (como o tolueno) com um diâmetro em torno de 5-6 nm. Ela envolve a reação de uma solução de (HAuCl_4), com solução de brometo de tetraoctilamônio (TOAB), em tolueno e borohidreto de sódio (NaBH_4) como um anticoagulante e um agente redutor, respectivamente [53].

1.6 Filmes Automontados de Polieletrólitos Fracos contendo Nanopartículas Metálicas

A deposição LbL com nanopartículas, alternando adsorção de polieletrólitos com cargas opostas, permite um controle fino sobre a espessura do filme e formação de filmes sobre uma vasta variedade de superfícies. Este método tem sido utilizado extensivamente para a construção de filmes compostos contendo colóides inorgânicos (por exemplo, sulfetos, selenetos, teluretos, e óxidos de Cd, Pb, Ti, Fe, Mn e Zn). Alguns compostos também são sintetizados em filmes colóide/polieletrólito utilizando dendrímeros, citrato ou polieletrólito estabilizado contendo nanopartículas de ouro. A característica comum e fundamental em todos esses estudos é preparar adequadamente as nanopartículas metálicas, carregadas e estabilizadas, antes da construção do filme. Este método é eficaz, porque os íons metálicos são bem distribuídos ao longo das cadeias do polímero, e as nanopartículas são dispersas por todo o filme. Sendo assim, a agregação das partículas é feita em torno dos limites do polímero e, portanto, gera um pequeno tamanho de partícula [54].

A montagem de filmes multicamadas de polieletrólitos fracos demonstram que a microporosidade em filmes finos são uma nova abordagem para a fabricação de revestimentos dielétricos com baixo índice de refração e grande variedade de aplicações em biomateriais. As multicamadas de polieletrólitos com nanopartículas de ouro colaboram para entender a forma de incorporação das NPs Au na rugosidade dos filmes e também as propriedades do material. As nanopartículas de ouro podem servir de base a estudos com outras nanopartículas como Paládio e Platina [37].

Contudo, a importância das nanopartículas de ouro vem sendo investigadas para diversas aplicações, entre elas, como carreadores de drogas, tais como Paclitaxel, que é

um medicamento usado no tratamento do câncer de ovários e mama [55]. A administração de fármacos hidrofóbicos exige encapsulamento molecular e observa-se que as partículas nanométricas são particularmente eficientes em burlar o sistema retículo-endotelial. Especificamente para células de tumor, as partículas de ouro são conjugadas com um anticorpo para aplicação contra receptor do fator de crescimento epidérmico, que às vezes é super-expressada em células de certos tipos de câncer. Essas nanopartículas de ouro podem detectar a localização do tumor [56].

2 Materiais e Métodos

2.1 Preparação e Limpeza das Amostras

Os substratos utilizados como suporte para o crescimento dos filmes automontados foram lâminas de vidro marca *VWR International*, tamanho 3x1x1 mm, silício (100) e poliestireno marca *Thermanox Plastic Coverslips*. Os substratos foram limpos individualmente com detergente neutro, posteriormente foram imersos em água deionizada (com condutividade < 18 mΩ) e permaneceram sob sonificação durante 30 min a 60 °C. O mesmo procedimento foi realizado com Acetona P.A., e mais uma vez com água deionizada por 5 min.

Os PEM automontados em lâminas de vidro foram utilizados para as técnicas de Espectroscopia de UV-VIS e Microscopia de Força Atômica. Os filmes depositados em silício foram utilizados para as técnicas de Difração de Raios X e Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford. Para Microscopia Eletrônica de Transmissão foram utilizados os substratos de poliestireno. Foram utilizados diferentes substratos devido à limitação de cada técnica, e ao fato do filme ser nanométrico, o que dificulta a caracterização.

2.2 Metodologia para Preparação de Multicamadas de Polieletrólitos

Os filmes automontados de PAH/PAA e PEI/PAA foram preparados em um equipamento automatizado (Nano Stracto Sequence IV), onde o substrato foi imerso em uma solução aquosa catiônica de (PAH ou PEI) de peso molecular $M_w = 70.000$ g/mol (Aldrich-Sigma) e $M_w = 750.000$ g/mol, 50% (Aldrich-Sigma), respectivamente, por 15 min, sendo retirado da solução e imerso em água deionizada em três banhos durante

2, 1 e 1 min, consecutivamente. O objetivo desta etapa foi eliminar o excesso de material não adsorvido. Após este banho, o substrato foi imerso em uma solução aquosa aniônica de (PAA) de peso molecular $M_w = 90.000$ g/mol, 25% (Polysciences) por 15 min, sendo imerso novamente em água deionizada, representado na Figura 6. Todas as soluções de polieletrólitos foram utilizadas com concentração igual a 0,01 M, baseado na massa molar do monômero do polímero.

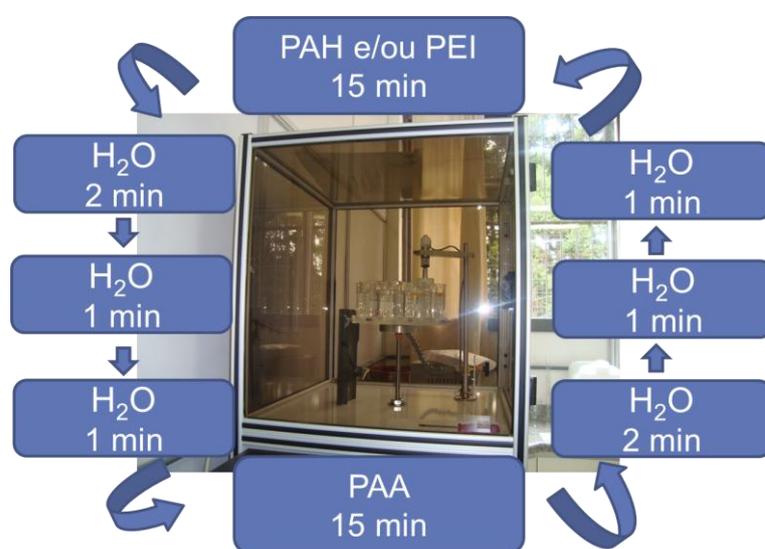


Figura 8: Ilustração do processo de deposição dos filmes automontados de polieletrólitos.

Estas multicamadas foram obtidas com soluções aquosas compostas por $(PAH_x/PAA_y)_i$ e $(PEI_x/PAA_y)_i$ onde x é o pH da solução do policátion, y é o pH da solução do poliânion, e i é o número de bicamadas. Os filmes foram preparados para seis combinações de experimentos: $(PAH_4/PAA_7)_{20}$, $(PEI_4/PAA_7)_{20}$, $(PAH_4/PAA_4)_{20}$, $(PEI_4/PAA_4)_{20}$, $(PAH_7/PAA_4)_{20}$ e $(PEI_7/PAA_4)_{20}$. Estes valores de pH foram escolhidos com base nas condições de protonação e desprotonação dos polieletrólitos estudados.

2.3 Método de Redução de Nanopartículas de Ouro por Citrato de Sódio

As nanopartículas reduzidas por citrato de sódio foram preparadas com base em uma solução de ouro de aproximadamente 5×10^{-3} mol/L de HAuCl_4 . Em seguida foi adicionado 18 mL de água em 1 mL da solução de ouro preparada anteriormente, sendo aquecida a 100 °C, após adicionou-se 1 mL de solução de citrato de sódio 0,5%. O aquecimento foi mantido até a mudança de coloração para a cor púrpura. O diâmetro médio das NPs Au foi de aproximadamente 12-13 nm, em um pH = 5,9, e concentração de $2,5 \times 10^{-4}$ mol/L. Este diâmetro foi calculado a partir das imagens de MET após 1000 contagens de NPs no *software Image Tool* do *Windows*.

2.4 Nanopartículas de Ouro estabilizadas por PVP

As nanopartículas de ouro foram sintetizadas a partir de uma solução de 20 mmol/L HAuCl_4 aquosa. O NaBH_4 foi usado como agente redutor e a poli (vinilpirrolidona) (PVP, ~ 55000 g/mol) como o agente estabilizador. A síntese foi realizada em temperatura ambiente sob forte agitação [57]. As nanopartículas estabilizadas por PVP utilizadas neste trabalho foram preparadas no laboratório do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco [58].

As soluções aquosas coloidais de nanopartículas de ouro, com aproximadamente 4-6 nm de diâmetro, foram preparadas com concentração de $3,7 \times 10^{-4}$ mol/L, em um pH = 4,3.

2.5 Incorporação das Nanopartículas nos Filmes Finos

Após formados os filmes finos de PEM, estes foram imersos por 1 hora em uma solução coloidal de nanopartículas de ouro, em temperatura ambiente, com o objetivo de

incorporar NPs Au, sendo em seguida imersos em água deionizada durante 30 segundos.

2.6 Técnicas de Caracterização dos Filmes Finos contendo NPs Au

2.6.1 Espectroscopia UV VIS – NIR

A espectroscopia no ultravioleta visível (UV VIS-NIR) utiliza luz na faixa do visível (VIS), do ultravioleta (UV) próximo e do infravermelho próximo (NIR). Refere-se à espectroscopia de transmissão, absorção ou refletância nessa região espectral.

Na medida de Espectroscopia de UV VIS-NIR, a intensidade da luz incidente no filme (I_0) corresponde a 100%, sendo que este valor divide-se em uma porcentagem de luz transmitida, uma porcentagem de luz absorvida, e uma de luz refletida (soma da reflexão difusa e especular). O cálculo das quantificações é feito conforme a Equação 3.

$$\% \text{ luz absorvida} = 100\% - \% \text{ luz transmitida} - \% \text{ luz refletida} \quad \text{Equação 3}$$

Após calcula-se a porcentagem de luz absorvida pelas NPs Au nos filmes, pela Equação 4.

$$\% \text{ Abs NPs Au} = 100\% \text{ luz absorvida filme com NPs Au} - \% \text{ luz absorvida filme sem NPs Au} \quad \text{Equação 4}$$

Pelos resultados de porcentagem de luz absorvida pelas NPs Au nos filmes,

calcula-se a absorção das NPs Au, pela Equação 5.

$$\text{Abs} = \log(100/100 - \% \text{Abs}) \quad \text{Equação 5}$$

Esta técnica foi utilizada para a caracterização das propriedades ópticas, onde foram estudados os espectros de absorvância dos filmes de ouro obtidos em um espectrofotômetro de feixe duplo, modelo CARY 5000 da Varian na faixa de 300-800 nm, do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

2.6.2 Difração de Raios X

A análise experimental por Difração de Raios X é realizada pela obtenção de uma interferência construtiva que está relacionada com o ângulo de incidência da radiação sobre a amostra, conhecida como equação de Bragg (Equação 6), onde a radiação é detectada. Na Equação 6 n é um número inteiro, λ o comprimento de onda e d a distância entre planos atômicos.

$$n\lambda = 2d\text{sen}\theta \quad \text{Equação 6}$$

Como resultado da análise de DRX, obtém-se um difratograma com o registro de intensidade da radiação em todos os ângulos de análise, sendo que nos ângulos em que a condição de Bragg é satisfeita, registram-se picos. A interpretação do difratograma consiste em identificar os índices de Miller dos planos correspondentes a cada valor de d obtido [59].

A partir da intensidade do feixe difratado obtêm-se uma relação entre a largura a meia altura do pico de difração e o tamanho da partícula, através da equação de Scherrer [59], representada na Equação 7.

$$D_{hkl} = \frac{K\lambda}{\beta \cos(\theta)} \quad \text{Equação 7}$$

Onde D é o diâmetro médio das partículas, K é uma constante que depende da forma das partículas (esfera=0,94), λ (comprimento de onda), β é a largura integral das linhas de difração em radianos e θ é o ângulo de difração [60].

Esta técnica foi utilizada com a finalidade de verificar a presença das nanopartículas de ouro nas amostras, bem como o seu diâmetro. Os difratogramas correspondentes aos filmes automontados com as nanopartículas de ouro foram obtidos no Laboratório de Caracterização de Materiais 1 (LCMAT) da UCS, em um equipamento de raios X modelo Shimadzu XRD-6000, em geometria $\theta 2\theta$, radiação de Cu-K α ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$), em uma faixa de varredura de $25^\circ \leq 2\theta \leq 75^\circ$.

2.6.3 Microscopia de Força Atômica (MFA)

Neste trabalho a MFA foi utilizada para o estudo da morfologia e rugosidade das multicamadas. As medidas de MFA foram realizadas com um Digital Nanoscope IIIa, no modo “*tapping mode*” (modo não contato) do Laboratório de Magnetismo da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Na medida foi utilizada uma ponta de prova de silício com uma frequência de oscilação entre 6 a 21 kHz. A área de varredura foi de 1-10 μm^2 com constante de força de 0,02-0,77 N/m e altura da ponta 10-15 μm .

Para cálculo da rugosidade foi utilizado o *software NanoScope (R) III*, versão 5.12b49, em uma área de 1x1 μm .

2.6.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) é uma das técnicas mais usadas na caracterização de nanopartículas. A MET foi utilizada neste trabalho para verificar a morfologia para filmes automontados com NPs Au, bem como para determinação do tamanho médio das NPs Au.

Os resultados de MET foram obtidos no Instituto Nacional de Tecnologia (INT) com sede no Centro de Tecnologia Estratégica do Nordeste (CETENE). Pequenos cortes das amostras foram embutidas em uma resina epóxi, que foi curada a 60 °C por 48 horas. As amostras foram trimadas (*trimmed*) com uma faca de vidro e, em seguida, secções transversais ultra-finas foram obtidas usando uma navalha de diamante Diatome com 45° à temperatura ambiente. As secções ultra-finas de cerca de 80 nm de espessura foram coletadas e imediatamente depositadas sobre grades de cobre 200 mesh e acondicionados em um dessecador. Finalmente, as secções foram examinadas em um Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET), marca FEI, modelo Morgagni 268D com tensão de aceleração de 80 kV.

