

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS  
BACHARELADO EM QUÍMICA

Izabela de Almeida Sartori

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO UTILIZANDO  
COMPONENTES DO OVO COMO AGENTES REDUTORES E ESTABILIZANTES.

Santo André – SP  
2018

Izabela de Almeida Sartori

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO UTILIZANDO BIOMOLÉCULAS DO OVO COMO AGENTES REDUTORES E ESTABILIZANTES.



Profa. Dra. Iseli Lourenço Nantes



Izabela de Almeida Sartori

Trabalho de Conclusão do Curso de Bacharelado em Química apresentado à Universidade Federal do ABC.

Orientadora: Profa. Dra. Iseli Lourenço Nantes

Santo André – SP  
2018

## Resumo

Nanopartículas de ouro (AuNPs) tem larga aplicação medicinal, como por exemplo, diagnósticos por imagem, transporte de medicamentos e marcação biológica, devido as suas propriedades ópticas e magnéticas, bem como em materiais avançados, eletrônica, catálise química e muitas outras. Neste presente trabalho, nanopartículas de ouro foram sintetizadas utilizando os componentes do ovo como agentes redutores e estabilizantes. A motivação é poder fazer a síntese com método verde, de uma etapa de síntese e obter NPs estáveis e biocompatíveis, além da possibilidade de funcionalizações hierárquicas por meio da adição de outras moléculas que tenham afinidade pelo material do ovo. Foram testados dois tampões, tampão fosfato e tampão HEPES-fosfato, e três versões dos componentes do ovo, apenas clara, apenas gema e clara e gema. Houve a formação de nanopartículas em diferentes condições experimentais, sendo que com tampão HEPES-fosfato e gema obteve-se melhor resultado de síntese, em relação ao tempo de síntese.

Palavras-chave: nanopartículas, ouro, albumina, fosvitina, HEPES, fosfato.

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>Introdução .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.</b>	<b>Nanopartículas .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.</b>	<b>Nanopartículas de Ouro .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3.</b>	<b>Síntese de nanopartículas .....</b>	<b>5</b>
<b>1.4.</b>	<b>Composição do ovo de galinha .....</b>	<b>7</b>
<b>1.5.</b>	<b>Tampão HEPES .....</b>	<b>8</b>
<b>2.</b>	<b>Objetivos.....</b>	<b>8</b>
<b>3.</b>	<b>Procedimento Experimental .....</b>	<b>9</b>
<b>3.1.</b>	<b>Síntese de nanopartículas de ouro .....</b>	<b>9</b>
<b>3.2.</b>	<b>Purificação das nanopartículas.....</b>	<b>10</b>
<b>3.3.</b>	<b>Caracterização das nanopartículas .....</b>	<b>10</b>
<b>4.</b>	<b>Resultados e Discussão .....</b>	<b>11</b>
<b>5.</b>	<b>Conclusão .....</b>	<b>16</b>
<b>6.</b>	<b>Bibliografia.....</b>	<b>18</b>

## 1. Introdução

### 1.1. Nanopartículas

Nanopartículas (NPs) são materiais produzidos em escala nanométrica, cujo tamanho é inferior a 100 nm. Essas partículas possuem formatos e tamanhos variados, influenciando suas propriedades físico-químicas, como as propriedades catalítica, magnética, elétrica e óptica (KHAN; SAEED; KHAN, 2017). Os formatos podem variar entre esferas, cubos, prismas, octaedros, estrelado e outros (ATTIA et al., 2015).

As NPs vem sendo amplamente estudadas devido as suas mais diferenciadas utilidades, tais como radioterapias, facilitação em diagnósticos, transporte de medicamentos, terapias térmicas, e marcação biológica (ZHANG, 2015; CARNEY et al., 2013). Quando comparadas com os materiais densos, ou até mesmo com pequenas moléculas, as nanopartículas possuem diferentes propriedades físicas e químicas. Com maior proporção área de superfície por volume em relação aos materiais de maior volume, as mesmas possuem maior reatividade do que o material robusto (ELAHI; KAMALI; BAGHERSAD, 2018).

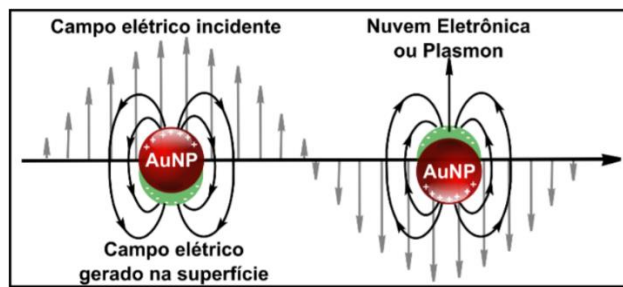
Também devido ao seu tamanho em nanoescala, as nanopartículas apresentam propriedades ópticas diferentes dos demais materiais. A interação da luz com estruturas de dimensões menores que o comprimento de onda da própria luz resultam nas propriedades observadas. Para as nanopartículas metálicas, essa interação com a luz origina uma separação de carga na superfície da NP em questão, ocorrendo a formação de um dipolo oscilante. Assim, os elétrons da banda de condução da nanoestrutura oscilam em ressonância com a radiação incidente, com o objetivo de restaurar o equilíbrio de cargas, gerando um campo eletromagnético, ilustrados na figura 1. Essa oscilação é conhecida como Ressonância Plasmônica Localizada em Superfície (LSPR). Essa propriedade óptica possibilita as nanopartículas metálicas a serem usadas como biossensores (SANTOS et al., 2016; GRASSESCHI, 2015).

