

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC
Trabalho de Conclusão de Curso | Bacharelado em Química

José Pedro Pires Gomes

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS COMO SENSORES PARA O
MONITORAMENTO SERS DA CONVERSÃO ELETROCATALÍTICA DO
GLICEROL**

Santo André
JULHO – 2023

José Pedro Pires Gomes

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS COMO SENSORES PARA O
MONITORAMENTO SERS DA CONVERSÃO ELETROCATALÍTICA DO
GLICEROL**

Monografia de Trabalho de Conclusão de
Curso, apresentado ao Bacharelado em
Química da UFABC para obtenção do título
de Bacharel em Química

Orientador: Prof. Dr. Camilo Andrea
Angelucci

AGRADECIMENTOS

Agradeço à agência de fomento, a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), e seu programa de formação de recursos humanos na UFABC, o PRH-ANP, PRH-49, e também a Finep.

Agradecimento especial ao meu orientador Camilo, e a todos os membros do Gesup, em especial meu colega Raimundo pelo apoio vital durante toda a pesquisa. Também ao Matheus, pelo seu apoio científico, filosófico e de amizade. Ao Otávio, o Vinnícius e a Gabriely, pela companhia e apoio precioso dentro e fora do laboratório. E ao João, por todo seu preciosíssimo apoio motivacional, científico e técnico.

Um muito obrigado também a todos do PRH-49, em especial os pesquisadores visitantes que estiveram sempre presentes durante todo o período, o James e a Fabiane. A todo comitê gestor, em especial o professor Gustavo pelos seus preciosos conselhos. E igualmente a todos os bolsistas do programa por sua solidariedade sempre acolhedora.

À Central Experimental Multiusuário da UFABC (CEM-UFABC).

Agradecimento notável a todos os colegas do laboratório vizinho, sempre muito prestativos, em especial a Thayná, Helder e o Lucas. E também aos preciosos apoios pontuais de outros laboratórios, em especial para a Vivian e o Sérgio.

Aos meus professores da UFABC e da educação básica, em especial meu professor de química Vinícius, que me inspirou a seguir os passos da química e do ensino da ciência.

A minha família próxima que esteve sempre me apoiando, e a todas preciosas amigas que construí durante esse período na universidade e que levarei para a vida.

A todos cientistas gigantes sob o qual pude contemplar o universo sobre seus ombros, e a todos divulgadores científicos.

E finalmente, agradeço muito a todos que estiveram à frente da ciência durante a pandemia de COVID-19, e me permitiram estar aqui para escrever estas linhas hoje.

LISTA DE ABREVIATURAS

SHINERS	<i>Shell-Isolated Nanoparticle Enhanced Raman Spectroscopy/Scattering</i> (técnica e fenômeno, respectivamente)
SHIN	Nanopartícula isolada por casca/concha, do inglês <i>Shell-Isolated Nanoparticle</i>
nm	Nanômetro
SPR	Ressonância plasmônica de superfície, do inglês <i>Surface Plasmon Resonance</i>
u.a.	Unidades arbitrárias
NP	Nanopartícula
Ag NP	Nanopartícula de prata
Ag@SiO ₂ NP	Nanopartícula de prata revestida por sílica
SEI	Imagem de elétrons secundários, do inglês <i>Secondary Electron Image</i>
WD	Distância de Trabalho, do inglês <i>Working Distance</i>
FESEM	Microscópio Eletrônico de Varredura por Emissão de Campo, do inglês <i>Field Emission Scanning Microscopy</i>
APTMS	<i>(3-Aminopropyl)trimethoxysilane</i>
TERS	<i>Tip-Enhanced Raman Spectroscopy</i>
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
IR	Infravermelho (do inglês <i>Infrared</i>)
MEV	Microscopia eletrônica de varredura

RESUMO

O estudo da eletro-oxidação do glicerol, um crescente produto excedente da indústria em biocombustíveis, é uma área com muitos fatores a serem compreendidos, em especial nos seus processos mecanísticos. O uso de técnicas espectroscópicas, como o Raman, é um horizonte pouco explorado na espectroeletroquímica do glicerol. Tal técnica é viável no monitoramento de reações em superfícies graças ao efeito SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy), e sua capacidade de aumentar o sinal Raman das reações estudadas. Uma das formas de se obter efeito SERS é por meio da técnica SHINERS (Shell-Isolated Nanoparticle-Enhanced Raman Spectroscopy). Assim, o presente trabalho buscou estudar a síntese de nanopartículas SHINERS de prata para aplicação em espectroeletroquímica. Os resultados obtidos permitiram delimitar técnicas para síntese dessas nanopartículas, detectando co-produtos indesejados como nanofios e contornando o problema por meio de alteração da síntese por ajuste de pH, técnica já conhecida anteriormente dessa vez aplicada também para SHINERS.

Palavras-chaves: espectroeletroquímica, SERS, SHINERS, espectroscopia Raman, glicerol.

ABSTRACT

The study of the electro-oxidation of glycerol, a growing surplus product from the biofuels industry, is an area with many factors to be understood, particularly in its mechanistic processes. The use of spectroscopic techniques, such as Raman spectroscopy, is a less explored horizon in glycerol spectroelectrochemistry. Such a technique is feasible for monitoring surface reactions due to the Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) effect and its ability to enhance the Raman signal of the studied reactions. One way to achieve the SERS effect is through the Shell-Isolated Nanoparticle Enhanced Raman Spectroscopy (SHINERS) technique. Thus, the present work aimed to study the synthesis of silver SHINERS nanoparticles for application in spectroelectrochemistry. The obtained results allowed the definition of synthesis techniques for these nanoparticles, detecting undesired co-products such as nanowires and overcoming the problem through pH adjustment in the synthesis, a technique already known but now also applied to SHINERS.

Keywords: spectroelectrochemistry, SERS, SHINERS, Raman spectroscopy, glycerol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: volume da produção anual de biodiesel no Brasil, em 10^6 m^3	9
Figura 2: possíveis rotas de conversão do glicerol.....	10
Figura 3: espectros UV-Vis de três amostras de nanopartículas de prata. As curvas tiveram absorvância normalizada para melhor visualização	22
Figura 4: síntese em três dias diferentes com resultados semelhantes, sob as mesmas condições.....	25
Figura 5: Imagens obtidas por MEV de nanopartículas de prata revestidas com sílica, com formação de nanofios.....	26
Figura 6:espectros UV-Vis monitorando evolução de síntese de nanopartículas a cada dez minutos.....	27
Figuras 7: eppendorfs contendo nanopartículas sem camada de sílica (A) e com camada (B) antes da adição de cloreto de sódio	28
Figura 8: eppendorfs contendo nanopartículas sem camada de sílica (A) e com a camada (B) após adição de cloreto de sódio.....	28
Figura 9: nanopartículas sintetizadas sem base em vidraria limpa	29
Figura 10: evolução do espectro UV-Vis de nanopartículas de prata sintetizadas em meio básico	31
Figura 11: nanopartículas sintetizadas com base, depois acidificadas e recobertas com sílica. Não foi detectada a presença de nanofios	32
Figura 12: Eppendorf C contendo nanopartículas de prata sintetizadas com base e eppendorf D contendo as mesmas cobertas com sílica, ambas após adição de solução de NaCl gota a gota	33
Figura 13: comparação entre espectro de nanopartículas com recobrimento (SHIN) e sem recobrimento (NP)	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
1.1 Produção de biodiesel	8
1.2 Eletrocatalise do glicerol	9
1.3 Mecanismos: espectroscopia e estado da arte	11
1.4 Efeito SERS e a técnica SHINERS	12
2 OBJETIVOS	16
3 METODOLOGIA	17
3.1 Síntese de nanopartículas de prata	17
3.2 Caracterização física	17
3.2.1 UV-Vis	17
3.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	18
3.3 Caracterização química	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 Síntese das nanopartículas de prata	20
4.2 Síntese das SHIN	25
5 CONCLUSÕES	34
REFERÊNCIAS	35
ANEXO A	39

1 INTRODUÇÃO

1.1 Produção de biodiesel

A busca por criar matrizes energéticas renováveis e de menor impacto ambiental é um imperativo desse século. Diferentes geografias favorecem variadas opções viáveis nessa busca. O Brasil, além de seu potencial eólico, hidrelétrico e solar, apresenta uma posição privilegiada no que diz respeito aos biocombustíveis. Desde a crise do petróleo na década de 1970, países do sul global passaram a investir em combustíveis alternativos para reduzir a dependência em relação ao petróleo de seu sistema rodoviário, tanto de cargas quanto de passageiros. As alternativas que vêm crescendo desde então são o etanol e o biodiesel, sendo o segundo utilizado em mistura com o diesel derivado do petróleo, e é utilizado principalmente em veículos para transporte de carga. [1]

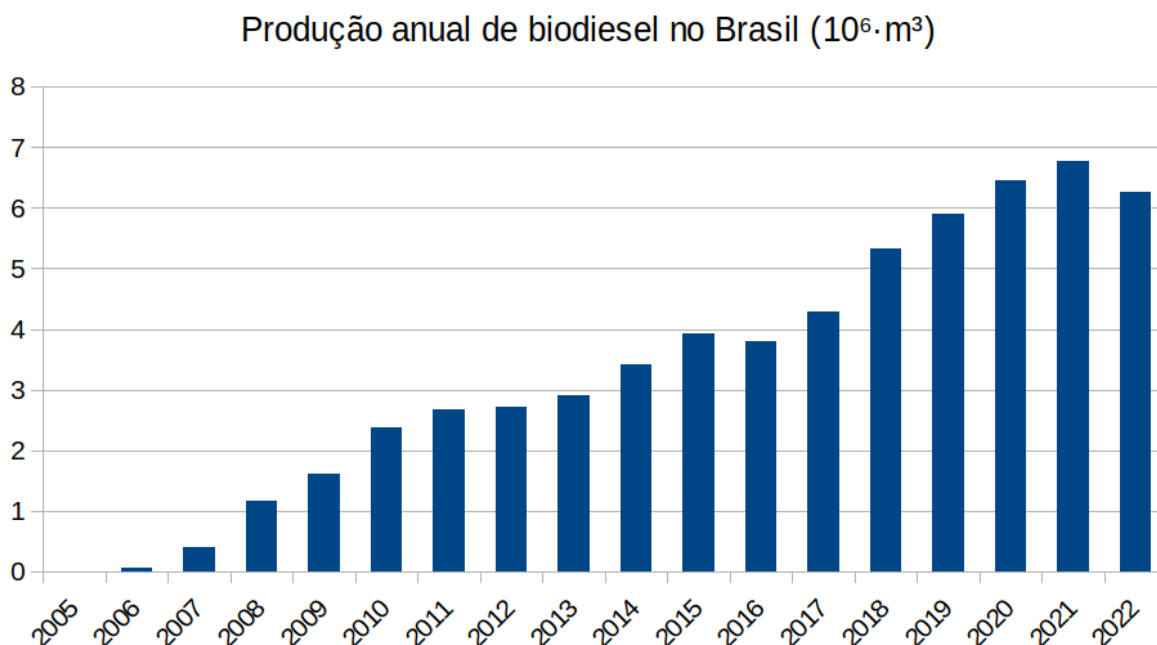
O biodiesel é uma das fontes de energia renovável que recebe incentivo estatal por meio da obrigatoriedade de que parte do diesel comercial (predominantemente combustível fóssil) seja composto por biodiesel, imposição iniciada pela lei nº 11.097/2005. A porcentagem atual foi alcançada a partir de metas estabelecidas na lei nº 13.263/2016, estabelecendo a meta de 10% de biodiesel em volume na composição do diesel comercial para o ano de 2019. [2] Esse cenário favorece um rápido crescimento na produção de biodiesel no Brasil, conforme ilustrado na Figura 1.