O *software Origin 7.5* foi utilizado para graficar os histogramas de distribuição de tamanhos das nanopartículas de ouro, que por sua vez foram calculados no *software Image Tool for Windows*, baseados na contagem de aproximadamente 1000 nanopartículas por sistema estudado.

2.6.5 Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford (RBS)

A técnica consiste em incidir um feixe monoenergético de íons de alta energia, geralmente He^+ com energia entre 1 e 3 MeV, e detectar a energia das partículas retroespalhadas. A composição elementar do material analisado é obtida a partir do espectro em energia das partículas retroespalhadas detectadas, bem como a quantidade de átomos presentes [61, 62, 63], da qual pode ser extraída a espessura do filme, desde que conhecendo-se a sua densidade nominal.

Uma grandeza importante em RBS é o fator cinemático (K), o qual é responsável pela análise elementar qualitativa. Esta grandeza depende da energia após o espalhamento (E) e da energia inicial (E_0), (Equação 8):

$$K = E/E_0 \quad \text{Equação 8}$$

A quantificação do espectro na RBS, embora possa ser feito absolutamente, geralmente é realizada pela comparação das áreas dos picos de um padrão e da amostra que está sendo medida. Usualmente, utiliza-se um padrão de bismuto (Bi) implantado em silício (Si), com uma quantidade conhecida de átomos de Bi. Com a quantidade de átomos por centímetro quadrado (At/cm^{-2}) e com a densidade do material que está sendo analisado, consegue-se estimar a espessura do filme fino depositado [62]. A quantidade de átomos do material que se deseja conhecer é dada, então pela Equação 9.

$$Q_A = Q_{Bi} \cdot \frac{A_A}{N_A} \cdot \frac{N_{Bi}}{A_{Bi}} \cdot \frac{Z_{Bi}^2}{Z_A^2} \quad \text{Equação 9}$$

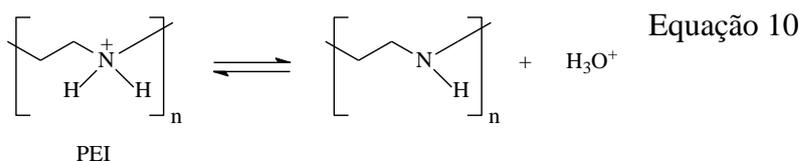
Onde Q é a quantidade de átomos por centímetro quadrado (At/cm^{-2}) do elemento, A é a área da curva abaixo do espectro medido, N é o número total de íons incidentes e Z é o número atômico.

Os resultados de RBS foram obtidos de um acelerador Tandetron de 3 MV (HVE-Europa) do Laboratório de Implantação Iônica do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Essa análise permite estimar a espessura do filme, e através de uma amostra padrão com $1,16 \times 10^{16}$ átomo. cm^{-2} de Bi (Bismuto), determinar a quantidade de NPs Au incorporadas na superfície LbL.

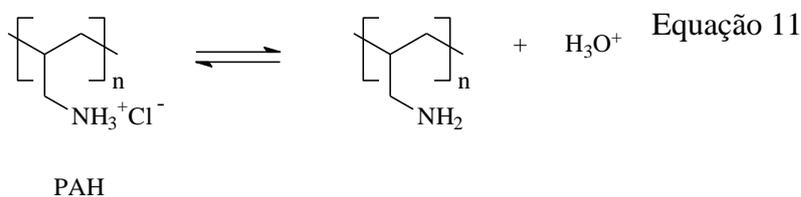
3 Resultados e discussão

3.1 Avaliação da Protonação dos Polieletrólitos Fracos

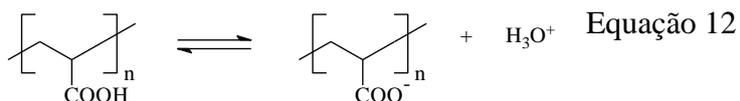
O PEI é uma amina polimérica alifática polibásica [64, 65] que é utilizado como um polieletrólito multicamada em superfícies carregadas para produzir uma cobertura biocompatível sobre as superfícies. Como uma polibase fraca, tem valor de $pK_a = 5,5$ [66]. Nesse trabalho, em $pH = 4,0$, o PEI está parcialmente protonado; carregado na forma >NH_2^+ ; em $pH = 7,0$, o PEI doa o próton e apresenta parte de sua cadeia na forma de amina >NH , (Equação 10).



O PAH é uma polibase fraca com valor de pK_a entre 8,0 - 9,0 [67]. Em $pH = 4,0$, o PAH está parcialmente protonado, ou seja, carregados na forma ---NH_3^+ . Com o aumento do pH para 7,0, o PAH doa o próton e encontra-se com uma pequena parte dos seus grupos amina desprotonados na forma ---NH_2 , (Equação 11).



O PAA é um poliácido sintético fraco, e possui o valor de pKa entre 5,5 - 6,5 [67]. Sendo assim, em pH = 4,0, o PAA encontra-se protonado, ou seja, a maioria dos seus grupos –COOH estão na forma não ionizada. Em pH = 7,0, o PAA está desprotonado, com a maioria dos seus grupos –COO⁻, (Equação 12).



PAA

3.2 Espectroscopia UV VIS – NIR

Em filmes automontados a espectrometria de UV VIS – NIR tem por objetivo avaliar a presença das espécies no filme, ou seja, a partir dos espectros de UV VIS – NIR é possível observar as bandas de absorção características das NPs Au. A Figura 7 representa os espectros de absorvância da solução de NPs Au e dos filmes obtidos em diferentes pHs.

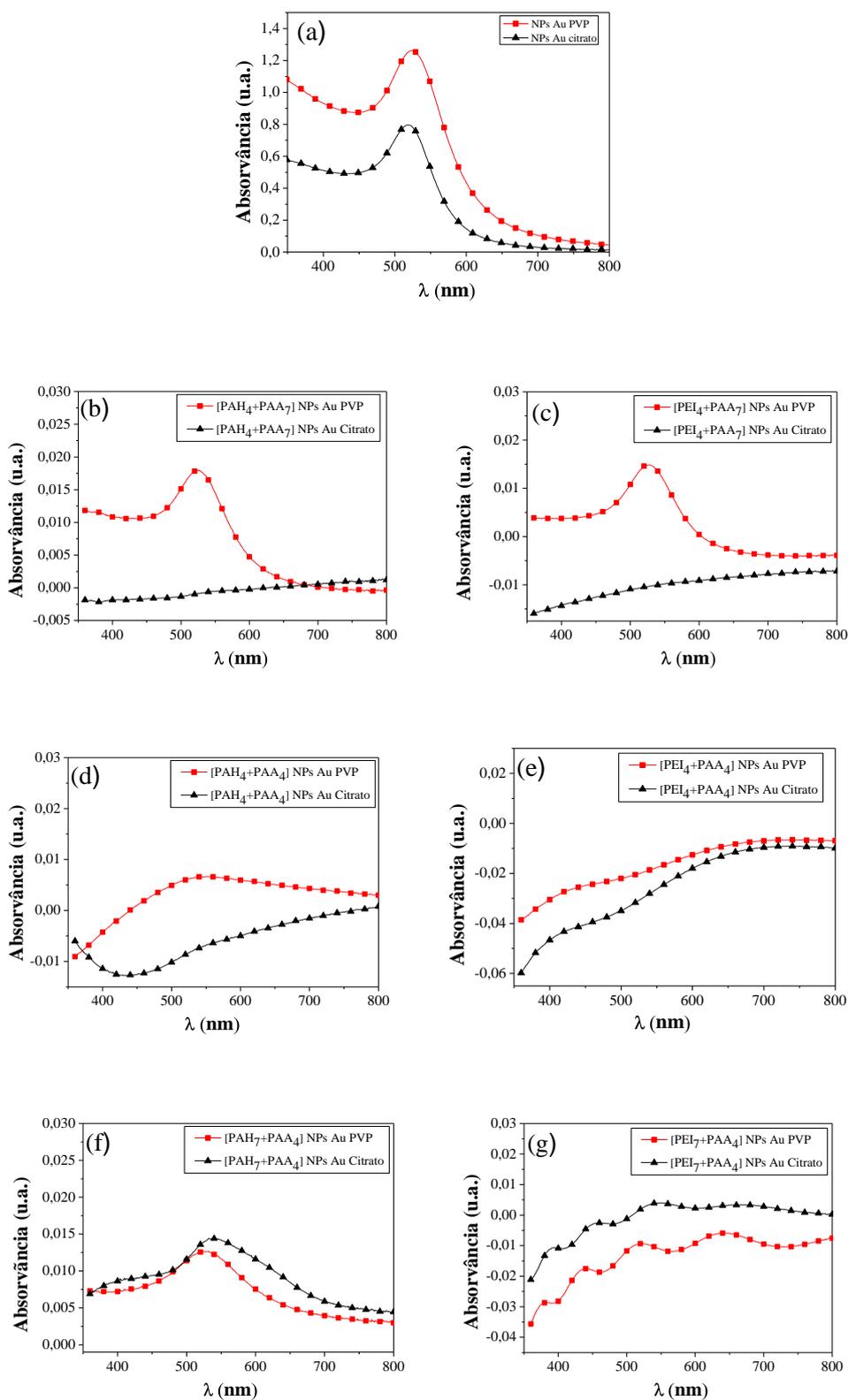


Figura 9: Espectros de UV VIS – NIR. (a) Soluções de NPs Au. Filmes automontados contendo NPs Au, (b) (PAH₄/PAA₇)₂₀, (c) (PEI₄/PAA₇)₂₀, (d) (PAH₄/PAA₄)₂₀, (e) (PEI₄/PAA₄)₂₀, (f) (PAH₇/PAA₄)₂₀ e (g) (PEI₇/PAA₄)₂₀.

De acordo com a teoria sobre estabilidade de soluções coloidais [68], quando um polieletrólito é dissolvido em água, ele adquire certa quantidade de carga elétrica. Devido a esta carga, uma repulsão eletrostática surge com uma determinada força e alcance, a qual depende da densidade de carga da molécula e da concentração de íons em solução, e assim permite a formação de multicamadas. Quanto maior o grau de protonação, maior será a densidade de carga do polieletrólito, e isto pode ser alterado pelo pH da solução do polieletrólito. Nestes filmes, nanopartículas de Au foram incorporadas e a banda de absorção características do Au, em torno de 520 - 530 nm [69, 70, 76], pode ser verificada nos sistemas $(PAH_4/PAA_7)_{20}$, $(PEI_4/PAA_7)_{20}$ e $(PAH_7/PAA_4)_{20}$, (Figura 7b, 7c e 7f) e em menor intensidade nos sistemas $(PAH_4/PAA_4)_{20}$ e $(PEI_4/PAA_4)_{20}$ (Figura 7d e 7e). Porém no outro sistema $((PEI_7/PAA_4)_{20})$ (Figura 7g) não aparece a banda de absorção característica para NPs Au e sim um padrão de picos e vales característico da formação de interferência. Este padrão é resultado da variação de espessura óptica no filme e do contraste entre os índices de refração do filme e do substrato, o que altera a transmitância de luz, perdendo-se assim a informação sobre a absorvância, pois a banda pode estar deslocada. Nas outras amostras possivelmente devido a uma menor espessura óptica do filme e/ou uma maior proximidade entre os índices de refração do filme e do substrato é possível verificar a banda de absorção do ouro.

Observa-se que em pHs distintos a interação torna-se maior. No sistema $(PAH_4/PAA_7)_{20}$ e $(PEI_4/PAA_7)_{20}$ (Figuras 7b e 7c) a incorporação das NPs Au estabilizadas por PVP foi mais eficiente em relação às NPs Au estabilizadas por citrato. Isto ocorreu devido ao fato de que as NPs Au estabilizadas por citrato possuem carga negativa. Esta é repelida pelos ácidos carboxílicos do PAA, última camada depositada,

que em pH = 7,0 encontram-se na conformação ionizada. E as NPs Au estabilizadas por PVP, por não apresentarem carga, tem maior facilidade de se incorporar na rugosidade do filme de polieletrólitos.