A utilização de dispositivos plasmônicos como biossensores começou a ser explorada em 1982 por Nylander e Liedberg quando fizeram um sensor para gás. Em 1990 foi lançado o primeiro biossensor de bancada e desde então o número de publicações referente ao assunto aumentou. Os sensores plasmônicos são conhecidos por terem baixo limite de detecção, alta sensibilidade, por conseguirem um resultado instantâneo e por conseguirem ser modificados de acordo com a necessidade. Utilizam-se de processos como adsorção-dessorção, interações

proteína-ligante, interações antígeno-anticorpo, receptor ligante e proteína-DNA/RNA. Quando ocorre algum desses processos, a frequência da ressonância se modifica, muitas vezes alterando a cor do analito (SANTOS et al., 2016).

Para modificar a nanopartícula e utilizar como biossensores ou drug delivery, utiliza-se ligantes tais como proteínas, anticorpos ou moléculas orgânicas, possibilitando a especificação do alvo. Essas partículas são ligadas a nanopartículas através de interações como do Van der Waals e força eletrostática (ZHANG, 2015).

**Figura 1** - Dipolo oscilante induzido pela incidência de radiação na nanopartícula metálica.



FONTE: GRASSESCHI, 2015.

## 1.2. Nanopartículas de Ouro

A síntese de nanopartículas de ouro pode ser feita resultando em várias formas e tamanhos, sendo elas esférica, concha, nanorods e cubos, por exemplo. Cada aplicação da nanopartícula de ouro utiliza um formato e tamanho específico de forma a melhorar a performance do material. As nanopartículas de ouro (AUNPs) são tidas como excelentes biomateriais, pois possuem baixa toxicidade e imunogenicidade, e alta estabilidade. Além disso, são consideradas ideais para drug delivery e detecção de doenças em estágio inicial devido ao seu tamanho ser menor do que os próprios alvos biológicos, possibilitando a interação com as biomoléculas localizadas tanto no interior, quanto na superfície celular (ZHANG, 2015).

A configuração eletrônica das AuNPs torna as nanopartículas com maior capacidade de absorver raio-x quando comparadas com um tecido mole. Com isso aumenta sua capacidade de aplicações clínicas, as nanopartículas de ouro conseguem ser utilizadas na detecção de células cancerígenas e na intensificação da radioterapia (ZHANG, 2015).

## 1.3. Síntese de nanopartículas

As partículas em escala nanométricas podem ser sintetizadas por métodos físicos, químicos ou biológicos. Os métodos físicos utilizam radiação ultravioleta, irradiação de raios gama, irradiação de micro-ondas, ou processos fotoquímicos. Já os métodos químicos utilizam reações químicas em meio aquoso com um determinado agente redutor. Como exemplos de agentes redutores comumente utilizados tem-se o citrato de sódio e o borohidreto de sódio. Enquanto os métodos biológicos utilizam agentes redutor e estabilizante atóxicos e seguros biologicamente. Esses são conhecidos por serem favoráveis ao meio ambiente, contribuindo para a química verde (ELAHI; KAMALI; BAGHERSAD, 2018).

Com o avanço da ciência, métodos de síntese de nanopartículas biológicas vem sendo amplamente estudados. Esses métodos são caracterizados por utilizarem rotas biológicas, utilizando-se de plantas, vírus, bactérias ou produtos secundários desses, como proteínas e lipídeos (PATRA; BAEK, 2014). Os métodos biológicos, além de possuírem um descarte menor de solventes e serem mais baratos, resultam em nanopartículas com melhor biocompatibilidade, sendo mais facilmente utilizados em aplicações medicinais (PATRA; BAEK, 2014). Dentre esses métodos, a utilização de albumina bovina e de ovoalbumina foram reportadas como eficientes, funcionando como agentes redutores e estabilizantes (Singh, et al., 2005) (JOSEPH, et al., 2014). A utilização dessas macromoléculas como agentes redutores, a biomineralização, confere a síntese um maior grau de complexidade, devido aos átomos de ouro serem coordenados com a proteína (MIRANDA, et al., 2016).