O biodiesel é produzido a partir de reação de óleo vegetal ou animal e um álcool, notavelmente o metanol, sendo a mistura acrescida de catalisador (usualmente bases fortes como o NaOH). No Brasil, a principal fonte de óleo é um vegetal, a soja. A reação é um processo de transesterificação e tem como produtos o biodiesel e o glicerol.

Assim, todo processo de produção do biodiesel por transesterificação possui como co-produto o glicerol, obtido na forma de glicerina junto ao biodiesel e separados por filtração, sendo que a cada 100 kg do produto, cerca de 90 kg são biodiesel e 10 kg glicerina. [3] Embora a glicerina possua uma ampla aplicação industrial, como na área dos cosméticos [4] a produção de biodiesel elevada na

última década gerou grande excedente e desvalorização. A conversão desse glicerol excedente em produtos de maior valor agregado é uma das alternativas para seu maior aproveitamento material e econômico.

Figura 1: volume da produção anual de biodiesel no Brasil, em 10^6 m^3 .



Fonte: Dados fornecidos pela ANP [5]

1.2 Eletrocatalise do glicerol

Embora a conversão direta de glicerol em gás carbônico para geração de energia seja pouco viável na eletroquímica, a pesquisa por formas de converter o glicerol em produtos de maior valor agregado é promissora, focada especialmente na catálise, sendo a eletrocatalise um dos métodos mais promissores. Por meio de eletrodos catalisadores de metais nobres, notavelmente platina, ouro e paládio, é possível obter produtos de maior valor como diidroxiacetona, gliceraldeído, ácido glicólico, ácido glioxílico, ácido tartrônico, ácido oxálico e ácido fórmico.[6] Algumas dessas possibilidades estão ilustradas na figura 2. Os metais nobres apresentam a vantagem de serem pouco reativos e estáveis mesmo em alta acidez ou basicidade.

No processo de eletrocatalise do glicerol, este está presente em uma célula eletroquímica de três eletrodos (de trabalho, referência e contra-eletrodo), e a

espécie é adsorvida na superfície do eletrodo de trabalho, onde ocorre transferência de elétrons, quebra e formação de ligações, e portanto de novos produtos.

A eletrocatalise pode ser influenciada por diversos fatores, tais como a natureza do catalisador, efeitos de liga e do ambiente eletroquímico. A natureza do catalisador pode influenciar tanto a partir do seu material quanto a organização de superfície: platina pode oxidar o glicerol em potenciais menores quando em monocristal ordenado.[7] A platina também permite catalisar, embora em menor atividade, em meio ácido, enquanto o ouro só mantém sua atividade catalítica em meio básico.[8] Ligas metálicas e suas diferentes proporções também podem alterar significativamente a atividade catalítica. Uma aplicação comum são nanopartículas bimetálicas suportadas em eletrodos de carbono, como PtRu ou AgPt. [9,10] Tais fatores igualmente afetam a seletividade dos processos catalíticos.

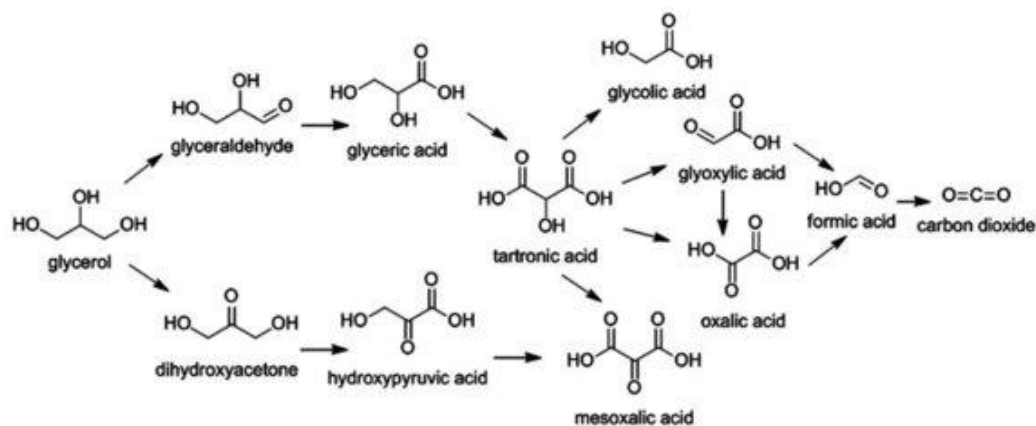


Figura 2: Possíveis rotas de conversão do glicerol [11]

Portanto, estudar os mecanismos da eletrocatalise por meio de métodos espectroscópicos como a espectroscopia Raman pode ajudar a compreender melhor o processo como um todo e abrir caminho para inovações na área de eletrocatalise [12].

1.3 Mecanismos: espectroscopia e estado da arte

O uso de recursos espectroscópicos é uma ferramenta poderosa para o monitoramento de processos reacionais na superfície do eletrodo, especialmente o papel de intermediários [13]. Devido aos processos eletroquímicos ocorrerem primariamente na dupla camada elétrica na superfície dos eletrodos, a obtenção de

dados espectroscópicos próximos à superfície pode fornecer dados importantes. A área que estuda processos eletroquímicos por meio de monitoramento espectroscópico é conhecida como espectroeletroquímica.

As técnicas mais utilizadas na literatura incluem a espectroscopia Raman, de fluorescência, UV-Vis, IR e de absorção de raio-X. A espectroscopia UV-Vis, assim como a de fluorescência, se destaca dentro da espectroeletroquímica em aplicações ligadas à bioquímica e polímeros. [14,15,16] A absorção em raio-X tem trazido inovações no estudo de catalisadores mistos sem uso de platina.[18] A espectroscopia em infravermelho (IR) apresenta respostas importantes em estudos de diversos compostos orgânicos, mas apresenta interferência considerável em meios aquosos.[18,19,20]

Dentre as técnicas espectroeletroquímicas, a espectroscopia Raman se destaca: possui capacidade de obter informações espectrais em frequências baixas ($100-700\text{cm}^{-1}$), onde vibrações do tipo adsorbato-superfície são usualmente localizadas [21]. O espalhamento Raman da água é fraco, e o uso de solventes não causa interferências consideráveis.

1.4 Efeito SERS e a técnica SHINERS

Devido ao efeito Raman ser muito fraco, isto é, apenas uma mínima fração dos fótons é espalhada em comprimento de onda diferente do incidido, é importante que o sinal seja amplificado para que sejam obtidas bandas nítidas durante o monitoramento. Para tal, é necessário se aproveitar do efeito SERS, o espalhamento Raman amplificado por superfície (do inglês *Surface-Enhanced Raman Scattering*), responsável por criar ressonância plasmônica na superfície de metais na presença de luz. A ressonância plasmônica de superfície é uma oscilação da densidade eletrônica em superfície eletrônica, e é expressa por meio das quasipartículas plasmons. O efeito SERS causa um aumento na intensidade dos sinais Raman, permitindo a visualização de bandas antes imperceptíveis.[22] Essa técnica permite obter bandas de mesmo uma única molécula de forma não destrutiva. A ressonância plasmônica de superfície (SPR, do inglês *Surface Plasmon Resonance*) pode ser controlado por fatores como forma e composição da superfície.

O efeito SERS é potencializado pela geometria da superfície do metal: superfícies enrugadas, especialmente ouro, cobre e prata, apresentam forte efeito SERS. Na eletroquímica o uso de eletrodos enrugados, notavelmente de prata é muito utilizado, apesar de limitar suas aplicações apenas a sistemas que metais com efeito SERS sejam ativos. Uma das primeiras alternativas apresentadas foi a técnica TERS (Tip-Enhanced Raman Spectroscopy), em que independente do substrato uma molécula pode ser monitorada graças ao efeito SERS de uma ponteira nanométrica de ouro. Apesar da técnica TERS dispensar a necessidade de uma superfície específica, a área da ponteira é pequena e os analitos ficam restritos àqueles com grandes seções transversais. [23]

Outra maneira de obter o mesmo efeito, de forma mais controlada, sem a necessidade de modificar o substrato, é utilizar nanopartículas de ouro, ou prata, controlando suas características como forma e tamanho para otimizar o efeito SERS de cada sistema.[24] As nanopartículas possuem a vantagem adicional de poderem ser usadas em eletrodos de outros metais além dos mais indicados para o efeito SERS. Assim, é possível utilizar nanopartículas de ouro e prata em eletrodos como os de platina e carbono.

Nanopartículas são nanoestruturas do tipo *0D*, ou seja, apresentam dimensões nanométricas em todas as dimensões. Nanopartículas podem ser sintetizadas por métodos *top-down*, em que estruturas maiores são decompostas em menores, ou *bottom-up*, em que as nanopartículas se formam a partir de estruturas menores, como moléculas.[23]

Entre as sínteses *top-down* de nanopartículas metálicas encontra-se a ablação à laser, em que um feixe de laser irradia a superfície de uma peça metálica imersa em solução, onde ocorre a sublimação do metal e sua rápida solidificação em solução, como é realizado para formar nanopartículas esféricas de ouro ou prata. Apesar de ser um rápido e de boa monodispersão, o equipamento apresenta alto custo de implementação.[24]

Já entre as sínteses *bottom-up*, um dos métodos de maior monodispersão é a agregação foto-induzida em solução de nitrato de prata, em que suspensão inorgânica é utilizada como agente estabilizante e previne a prata reduzida pela radiação de se aglomerar em partículas maiores. O método foto-induzido requer

equipamento semelhante ao da ablação à laser e portanto um custo muito elevado dos equipamentos.[25]

As técnicas mais acessíveis em termos de custo e equipamento envolvem a redução química de um sal metálico. Usualmente se utiliza um sal metálico, um agente redutor e um agente estabilizante, este último visando manter a estabilidade das nanopartículas após a síntese, evitando sua aglomeração.

Os agentes estabilizantes podem atuar por efeito estérico, como a polivinilpirrolidona (PVP), ou o polivinil álcool (PVA), em que suas moléculas adsorvem na superfície da nanopartícula e impede o contato entre partículas [26] ou eletrostático, como é o caso do citrato de sódio, que mantém repulsão de carga entre superfícies das partículas, reduzindo a chance de que suas colisões em meio coloidal sejam favoráveis à aglomeração.[10] Os agentes redutores incluem o borohidreto de sódio, o etileno glicol e o citrato de sódio, sendo este último especialmente interessante por ter capacidade de agir também como agente estabilizante.

Um exemplo notável de síntese *bottom-up* de nanopartículas metálicas é o método de Turkevich, conhecido desde 1940 e descrito e popularizado em 1951.[27] O método consiste na redução de sal metálico via citrato de sódio. Os mecanismos que levam a formação das nanopartículas começaram a ser melhor descritos muito mais tarde. Um artigo de revisão de 2012 por Wuithschick. et al [28] traz um amplo panorama dessa investigação, com ênfase no papel da formação de pequenos núcleos (do inglês: *seeds*) na etapa inicial e seu posterior crescimento. Essa técnica é vantajosa por ser possível controlar com boa precisão o tamanho das nanopartículas formadas e principalmente porque o agente redutor citrato, ao fim da reação com o resfriamento do sistema, torna-se um agente estabilizador, criando uma estabilização eletrostática ao redor das nanopartículas e evitando sua aglomeração. Uma maior concentração de citrato, reduz o diâmetro médio das nanopartículas.