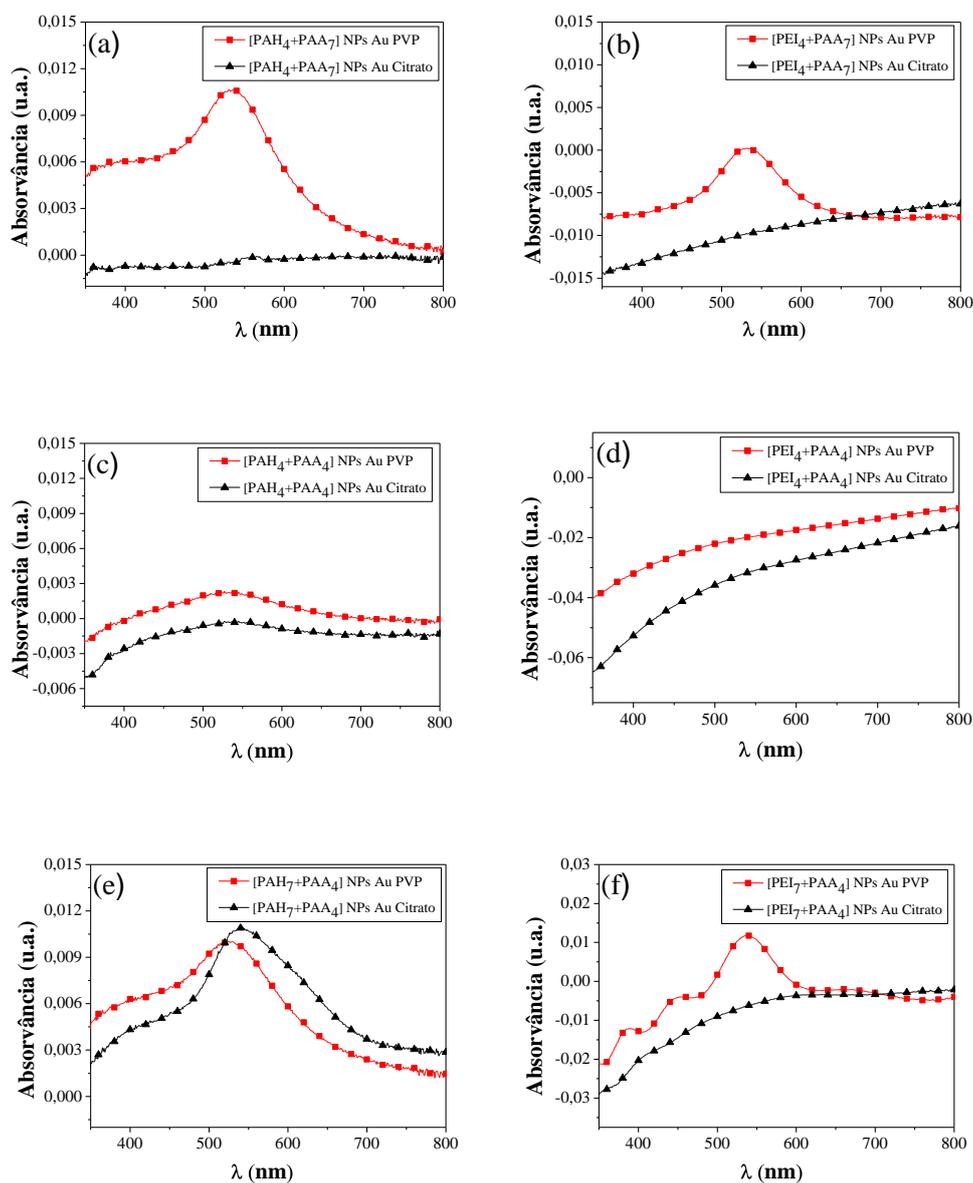


Figura 10: Espectros de UV VIS – NIR dos filmes automontados contendo NPs Au: (a) (PAH₄/PAA₇)₂₀, (b) (PEI₄/PAA₇)₂₀, (c) (PAH₄/PAA₄)₂₀, (d) (PEI₄/PAA₄)₂₀, (e) (PAH₇/PAA₄)₂₀ e (f) (PEI₇/PAA₄)₂₀.

Os valores mostrados para a absorvância são apenas estimativas, já que o cálculo de absorvância com base em medidas de transmitância não leva em conta possíveis variações no índice de refração do filme causadas pelas NPs Au, variações estas que alterariam o valor de transmitância do filme.

Para tentar quantificar-se a absorvância oriunda apenas das NPs Au nos filmes automontados, foram realizadas medidas de espectroscopia UV VIS – NIR por porcentagem de transmitância de luz, seguida de medidas da porcentagem de reflexão total, que é a soma da reflexão difusa com a reflexão especular. Medidas similares foram realizadas nos respectivos filmes sem NPs Au para determinar a absorção de luz devida ao substrato e ao filme sem NPs Au. Estas absorvâncias são descontadas nos valores obtidos para os filmes com NPs Au, obtendo assim as absorvâncias devidas somente as NPs Au presentes nos filmes. Com a % de luz absorvida pelas NPs Au pode-se estimar uma quantificação das NPs Au presentes nos filmes.

Utilizando-se os espectros das absorvâncias das NPs Au, foi realizado as quantificações das NPs Au nos PEM. Entretanto não foi possível quantificar adequadamente a absorção das NPs Au para todas as amostras, pois algumas apresentam valores negativos e até mesmo interferências, resultantes da mudança no espalhamento de luz causados pelas NPs Au na superfície do filme, ao se comparar com o filme sem a presença das NPs Au. Apenas alguns resultados estão listados na Tabela 1.

Tabela 1: Quantificações das NPs Au estabilizadas com citrato e PVP nos filmes nanoestruturados através da absorvância por UV-Vis:

Testes	NPs Au PVP (% Abs)	NPs Au citrato (% Abs)
[PAH ₄ /PAA ₇] ₂₀	2,5	Nd
[PEI ₄ /PAA ₇] ₂₀	0,03	Nd
[PAH ₄ /PAA ₄] ₂₀	0,5	Nd
[PEI ₄ /PAA ₄] ₂₀	Nd	Nd
[PAH ₇ /PAA ₄] ₂₀	2,3	2,5
[PEI ₇ /PAA ₄] ₂₀	2,7	Nd

Nd - Não determinado

Analisando a forma dos espectros da Figura 8, é possível observar que na maioria dos espectros das amostras com citrato não há a banda de absorção característica das NPs Au, ou se há esta banda, ela é muito reduzida. Isto indica que nos filmes com NPs Au estabilizadas por citrato de sódio, as NPs Au tem uma grande dificuldade de se incorporar no filme, devido à repulsão eletrostática causada pela carga negativa do citrato. A única exceção observada foi para a amostra (PAH₇/PAA₄)₂₀ (Figura 8e) onde a absorvância calculada para o citrato superou a de PVP. Este comportamento é devido a condição de pH do sistema, que facilita a incorporação das NPs Au estabilizadas por citrato que possui carga negativa.

A absorvância negativa que é apresentada nas Figuras 8a, 8b, 8c, 8d e 8f não possui sentido físico. É esperada que a absorção calculada seja zero quando não haja a presença de NPs Au dispersas nos filmes, ou mesmo levemente positiva quando as NPs estejam em pequena quantidade. Os valores negativos indicam que a adsorção das NPs Au nos filmes, alteraram significativamente a estrutura dos mesmos, fazendo com

que a comparação com os respectivos filmes de branco não sejam mais válidas para a quantificação da absorvância, devido ao fato da distribuição não homogênea das NPs Au no filme de polieletrólitos.

Esta modificação na estrutura do filme é mais claramente observada no espectro da Figura 8f, no qual observam-se picos de interferência, mesmo após o desconto da absorção devida ao respectivo “branco” desta amostra. Isto indica que este filme não tem uma distribuição homogênea de NPs Au em seu interior. O que corrobora com os resultados de um filme fino com NPs Au de MET que serão discutidos posteriormente.

3.3 Difração de Raios X (DRX)

A técnica de DRX foi utilizada para identificar as reflexões de Bragg características para o ouro, como apresentada na Figura 9. O ouro apresenta-se como sistema cristalino de fase cúbica de face centrada (CFC) e as reflexões mais representativas de Bragg são encontradas em 2θ : $38,18^\circ$ e $44,39^\circ$, correspondente aos planos (111) e (200), respectivamente. A maior intensidade do pico correspondente ao plano (111) possivelmente indica uma orientação cristalográfica preferencial nessa direção. Os difratogramas de DRX, assim como os espectros de UV VIS – NIR, confirmam a presença de nanopartículas de ouro nos filmes poliméricos dos sistemas estudados. As interpretações qualitativas dos difratogramas foram efetuadas por comparação com padrões contidos no banco de dados das fichas JCPDS (*Joint Committee on Powder Diffraction Standards*) ficha n° 4-0784.

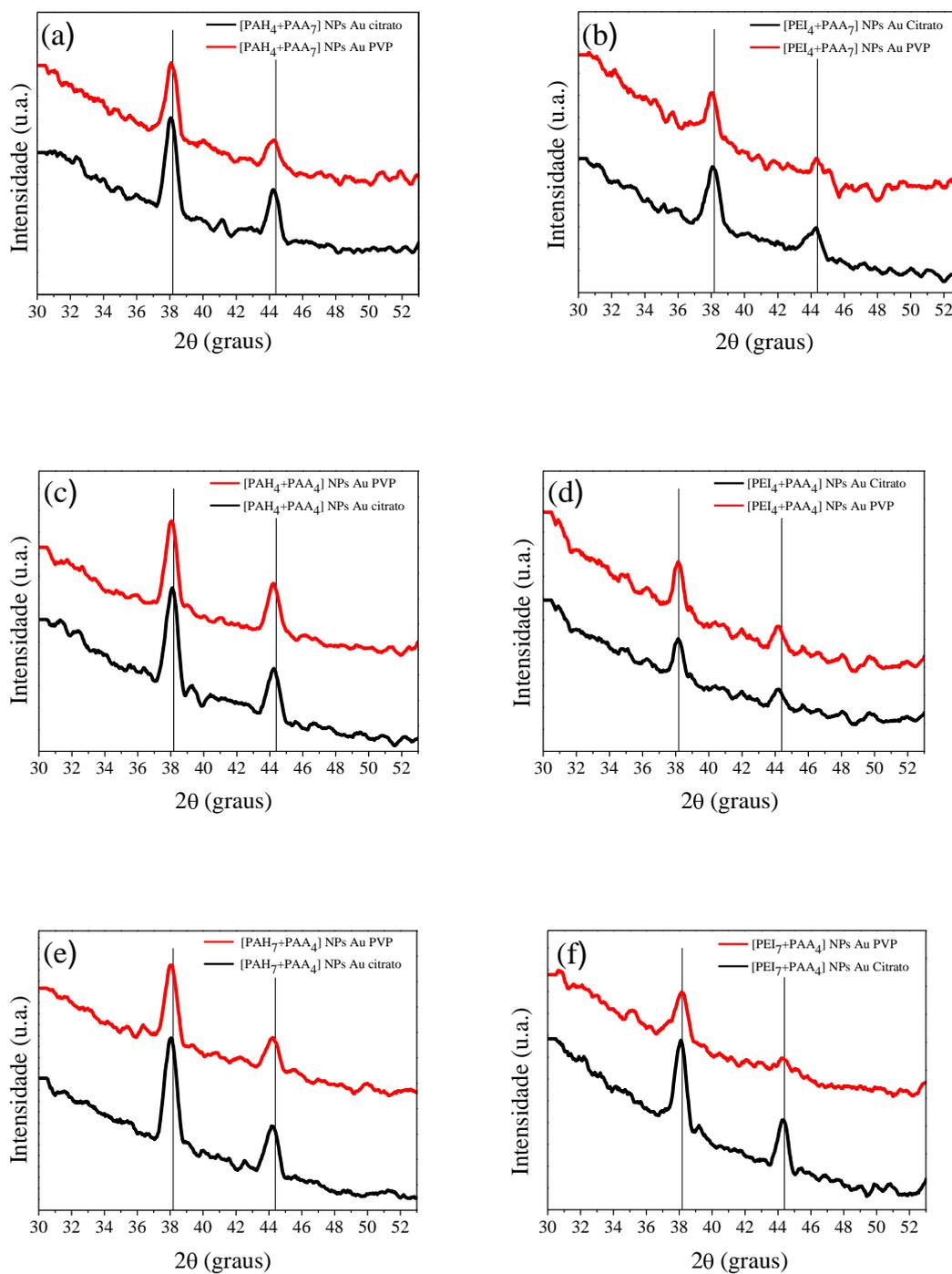


Figura 11: Difrato gramas de raios X dos filmes contendo NPs Au estabilizadas com citrato ou PVP: (a) $(\text{PAH}_4/\text{PAA}_7)_{20}$, (b) $(\text{PEI}_4/\text{PAA}_7)_{20}$, (c) $(\text{PAH}_4/\text{PAA}_4)_{20}$, (d) $(\text{PEI}_4/\text{PAA}_4)_{20}$, (e) $(\text{PAH}_7/\text{PAA}_4)_{20}$ e (f) $(\text{PEI}_7/\text{PAA}_4)_{20}$.

Nos resultados de DRX das amostras depositadas contendo NPs Au, pode-se observar similar comportamento para todos os filmes nos diferentes sistemas, onde confirmam-se a presença das nanopartículas de ouro. Porém os filmes com PAH/PAA, Figuras 9a, 9c e 9e apresentam-se mais intensos devido ao fato de que o PAH é mais forte e ioniza mais facilmente que o PEI que possui um peso molecular elevado em comparação ao PAH, o que também pode dificultar a deposição das moléculas, facilitando assim a incorporação das NPs Au nos filmes com PAH/PAA.

Após a obtenção de dados dos difratogramas aplicou-se a equação de Scherrer, para estimar os tamanhos das NPs Au, apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Diâmetros médios das NPs Au estabilizadas por citrato e PVP e difundidas no filme foram calculados utilizando a equação de Scherrer.

Testes	NPs Au PVP (nm)	NPs Au citrato (nm)
[PAH ₄ /PAA ₇] ₂₀	12,8 ±1	13,2 ±0,6
[PEI ₄ /PAA ₇] ₂₀	9,9 ±3	11,9 ±0,3
[PAH ₄ /PAA ₄] ₂₀	12,1 ±0,3	12,8 ±0,2
[PEI ₄ /PAA ₄] ₂₀	13,8 ±2	14,9 ±0,5
[PAH ₇ /PAA ₄] ₂₀	11,9 ±0,5	12,2 ±1
[PEI ₇ /PAA ₄] ₂₀	9,6 ±2	13,7 ±1

Pelos resultados obtidos e considerando-se os desvios calculados, observam-se espessuras semelhantes entre as NPs Au estabilizadas por citrato. O diâmetro médio das NPs Au estabilizadas por PVP e incorporadas no filme difere no que foi obtido por meio

da microscopia eletrônica de transmissão, como será discutida na seção 3.4 deste Capítulo.

3.4 Microscopia de Força Atômica (MFA)

A morfologia dos filmes foi analisada por microscopia de força atômica (MFA). Nas Figuras 10, 11 e 12 são apresentadas as micrografias para os sistemas com PAH/PAA e PEI/PAA, para as amostras antes e após a incorporação das nanopartículas de ouro. Nessas imagens, as regiões mais escuras correspondem aos “vales” ou depressões das amostras. Quanto mais clara é a região, maior é a altura do ponto observado, sendo que o ponto mais claro em cada imagem corresponde ao máximo na escala do eixo z.