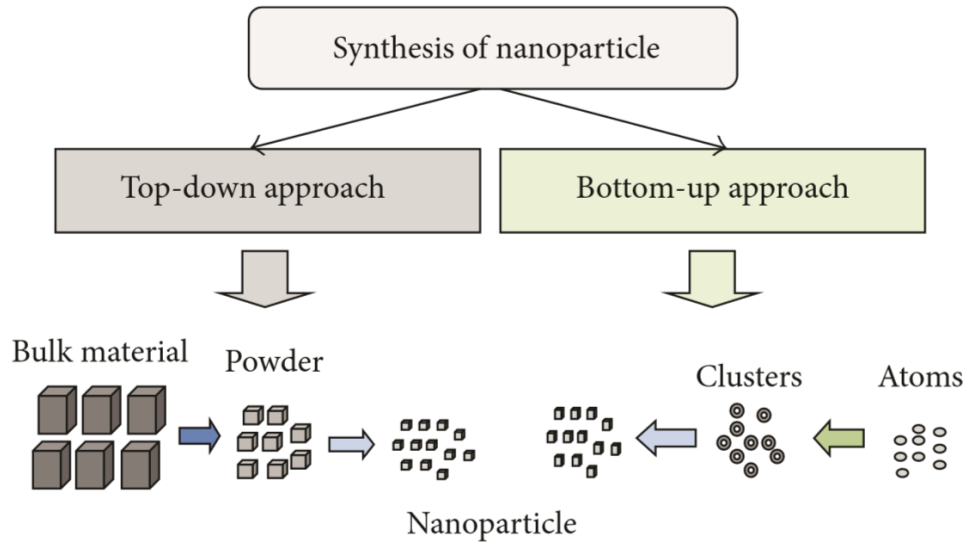
Além dos agentes redutores e estabilizantes determinarem o tipo de método utilizado, há uma segunda escolha a ser feita: se a síntese será top-down ou bottom-up. O que diferencia esses dois métodos é o material de partida para a síntese. Caso o material seja robusto, ocorre a síntese pelo método top-down, caso o material seja íons, ou seja, a síntese parta de sais, ocorre a síntese pelo método bottom-up (WANG; XIA, 2004), ambas propostas foram esquematizadas na figura 2.

No processo bottom-up para a formação das nanopartículas metálicas ocorre a fase de nucleação, onde se formam pequenos núcleos de nanopartículas devido à presença do agente redutor e a redução do íon para o átomo em seu estado metálico. Após a nucleação, ocorre o crescimento das partículas já reduzidas, através da deposição de novos núcleos à superfície das partículas existentes no meio (DÉKÁNY, 2005; SHIPWAY; KATZ; WILLNER, 2000).

Na figura 3 é demonstrado os processos pelos quais o ouro passa para formar a AuNP. Primeiro ocorre a redução do  $\text{Au}^{3+}$  para  $\text{Au}^{+1}$  para que depois ocorra uma dismutação do ouro,

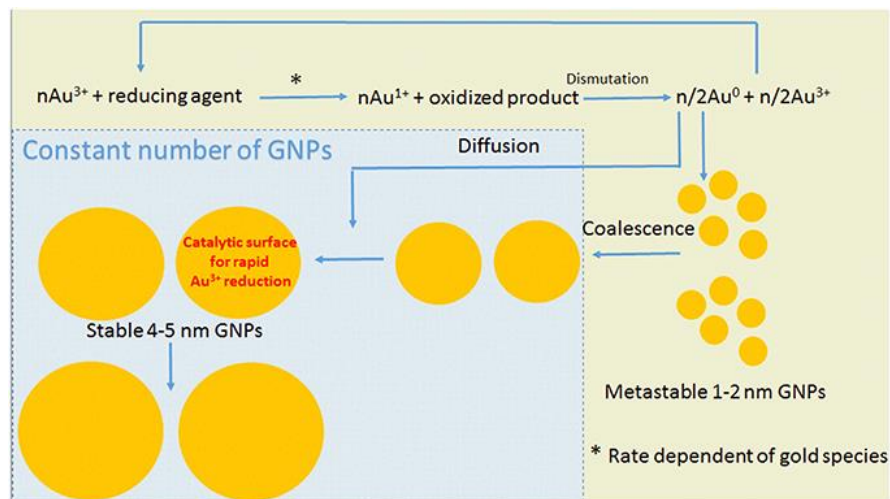
com formação de  $\text{Au}^0$  e  $\text{Au}^{3+}$ . Os átomos de metal já estáveis se agregam em nanoclusters, para então formarem AuNPs maiores (MIRANDA, et al., 2016).

**Figura 2** - Esquemática das duas propostas para síntese de nanopartículas



FONTE: PATRA; BAEK, 2014

**Figura 3** – Esquema de redução de ouro para a formação de AuNPs.



FONTE: MIRANDA, et al., 2016.

#### 1.4. Composição do ovo de galinha

De acordo com Dong Ahn, a massa da clara representa cerca de 60% da massa do ovo enquanto a massa da gema e da casca representa cerca de 30% e 10% respectivamente (AHN, 2014).



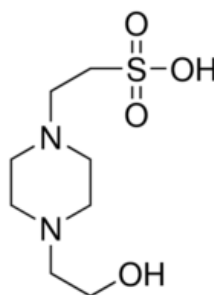
A composição da clara do ovo é em geral 90% de água e 10% de proteínas. Dentre essas proteínas, a ovoalbumina é a mais presente na clara, representando mais de 50% das proteínas presentes na clara. A ovotransferrina e avidina, que são glicoproteínas, também estão presentes na clara do ovo (DESERT, et al., 2001; LONGSWORTH, et al., 1940).

Já a composição da gema do ovo se dá em 50% água e 50% sólidos, aproximadamente. Dentre esses sólidos, 33,2% (m/m) é proteína e 63,4% (m/m) é lipídeo. No grupo dos lipídeos presente na gema, encontra-se fosfolipídeos como fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina, enquanto no grupo das proteínas tem-se lipovitelina, livetina e fosvitina. Portanto a gema do ovo é rica em fósforo, tanto em suas proteínas quanto em suas lipoproteínas (AHN, 2014; ANTON, et al., 1997).