A síntese de camada de sílica em nanopartículas é conhecida ao menos desde a década de 1990.[29] No entanto, sua aplicação para o uso do efeito SERS foi inaugurada em 2010, onde Tian et al.[38] introduziu o termo SHINERS. (do inglês *Shell-Isolated Nanoparticle-Enhanced Raman Spectroscopy*) A formação de camada

protetora, no caso de sílica, é formada em duas etapas: a adsorção da molécula de (3-Aminopropyl)trimethoxysilane (APTMS) na superfície da nanopartícula, e a posterior ligação com o silicato, formando uma camada de sílica que cresce enquanto a temperatura de reação é mantida. Quanto mais tempo o silicato estiver no meio aquecido, maior será a espessura da camada formada, portanto é de vital importância que o processo seja interrompido com banho de gelo, para um controle preciso do tempo de crescimento da casca.

As nanopartículas metálicas usadas para criar efeito SERS variam em forma, composição e tamanho. A literatura relata nanoesferas, *nanorods*, nanoconchas, nanoflores e nanoestrelas.[33] As nanoesferas possuem seu efeito SERS controlado por seu diâmetro. Um maior volume garante mais elétrons para serem excitados, ao mesmo tempo que causa efeitos de amortecimento do campo. Assim, o diâmetro ideal varia entre 30 e 100 nm.[30] Nanoconchas são esferas ocas e possuem pequenas aberturas '*pinholes*' em que se concentra o efeito plasmônico, sendo especialmente utilizado em aplicações *in vivo*.[31] *Nanorods* possuem forma de comprimido e apresentam duas bandas SPR, uma longitudinal mais forte e outra transversal mais fraca e pode ter seu máximo SPR variado mudando a razão largura/comprimento.[32] Nanoestrelas e nanoflores são estruturas extremamente enrugadas com diversos "braços" criando poderoso efeito SERS em sua grande área de superfícies.[34]

Quanto ao material, a prata apresenta uma atividade SERS maior que a do ouro na maioria das nanoestruturas semelhantes, com amplificação de sinal de dez a cem vezes maior. No entanto, sua síntese é mais difícil de ser controlada com precisão, problema contornado parcialmente pela síntese de nanopartículas de ouro revestidas com camada de prata, tanto em nanoesferas como *nanorods*. As nanopartículas de prata também possuem menor estabilidade para armazenamento.

Um problema apresentado na aplicação de nanopartículas é a interferência química da superfície metálica nos processos eletroquímicos. A superfície da nanopartícula de ouro ou prata podem atuar como catalisadores, causando interferência indesejada e alterando consideravelmente os resultados. A adsorção de espécies na superfície da nanopartícula também reduz a presença do analito diretamente no eletrodo, onde ocorre o fenômeno de interesse.[35] A técnica

emergente que visa superar esses problemas é a SHINERS, consistindo em revestir as nanopartículas com fina camada de material inerte, como sílica ou alumina, mantendo seu efeito SERS mas retirando sua interferência química.[36]

As nanopartículas cobertas SHINERS podem ser aplicadas na superfície de diferentes materiais sem causar interferência nos processos que ocorrem em sua superfície, ao mesmo tempo que permanecem próximas o suficiente do analito para criar forte amplificação SERS. Uma marca importante atingida pelas SHINERS em seu artigo seminal [38] foi a de obter espectro Raman de hidrogênio adsorvido em superfícies monocristalinas, fato inédito devido sua seção transversal extremamente baixa. Nanopartículas de ouro revestidas por sílica foram capazes de permitir a obtenção das bandas de hidrogênio adsorvidos em Pt(111). [38]

O sucesso da técnica SHINERS está relacionado principalmente à capacidade de se criar nanopartículas revestidas por camadas relativamente finas de sílica, dióxido de manganês ou alumina, na ordem de 2 a 8 nm. Suas aplicações para além da espectroeletróquímica se estendem também no campo da análise *in situ* e mesmo *in vivo* de material biológico, como a detecção de pesticidas. [33]

2 OBJETIVOS

O objetivo geral do projeto foi obter nanopartículas metálicas revestidas por camada protetora, para aplicação em espectroeletroquímica SHINERS, assim como seu método de síntese reprodutível e sua devida caracterização.

Os objetivos específicos foram:

Obter as nanopartículas SHINERS por método que possa ser reproduzido com boa precisão.

Produzir protocolos dos métodos utilizados.

Caracterizar as nanopartículas obtidas em cada procedimento.

3 METODOLOGIA

3.1 Síntese de nanopartículas de prata

Para as sínteses foi utilizado um agitador magnético com aquecimento e um banho para estabilizar a temperatura. Os frascos utilizados foram erlenmeyers com capacidade de 50 ml, e a agitação magnética foi mantida por barra de agitação. As medidas de pH foram sempre realizadas com indicador universal. Toda água foi purificada pelo sistema Milli-Q.

Os procedimentos foram baseados especialmente no trabalho de Li et al [37]. Os parâmetros a serem variados são a concentração de citrato, e o tempo de aquecimento. Uma maior concentração de citrato tende a formar partículas menores. Maior tempo de aquecimento aumenta o diâmetro médio ao permitir maior tempo de crescimento. A modificação da síntese com uso de base forte foi proposta por YANG et al [39] e são responsáveis por acelerar a reação e prevenir a formação de nanofios.

3.2 Caracterização física

3.2.1 UV-Vis

Nas medições de UV-vis foi utilizado um espectrofotômetro fotodiodo ultravioleta-visível, modelo Cary 50, marca Varian. Foi utilizado a faixa 300 nm a 800 nm. Amostras das nanopartículas coloidais foram diluídas 4 vezes, em água Milli-Q, para evitar interferência devido ao excesso de absorbância. As medidas foram realizadas em cubeta de plástico transparente de 4 ml e lavadas com água Milli-Q entre cada medida. As amostras foram mantidas em ambiente escuro para evitar sua deterioração.[40] A velocidade de varredura utilizada foi a padrão do equipamento (medium, 12000 nm/min). A análise dos espectros inclui observar o comprimento de onda no ponto da banda de máxima absorbância para determinar o diâmetro médio, e comparar a largura da curva como parâmetro de dispersão.

Para o preparo das amostras, 1 ml de solução coloidal foi acrescido de 3 ml de água Milli-Q e agitadas em eppendorf isolado da luz, para serem transferidos

para cubeta do espectrofotômetro. Nas medidas com monitoramento, as alíquotas de 1 ml foram retiradas durante a síntese com micropipeta, seguida do mesmo processo de diluição.

3.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O equipamento utilizado para obter imagens MEV foi um microscópio eletrônico de varredura FESEM JMS-6701F, JEOL, um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (FESEM) de ultra alto vácuo. Foram aplicadas distâncias de trabalho (WD) entre 5,3 e 6,1 mm, o modo de operação utilizado foi o de elétrons secundários (SEI), com tensões aplicadas entre 1 kV e 5 kV.

O preparo de amostras consiste em uma base de latão com pequena fita de carbono fixando uma fina placa de silício. Na placa é depositada uma gota da amostra de SHIN, que foi diluída 4 vezes em água Milli-Q e dispersada por um minuto em banho ultrassom. A amostra é deixada envolta de papel alumínio para evitar interferência da luz, e é inserida em mufla em 90°C por 2 minutos para secagem, evaporando toda água e deixando as nanopartículas depositadas no silício. Todo procedimento é realizado no mesmo dia das medidas para prevenir deterioração das amostras.

A técnica MEV (microscopia eletrônica de varredura) foi utilizada pontualmente no trabalho para refinar a caracterização. A MEV se caracteriza por utilizar um feixe de elétrons para explorar a superfície de uma amostra e obter imagens de sua morfologia. O processo envolve a emissão de elétrons a partir de uma fonte, que são acelerados e focalizados na amostra por meio de lentes magnéticas ou eletrostáticas. O feixe eletrônico varre a superfície da amostra em um padrão predefinido, e as interações entre os elétrons e a amostra geram elétrons secundários. Esses elétrons secundários são detectados e amplificados por dispositivos específicos, como detectores de elétrons secundários ou elétrons retroespalhados, e convertidos em um sinal elétrico para formar a imagem. A imagem pode ser obtida variando-se fatores como a tensão de aceleração dos elétrons e a distância entre a lente e a superfície da amostra, a distância de trabalho.

[41]

3.3 Caracterização química

Para verificar a formação da casca protetora das SHIN em forma qualitativa é possível utilizar um agente que perturba o sistema de nanopartículas sem proteção, causando uma visível mudança de coloração, causada por aglomeração das partículas, tornando a cor originalmente amarelada da solução coloidal em solução incolor com partículas escuras de prata aglomerada. [42] Nas nanopartículas de prata, uma solução concentrada de sal de base forte, tal como o cloreto de sódio, é capaz de causar esse efeito rapidamente. Em contrapartida, as nanopartículas com camada protetora formada permanecem estáveis em concentrações de sal que já causaram a deterioração das nanopartículas descobertas. Para tal, se prepara duas amostras de nanopartículas, uma em que não se realizou a síntese da camada de sílica e outra da mesma nanopartícula de prata e recoberta, antes da centrifugação para que a concentração de nanopartículas seja a mesma. Se adiciona gota a gota uma solução de cloreto de sódio até que uma das amostras apresenta mudança de coloração. A nanopartícula sem camada de sílica formada aglomera muito rapidamente e apresenta aspecto visual incolor com presença de precipitado escuro, e a solução com SHINs mantém sua coloração apesar do mesmo volume de solução adicionado.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese das nanopartículas de prata

A resposta à incidência de radiação na região do UV-Vis de nanopartículas metálicas em suspensão traz informações importantes a respeito do material sintetizado. A característica primordial de toda nanopartícula a ser sintetizada é o tamanho, no caso das nanopartículas esféricas representado pelo diâmetro. Embora a técnica de microscopia eletrônica de varredura possa fornecer dados mais precisos de forma, tamanho e dispersão das partículas, a espectroscopia UV-Vis é a forma mais prática, rápida e de baixo custo de se realizar medidas de nanopartículas com efeito SERS: o ponto de banda de maior absorbância corresponde ao comprimento de maior SPR, que é diretamente relacionado ao diâmetro de nanopartículas esféricas. Tal propriedade é descrita fisicamente pela teoria de Mie, mas a abordagem para nanopartículas permite utilizar extensas bases de dados para correlacionar o diâmetro de nanopartículas esféricas e seu diâmetro. AMIRJANI et al (2020) [43] estabeleceu a seguinte função linear para nanopartículas de prata:

$$D = 0,78 \lambda_{\text{SPR}} - 266$$

Sendo D o diâmetro da nanopartículas em nanômetros e λ_{SPR} o comprimento de onda de máxima ressonância plasmônica, também em nanômetros. O intervalo considerado foi entre 40 nm e 90 nm, utilizando-se bases de dados da literatura e cálculos teóricos.