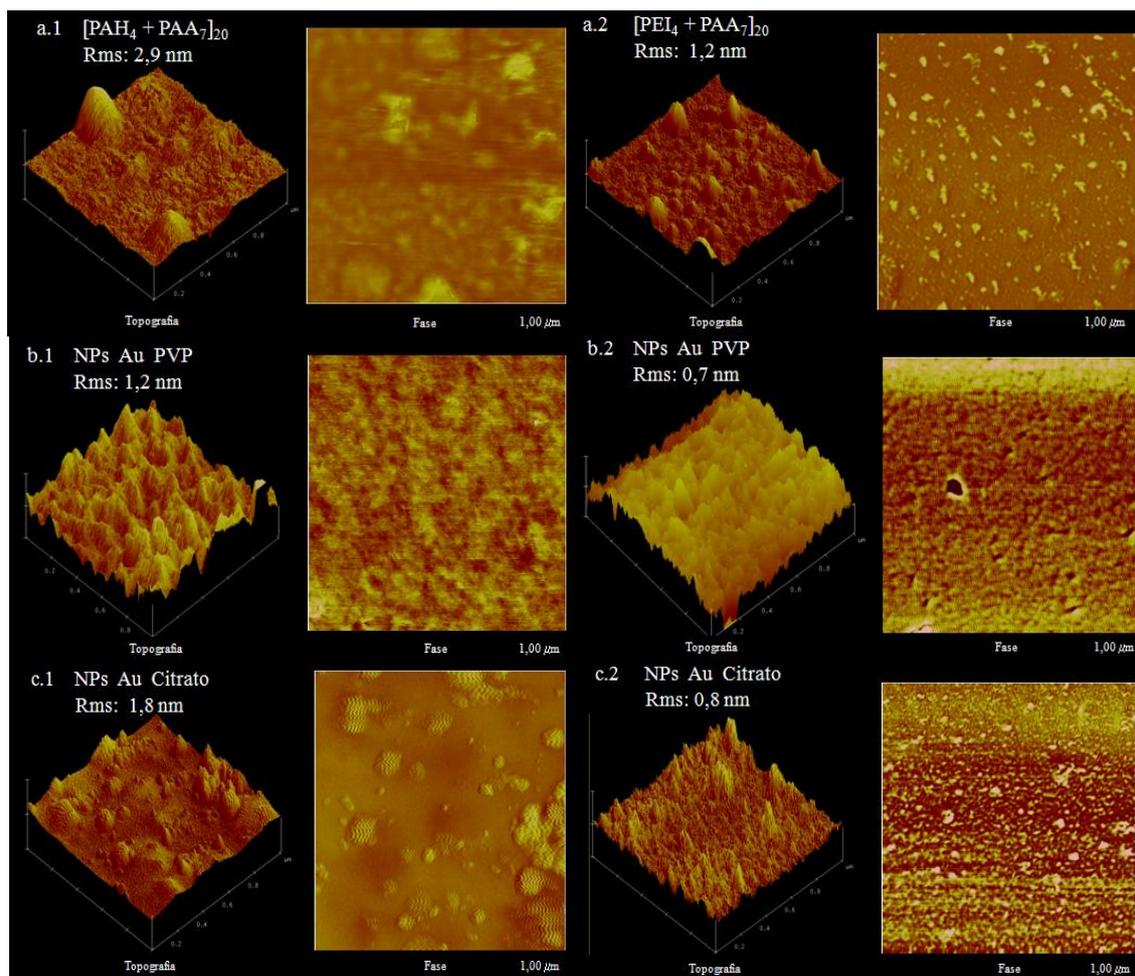


Figura 12: Imagens de MFA, topografia e fase: a.1 (PAH₄/PAA₇)₂₀, b.1 (PAH₄/PAA₇)₂₀ NPs Au PVP, c.1 (PAH₄/PAA₇)₂₀ NPs Au Citrato, a.2 (PEI₄/PAA₇)₂₀, b.2 (PEI₄/PAA₇)₂₀ NPs Au PVP e c.2 (PEI₄/PAA₇)₂₀ NPs Au Citrato.

A microscopia de força atômica (MFA) realizada nos filmes de polieletrólitos contendo nanopartículas de ouro indica, claramente, à formação de uma superfície mais homogênea, composta por nanopartículas de ouro. As Figuras 10a.1 e 10a.2, correspondem à morfologia dos filmes de (PAH₄/PAA₇)₂₀ e (PEI₄/PAA₇)₂₀ sem a presença das NPs Au. As Figuras 10b.1 e 10b.2 correspondem à morfologia destes filmes imersos por 1 hora em uma solução coloidal de nanopartículas de ouro estabilizadas por PVP enquanto as Figuras 10c.1 e 10c.2 correspondem à morfologia

desses filmes imersos por 1 hora em uma solução coloidal de nanopartículas de ouro estabilizadas por citrato de sódio.

Na fabricação de filmes por automontagem [71, 72] deve-se esperar que, quando a automontagem ocorrer em pHs elevados, as cadeias do polícatión podem estar na conformação enovelada, facilitando a deposição pela menor repulsão eletrostática entre as cadeias. Contudo, em pHs baixos, a deposição é dificultada pela repulsão eletrostática entre as cadeias e devido a boa solubilidade do polícatión. As moléculas de polieletrólito se adsorvem de maneira estirada na superfície e, as moléculas adsorvidas repelem as moléculas próximas ao substrato, criando uma região de depleção, e assim espera-se a formação de camadas delgadas.

Nas Figuras 10a1 e 10a2 observam-se um maior grau de rugosidade do filme de polieletrólitos sem a presença das NPs Au em função da sua conformação das cadeias, em comparação ao material com nanopartículas de ouro. Este comportamento é atribuído à adsorção das NPs Au, que se incorporam nas depressões existentes no filme, provocando o decréscimo da mesma. Nas Figuras 10c1 e 10c2 observa-se ainda um aumento da rugosidade para os filmes $(PAH_4/PAA_7)_{20}$ e $(PEI_4/PAA_7)_{20}$ com NPs Au estabilizadas por citrato de sódio, em comparação aos sistemas com NPs Au estabilizadas por PVP, onde verifica-se uma rugosidade, $R_{ms} = 1,8$ nm e 0,8 nm, respectivamente. O citrato de sódio que estabiliza a NPs tem uma menor adsorção devido à repulsão eletrostática existente entre o filme e a nanopartícula, pois como o citrato possui carga negativa, ocorre a repulsão pelos grupos do PAA ionizados ($-COO^-$), dificultando a adsorção no filme. As NPs Au estabilizadas por PVP possuem maior aderência no filme, pois tem carga neutra e também possuem um diâmetro médio em torno de 4-6 nm, sendo menores que as NPs Au estabilizadas por citrato de sódio

que possuem um diâmetro em torno de 12-13 nm, o que facilita a adsorção devido à rugosidade do filme. Nos filmes com NPs Au estabilizadas com citrato a adsorção não ocorreu uniformemente. Aparentemente as NPs Au são incorporadas sobre a superfície, aumentando assim a rugosidade dos filmes. Na Tabela 3, abaixo, são apresentados os valores de rugosidade calculados a partir das imagens de MFA.

Tabela 3: Rugosidades calculadas a partir das imagens de MFA.

	[PAH ₄ /PAA ₇] ₂₀ (nm)	[PEI ₄ /PAA ₇] ₂₀ (nm)
PEM	2,9	1,2
NPs Au PVP	1,2	0,7
NPs Au Citrato	1,8	0,8

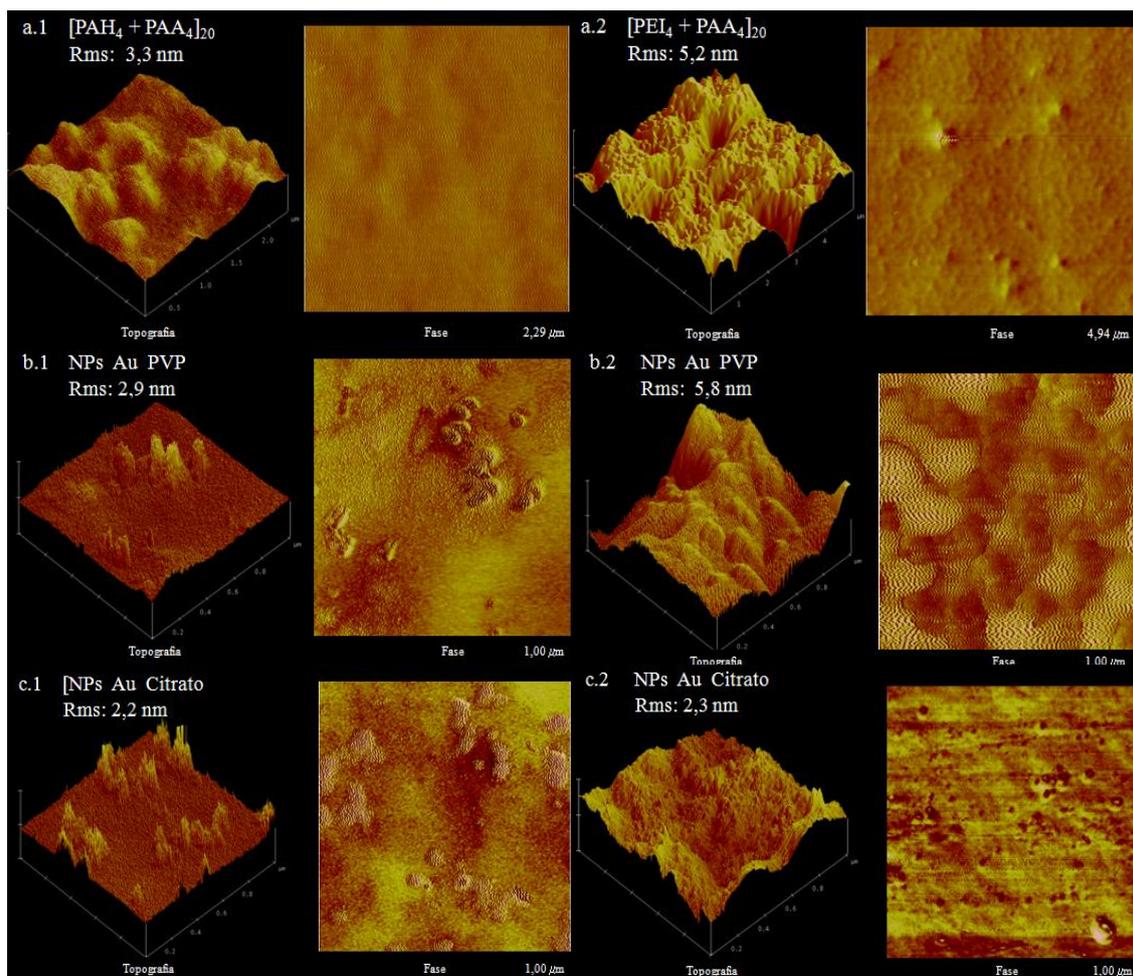


Figura 13: Imagens de MFA, topografia e fase: a.1 (PAH₄/PAA₄)₂₀, b.1 (PAH₄/PAA₄)₂₀ NPs Au PVP, c.1 (PAH₄/PAA₄)₂₀ NPs Au Citrato, a.2 (PEI₄/PAA₄)₂₀, b.2 (PEI₄/PAA₄)₂₀ NPs Au PVP e c.2 (PEI₄/PAA₄)₂₀ NPs Au Citrato.

A morfologia e a rugosidade representante do modo topografia e fase por MFA de nanopartículas de ouro incorporadas em filmes de (PAH₄/PAA₄)₂₀ e (PEI₄/PAA₄)₂₀ na superfície do vidro são mostradas na Figura 11. As nanopartículas aparecem depositadas no filme polimérico e exibem uma dispersão mais homogênea em comparação aos outros sistemas estudados, porém com evidência de agregados. Pelas imagens em 3D da topografia das amostras pode-se observar claramente a variação da altura das partículas que compõem o filme, dando idéia da sua rugosidade. Estas diferenças dos filmes

multicamadas podem ser atribuídas devido as propriedades de superfície intrínsecas de cada sistema.

O PAH/PAA (Figura 11b1 e 11c1) em multicamadas com NPs Au, obtidos em pH iguais (4,0/4,0) exibe estrutura mais plana, em comparação as Figuras 10 e 12. Na Figura 11, constatou-se a alteração na rugosidade dos filmes automontados com incorporação das NPs Au, a rugosidade diminui, pois as NPs alojam-se nas regiões rugosas do filme, tornando-o mais homogêneo e assim diminuindo a Rms [73, 74]. Na Tabela 4 são apresentadas as rugosidades para comparação.

Tabela 4: Rugosidades calculadas a partir das imagens de MFA.

	[PAH ₄ /PAA ₄] ₂₀ (nm)	[PEI ₄ /PAA ₄] ₂₀ (nm)
PEM	3,3	5,2
NPs Au PVP	2,9	5,8
NPs Au Citrato	2,2	2,3

No sistema PAH/PAA (4,0/4,0), a maioria dos grupos ácido carboxílico permanece não ionizado, observando-se um relaxamento das cadeias e rugosidade em torno de 3,3 nm para os filmes sem a incorporação das NPs Au. Para o filme com PEI/PAA, sem a incorporação das NPs Au, observa-se comportamento semelhante com Rms = 5,2 nm. Este comportamento deve-se ao fato de que por possuir pKa semelhantes, os polieletrólitos encontram-se parcialmente protonados e assim há um relaxamento das cadeias, como no sistema PAH/PAA.