### 1.5. Tampão HEPES

Estudos reportaram a utilização de HEPES, fórmula estrutural demonstrada na figura 4, como um excelente tampão para estudos biológicos devido sua baixa penetração nas membranas celulares, pKa adequado para culturas celulares, máxima solubilidade em água, além da sua capacidade tamponante (SHIPMAN, 1969; XIE, et al., 2007). Além disso, HEPES pode funcionar como agente redutor para o sal metálico, devido ao seu anel de piperazina funcionar como gerador de radicais livres. (XIE, et al., 2007).

**Figura 4** - Fórmula estrutural do tampão HEPES (4-(2-Hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid, N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N'-(2-ethanesulfonic acid))



FONTE: Sigma-Aldrich, 2018.

## 2. Objetivos

O presente projeto tem como objetivo a síntese de nanopartículas de ouro (AuNPs) utilizando componentes do ovo como agentes redutores e estabilizantes, testando-se, assim, um

processo de síntese de AuNPs de forma verde, com uma etapa de síntese e com produção de material biocompatível, com possível emprego teranóstico e com a possibilidade de novas funcionalizações hierárquicas com moléculas que tenham afinidade pelos componentes do ovo. Não foi encontrado na literatura método de síntese de AuNPs semelhante ao método utilizado a seguir, com o ovo *in natura*, tendo sido encontrados métodos com o tratamento do ovo antes da utilização do mesmo.

Além de variar os componentes do ovo, foram testadas sínteses com a presença de tampão fosfato e de tampão HEPES-fosfato.

### 3. Procedimento Experimental

#### 3.1. Síntese de nanopartículas de ouro

Para síntese de AuNPs foi utilizado tampão fosfato 0,1 M de pH 7,0, tampão HEPES-fosfato 2 M de pH 10, solução de H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub> 10 mM e ovo de galinha branco grande. Primeiramente foram testadas 12 condições experimentais diferentes, descritas na tabela abaixo, com o tampão fosfato 0,1 M pH 7,0, solução de sal de ouro 10mM e proporção mg de ovo/ $\mu$ L da solução de ouro.

Tabela 1- Condições experimentais para primeiras sínteses.

Gema:Ouro	Clara:Ouro	Ambas (Gema + Clara): Ouro
1:3	1:3	1:3
1:5	1:5	1:5
3:1	3:1	3:1
5:1	5:1	5:1

Após os resultados, verificou-se quais condições foram eficientes e as mesmas foram repetidas em diversas concentrações, modificando também o tampão. As condições experimentais descritas na tabela abaixo foram repetidas com o tampão fosfato 0,1 M de pH 7,0 e com o tampão HEPES-fosfato 2 M de pH 10.

Tabela 2- Condições experimentais para segunda fase de sínteses.

Tampão (μL)	Solução de Ouro 10mM (μL)	Água (μL)	Gema (mg)	Proporção Ouro:Gema
100	450	360	90	5:1
100	450	270	180	5:2
100	450	180	270	5:3
100	450	90	360	5:4
100	450	0	450	1:1

Para ambas etapas de experimentos os reagentes foram colocados em tubos *ependorfs* e mantidos em repouso, em ambiente escuro, a temperatura ambiente. A síntese foi acompanhada através da mudança de coloração da solução. Caso a solução, que antes era amarela, ficasse em tom rosado, as nanopartículas haviam sido formadas. As amostras eram checadas diariamente até 10 dias e após disso eram visualizadas com intervalo médio de cinco dias. Após um mês não houve mais acompanhamento das amostras.

### 3.2. Purificação das nanopartículas

As amostras sintetizadas foram centrifugadas, e o sobrenadante foi separado do precipitado. O sobrenadante, então, foi dividido em duas partes, sendo uma mantida original e outra lavada com solução de CTAB 10 mM. A parte lavada com CTAB foi centrifugada novamente, separando o sobrenadante do precipitado.

### 3.3. Caracterização das nanopartículas

Para caracterização foram utilizados os equipamentos listados abaixo.

#### 3.3.1. Espectrofotometria de UV-Vis

Para esses experimentos, foi utilizado um espectrofotômetro eletrônico modelo Varian® 50 Scan, pertencente ao Grupo da Professora Dra. Iseli Lourenço Nantes.

#### 3.3.2. Potencial Zeta

Para a medida do potencial Zeta foi utilizado o Medidor de Potencial Zeta Zetasizer NanoZS da Central de Multiusuário da Universidade Federal do ABC.

### 3.3.3. Fluorescência

Para a medida de fluorescência foi utilizado o Espectrofotômetro de fluorescência, modelo Cary Eclipse, da marca Varian, pertencente a Central de Multiusuário da Universidade Federal do ABC.

### 3.3.4. DLS

As medidas do raio hidrodinâmico das AuNPs foram realizadas pelo DLS/SLS da ALV, modelo CGS-3, laser de He/Ne polarizado (22 mW),  $\lambda = 663$  nm, correlator digital ALV 7004, modo pseudo-correlação.

## 4. Resultados e Discussão

Na primeira etapa, na qual foram testadas diferentes concentrações com diferentes partes do ovo, as condições nas quais a proporção do componente do ovo era maior, não ocorreu a formação de nanopartículas de ouro, o que é evidenciada pela mudança na coloração da reação (ELAHI; KAMALI; BAGHERSAD, 2018). Já nas condições nas quais a proporção de ouro era maior, ocorreu a reação quando o componente do ovo utilizado era apenas a gema, demorando cerca de 7 dias para que ocorresse a mudança de coloração de amarelo para rosa, enquanto que ao utilizar apenas a clara a reação não ocorreu de dentro do período que foi observado, ou seja não houve mudança na coloração da solução.