O trabalho teve como enfoque a síntese de nanopartículas SHINERS com núcleo de prata. Primeiramente foram sintetizadas em três procedimentos diferentes usando o mesmo método, a redução de nitrato de prata via citrato. As sínteses 1 (Figura 3) mostram o espectro UV-Vis característico de nanopartículas de prata. A síntese 1A foi realizada com 90 minutos de redução em solução em ebulição, sob agitação, com concentração de nitrato de prata de 10^{-3} M e 1% do volume sendo solução de citrato de sódio de 1,6% em massa, em água Milli-Q. Foi obtido um máximo de absorbância no comprimento de onda centrado em 427 nm, indicando um diâmetro de aproximadamente 67 nm. Todavia, o espectro apresenta valores de

absorbância altos em uma grande amplitude de comprimentos de onda, característico de nanopartículas menos monodispersas, isto é, com grande variabilidade de diâmetros.

Tabela 1: condições experimentais e resultados das sínteses 1

Síntese	Concentração de AgNO ₃ (mol/L)	Concentração do citrato adicionado (m/m)	Tempo de síntese	Máxima ressonância plasmônica	Diâmetro aproximado
1A	1.10 ⁻³ M	1,6%	90 min	427 nm	67 nm
1B	5.10 ⁻⁴ M	1,6%	60 min	431 nm	70 nm
1C	5.10 ⁻⁴ M	1,6%	35 min	444 nm	80 nm

A síntese 1B (Figura 2) mostra o mesmo procedimento com a redução da concentração de nitrato para 5.10⁻⁴ mol L⁻¹ e aumento da concentração do citrato adicionado para 1,6% da massa, e um tempo de 60 minutos em ebulição, em água Milli-Q. Observou-se uma uniformidade muito maior que a do procedimento anterior, com banda bem definida (de menor área próxima ao máximo, portanto banda mais estreita) nos 431 nm indicando diâmetro de cerca de 70 nm. A síntese 1C mostra procedimento similar ao da síntese 2, exceto por ter sido interrompido antes, aos 35 minutos de ebulição. Se observou uma banda com máximo de absorvância centrado em 444 nm, indicando diâmetro de aproximadamente 80 nm.

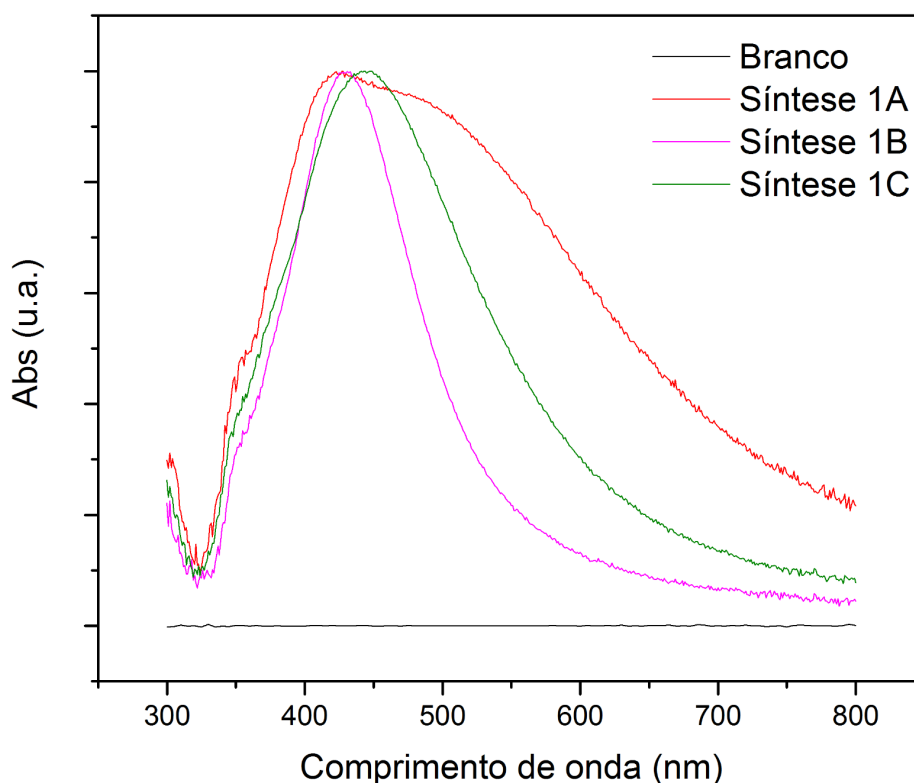
A avaliação final a partir dos dois procedimentos de síntese analisadas apontou a necessidade de refinar a precisão no processo de preparação das nanopartículas de prata, uma vez que as nanopartículas de 70 nm e 80 nm são resultados da mesma proporção de reagentes, mas com tempo de reação menor. O fato da síntese 25 minutos mais longa apresentar menor diâmetro em uma diferença de 10 nm evidencia que a síntese não está bem controlada, já que o esperado para um tempo menor seria um diâmetro maior ou igual, já que as nanopartículas crescem com o tempo de reação até estabilizar seu diâmetro. [28]

Considerando que a síntese de 1C possui um espectro de absorvância mais largo, aponta-se uma diferença decorrente de menor uniformidade de formação das

partículas, o que pode ter sido causado por maior perda de água durante o aquecimento, criando uma variação de volume durante a síntese, e portanto mudança de concentração, tanto durante a formação dos primeiros núcleos de aglomeração quanto na fase de crescimento. As condições experimentais da síntese 1 estão resumidas na tabela 1.

Assim, o próximo passo do trabalho foi melhorar o controle no processo de síntese para que não houvesse perda de água durante o processo, já que após chegar na temperatura de ebulição a aceleração da perda de água era muito grande, e esse fato pode ser uma fonte de incerteza significativa.

Figura 3: espectros UV-Vis de três amostras de nanopartículas de prata. As curvas tiveram absorbância normalizada para melhor visualização.



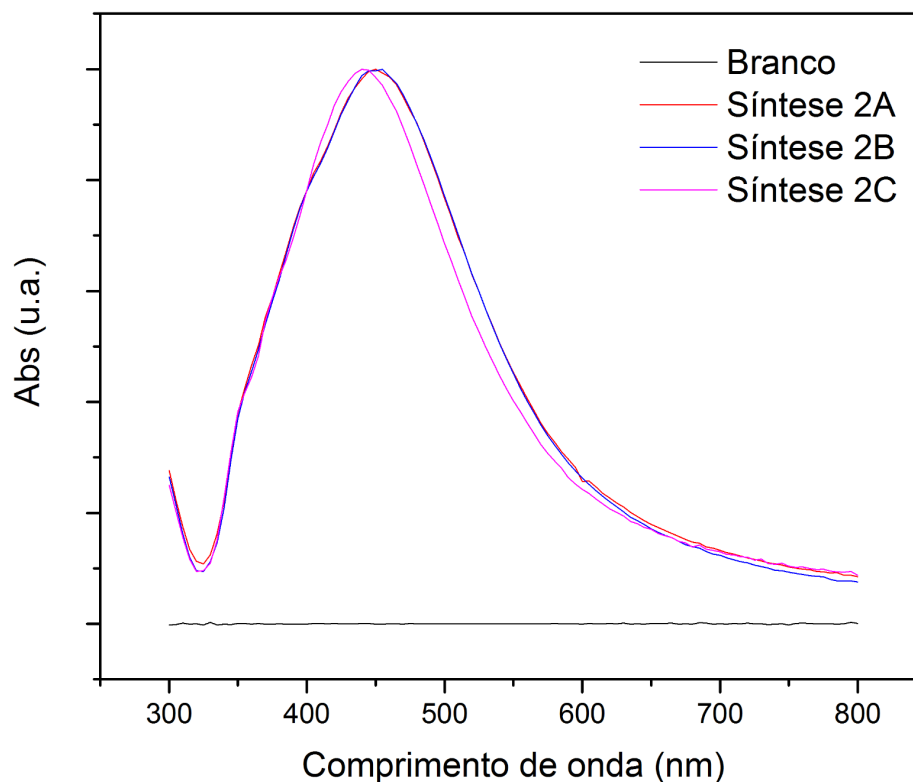
Assim, foi criado um sistema de simples montagem para manter a temperatura estável e evitar a perda de água por ebulição acelerada. Um banho de água fervente foi introduzido junto ao agitador magnético para manter a temperatura constante, com auxílio de um termômetro para monitorá-lo. Um maior cuidado com a barra de agitação foi necessário para permitir uma agitação constante, já que a

agitação possui um papel essencial na monodispersão das partículas. O controle de temperatura permitiu a redução da prata com a adição de citrato 1,0%, já que nas sínteses 1 a redução da prata só ocorria com a adição de solução 1,6%, indicando que a variação de temperatura no processo pode diminuir a ação redutora do citrato. Para averiguar a reprodutibilidade da metodologia realizou-se três experimentos nas mesmas condições experimentais, em que foram analisados por meio do seu ponto de absorbância máximo e a largura de suas curvas, representadas na Figura 4. As sínteses 2A e 2B apresentaram máximo de absorbância centrado em 450 nm, característico de nanopartículas com diâmetro médio de 85 nm, e a síntese 2C apresentou máximo de absorbância centrado em 440 nm, caracterizando um diâmetro de cerca de 77 nm. As formas das curvas (Figura 4) não apresentaram grandes discrepâncias entre si, caracterizando uma monodispersão semelhante. Assim, a metodologia estabelecida após o uso de banho de água fervente mostrou-se reprodutiva. As condições experimentais e resultados da síntese 2 estão esquematizadas na tabela 2.

Tabela 2: condições experimentais e resultados das sínteses 1

Síntese	Concentração de AgNO ₃ (mol/L)	Concentração do citrato adicionado (m/m)	Tempo de síntese	Pico de ressonância plasmônica	Diâmetro aproximado
2A	5.10 ⁻⁴ M	1,0%	90 min	450 nm	85 nm
2B	5.10 ⁻⁴ M	1,0%	90 min	450 nm	85 nm
2C	5.10 ⁻⁴ M	1,0%	90 min	440 nm	77 nm

Figura 4: Síntese em três dias diferentes, sob as mesmas condições.



A estabilidade de temperatura e da agitação mostraram-se de grande impacto. Um banho-maria foi suficiente para evitar o problema, impedindo qualquer ebulição da solução de síntese e evitando variações de temperatura. Vale ressaltar que o erlenmeyer em que a síntese ocorre fica suspenso no banho, isto é, não há contato entre o vidro do banho e do erlenmeyer, para que toda transferência de calor aconteça da água em ebulição ao frasco.