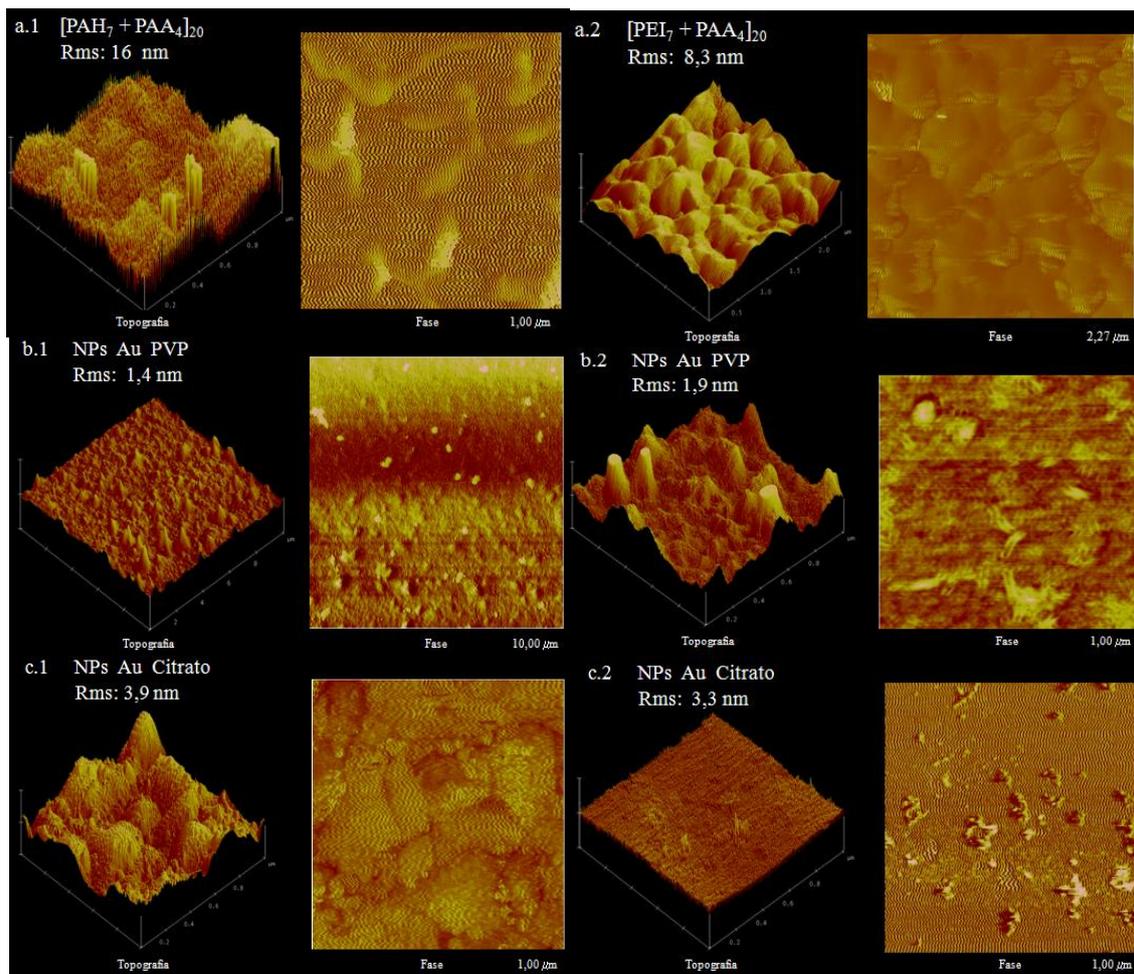


Figura 14: Imagens de MFA, topografia e fase: a.1 (PAH₇/PAA₄)₂₀, b.1 (PAH₇/PAA₄)₂₀ NPs Au PVP, c.1 (PAH₇/PAA₄)₂₀ NPs Au Citrato, a.2 (PEI₇/PAA₄)₂₀, b.2 (PEI₇/PAA₄)₂₀ NPs Au PVP e c.2 (PEI₇/PAA₄)₂₀ NPs Au Citrato.

A Figura 12 representa as imagens de MFA para os filmes de (PAH₇/PAA₄)₂₀ e (PEI₇/PAA₄)₂₀. A superfície das amostras apresenta uma rugosidade (Rms) variando entre 1,4 nm até 3,9 nm para as amostras com NPs Au.

Os filmes com (PAH₇/PAA₄)₂₀ (Figuras 12a.1, 12b.1 e 12c.1) apresentam uma maior rugosidade em relação aos outros sistemas, devido a interação eletrostática entre os grupos funcionais NH_3^+ e COO^- . Isto pode ser explicado, pois quando o PAH apresenta pH = 7,0, uma pequena parte dos grupos amina estão desprotonados e o PAA

em pH = 4,0 está pouco protonado, e em função disto as cadeias formam “*loops*” aumentando a rugosidade do filme, visivelmente observada por MFA. Na Figura 12c, o PAH em pH = 7,0 apresenta uma pequena parte dos grupos amina desprotonados, o que dificulta a incorporação destas nanopartículas, pois a carga negativa do citrato que estabiliza a NP Au será bloqueada pela repulsão eletrostática destas nanopartículas com a camada de PAA em pH = 4,0, formando assim, aglomerados na superfície do filme.

Filmes PAH/PAA com NPs Au em pHs distintos (7,0/4,0 e/ou 4,0/7,0) possuem micro-estrutura enovelada relativamente grosseira, como mostrado nas imagens das Figuras 10 e 12. Essa diferença morfológica pode ser originada a partir das mudanças na conformação da cadeia de polieletrólitos e pelo efeito das interações eletrostáticas, facilitando a incorporação das nanopartículas de ouro.

No filme multicamadas PAH/PAA, as nanopartículas de ouro foram incorporadas com sucesso, onde observam-se aglomerados para o filme com NPs Au estabilizadas por citrato, com Rms= 3,9 nm. No entanto, para os sistemas (7,0/4,0 e/ou 4,0/7,0), por exemplo, (PAH₇/PAA₄)₂₀ e (PAH₄/PAA₇)₂₀, há uma quantidade reduzida de grupos –COOH reativos no filme [32], o que causa uma rugosidade natural no filme, facilitando a incorporação das NPs Au.

Quando o PEI está em pH= 7,0, resulta em uma maior adsorção da camada PEI em PAA, dependendo principalmente da densidade de carga do polímero adsorvido, pois o pH do polieletrólito PEI é maior e conseqüentemente os “*loops*” de cadeia são maiores. Por esse motivo, há um maior entrelaçamento entre os grupos amina e ácido carboxílico, aumentando assim a rugosidade.

Na Tabela 5 são apresentados os valores de rugosidades para os filmes (PAH₇/PAA₄)₂₀ e (PEI₇/PAA₄)₂₀.

Tabela 5: Rugosidades calculadas a partir das imagens de MFA.

	[PAH ₇ /PAA ₄] ₂₀ (nm)	[PEI ₇ /PAA ₄] ₂₀ (nm)
PEM	3,3	5,2
NPs Au PVP	2,9	5,8
NPs Au Citrato	2,2	2,3

Para um melhor entendimento dos sistemas, após a obtenção das imagens de MFA calculou-se as rugosidades dos sistemas estudados, os resultados são apresentadas na Figura 13.

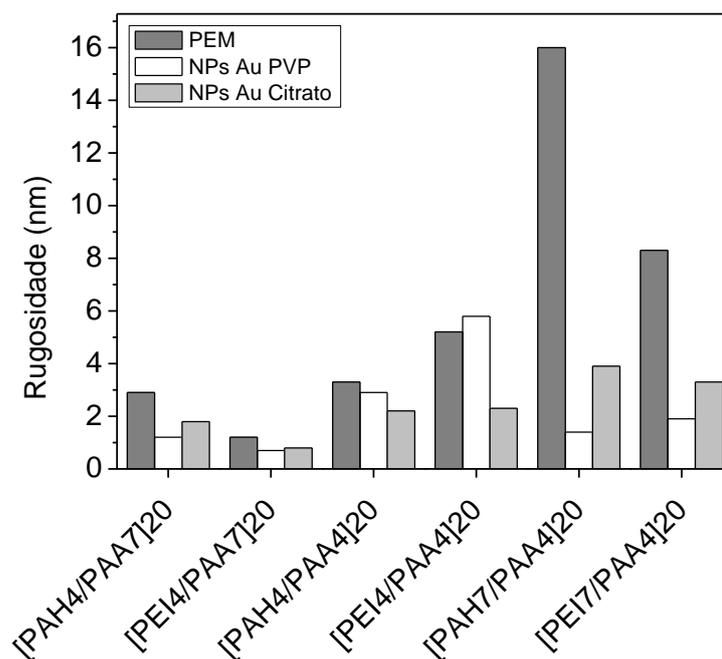


Figura 15: Gráfico de rugosidades dos sistemas estudados

Em comparação aos resultados obtidos observa-se que os sistemas em pH (7,0/4,0) são os mais rugosos. PAH em pH 7,0 está na sua conformação enovelada, com pouca carga positiva e PAA em pH 4,0 também está na sua conformação mais enovelada, com pouca carga negativa, sendo assim, a uma menor interação entre os polieletrólitos, o que resulta em um aumento da rugosidade. Nos filmes com pH (4,0/4,0) a rugosidade tem um decréscimo devido a maior interação entre os polieletrólitos. Em pH (4,0/7,0), as moléculas estão na sua conformação estendida, o que resulta em muita interação eletrostática entre os polieletrólitos e conseqüentemente uma aumento na sua rugosidade.

Pelos resultados encontrados, pode-se dizer que as NPs Au estabilizadas por citrato são relativamente uniformes em tamanho e o efeito da variação do pH influi fortemente, pois as imagens mostraram comportamentos diferentes.

A MET, discutida a seguir, vem corroborar para um melhor entendimento da incorporação destas nanopartículas no filme.

3.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A MET foi utilizada para analisar a morfologia da nanoestrutura de filmes finos com NPs Au. As Figuras 14 e 15 mostram as imagens de seção transversa das NPs Au nos filmes de polieletrólitos.

Na Figura 14a e 14b é apresentada a micrografia para o sistema $(PAH_4/PAA_7)_{20}$ e $(PEL_4/PAA_7)_{20}$, enquanto na Figura 14c e 14d são apresentados os sistemas $(PAH_7/PAA_4)_{20}$ e $(PEI_7/PAA_4)_{20}$. Todas as micrografias apresentadas na Figura 14 são dos sistemas após a incorporação de NPs Au estabilizadas por PVP, onde a MET mostra

claramente a adsorção destas nanopartículas de modo uniforme no PEM. A espessura do filme polimérico com NPs Au e a distribuição de tamanho destas NPs também foram avaliadas. Nestas imagens observam-se duas populações de NPs com uma distribuição entre 2-10 nm, sendo a maioria das NPs Au entre 4-6 nm, com aglomerados de até 18 nm. O histograma correspondente ao tamanho das nanopartículas, representado por uma curva log normal para Figura 14a1 e Gaussiana para as demais (Figuras 14b1, 14c1 e 14d1), revelam esta distribuição monomodal de tamanhos. As espessuras dos filmes $(\text{PAH}_4/\text{PAA}_7)_{20}$, $(\text{PEI}_4/\text{PAA}_7)_{20}$, $(\text{PAH}_7/\text{PAA}_4)_{20}$ e $(\text{PEI}_7/\text{PAA}_4)_{20}$ encontradas foram de 48, 32, 35 e 33 nm, respectivamente.

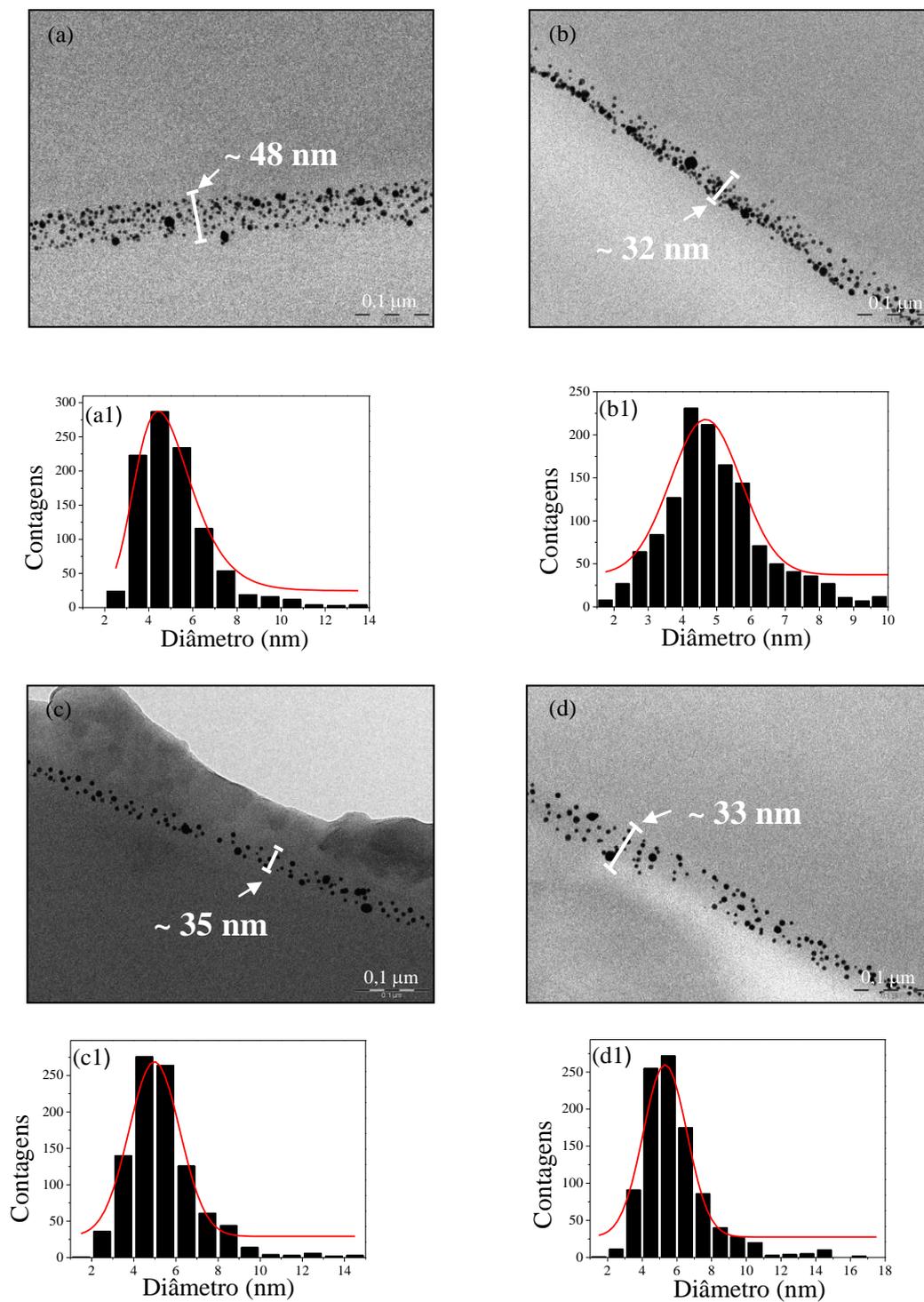


Figura 16: Imagem de MET dos filmes com incorporação de NPs Au PVP: (a) $(PAH_4/PAA_7)_{20}$, (b) $(PEI_4/PAA_7)_{20}$, (c) $(PAH_7/PAA_4)_{20}$ (d) $(PEI_7/PAA_4)_{20}$ e nas respectivas figuras (a1), (b1), (c1) e (d1) os histogramas das distribuições de tamanho das NPs Au estabilizadas com PVP.