Estima-se que a fosvitina presente na gema do ovo funcione como um quelante para o ouro da mesma forma que faz com o ferro no ovo (SAMARAWEERA, et al., 2011), fazendo com que a síntese ocorra de forma mais rápida quando comparada com a utilização da clara. De acordo com Joseph e Geckeler, que reportaram a utilização da clara como agente redutor para formação de AuNPs, a síntese com a ovoalbumina ocorre de forma lenta (2014).

Para segunda etapa, quando foram testadas mais concentrações de gema em relação a solução de ouro e a diferença entre os tampões, os seguintes resultados foram obtidos estão descritos na tabela 3.

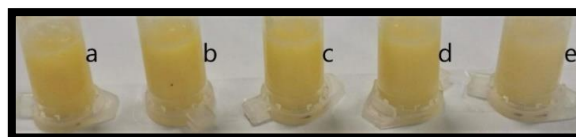
Tabela 3- Resultados das sínteses.

Proporção Ouro:Gema	Ocorreu a formação de AuNPs (mudança de coloração da solução)?	
	Tampão fosfato	Tampão HEPES-fosfato
5:1	Sim	Sim
5:2	Sim	Não
5:3	Não	Sim
5:4	Não	Sim
1:1	Não	Sim

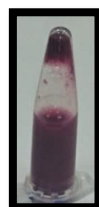
A figura 5 mostra as amostras logo após a adição do sal de ouro, sem a formação de nanopartículas. A condição experimental com tampão fosfato cuja proporção ouro:gema é de 5:1 demorou cerca de 7 dias para que ocorresse a formação (figura 6), enquanto a proporção 5:2 levou aproximadamente de um mês para a formação. Estima-se que a presença de uma quantidade maior de lipídeos acabou inibindo a redução dos íons de ouro, de forma que não ocorreu a síntese.

Quando utilizado o tampão HEPES-fosfato, imediatamente notou-se uma leve diferença na cor da solução (figura 7), e em poucas horas já havia formado nanopartículas de ouro, o que é evidenciado pela coloração da solução (figura 8).

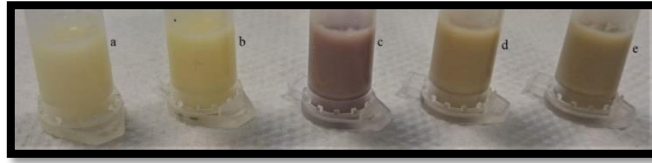
**Figura 5** - Amostras com tampão fosfato após o preparo seguindo as proporções ouro:gema a- 5:1, b- 5:2, c- 5:3, d- 5:4, e- 1:1.



**Figura 6** - Amostra com ouro:gema 5:1 feita com tampão fosfato, após as AuNPs terem sido sintetizadas.



**Figura 7** - Amostras com tampão HEPES-fosfato logo após o preparo seguindo as proporções ouro:gema a- 5:1, b- 5:2, c- 5:3, d- 5:4, e- 1:1.



**Figura 8** - Amostras com tampão HEPES-fosfato 3 dias após o preparo seguindo as proporções ouro:gema a- 5:1, b- 5:2, c- 5:3, d- 5:4, e- 1:1.



O HEPES, como citado anteriormente, além da capacidade tamponante, auxilia na redução do ouro devido sua capacidade de gerar radicais livres. Além disso, o HEPES auxilia na fase de crescimento da nanopartícula. Assim, esse tampão acelerou o processo de síntese, como foi perceptível pela mudança de coloração.

Para a caracterização das nanopartículas resultantes foi necessário um tratamento de purificação, como colocado no procedimento experimental, para que fosse retirado o excesso de lipídeos presente nas amostras. Notou-se que com a adição de CTAB a solução ficou mais estável do que a original, como pode ser observado nas figuras 9 e 10. Tal fato deve-se a maior carga imposta a partícula recoberta com CTAB (tabela 4). Com uma carga maior, a partícula se dispersa de forma mais eficiente. Entretanto a amostra com CTAB teve sua coloração mudada. Essa mudança deve-se ao CTAB se ligando nos fosfatos presentes nas lipoproteínas da gema, formando agregados de partículas, aumentando o tamanho final da partícula.

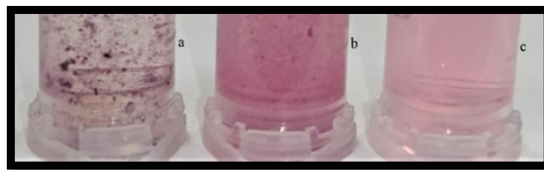
Tabela 4- Resultados do Potencial Zeta das amostras sintetizadas com HEPES.

	Potencial Zeta
SEM CTAB	$4,45 \pm 0,285$ mV
COM CTAB	$51,9 \pm 2,80$ mV

**Figura 9** - Amostras sintetizadas com tampão HEPES-fosfato e lavadas de formas diferentes, sendo a- lavada com solução de CTAB 10mM, b- apenas centrifugada da solução original e c- solução original diluída cerca de 60 vezes sem centrifugação.