4.2 Síntese das SHIN

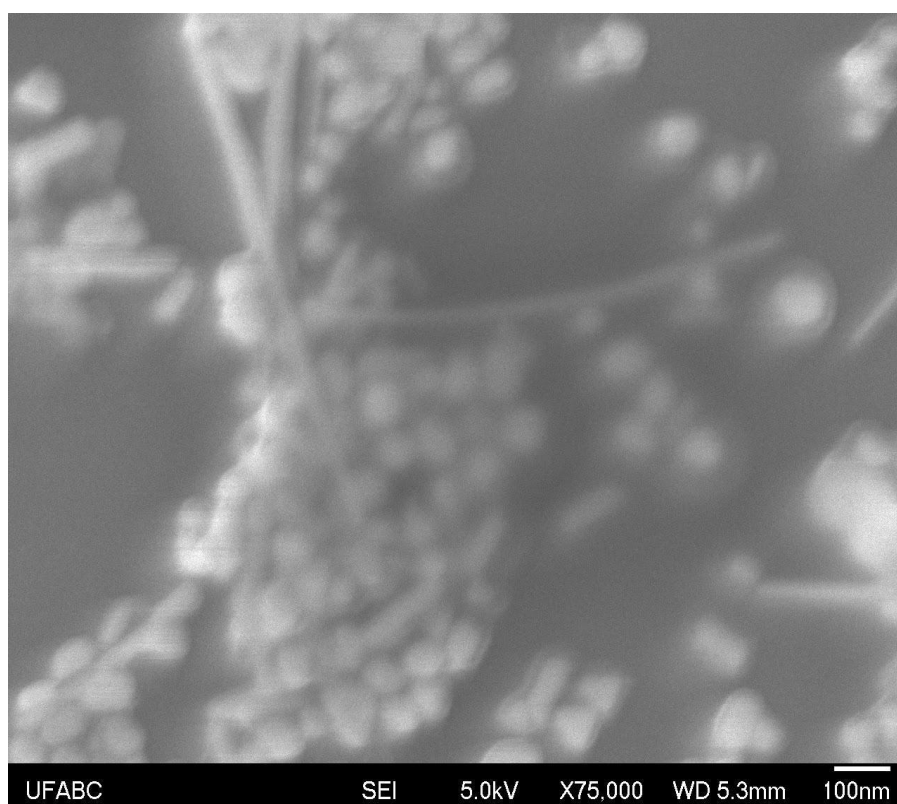
A síntese propriamente das nanopartículas SHINERS, seguindo procedimentos da literatura [35,34] iniciou-se com o uso da solução coloidal de nanopartículas da síntese 2, na temperatura ambiente.

É importante que a solução de nanopartículas de prata esteja em temperatura ambiente, pois verificou-se rápida precipitação da prata quando se inicia a síntese das SHIN em solução ainda aquecida.

Assim, tendo 15 ml da solução coloidal de AgNP, esta é deixada agitando em temperatura ambiente em erlenmeyer, quando se adiciona 0,2 ml de solução 1 mM de APTMS. O sistema deve permanecer agitando em temperatura ambiente por 15 minutos para que o APTMS adsorva na superfície das nanopartículas antes da etapa seguinte. A adição de APTMS ocorre sem qualquer mudança visual .

Após os 15 minutos, se adiciona 1,6 ml de solução de silicato de sódio 0,54% com pH ajustado com HCl de 13 para 10. Após 3 minutos em temperatura ambiente, é inserido o banho de água fervente, deixado por 60 minutos. Os resultados mostraram, por imagem de microscopia eletrônica de varredura, a formação de uma camada de sílica ao redor da prata, conforme mostrado na Figura 5. A camada de sílica apresenta menor contraste na imagem do que a prata, e pode ser visualizada ao redor dos núcleos de prata. Mais imagens da mesma amostra se encontram no anexo A.

Figura 5: Imagens obtidas por MEV de nanopartículas de prata revestidas com sílica, com formação de nanofios.

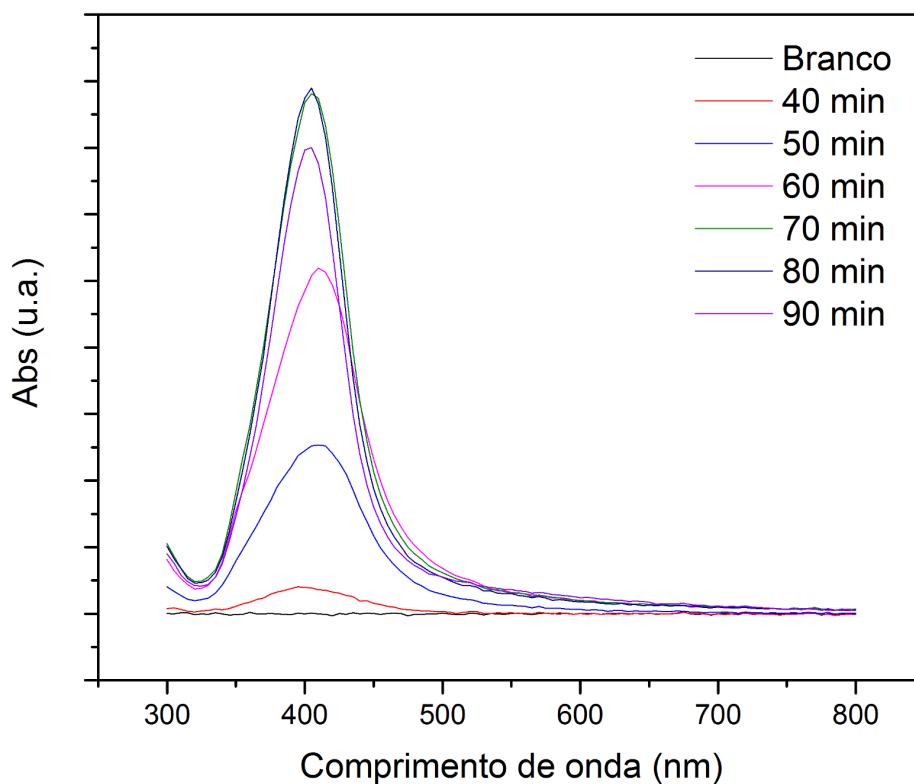


A Figura 5 também permite constatar a presença de nanofios, estruturas com diâmetro nanométrico e comprimento micrométrico. A revisão de literatura mostrou que nanofios são um co-produto comum na síntese de nanopartículas esféricas. [39] As únicas sínteses usando apenas a redução via citrato que não apresentaram nanofios foram as realizadas em vidrarias nunca antes utilizadas para síntese de nanopartículas de prata. Esse dado levanta a tese de que a limpeza dos erlenmeyers não é o suficiente para remover certa quantidade de núcleos de prata da vidraria, que acabariam servindo de núcleo de crescimento para nanofios na síntese seguinte.

A detecção de nanofios, além das imagens MEV, também pode ser inferida por espectro UV-Vis e mesmo visualmente: os nanofios causam uma janela de absorção muito mais larga ao redor do máximo de ressonância plasmônica, e seu aspecto visual é leitoso, e não um amarelo translúcido como as nanopartículas sem presença de nanofios.

Em um dos resultados em que não se detectou a presença de nanofios, foi realizado um monitoramento da evolução de nanopartículas com o tempo de reação via espectroscopia UV-Vis, mostrado na figura 6. Se observa que o diâmetro cerca de dez minutos após o início do aparecimento de absorbância significativa (que foi aos 30 min) mostrou um máximo de absorbância de 395 nm, indicativo de nanopartículas com 42 nm de diâmetro. Já as medidas seguintes mostraram variação entre 50 e 54 nm de diâmetro médio, mostrando não haver crescimento mensurável do diâmetro médio, porém com aumento de absorbância iniciando a partir dos 30 minutos e acelerando até os 60 minutos, indicando aumento do número de nanopartículas no meio. Os últimos 30 minutos da síntese mostraram aumento marginal da absorbância, evidenciando que os primeiros 60 minutos são os mais importantes do processo, reforçando a tese da formação de núcleos de crescimento (seeds) nos primeiros minutos, e seu posterior crescimento limitado pela concentração de citrato no meio [28].

Figura 6: espectros UV-Vis monitorando evolução de síntese de nanopartículas a cada dez minutos.



O resultado na microscopia eletrônica de varredura mostrou a ausência de estruturas de nanofios, conforme mostrado na Figura 9, gerada por MEV, onde não foi possível visualizar camada de sílica, mas o teste de estabilidade em cloreto de sódio evidenciou nanopartículas estáveis em solução salina de cloreto de sódio em relação às não recobertas, como mostra as figuras 7 e 8.

Figura 7: eppendorfs contendo nanopartículas sem camada de sílica (A) e com camada (B) antes da adição de cloreto de sódio.

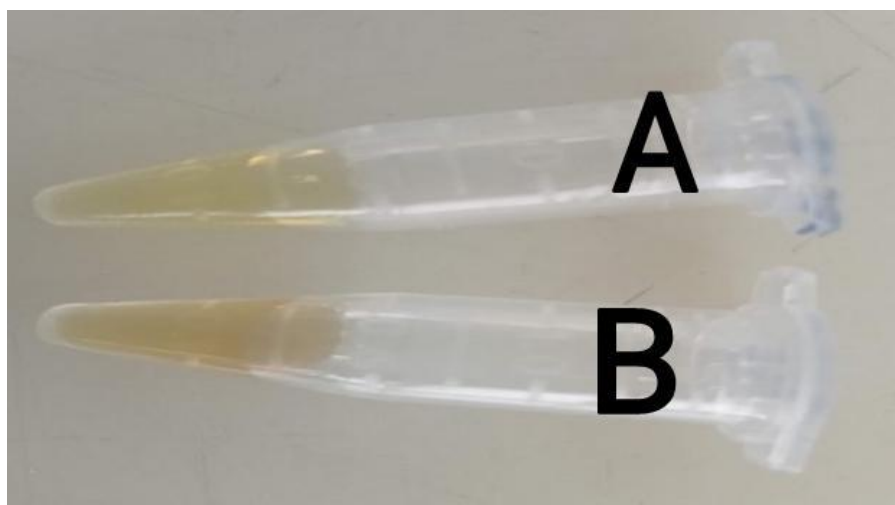


Figura 8: eppendorfs contendo nanopartículas sem camada de sílica (A) e com a camada (B) após adição de cloreto de sódio.