Similar morfologia e distribuição das NPs foram relatadas por Machado e colaboradores [75], mas neste caso as nanopartículas de prata foram formadas no filme. Sabe-se que o PEM, quando rugoso, pode facilitar a aglomeração de nanopartículas muito pequenas. Micrografias somente dos filmes poliméricos não podem ser observadas na microscopia eletrônica, devido à baixa densidade eletrônica, o que acarreta em pouco contraste destes filmes [76], sendo a área mais escura observada correspondente a resina de embutimento das amostras. Pela análise das imagens observam-se espessuras semelhantes entre os diferentes sistemas, com exceção do sistema $(PAH_4/PAA_7)_{20}$ (Figura 14a), que apresenta maior espessura, pois este filme contém maior quantidade de nanopartículas em relação aos outros sistemas, o que caracteriza uma maior incorporação no filme automontado e assim uma maior espessura.

Na Figura 15a e 15b observam-se as imagens dos sistemas $(PAH_4/PAA_7)_{20}$ e $(PEI_4/PAA_7)_{20}$, enquanto as Figuras 15c e 15d correspondem aos sistemas $(PAH_7/PAA_4)_{20}$ e $(PEI_7/PAA_4)_{20}$. As imagens apresentadas para estes sistemas são após a incorporação de NPs Au estabilizadas por citrato de sódio. Nas micrografias apresentadas na Figura 13, podem-se verificar que as NPs não tiveram uma adsorção homogênea no filme multicamadas, a incorporação é irregular e apresenta falhas, devido à repulsão eletrostática entre o citrato e o filme polimérico.

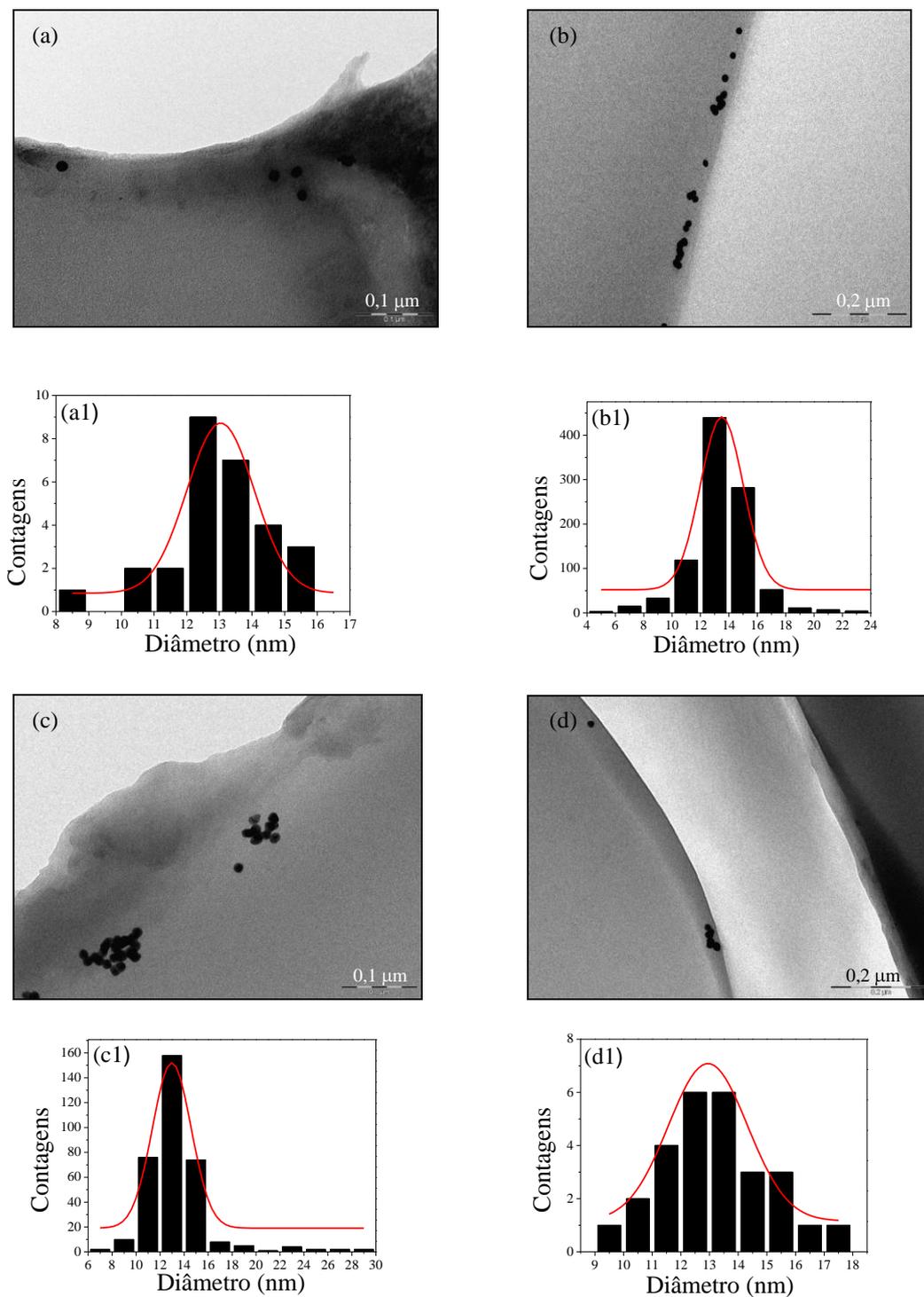


Figura 17: Imagem de MET dos filmes com incorporação de NPs Au estabilizadas com Citrato de sódio: (a) $(PAH_4/PAA_7)_{20}$, (b) $(PEL_4/PAA_7)_{20}$, (c) $(PAH_7/PAA_4)_{20}$, (d) $(PEI_7/PAA_4)_{20}$ e nas respectivas figuras (a1), (b1), (c1) e (d1) os histogramas da distribuição de tamanho das NPs.

O histograma na Figura 15a1 mostra uma população de diâmetro médio em torno de 11-16 nm representado pela curva Gaussiana com distribuição monomodal, sendo a maioria das NPs Au entre 12-14 nm, com aglomerados de até 30 nm. Comportamento similar é observado na Figura 15b1. Este comportamento deve-se ao fato que na condição de $\text{pH} = 4,0$, o PAH está pouco protonado e carregado na forma $-\text{NH}_3^+$, porém a última camada depositada é de poliânion, o PAA, que em $\text{pH} = 7,0$ está ionizado, diminui a quantidade de grupos $-\text{COOH}$, ou seja, seus grupos carboxilato estão ionizados na forma $-\text{COO}^-$, dificultando assim a incorporação destas NPs Au carregadas negativamente.

Na Figura 15c e 15d as NPs Au depositaram-se em forma de aglomerados. Analisando os histogramas representados pela curva Gaussiana, verifica-se uma distribuição do diâmetro médio das NPs, entre 11-16 nm, representadas pela curva monomodal (Figura 15c1 e 15d1). A larga distribuição das NPs verificada em alguns histogramas, deve-se a presença de artefatos durante a preparação das amostras, o que dificulta a análise em MET. Esta dificuldade é representada pela ausência das medidas de espessuras dos filmes poliméricos (Figura 15), visto que estes mostram-se danificados devido o corte ineficiente durante a preparação das amostras. Neste caso, um menor número de NPs foi computada e, conseqüentemente, uma maior incerteza esta envolvida, gerando, desta forma, histogramas representados por uma larga distribuição de diâmetros médios de NPs.

No caso dos sistemas $(\text{PAH}_7/\text{PAA}_4)_{20}$ e $(\text{PEI}_7/\text{PAA}_4)_{20}$ com NPs Au estabilizadas por citrato (Figuras 15c e 15d), os polieletrólitos catiônicos apresentam $\text{pH} = 7,0$. Neste caso, uma pequena parte dos grupos amins estão desprotonados, dificultando a incorporação destas nanopartículas. As nanopartículas ficam limitadas à superfície das

multicamadas, pois a carga negativa do citrato que estabiliza as NPs Au, será bloqueada pela repulsão eletrostática destas nanopartículas com a camada externa de PAA em $\text{pH} = 4,0$.

Assim, conclui-se que as os diâmetros das NPs Au mantiveram-se semelhantes nos diferentes sistemas estudados, apenas comportando-se diferentemente conforme o arranjo do filme polimérico analisado.

Os resultados obtidos por MET corroboram com os dados obtidos pelos cálculos de Scherrer apresentados no Capítulo III, seção 3.2. Na Tabela 6 são apresentados os valores comparativos.

Tabela 6: Comparação dos diâmetros médios das NPs Au difundidas nos filmes, calculados pela equação de Scherrer e por MET.

Testes	NPs Au PVP DRX (nm)	NPs Au PVP MET (nm)	NPs Au citrato DRX (nm)	NPs Au citrato MET (nm)
[PAH ₄ /PAA ₇] ₂₀	12,8	2-10	13,2	11-16
[PEI ₄ /PAA ₇] ₂₀	9,9	2-10	11,9	11-16
[PAH ₄ /PAA ₄] ₂₀	12,1	Nd	12,8	Nd
[PEI ₄ /PAA ₄] ₂₀	13,8	Nd	14,9	Nd
[PAH ₇ /PAA ₄] ₂₀	11,9	2-10	12,2	11-16
[PEI ₇ /PAA ₄] ₂₀	9,6	2-10	13,7	11-16

Nd - Não determinado

Para os sistemas com NPs Au estabilizadas por citrato de sódio, o diâmetro médio corrobora com o DRX. Entretanto, para as NPs Au estabilizadas por PVP, o diâmetro

calculado pela equação de Scherrer pode estar relacionado aos aglomerados. Por MET as nanopartículas apresentam-se com diâmetros de 2-10 nm, porém com distribuição de até 18 nm, característico de aglomerados.

3.6 Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford (RBS)

A composição e a espessura dos filmes com NPs Au foram determinadas por espectrometria de retroespalhamento Rutherford. As análises de RBS foram utilizadas para avaliar a quantidade relativa e a espessura da camada de NPs Au formadas pelo processo de automontagem. A Figura 16 mostra os espectros de RBS das amostras $(PAH_4/PAA_7)_{20}$, $(PEI_4/PAA_7)_{20}$, $(PAH_4/PAA_4)_{20}$, $(PEI_4/PAA_4)_{20}$, $(PAH_7/PAA_4)_{20}$ e $(PEI_7/PAA_4)_{20}$, com incorporação de NPs Au estabilizadas por PVP e NPs Au estabilizadas por citrato de sódio.

A Figura 16 apresenta os espectros típicos de RBS dos filmes automontados contendo NPs Au, utilizadas na quantificação das NPs Au. No sistema $(PAH_4/PAA_4)_{20}$ com NPs Au estabilizadas por PVP, representado pela Figura 16d, não foi possível fazer a quantificação. Neste filme, a protonação dos polieletrólitos propicia a interação entre os grupos funcionais, diminuindo a densidade de carga no filme, o que dificulta a incorporação das NPs Au e, conseqüentemente a quantificação do espectro de RBS. Esse resultado corrobora com os espectros de UV VIS - NIR desse sistema, que apresenta apenas 0,5% de absorvância.