**Figura 10** - Amostra sintetizada com tampão fosfato em diferentes etapas de limpeza, sendo a- o primeiro precipitado em água b- o precipitado obtido após a lavagem com CTAB e c- o sobrenadante da lavagem com CTAB.



A solução sem CTAB continuou viscosa de forma que dificultava a análise pelo espectrofotômetro de UV-Vis, por exemplo. Tal fato deve-se a formação de lipossomas multilamelares, formados pelos fosfolipídeos presentes na gema. Esses lipossomas formam uma estrutura semelhante a uma cebola e encapsulam as AuNPs formadas. Para que essas estruturas fossem rompidas, foi necessário colocar a amostra num banho de ultrassom.

Esses lipossomas são úteis para o transporte de medicamentos quimioterápicos, por exemplo, reduzindo a toxicidade para tecidos sem mutação genética e aumentando o acúmulo de medicamento nos tecidos cancerígenos. Também auxiliam a entrada da nanopartícula de ouro para a utilização como biossensores. Portanto estrutura de lipossomas recobrendo a partícula podem ser favoráveis para a biocompatibilidade das AuNPs sintetizadas, sendo necessário um futuro teste de toxicidade das mesmas ( AL-AHMADY, et al., 2012).

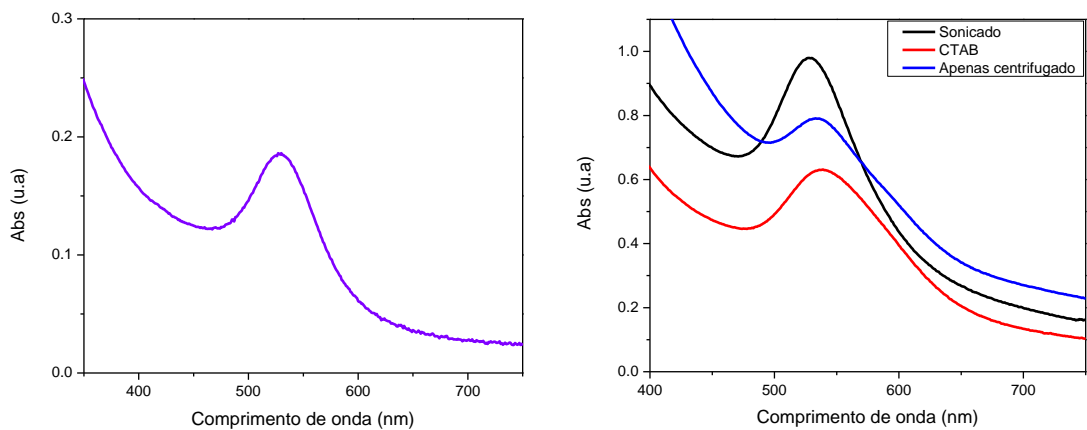
Após a purificação das amostras, as mesmas foram caracterizadas com espectrofotômetro de UV-Vis. Como é possível ver pelos espectros de UV-Vis (figura 11), há a formação de nanopartículas de ouro em ambas amostras analisadas, demonstradas pela banda plasmônica em torno de 530nm (CHAKRABORTY, et al., 2011; EUSTIS, et al., 2006).

Também foram realizadas análises com o espectrofotômetro de fluorescência para identificação da banda do triptofano, que está presente na fosvitina, e como a solução de ouro interage com o mesmo (Figura 12). A solução sem ouro, ou seja, apenas com tampão, gema e

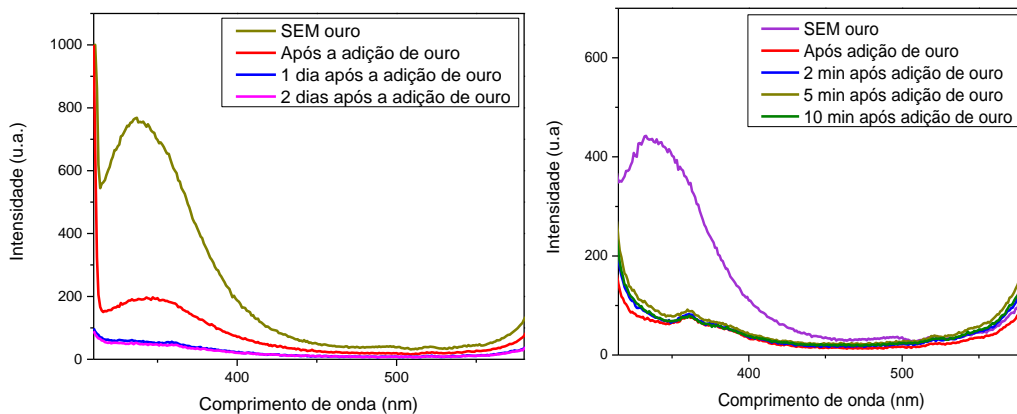
água, possui uma banda cuja emissão é em torno de 340 nm. Essa banda refere-se a emissão do triptofano presente na solução (LAKOWICZ, 2006).

Quando o ouro é adicionado à solução, a banda de emissão é suprimida, o que condiz com a teoria de que a fosvitina forma um complexo com o ouro, de forma a auxiliar na reação de redução. Ao visualizar os espectros do tampão fosfato e do tampão HEPES-fosfato, é possível perceber que a banda é suprimida de forma mais rápida quando utilizado o tampão HEPES-fosfato do que quando utilizado o tampão fosfato, mostrando que o HEPES auxilia a fosvitina a complexar com o ouro.