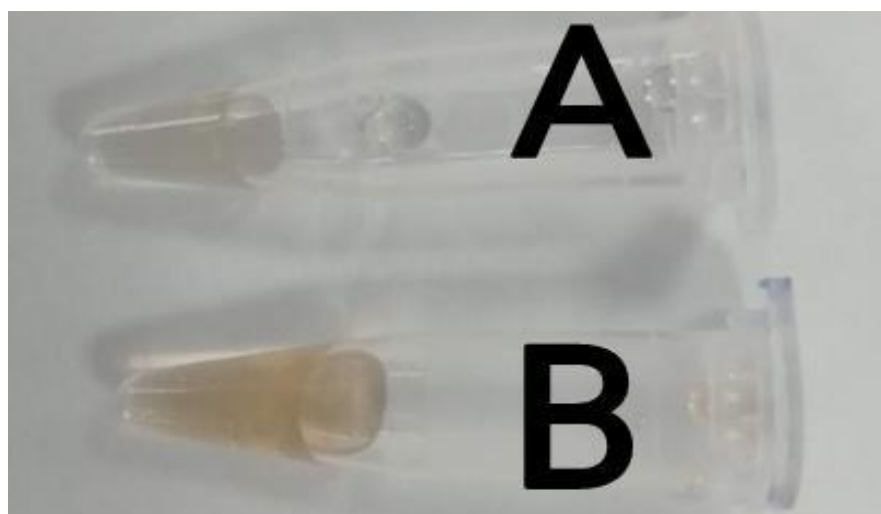
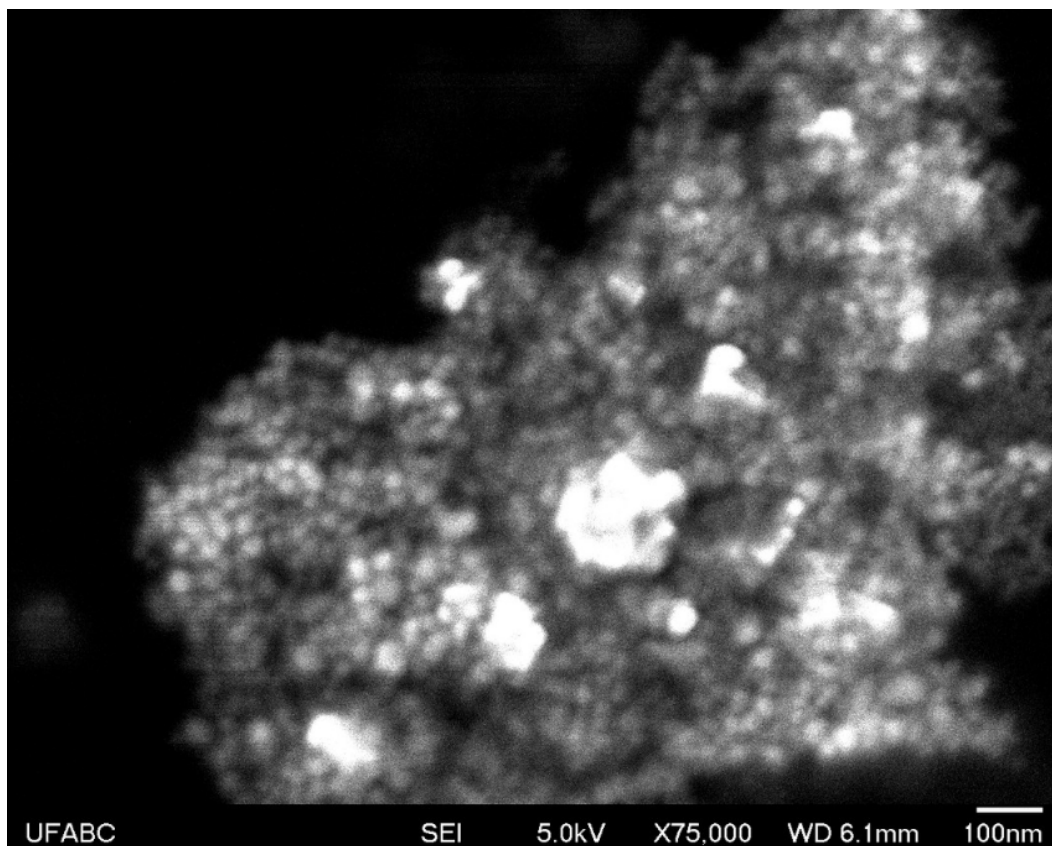


Figura 9: nanopartículas sintetizadas sem base em vidraria limpa.

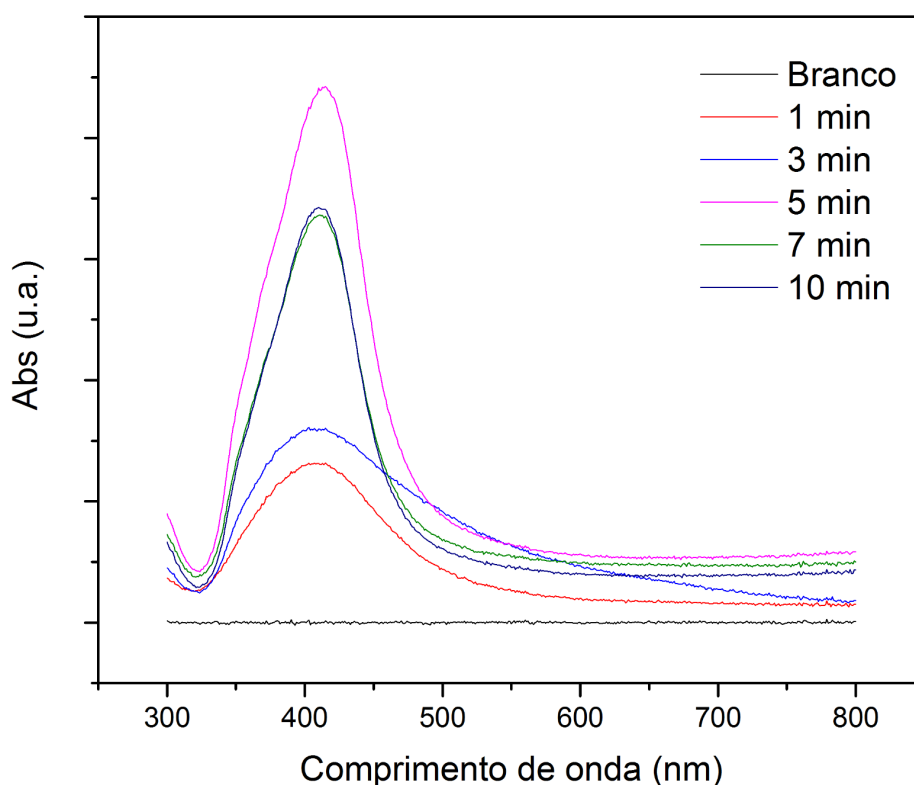


Além do método das síntese 1 e 2, baseados no trabalho de Li et al [37], foi aplicado uma variação que inclui aumentar o pH da solução logo no início da síntese via adição de solução de hidróxido de sódio. O pH da solução apenas com nitrato de prata e citrato de sódio é de aproximadamente 5, de forma que ao adicionar gota a gota de solução 0,1 M NaOH, podemos ajustar o pH do meio reacional para 10. YANG et al [39] mostrou que a formação de nanofios pode ser prevenida com adição de base NaOH até o pH 10. Os autores mostraram que ocorre uma formação muito mais rápida de nanopartículas, que no método anterior levavam cerca de 30 minutos para iniciar a mudança de coloração, para uma mudança imediata.

Um minuto após a adição da base, o máximo de absorvância se concentra em 400 nm, indicando diâmetro aproximado de 54 nm. A intensidade da banda cresce evidenciando a progressiva redução da prata presente no meio, e o comprimento de onda a partir do quinto minuto se desloca para ser centrado nos 414 nm, característico de um diâmetro de 57 nm, interrompendo o crescimento até o fim da síntese.

Após dez minutos se apresentaram nanopartículas de 57 nm e aspecto visual límpido. O monitoramento mostrou que logo no primeiro minuto de síntese formou-se nanopartículas com cerca de 54 nm, que cresceram ligeiramente até 57 nm e aumentaram de número, conforme demonstrado na Figura 10. Já as nanopartículas em que foram identificados nanofios apresentam aspecto visual de emulsão, leitoso, e um espectro de absorbância mais amplo na região do visível, como as sínteses 1 e 2.

Figura 10: evolução do espectro UV-Vis de nanopartículas de prata sintetizadas em meio básico.

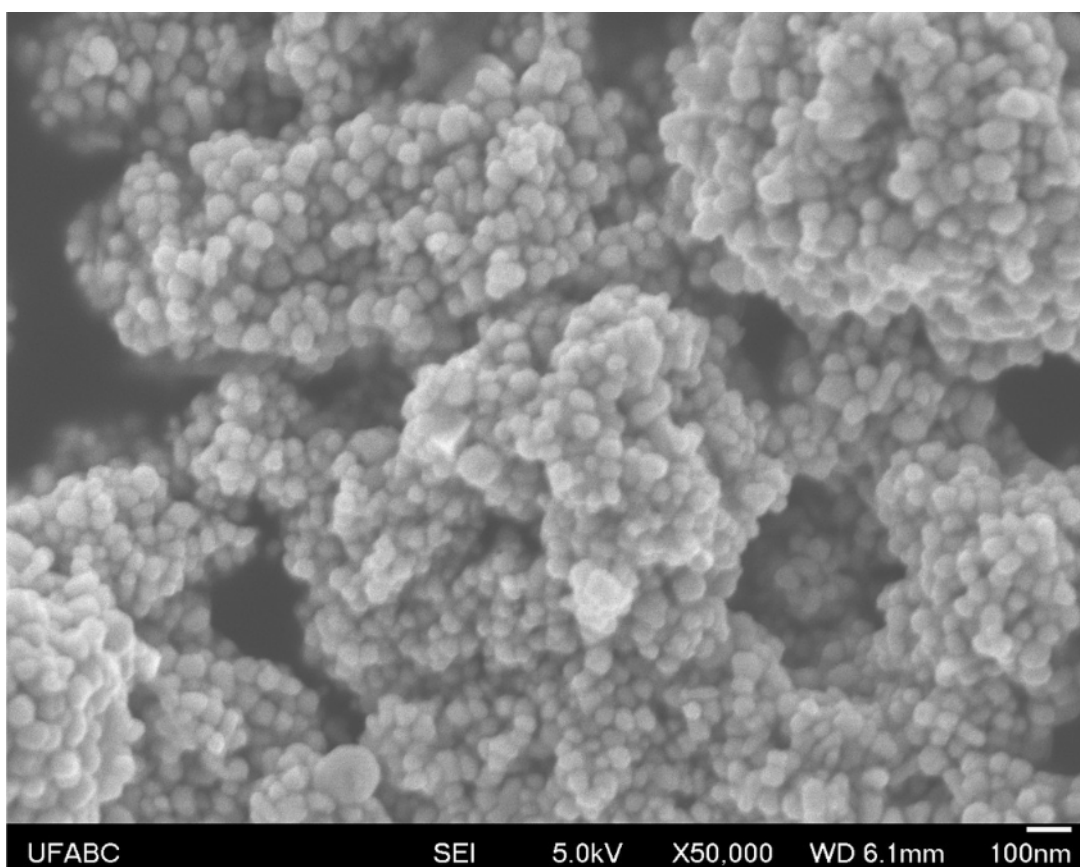


O rápido crescimento seguido da estabilização do diâmetro aponta que o mecanismo de formação de núcleos e de crescimento é semelhante ao realizado sem a presença de base. A diferença de velocidade apontada primeiramente por YANG et al é atribuída pelos autores à aceleração de desproporção dos íons citrato, acelerando o processo de redução. Na última medida houve uma queda na intensidade da banda, possivelmente devido a erro na diluição da alíquota.

O procedimento relatado no parágrafo anterior foi modificado para as nanopartículas sintetizadas na presença de base e pH 10. Estas foram antes acidificadas com HCl até pH 5, a acidez original. Essa etapa se mostrou necessária, pois a falta de acidificação mostrou como efeito a rápida precipitação da prata.

Os resultados dessa síntese mostraram ausência de nanofios, conforme visto na Figura 11. A necessidade desse passo deve estar relacionada ao comportamento do APTMS em meio fortemente básico, que assim como as altas temperaturas descritas anteriormente, o levam a causar precipitação da prata.

Figura 11: nanopartículas sintetizadas com base, depois acidificadas e recobertas com sílica. Não foi detectada a presença de nanofios.



Para aplicação em nosso sistema, também é necessário centrifugar a solução para obter as nanopartículas como precipitado, e a seguir lavar com água MiliQ, dispersando o precipitado com água MiliQ em banho de ultrassom, e centrifugando novamente, para se retirar o sobrenadante e se obter SHINs limpas, que a partir de 15 ml de solução formam menos de 1 ml de SHINs, armazenadas em refrigeração e

isoladas da luz. A centrifugação foi realizada em 4000 rpm, tornando o sobrenadante límpido ou praticamente incolor, o que indica alta proporção de nanopartículas no meio separadas do sobrenadante. Essa etapa garante não apenas a remoção dos reagentes ainda presentes em solução, mas também uma alta concentração de nanopartículas por volume, o que deve aumentar a intensidade do efeito SERS no sistema.