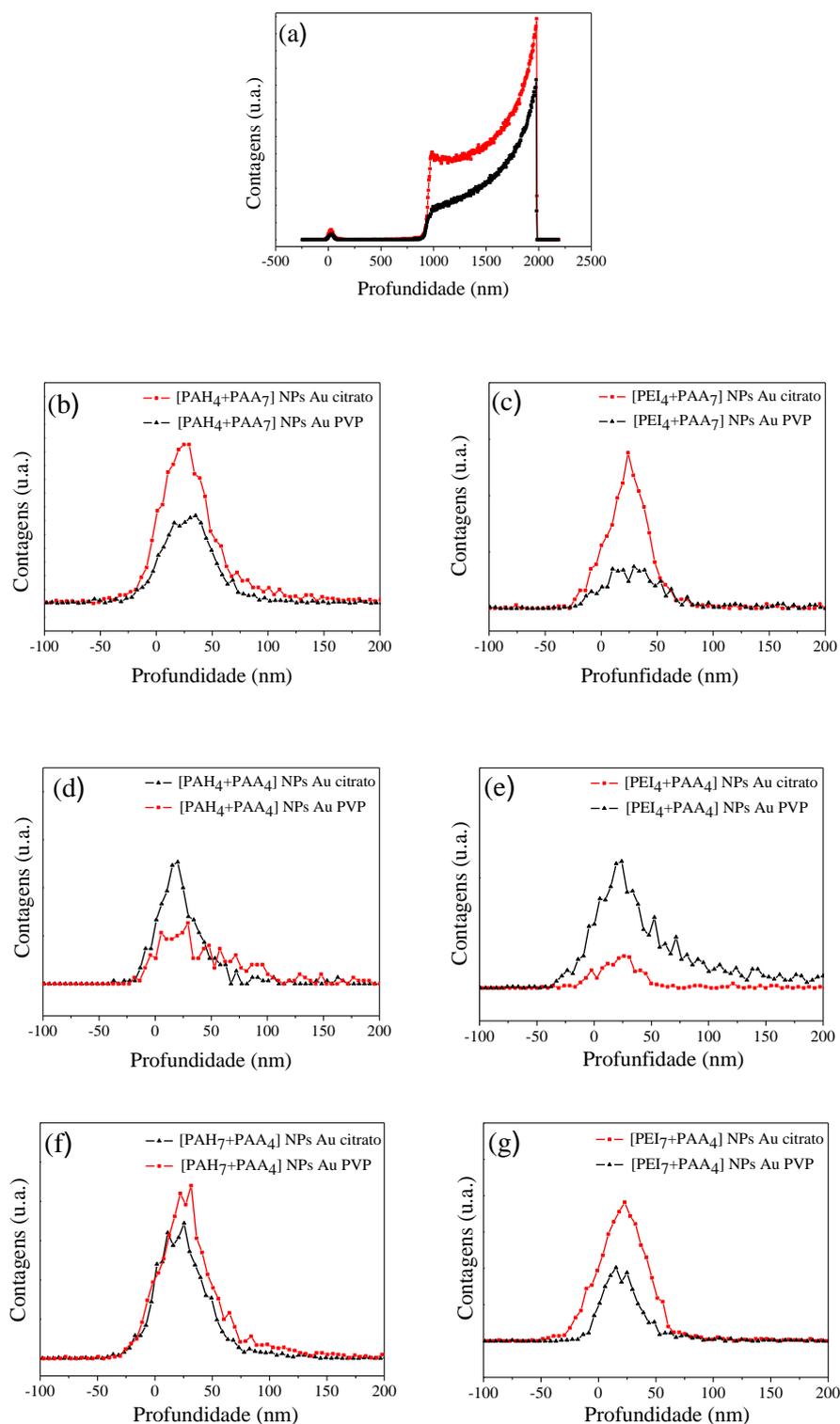


Figura 18: Espectros de RBS das amostras: a) Espectro completo; Em detalhe região característica de cada filme: b) $(PAH_4/PAA_7)_{20}$; c) $(PEI_4/PAA_7)_{20}$; d) $(PAH_4/PAA_4)_{20}$; e) $(PEI_4/PAA_4)_{20}$; f) $(PAH_7/PAA_4)_{20}$; g) $(PEI_7/PAA_4)_{20}$. Em linha com quadrados está representada a curva NPs Au PVP e em linha com triângulos os filmes com NPs Au Citrato.

A área do pico do ouro é proporcional a quantidade de átomos de Au por unidade de área. Sendo assim os resultados comparativos entre as quantificações por RBS e % Absorvância encontram-se na Tabela 7 abaixo.

Tabela 7: Quantificação de NPs Au em filmes multicamadas de polieletrólitos por RBS e UV VIS - NIR

Amostras	NPs Au PVP (átomo.cm ⁻²)	NPs Au PVP (% Abs)	NPs Au Citrato (átomo.cm ⁻²)	NPs Au Citrato (% Abs)
[PAH ₄ /PAA ₇] ₂₀	9,22x10 ¹⁴	2,5	5x10 ¹⁴	Nd
[PEL ₄ /PAA ₇] ₂₀	8,18x10 ¹⁴	0,03	3,29x10 ¹⁴	Nd
[PAH ₄ /PAA ₄] ₂₀	Nd	0,5	8,95x10 ¹³	Nd
[PEL ₄ /PAA ₄] ₂₀	8,94x10 ¹³	Nd	1,17x10 ¹⁵	Nd
[PAH ₇ /PAA ₄] ₂₀	1,67x10 ¹⁵	2,3	1,25x10 ¹⁵	2,5
[PEL ₇ /PAA ₄] ₂₀	5,83x10 ¹⁴	2,7	1,42x10 ¹⁵	Nd

Nd - Não determinado

O sistema (PEL₄/PAA₄)₂₀ com NPs Au PVP, representado pela Figura 16e, apresenta a menor quantidade de ouro calculado por RBS e isso, confirma-se por UV VIS - NIR, onde não foi possível realizar a quantificação, resultante de uma baixa incorporação das NPs Au no filme. O sistema (PAH₇/PAA₄)₂₀, representado pela Figura 16f, foi o mais eficiente para a incorporação de NPs Au estabilizadas por PVP, e apresenta grande quantidade de ouro em comparação aos outros sistemas, devido a menor interação entre os polieletrólitos o que aumenta a rugosidade do filme e consequentemente a adsorção das NPs Au.

As diferenças entre as quantificações por RBS e UV VIS - NIR podem ser explicadas pela diferença na área analisada nos filmes, pois a adsorção não é homogênea em todo o filme.

Com base nos espectros de RBS, determinou-se a quantidade de ouro nas amostras e estimou-se também a espessura média dos filmes, comparando-se com os resultados de MET, (Tabela 8).

Tabela 8: Espessuras dos filmes multicamadas de polieletrólitos contendo NPs Au por RBS e MET

Amostras	NPs Au PVP MET (nm)	NPs Au PVP RBS (nm)	NPs Au Citrato MET (nm)	NPs Au Citrato RBS (nm)
[PAH ₄ /PAA ₇] ₂₀	48	47	Nd	54
[PEL ₄ /PAA ₇] ₂₀	32	53	Nd	14
[PAH ₄ /PAA ₄] ₂₀	Nd	29	Nd	22
[PEL ₄ /PAA ₄] ₂₀	Nd	46	Nd	50
[PAH ₇ /PAA ₄] ₂₀	35	13	Nd	10
[PEL ₇ /PAA ₄] ₂₀	33	46	Nd	36

Nd - Não determinado

Estes resultados apontam para uma diferença na espessura das amostras. As técnicas de espalhamento de íons, como o RBS revelam características que não são observadas por técnicas de microscopia. Por exemplo, na Figura 12 observa-se pela microscopia de força atômica, uma grande quantidade de ouro na superfície do filme, e isso é confirmado pela técnica de RBS, e de fato, esse resultado corrobora com os

espectros obtidos por espectroscopia de UV VIS - NIR (Figura 7f), considerando que a área analisada é diferente para cada técnica [75].

Os resultados de espectrometria de retroespalhamento Rutherford (RBS) colaboram com os resultados obtidos por espectroscopia de UV VIS - NIR. Uma maior quantidade de ouro é observada para o sistema (PAH₇/PAA₄)₂₀ com incorporação de NPs Au estabilizadas por PVP, mostrando ser o sistema mais eficiente devido a interação eletrostática dos polieletrólitos que facilita a adsorção das NPs Au.

4 Conclusão

O presente trabalho demonstra a eficiência na deposição de filmes automontados com posterior adsorção das NPs Au nos mesmos, e a grande influência do pH das soluções nos sistemas de PEM.

Foi possível concluir que o grau de ionização dos polieletrólitos influencia fortemente na formação das multicamadas, onde a camada de polieletrólito, posteriormente adsorvido, influencia no ordenamento das camadas previamente depositadas e também na incorporação das NPs Au estabilizadas por citrato de sódio.

Os resultados de microscopia dos filmes automontados com NPs Au possibilitaram o entendimento em escala nanométrica da incorporação das NPs Au nos filmes automontados. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que as NPs Au estabilizadas por citrato de sódio formam agregados, devido à repulsão eletrostática de sua carga negativa com o filme, o que dificulta a sua adsorção, causando o aumento da rugosidade do filme.

Pelos resultados de UV VIS - NIR e DRX foi possível verificar a presença das NPs Au nos sistemas estudados. A técnica de DRX também foi utilizada para verificar o diâmetro médio das NPs Au. Os resultados de RBS foram utilizados para estimar a espessura do filme, através de uma amostra padrão com $1,16 \times 10^{16}$ átomo.cm⁻² de Bismuto, e para determinar a quantidade de NPs Au incorporadas na superfície LbL.

O sistema (PAH₇/PAA₄)₂₀ mostrou-se ser o mais eficiente para as NPs Au estabilizadas com PVP que por não possuírem carga se adsorvem pela elevada rugosidade desse filme, e as NPs Au com citrato se adsorvem facilmente, pois quando o PAH tem um pH = 7,0, há uma pequena proporção dos grupos amina protonados

presentes, apresentando baixo grau de ionização e pouca interação com o PAA, que em $\text{pH} = 4,0$ está protonado e facilita a incorporação destas nanopartículas.

Os sistemas $(\text{PAH}_4/\text{PAA}_4)_{20}$ e $(\text{PEI}_4/\text{PAA}_4)_{20}$ não foram eficientes para deposição LbL e posterior incorporação de NPs Au. Isto se deveu ao valor igual de pH , o que dificultou a interação entre os grupos amina e ácido carboxílico dos polieletrólitos, ocasionando um relaxamento das cadeias.

A mudança de pH altera a densidade de carga do polieletrólito. A diminuição da densidade de carga leva a uma mudança de conformação, da forma mais estendida, para uma forma enovelada, favorecendo a deposição dessa molécula. A adsorção da macromolécula do polieletrólito em sua conformação mais enovelada, que ocorre em $\text{pH} = 7,0$ no caso do PAH, aumenta a capacidade de adsorção das moléculas de PAA, pois parte de seus grupos ionizados capazes de interagir com as moléculas do PAA (grupos NH_3^+) não estão interagindo com o substrato sobre o qual o polieletrólito está depositado. Além disso, há um ganho de área superficial em virtude do aumento de espessura e de rugosidade com a deposição da camada de polieletrólito. Com isso, a capacidade de adsorção dessa superfície aumenta e a quantidade de moléculas de PAA depositadas será maior.

Finalmente, quanto menor a densidade de carga da molécula de polieletrólito, maior será o número necessário das mesmas para compensar uma determinada carga superficial do substrato. Com o aumento desse número, maior será a quantidade de sítios presentes passíveis de interação eletrostática com as moléculas de PAA. Portanto, pode-se concluir que os filmes fabricados em um maior valor de pH possuem maior rugosidade em relação a filmes fabricados em pH mais baixos.

Dessa forma, a técnica de deposição LbL se mostra uma ferramenta poderosa para fabricação de filmes automontados.

5 Referências

- 1 Whitesides, G. M. Mathias, J. P. Seto, C. T.; Molecular Self-Assembly and Nanochemistry: A Chemical Strategy for the Synthesis of Nanostructures; *Science*, v. 254, p. 1312, (1991).
- 2 Fendler, J. H. Meldrum, F. C.; The Colloid Chemical Approach to Nanostructured Materials; *Adv. Mater.*, v. 7, n. 7, p. 607-632, (1995).
- 3 Sohn, B. H.; Cohen, R. E.; Papaefthymiou, G. C.; Magnetic properties of iron oxide nanoclusters within microdomains of block copolymers; *J. Magn. Magn. Mater.*, v. 182, n. 1-2, p. 216-224, (1998).
- 4 Colvin, V. L.; Schlamp, M. C.; Alivisatos, A. P.; Light-emitting Diodes Made From Cadmium Selenide Nanocrystals and a Semiconducting Polymer; *Nature*, v. 370, p. 354-357, (1994).
- 5 Ferreira M., Fiorito P. A., Oliveira, Jr. O. N., de Torresi S. I. C.; Enzyme-Mediated Amperometric Biosensors Prepared with the Layer-by-layer (LbL) Adsorption Technique; *Biosensors and Bioelectronics*, v. 19, p. 1611-1615, (2004).
- 6 Cheng Y., Wang X., Cheng J., Sun L., Xu W., Zhao B.; Structure and Phase Transition in Self-Assembled Films of an Anti-Ferroelectric Liquid Crystal Studied by Two-Dimensional Correlation FTIR Spectroscopy; *Spectrochimica acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 61, p. 905-911, (2005).
- 7 Decher, G. & Schlenoff, J. B.; Multilayer Thin Film, Copyright, *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, (2002).
- 8 Paterno L. G., Mattoso L. H. C., Oliveira Jr. O. N.; Filmes Poliméricos Ultrafinos Produzidos pela Técnica de Automontagem: Preparação, Propriedades e Aplicações; *Quim. Nova*, v. 24, n. 2, p. 228-235, (2001).
- 9 Mendelsohn J. D., Barrett C. J., Chan V. V., Pal A. J., Mayer A. M., Rubner M. F.; Fabrication of Microporous Thin Films from Polyelectrolyte Multilayers; *Langmuir*, v. 16, p. 5017–5023, (2000).
- 10 Daniel M. C. & Astruc D.; Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology; *Chem. Rev.*, v. 104, p. 293-346, (2004).
- 11 Cheung J. H., Fou A. F., Rubner M. F., Molecular self-assembly of conducting polymers; *Thin Solid Films*, v. 244, p. 985-989, (1994).
- 12 Watanabe S., Regen S. L.; Dendrimers as Building Blocks for Multilayer Construction; *J. Am. Chem. Soc.*, v.116, n. 19, p. 8855-8856, (1994).