**Figura 11** - Espectro de UV-Vis da amostra sintetizada com Tampão Fosfato após purificação com CTAB (à esquerda) e espectro de UV-Vis da amostra sintetizada com Tampão HEPES e os diferentes tratamentos (à direita).



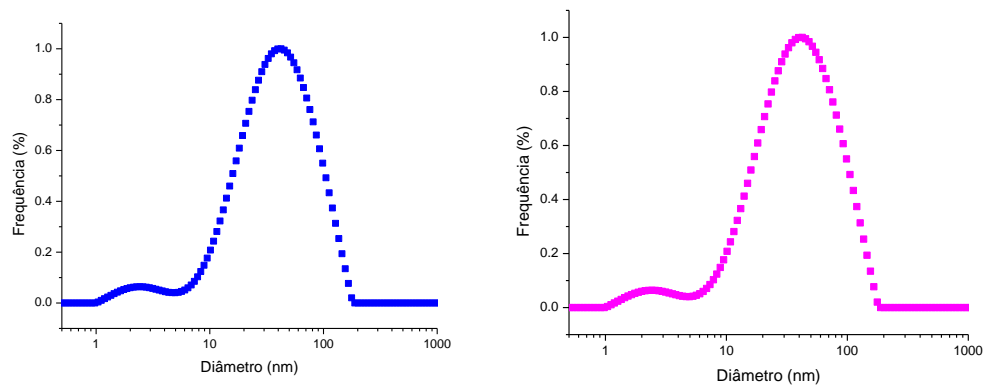
**Figura 12** - Espectro de fluorescência da amostra sintetizada com tampão fosfato (à esquerda) e espectro de fluorescência da amostra sintetizada com tampão HEPES-fosfato.





A análise de tamanho de partícula com DLS obteve os resultados demonstrados na figura 13. De acordo com os resultados obtidos, as NPs sintetizadas com tampão HEPES possuem um diâmetro médio de 27,85 nm, com uma polidispersividade de 0,433, enquanto as sintetizadas com tampão fosfato possuem um diâmetro médio de 46,76 nm, com uma polidispersividade de 0,333. As nanopartículas metálicas sintetizadas com tampão HEPES possuem menor diâmetro que as sintetizadas com o tampão fosfato, de acordo com os resultados de tamanho obtidos. Entretanto, será necessário fazer imagens com microscópio eletrônico de varredura para verificar o diâmetro real das partículas, visto que o recobrimento com CTAB pode aumentar o diâmetro das mesmas, ocasionando num resultado de tamanho de partícula de nanopartícula + CTAB de recobrimento, o que não é diferenciado pelo equipamento de DLS.

**Figura 13** – Distribuição do diâmetro das nanopartículas sintetizadas com tampão HEPES-fosfato, em azul, e com tampão fosfato, em rosa.



## 5. Conclusão

As condições com apenas clara mostraram-se desfavorável para a síntese de nanopartículas em relação a utilização da gema. A utilização do tampão HEPES- fosfato é mais eficiente, em relação ao tempo de síntese, quando comparado com o tampão fosfato, como foi possível verificar pela mudança de coloração da solução. As AuNPs foram revestidas por lipossomas das biomoléculas presentes no ovo. Com isso, essas AuNPs sintetizadas podem ter uma boa biocompatibilidade, aumentando seu potencial de utilização, porém diminuiu a capacidade de caracterização, tornando necessário a purificação das amostras.

Para continuação do trabalho serão necessárias mais análises de caracterização, tais como DRX, para conhecimento de tamanho de grão, FT-IR, Microscopia TEM, toxicidade e capacidade de transporte das nanopartículas, além do cálculo de rendimento da síntese.

## 6. Bibliografia

- AHN, Dong. **Egg Components**. 2014. Iowa State University. Disponível em: <<http://www.public.iastate.edu/~duahn/teaching/Neobiomaterials%20and%20Bioregulation/Egg%20Components.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2018.
- AL-AHMADY, Zahraa S. et al. Lipid–Peptide Vesicle Nanoscale Hybrids for Triggered Drug Release by Mild Hyperthermia in Vitro and in Vivo. **ACS Nano**, [s.l.], v. 6, n. 10, p.9335-9346, 15 ago. 2012. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/nn302148p>.
- ANTON, M.; GANDEMER, G.. Composition, Solubility and Emulsifying Properties of Granules and Plasma of Egg Yolk. **Journal Of Food Science**, [s.l.], v. 62, n. 3, p.484-487, maio 1997. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb04411.x>.
- ATTIA, Yasser A. et al. Photostability of gold nanoparticles with different shapes: the role of Ag clusters. **Nanoscale**, [s.l.], v. 7, n. 26, p.11273-11279, 2015. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c5nr01887k>.
- CARNEY, Randy P. et al. Electrical Method to Quantify Nanoparticle Interaction with Lipid Bilayers. **ACS Nano**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.932-942, 18 jan. 2013. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/nn3036304>.
- CHAKRABORTY, Soumyananda et al. Contrasting Effect of Gold Nanoparticles and Nanorods with Different Surface Modifications on the Structure and Activity of Bovine Serum Albumin. **Langmuir**, [s.l.], v. 27, n. 12, p.7722-7731, 21 jun. 2011. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/la200787t>.
- CHORILLI, M. et al. Lipossomas em formulações dermocosméticas. **Infarma**, Brasília, v. 16, n. 7, p.75-79, nov. 2004.
- DÉKÁNY, I. Nucleation and growth of silver nanoparticles monitored by titration microcalorimetry. **Journal Of Thermal Analysis And Calorimetry**, [s.l.], v. 79, n. 3, p.587-594, fev. 2005. Springer Nature America, Inc. <http://dx.doi.org/10.1007/s10973-005-0583-z>.
- DESERT, C. et al. Comparison of Different Electrophoretic Separations of Hen Egg White Proteins. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 49, n. 10, p.4553-4561, out. 2001. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf001423n>.
- ELAHI, Narges; KAMALI, Mehdi; BAGHERSAD, Mohammad Hadi. Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. **Talanta**, [s.l.], v. 184, p.537-556, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2018.02.088>.
- EUSTIS, Susie; EL-SAYED, Mostafa A.. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **Chem. Soc. Rev.**, [s.l.], v. 35, n. 3, p.209-217, 2006. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b514191e>.
- GRASSESCHI, Daniel. **Uma Abordagem Fundamental Sobre Nanopartículas de Ouro**. 2015. 327 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Química da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