As nanopartículas SHIN sintetizadas a partir de nanopartículas de prata sintetizadas em base também passaram por caracterização química. O resultado é mostrado na figura 12, em que a nanopartícula recoberta D manteve sua coloração e a sem recobrimento (mas com pH ajustado) C perdeu coloração, na mesma quantidade de solução de cloreto de sódio adicionada gota a gota. Assim, é possível verificar a formação da camada de sílica também nas sínteses com uso de base.

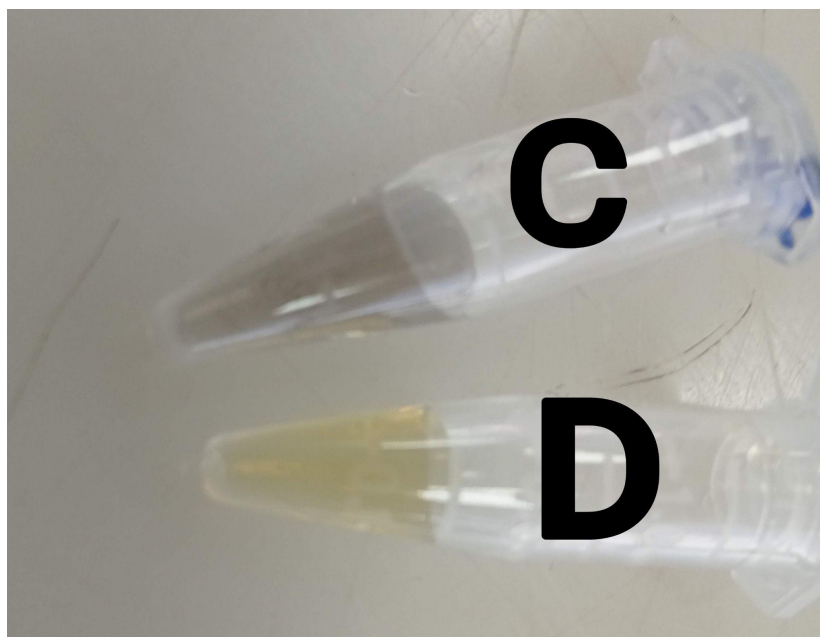
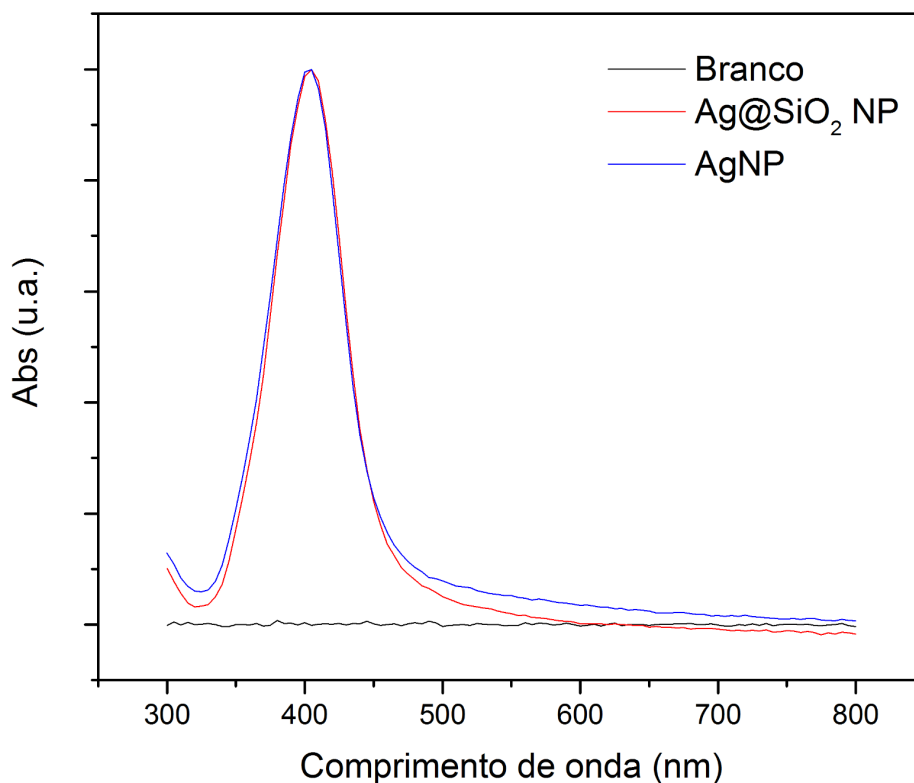


Figura 12: Eppendorf C contendo nanopartículas de prata sintetizadas com base e eppendorf D contendo as mesmas cobertas com sílica, ambas após adição de solução de cloreto de sódio gota a gota.

A cobertura com sílica, como esperado, não apresentou qualquer efeito ótico mensurável conforme mostrado na Figura 13:

Figura 13: comparação entre espectro de nanopartícula com recobrimento (SHIN) e sem recobrimento (NP)



Assim, os resultados mostraram que o uso de banho de água fervente é um fator essencial para garantir a monodispersão das nanopartículas de prata. A modificação do processo usando hidróxido de sódio para aumentar o pH no processo foi reproduzida com sucesso, eliminando o co-produto nanofio, e adicionalmente se realizou a síntese das SHIN a partir de nanopartículas sintetizadas em pH modificado, no qual se verificou a necessidade de modificação do pH. A caracterização por MEV é a mais precisa, mas a caracterização por UV-Vis (para o diâmetro e dispersão) e a caracterização química a partir da estabilidade na presença de cloreto de sódio (para a integridade da SHIN) se mostraram métodos mais rápidos, menos custosos e muito eficientes.

5 CONCLUSÕES

O presente trabalho evidenciou a dificuldade de se reproduzir com precisão os protocolos de síntese de nanopartículas SHINERS em condições de laboratório disponíveis, em especial no quesito de reprodutibilidade entre experimentos e a formação de nanofios de prata. Os caminhos para contornar esses problemas estão no uso de banho fervente para estabilizar a temperatura durante as sínteses, a alternativa do uso de base forte para ajuste de pH, permitindo síntese mais rápida e precisa, e a sua posterior cobertura com camada de sílica após reajuste de pH. A possibilidade de sintetizar nanopartículas SHINERS a partir de solução advinda de síntese de nanopartículas de prata na presença de base, possível graças à correção de pH com HCl, é uma constatação importante que pode expandir as possibilidades futuras nas sínteses de nanopartículas SHINERS.

REFERÊNCIAS

- [1] CREMONEZ, A. et al. Biodiesel production in Brazil: Current scenario and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 42, 415–428. 2015.
- [2] BRASIL. Lei N° 13.263, de 23 de março de 2016. Altera a Lei n° 13.033, de 24 de setembro de 2014, para dispor sobre os percentuais de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional. Brasília, DF: **Diário Oficial da União**, 2016.
- [3] SCHUCHARDT, U. et al. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 9(3). 1998.
- [4] YANG, F., et al. Value-added uses for crude glycerol--a byproduct of biodiesel production. **Biotechnology for Biofuels**, 5(1), 13. 2012.
- [5] AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Painel Dinâmico de Produtores de Biodiesel. Disponível em: <www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/paineis-dinamicos-da-anp/paineis-e-mapad-dinamicos-de-produtores-de-combustiveis-e-derivados/painel-dinamico-de-produtores-de-biodiesel>. Acesso em: 11 jul. 2023.
- [6] NAKAGAWA, Y., TOMISHIGE, K. Heterogeneous catalysis of the glycerol hydrogenolysis. **Catalysis Science & Technology**, 1(2), 179. 2011.
- [7] FERNÁNDEZ, P. S.; FERNANDES GOMES, J.; ANGELUCCI, C. A.; TERESHCHUK, P.; MARTINS, C. A.; CAMARA, G. A.; TREMILIOSI-FILHO, G. Establishing a Link between Well-Ordered Pt(100) Surfaces and Real Systems: How Do Random Superficial Defects Influence the Electro-oxidation of Glycerol? **ACS Catalysis**, v. 5, n. 7, p. 4227-4236, 2015.
- [8] KWON, Y.; SCHOUTEN, K. J. P.; KOPER, M. T. M. Mechanism of the Catalytic Oxidation of Glycerol on Polycrystalline Gold and Platinum Electrodes. **ChemCatChem**, v. 3, n. 7, p. 1176-1185, 2011.
- [9] ANGELUCCI, C. A.; D'VILLA SILVA, M.; NART, F. C. Preparation of platinum–ruthenium alloys supported on carbon by a sonochemical method. **Electrochimica Acta**, v. 52, n. 25, p. 7293-7299, 2007.
- [10] NATSUKI, J.; NATSUKI, T.; HASHIMOTO, Y. A Review of Silver Nanoparticles: Synthesis Methods, Properties and Applications. **International Journal of Materials Science and Applications**, v. 4, n. 5, p. 325-332, 2015. doi: 10.11648/j.ijmsa.20150405.17

- [11] BELTRÁN-PRIETO, J. C. et al. Development of an HPLC method for the determination of glycerol oxidation products. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, v. 36, n. 19, p. 2758-2773, 2013.
- [12] LI, T., HARRINGTON, D. A. An Overview of Glycerol Electrooxidation Mechanisms on Pt, Pd and Au. *ChemSusChem*, 14(6), 1472–1495. 2021
- [13] ANGELUCCI, C. et al. **Glycerol Electrooxidation on Noble Metal Electrode Surfaces**. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. 2017.
- [14] BKHACH, S.; ALÉVÊQUE, O.; MORILLE, Y.; BRETON, T.; HUDHOMME, P.; GAUTIER, C.; LEVILLAIN, E. Absorption Spectroelectrochemistry on Mixed Perylenediimide-Based Self-Assembled Monolayers: Non-Linear Dependence of Absorbance versus Surface Coverage. *ChemElectroChem*, v. 4, n. 3, p. 601-606, 2017.
- [15] ZASSOWSKI, P.; GOLBA, S.; SKORKA, L.; SZAFRANIEC-GOROL, G.; MATUSSEK, M.; ZYCH, D.; DOMAGALA, W. Spectroelectrochemistry of alternating ambipolar copolymers of 4,4'- and 2,2'-bipyridine isomers and quaterthiophene. *Electrochimica Acta*, v. 231, p. 437-452, 2017.
- [16] YAN, Q.; YUAN, J.; CAI, Z.; XIN, Y.; KANG, Y.; YIN, Y. Voltage-Responsive Vesicles Based on Orthogonal Assembly of Two Homopolymers. *Journal of the American Chemical Society*, v. 132, n. 27, p. 9268-9270, 2010.
- [17] JIA, Q.; RAMASWAMY, N.; TYLUS, U.; STRICKLAND, K.; LI, J.; SEROV, A.; MUKERJEE, S. Spectroscopic insights into the nature of active sites in iron–nitrogen–carbon electrocatalysts for oxygen reduction in acid. *Nano Energy*, v. 29, p. 65-82, 2016.
- [18] GESKES, C.; HARTWICH, G.; SCHEER, H.; MAENTELE, W.; HEINZE, J. Electrochemical and spectroelectrochemical investigation of metal-substituted bacteriochlorophyll a. *Journal of the American Chemical Society*, v. 117, n. 29, p. 7776-7783, 1995.
- [19] VISSER, H.; CURTRIGHT, A. E.; MCCUSKER, J. K.; SAUER, K. Attenuated Total Reflection Design for in Situ FT-IR Spectroelectrochemical Studies. *Analytical Chemistry*, v. 73, n. 17, p. 4374-4378, 2001.
- [20] VENYAMINOV, S. Y.; PRENDERGAST, F. G. Water (H₂O and D₂O) Molar Absorptivity in the 1000–4000 cm⁻¹ Range and Quantitative Infrared Spectroscopy of Aqueous Solutions. *Analytical Biochemistry*, v. 248, n. 2, p. 234-245, 1997.