-
- 13 Wang, T. C., Rubner, M. F., Cohen, R. E.; Manipulating Nanoparticle Size within Polyelectrolyte Multilayers via Electroless Nickel Deposition; *Chem. Mater.*, v. 15, n. 1, p. 299-304, (2003).
- 14 Joly, S. Kane, R. Radzilowski, L. Wang, T. Wu, A. Cohen, R. E. Thomas E. L., and Rubner M. F.; Multilayer Nanoreactors for Metallic and Semiconducting Particles; *Langmuir*, v. 16, p.1354-1359, (2000).
- 15 Wang, T. C.; Rubner, M. F.; Cohen, R. E.; Polyelectrolyte Multilayer Nanoreactors for Preparing Silver Nanoparticle Composites: Controlling Metal Concentration and Nanoparticle Size; *Langmuir.*, v. 18, p. 3370-3375, (2002).
- 16 Wang, T. C.; Cohen, R. E.; Rubner, M. F.; Metallodielectric Photonic Structures Based on Polyelectrolyte Multilayers; *Adv. Mater.*, v. 14, n. 21, p. 1534-1537, (2002).
- 17 A. Roescher, M. Miiller, *Adv. Mater.*, v. 7, p. 151, (1995).
- 18 Selvan, S. T., Spatz, J. P., Klock, H.-A., Möller, M.; Gold- Polypyrrole Core-Shell Particles in Diblock Copolymer Micelles; *Adv. Mater*, v. 10, n. 2, p. 132-134, (1998).
- 19 Galembeck, A.; Aplicação da Técnica de Decomposição dos Precursores Metalôrganicos (MOD) à Obtenção de Filmes Finos de Óxidos e Heteroestruturas Planares Óxido/Polímero Condutor. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas, SP, (1998).
- 20 <http://www.answers.com/topic/nanostructure#ixzz1SVjGCX6E>. Acessado em 18/07/2011.
- 21 Ahn J. S., Hammond P. T., Rubner M. F., Lee I.; Self-assembled particle monolayers on polyelectrolyte multilayers particle size effects on formation, structure, and optical properties; *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v. 259, p. 45–53, (2005).
- 22 Sayo, K., Deki, S., Hayashi, S; A Novel Method of Preparing Nano-Sized Gold and Palladium Particles Dispersed in Composites That Uses the Thermal Relaxation Technique; *Eur. Phys. J. D*, v. 9, p. 429-432, (1999).
- 23 Toshima, N. & Yonezawa, T; Bimetallic Nanoparticles-Novel Materials for Chemical and Physical Applications; *New J. Chem*, v. 22, p. 1179-1201, (1998).
- 24 Nassar, E. J., Ciuffi K. J., Golçalves R. R., Messaddeq Y., Ribeiro S. J. L.; Filmes de Titânio-Silício Preparados por “Spin” e “Dip- Coating”. *Química Nova*, v. 26, n. 5, p. 674-677, (2003).
- 25 Avellaneda, C. O., Aegerter M. A., Pawlicka A.; Caracterização de filmes finos de Nb₂O₅ com propriedades eletrocromicas. *Química Nova*, v. 3, p. 365-367, (1998).

-
- 26 Lakiss, L., Kecht J., de Waele V., Mintova S.; Copper-containing nanoporous films; *Superlattices and Microstructures*, v. 44, p. 617-625, (2008).
- 27 Ambrosi, A., Morrin A., Smyth M.R., Killard A.J.; The application of conducting polymer nanoparticle electrodes to the sensing of ascorbic acid; *Analytica Chimica Acta*, v. 609, p. 37-43, (2008).
- 28 Caruso F.; Hollow capsule processing through colloidal templating and self-assembly; *Chem. Eur. J.*, v. 6, p. 413-419, (2000).
- 29 Caruso F., Yang W., Trau D., Renneberg R.; Microencapsulation of uncharged low molecular weight organic materials by polyelectrolyte multilayer self-assembly; *Langmuir*, v. 16, p. 8932-8936, (2000).
- 30 Silva, M.C.; Propriedades Ópticas do Poliestireno Sulfonado Dopado com Íons de Neodímio, Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, (2006).
- 31 Burke S. E., Barrett, C. J.; Acid-Base Equilibria of Weak Polyelectrolytes in Multilayer Thin Films; *Langmuir*, v. 19, p. 3297-3303, (2003).
- 32 Kim Y.G. & Yang S. Y.; Nanoparticle Syntheses Using Non-Porous and Porous Polyelectrolyte Multilayers for Biological Applications; *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 10, p. 6892-6895, (2010).
- 33 Wang Y., Angelatos A. S., Caruso F.; Template Synthesis of Nanostructured Materials via Layer-by-Layer Assembly; *Chem. Mater.*, v. 20, p. 848-858, (2008).
- 34 Sato H., Takano Y., Sato K., Anzai J.; Electrochemically controlled release of $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -tetrakis(4-N-methylpyridyl)porphine from layer-by-layer thin films; *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 333, p. 141-144, (2009).
- 35 Haberska K. & Ruzgas T.; Polymer multilayer film formation studied by in situ ellipsometry and electrochemistry; *Bioelectrochemistry*, v. 76, p. 153-161, (2009).
- 36 Hicks J. F., Seok-Shon Y., Murray R. W.; Layer-by-Layer Growth of Polymer/Nanoparticle Films Containing Monolayer-Protected Gold Clusters; *Langmuir*, v. 18, p. 2288-2294, (2002).
- 37 Spatz, J. P., Möbmer, S., Möller, M; Mineralization of Gold Nanoparticles in a Block Copolymer Microemulsion; *Chem.-Eur. J.*, v. 2, n. 12, p. 1552-1555, (1996).
- 38 Reddy V. R.; Gold Nanoparticles: Synthesis and Applications, v. 11, p. 1791-1792, (2006).

-
- 39 Yang Y., Li J., Mu J., Rong H., Jiang L.; A gold nanocomposite made soluble in both water and oil by the addition of a second adsorption layer of poly-N-vinyl-2-pyrrolidone on gold nanoparticles that have been made hydrophobic; *Nanotechnology*, v. 17, p. 461–465, (2006).
- 40 Zsigmondy R.; Properties of colloids; *Nobel Lecture*, 11, (1926).
- 41 Sharma V., Park K., Srinivasarao M.; Colloidal dispersion of gold nanorods: Historical background, optical properties, seed-mediated synthesis, shape separation and self-assembly; *Material Science and Engineering Reports*, v. 65, p. 1–38, (2009).
- 42 Osseo-Asare K., Arriagada F.J.; *Ceram. Trans.*; v. 12, p. 3, (1990).
- 43 Kurihara L.K., Chow G.M., Schoen P.E.; Nanocrystalline metallic powders and films produced by the polyol method; *Nanostruct. Materials*, v. 5, n. 6, p. 607-613, (1995).
- 44 Remita, S., Mostafavi, M., Delcourt, M.O.; Bimetallic Ag–Pt and Au–Pt aggregates synthesized by radiolysis; *Radiat. Phys. Chem.*, v. 47, n. 2, p. 275-279, (1996).
- 45 Pereira F.C., Zanoni M., Moretto L., Ugo P.; Características Ópticas e Morfológicas de Nanoestruturas de Ouro; *Quim. Nova*, v. 30, n. 7, p. 1550-1554, (2007).
- 46 Falcão-Filho E. L., Silva R. B., Filho R. G. S., Silva A. M. B., Galembeck A., de Araújo C. B.; High - Order Nonlinearity of Silica - Gold Nanoshells in Chloroform at 1560 nm; *Optics Express*, v. 18, n. 21, p. 21636-21644, (2010).
- 47 de Sousa e Silva H.; Dissertação de mestrado do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, (2007).
- 48 Kimling J., Maier M., Okenve B., Kotaidis V., Ballot H., Plech A.; Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited; *J. Phys. Chem. B*, v. 110, p. 15700-15707, (2006).
- 49 G. Frens; Particle size and sol stability in metal colloids; *Colloid & Polymer Science*, v. 250, n. 7, p. 736-741, (1972).
- 50 G. Frens; Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions; *Nature (London), Phys. Sci.*, v. 241, p. 20-22, (1973).
- 51 Pong B. K., Elim H. I., Chong J. X., Ji W., Trout B. L., Lee J.Y.; New Insights on the Nanoparticle Growth Mechanism in the Citrate Reduction of Gold(III) Salt: Formation of the Au Nanowire Intermediate and Its Nonlinear Optical Properties; *J. Phys. Chem. C*, v. 111, n. 17, p. 6281-6287, (2007).

-
- 52 Brust M., Walker M., Bethell D., Schiffrin D. J., Whyman R.; Synthesis of Thiol-derivatised Gold Nanoparticles in a Two-phase Liquid-Liquid System; *Chem. Commun.*; 801, (1994).
- 53 Manna, A., Chen, P., Akiyama, H., Wei, T., Tamada, K., Knoll, W; Optimized Photoisomerization on Gold Nanoparticles Capped by Unsymmetrical Azobenzene Disulfides; *Chem. Mater.*, v. 15, n. 1, p. 20–28, (2003).
- 54 Dai J. & Bruening M.; Catalytic Nanoparticles Formed by Reduction of Metal Ions in Multilayered Polyelectrolyte Films; *Nano Lett.*, v. 2, n. 5, p. 497-501, (2002).
- 55 Gibson J. D., Khanal B. P., Zubarev E. R.; Paclitaxel-Functionalized Gold Nanoparticles; *J. Am. Chem. Soc.*, v. 129, p. 11653-11661, (2007).
- 56 Qian X., Peng X.H., Ansari D.O., Goen Q.Y., Chen G.Z., Shin D.M., Yang L., Young A.N., Wang M.D., Nie S.; In vivo tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags; *Nature Biotechnology*; v. 26, n. 1, p. 83-90, (2008).
- 57 Decher, G; Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites; *Science*, v. 277, p. 1232-1237, (1997).
- 58 Lee P. C. & Meisel D.; Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols; *J. Phys. Chem.* v. 86, p. 3391-3395, (1982).
- 59 Callister Jr W. D.; Ciência e Engenharia de Materiais - Uma Introdução; *Editores LTC*, 7ª edição, (2008).
- 60 www.eq.ufrj.br/docentes/donato_web/arquivos/drx.ppt. Acessado em 02/06/2011.
- 61 Brundle, C. R., Evans Jr., C. A. e Wihon S.; Encyclopedia of materials characterization: Surfaces, Interfaces, Thin Films. Stoneham: Butterworth-Heinemann, (1992).
- 62 Krug, C.; Superfícies porosas recobertas com metallocenos: análise multivariada envolvendo caracterização com feixes de íons; Dissertação (Mestrado em Física). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, (2000).
- 63 Stedile, F. C.; Filmes finos de óxido de estanho: efeito da implantação iônica e de ambientes oxidantes e redutores; Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, (1990).
- 64 Kawaguti H. Y., Sato H. H.; Produção de isomaltulose, um substituto da sacarose, utilizando glicosiltransferase microbiana; *Quim. Nova*, v. 31, n. 1, p. 134 –143, (2008).
- 65 Jessel, N. et al. *Polym. mater. Sci. Eng.* v. 90, p. 755, (2004).

-
- 66 Smedt S. C. de, Demeester J., Hennink W. E.; Cationic Polymer Based Gene Delivery Systems; *Pharmaceutical Research*, v. 17, n. 2, p. 113-126, (2000).
- 67 Choi J. & Rubner M. F.; Influence of the Degree of Ionization on Weak Polyelectrolyte Multilayer Assembly; *Macromolecules*, v. 38, p. 116-124, (2005).
- 68 de Barros D. S., Estudo Espectroscópico e Morfológico de Filmes Automontados de Azocompostos; Dissertação de mestrado, Campinas – São Paulo, (2006).
- 69 Iler, R.; Multilayers of Colloidal Particles; *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 21, n. 6, p. 569-594, (1966).
- 70 Shi X., Shen M., Möhwald H.; Polyelectrolyte multilayer nanoreactors toward the synthesis of diverse nanostructured materials; *Science*, v. 29, p. 987–1019, (2004).
- 71 Shiratori S. S. & Rubner M. F.; pH-dependent thickness behavior of sequentially adsorbed layers of weak polyelectrolytes; *Macromolecules*, v. 33, p. 4213-4219, (2000).
- 72 Zappa M.; Polyelectrolyte Multilayer Hollow Microcapsules; Diploma Thesis, *Max Planck Institute*, (2004).
- 73 Shulan J., Zhang G., Liu Z., Peng Y., Wang Z.; Evaluations of polyelectrolyte multilayer membranes assembled by a dynamic layer-by-layer technique; *Desalination*, v. 234, p. 300-306, (2008).
- 74 Lobo R.F.M., da Silva M. A. P., Raposo M., Faria R. M., Oliveira Jr. O. N.; The morphology of layer-by-layer films of polymer/polyelectrolyte studied by atomic force microscopy; *Nanotechnology*, v. 14, p. 101-108, (2003).
- 75 Machado G., Beppu M.M., Feil A. F., Figueroa C. A., Correia R. R. B., Teixeira S. R.; Silver Nanoparticles Obtained in PAH/PAA-Based Multilayers by Photochemical Reaction; *J. Phys. Chem. C*, v. 113, p. 19005-19010, (2009).
- 76 Mayya K.S., Schoeler B., Caruso F.; Preparation and Organization of Nanoscale Polyelectrolyte- Coated Gold Nanoparticles; *Adv. Funct. Mater*, v. 13, n. 3, p. 183-188, (2003).