GUO, Jianfeng et al. Gold nanoparticles enlighten the future of cancer theranostics. **International Journal Of Nanomedicine**, [s.l.], v. 12, p.6131-6152, ago. 2017. Dove Medical Press Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s140772>.

JOSEPH, Dickson; GECKELER, Kurt E.. Synthesis of highly fluorescent gold nanoclusters using egg white proteins. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 115, p.46-50, mar. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.11.017>.

KHAN, Ibrahim; SAEED, Khalid; KHAN, Idrees. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal Of Chemistry**, [s.l.], p.1-24, maio 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>.

LAKOWICZ, Joseph R.. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3. ed. Baltimore: Springer, 2006. 960 p.

LONGSWORTH, Lewis G.; CANNAN, R. Keith; MACINNES, D. A.. An Electrophoretic Study of the Proteins of Egg White. **Journal Of The American Chemical Society**, [s.l.], v. 62, n. 10, p.2580-2590, out. 1940. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ja01867a002>.

MIRANDA, Érica G. A. et al. Effects of Gold Salt Speciation and Structure of Human and Bovine Serum Albumins on the Synthesis and Stability of Gold Nanostructures. **Frontiers In Chemistry**, [s.l.], v. 4, p.1-13, 31 mar. 2016. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fchem.2016.00013>.

PATRA, Jayanta Kumar; BAEK, Kwang-hyun. Green Nanobiotechnology: Factors Affecting Synthesis and Characterization Techniques. **Journal Of Nanomaterials**, [s.l.], v. 2014, p.1-12, 2014. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/417305>.

SAMARAWEERA, Himali et al. Egg Yolk Phosvitin and Functional Phosphopeptides-Review. **Journal Of Food Science**, [s.l.], v. 76, n. 7, p.143-150, 1 ago. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02291.x>.

SANTOS, Jacqueline et al. Ressonância de plasmon de superfície localizado e aplicação em biossensores e células solares. **Química Nova**, [s.l.], p.1098-1111, 15 jul. 2016. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20160126>.

SHIPMAN, C.. Evaluation of 4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic Acid (HEPES) as a Tissue Culture Buffer. **Experimental Biology And Medicine**, [s.l.], v. 130, n. 1, p.305-310, 1 jan. 1969. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.3181/00379727-130-33543>.

SHIPWAY, Andrew N.; KATZ, Eugenii; WILLNER, Itamar. Nanoparticle Arrays on Surfaces for Electronic, Optical, and Sensor Applications. **Chemphyschem**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.18-52, 4 ago. 2000. Wiley. [http://dx.doi.org/10.1002/1439-7641\(20000804\)1:13.0.co;2-l](http://dx.doi.org/10.1002/1439-7641(20000804)1:13.0.co;2-l).

SIGMA-ALDRICH. **HEPES**. Disponível em:  
<<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/h3375?lang=pt@ion=BR>>. Acesso em: 10 nov. 2018.

SINGH, Ajay V. et al. Synthesis of gold, silver and their alloy nanoparticles using bovine serum albumin as foaming and stabilizing agent. **Journal Of Materials Chemistry**, [s.l.], v. 15, n. 48, p.5115-5121, 2005. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b510398c>.

WANG, Yuliang; XIA, Younan. Bottom-Up and Top-Down Approaches to the Synthesis of Monodispersed Spherical Colloids of Low Melting-Point Metals. **Nano Letters**, [s.l.], v. 4, n. 10, p.2047-2050, out. 2004. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/nl048689j>.

XIE, Jianping; LEE, Jim Yang; WANG, Daniel I. C.. Seedless, Surfactantless, High-Yield Synthesis of Branched Gold Nanocrystals in HEPES Buffer Solution. **Chemistry Of Materials**, [s.l.], v. 19, n. 11, p.2823-2830, maio 2007. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/cm0700100>.

ZHANG, Xiaoying. Gold Nanoparticles: Recent Advances in the Biomedical Applications. **Cell Biochemistry And Biophysics**, [s.l.], v. 72, n. 3, p.771-775, 7 fev. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s12013-015-0529-4>.