- [21] ZHAI, Y. et al. Recent advances in spectroelectrochemistry. **Nanoscale**, 10 (7), 3089–3111. 2018.
- [22] SHARMA, B. et al. SERS: Materials, applications, and the future. **Materials Today**, 15(1-2), 16–25. 2012.
- [23] MA, Jilian et al. Plexcitons, electric field gradient and electron–phonon coupling in tip-enhanced Raman spectroscopy (TERS). **Nanoscale**, 2021, **13**, 10712-10725
- [24] WANG, C. et al. In-situ SHINERS study of the size and composition effect of Pt-based nanocatalysts in catalytic hydrogenation. **ChemCatChem**. 2019.
- [23] POKROPIVNY, V. V., SKOROKHOD, V. V. Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. **Materials Science and Engineering: C**, 27(5-8), 990–993. 2007.
- [24] MAGNUSSON, M. H.; DEPPERT, K.; MALM, J. O.; BOVIN, J. O.; SAMUELSON, L. Gold nanoparticles: Production, reshaping, and thermal charging. **J. Nanoparticle Res.**, v. 1, p. 243-251, 1999.
- [25] HUANG, H.; YANG, Y. Preparation of silver nanoparticles in inorganic clay suspensions. **Compos. Sci. Technol.**, v. 68, p. 2948-2953, 2008.
- [26] DANG, T. M. D.; LE, T. T. T.; BLANCE, E. F.; DANG, M. C. Influence of surfactant on the preparation of silver nanoparticles by polyol method. *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.*, v. 3, p. 035004-1-4, 2012.
- [27] TURKEVICH, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J. A Study of the Nucleation and Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold. *Discuss. Faraday Soc.* 1951, 11,55–75.
- [28] WUITHSCHICK, M. et al. Turkevich in New Robes: Key Questions Answered for the Most Common Gold Nanoparticle Synthesis. **ACS Nano**, 9(7), 7052–7071. 2015.
- [29] NEEVES, A. E, BIRNBOIM, M. H. "Composite structures for the enhancement of nonlinear-optical susceptibility," **J. Opt. Soc. Am. B** 6, 787-796. 1989.
- [30] MOSKOVITS, M. J. **Raman Spectrosc.** v. 36, p. 485, 2005.
- [31] HUANG, X. H.; NERETINA, S.; EL-SAYED, M. A. **Adv. Mater.**, v. 21, p. 4880, 2009.

- [32] SENTHIL KUMAR, P.; PASTORIZA-SANTOS, I.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, B.; JAVIER GARCÍA DE ABAJO, F.; LIZ-MARZÁN, L. M. **Nanotechnology**, v. 19, 015606, 2008.
- [33] WANG, Y. et al. SERS Tags: Novel Optical Nanoprobes for Bioanalysis. **Chemical Reviews**, 113(3), 1391–1428. 2012.
- [34] CASTRO, B et al. Gold Nanostars: Synthesis, Optical and SERS Analytical Properties. **Analysis and Sensing**. v.2, 3, 2022.
- [35] Kudelski, A., Wojtysiak, S. Silica-Covered Silver and Gold Nanoresonators for Raman Analysis of Surfaces of Various Materials. **The Journal of Physical Chemistry C**, 116(30), 16167–16174, 2012.
- [36] Li, J. F. et al. Surface analysis using shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy. **Nature Protocols**, 8(1), 52–65. 2012.
- [37] LI, C. et al. “Smart” Ag Nanostructures for Plasmon-Enhanced Spectroscopies. **Journal of American Chemical Society**, 137, 13784–13787, 2015.
- [38] Li, J. F., et al.. Shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy. **Nature**, 464(7287), 392–395. 2010.
- [39] YANG, Z. et al. One-pot hydrothermal synthesis of silver nanowires via citrate reduction. **Journal of Colloid and Interface Science**, 352(2), 285–291. 2010.
- [40] ZHOU, W., LIU, Y.-L., STALLWORTH, A. M., Y, C., LENHART, J. J. Effects of pH, Electrolyte, Humic Acid, and Light Exposure on the Long-Term Fate of Silver Nanoparticles. **Environmental Science & Technology**, 50(22), 12214–12224, 2016
- [41] MOHAMMED, A. ABDULLAH, A. Scanning electron microscopy: a review. proceedings of 2018. **International Conference on Hydraulics and Pneumatics - HERVEX** November 7-9, Băile Govora, Romania. 2018.
- [42] KONG, X. et al. Synthesis and application of surface enhanced Raman scattering (SERS) tags of Ag@SiO₂ core/shell nanoparticles in protein detection. **Journal of Materials Chemistry**, (2012), 7767-7774, 22(16).
- [43] AMIRJANI, A. et al. Predicting the Size of Silver Nanoparticles from Their Optical Properties. **Plasmonics**. 2020.

ANEXO A

Imagens obtidas por MEV de nanopartículas de prata revestidas com sílica, com formação de nanofios.

Figura A.1: Imagens por MEV de nanopartículas SHINERS, ampliação de 50.000X

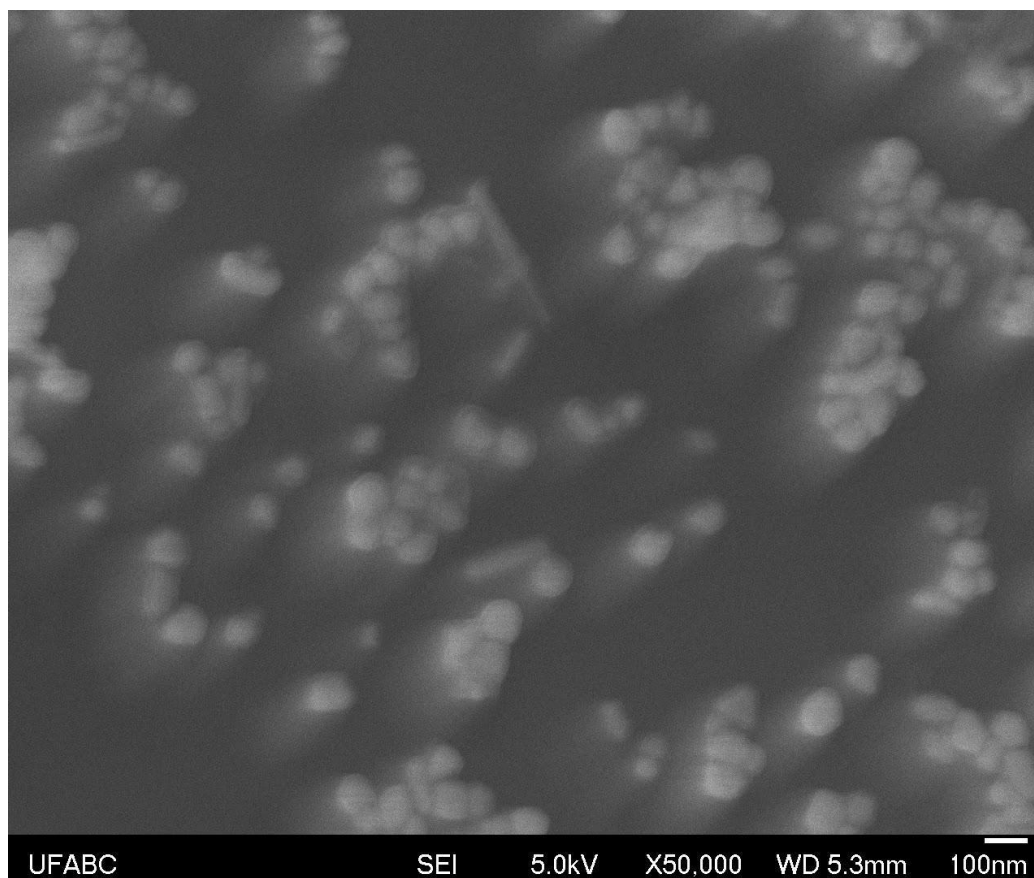


Figura A.2: Imagens por MEV de nanopartículas SHINERS, ampliação de 30.00X

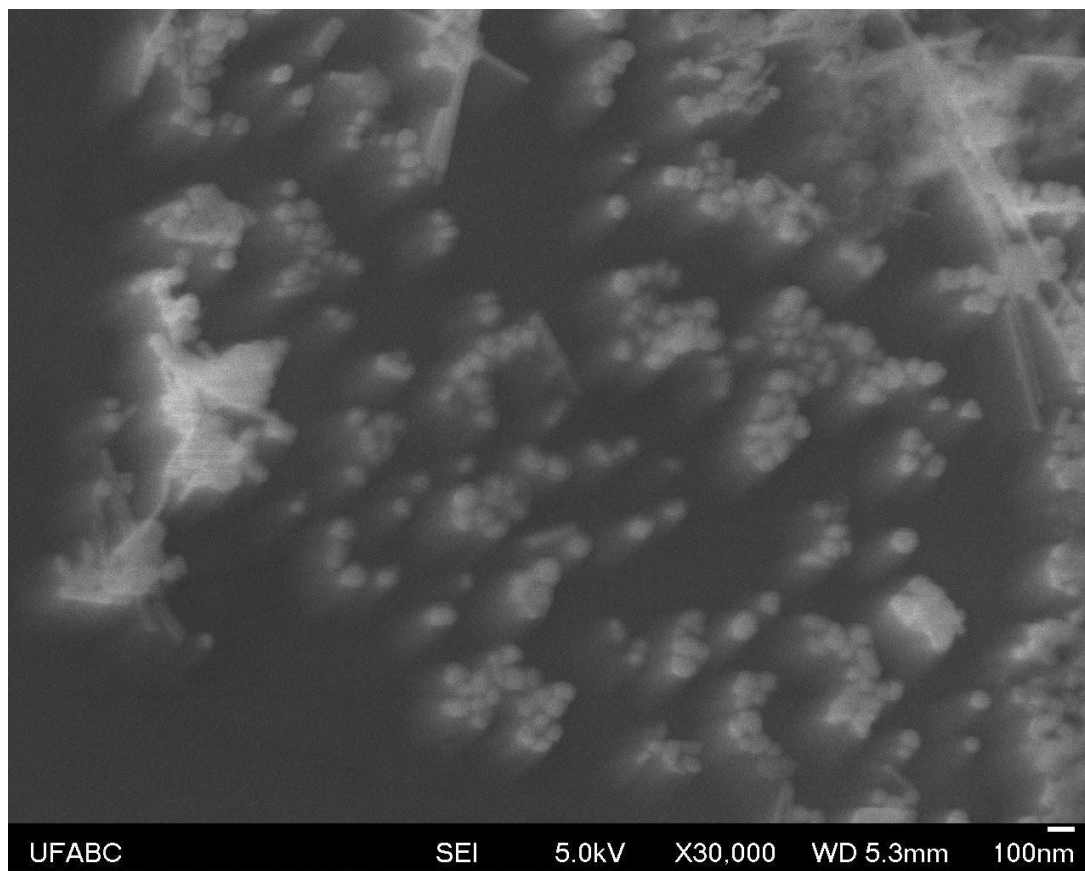


Figura A.3: Imagens por MEV de nanopartículas SHINERS, ampliação de 75.000X

