

Síntese e caracterização de nanopartículas de ouro, empregando o extrato de limão centrifugado, como agente redutor

Synthesis and characterization of gold nanoparticles, using centrifuged lemon extract, as a reducing agent

Rodrigo Menezes Kerber¹
 Gabriel Eduardo Strohm Eberhardt²
 Ionatan Anton Schröer³
 Tayná Copes Rodrigues⁴
 Cristiane Krause Santin⁵

Resumo

A biossíntese de materiais tem atraído o interesse tanto da comunidade científica quanto do setor industrial, cujo ensejo denota-se por uma maior sustentabilidade associada a custos. Esse cenário torna-se ainda mais relevante no avanço tecnológico proporcionado por nanomateriais, cujas características e propriedades finais estão diretamente relacionadas às matérias-primas e condições de processo. Assim, este artigo propõe a síntese verde de nanopartículas de ouro (AuNPs), utilizando extratos oriundos do limão taiti ou siciliano como agentes redutores. Os resultados demonstraram uma boa eficiência dos extratos frente ao precursor metálico, e o pH da solução revelou ser fator essencial para a estabilização das nanopartículas. Esse fato também foi observado nas análises de UV-Vis, cujos resultados para as sínteses com ajuste de pH do agente redutor para sete (7) apresentaram o pico máximo de absorção esperado para AuNPs. Por outro lado, as sínteses sem ajuste, ou seja, que mantiveram o pH ácido do limão, apresentaram deslocamento do pico de máximo de absorbância, indicando variação no tamanho das partículas. As caracterizações por AFM e FTIR-ATR complementaram o estudo, ao permitirem obter imagens da morfologia e tamanho das partículas, além de verificar quais ligações químicas estão presentes, respectivamente.

Palavras-chave: biossíntese; nanotecnologia; nanopartículas de ouro

Abstract

The biosynthesis of materials has attracted the interest of both the scientific community and the industrial sector, whose opportunity is denoted by greater sustainability associated with costs. This scenario becomes even more relevant in the technological advance provided by nanomaterials, whose characteristics and final properties are directly related to raw materials and process conditions. Thus, this article proposes the green synthesis of gold nanoparticles (AuNPs), using extracts from tahiti or sicilian lemons as reducing agents. The results showed a good efficiency of the extracts against the metallic precursor, and the pH of the solution proved to be an essential factor for the stabilization of the nanoparticles. This fact was also observed in the UV-Vis analyses, whose results for the syntheses with pH adjustment of the reducing agent to seven (7) showed the maximum peak of absorption expected for AuNPs. On the other hand, the syntheses without adjustment, that is, those that maintained the acid pH of the lemon, showed a displacement of the maximum absorbance peak, indicating variation in the size of the particles. The characterizations by AFM and FTIR-ATR complemented the study by allowing to obtain images of the morphology and size of the particles, in addition to verifying which chemical bonds are present, respectively.

Keywords: biosynthesis; nanotechnology; gold nanoparticles.

¹ Mestrando em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil e bacharel em Engenharia Química pela Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), São Leopoldo, RS, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2918-7847>. E-mail: rodrigomenkerber@gmail.com

² Bacharel em Engenharia Química pela UNISINOS. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5882-6054>. E-mail: gabrielseberhardt@gmail.com

³ Bacharel em Engenharia Química pela UNISINOS. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2780-2313>. E-mail: ionatan.schroer@gmail.com

⁴ Mestre em Engenharia Elétrica e bacharel em Engenharia Química pela UNISINOS. Assistente de Pesquisa no ITC Chip da UNISINOS. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4160-9018>. E-mail: taynac@unisinis.br

⁵ Doutora em Ciência dos Materiais e mestre em Química pela UFRGS. Professora da Escola Politécnica na UNISINOS. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9683-678X>. E-mail: cksantin@unisinis.br

Artigo recebido em 09.09.2022 e aceito em 21.11.2022.



1 Introdução

Atualmente, a obtenção de nanopartículas de ouro (AuNPs) tem sido bastante explorada, principalmente para aplicações biomédicas, devido à sua biocompatibilidade e não citotoxicidade. (SUJITHA; KANNAN, 2013).

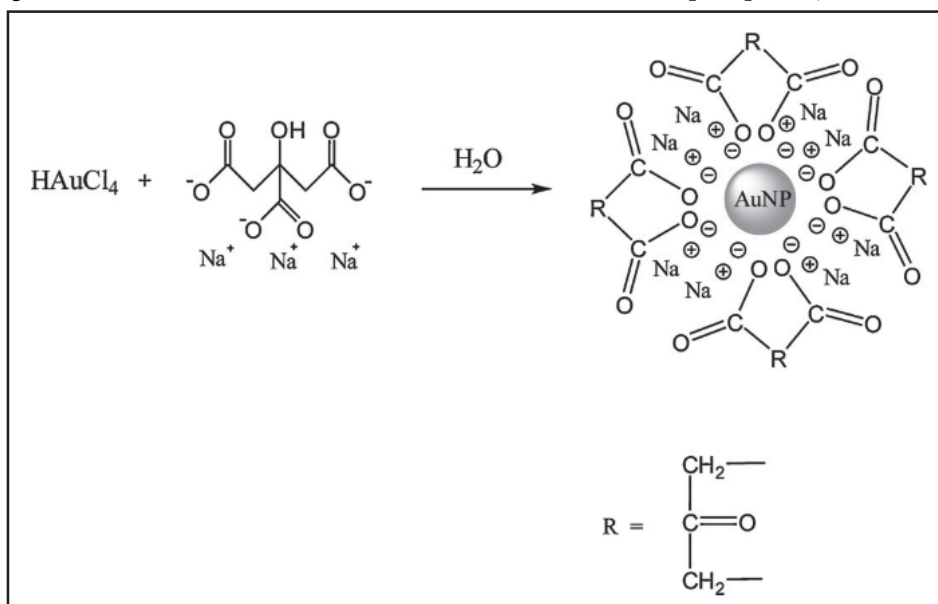
Conforme descrevem Barnawi, Allehyani e Seoudi (2022), de uma forma geral, nanopartículas apresentam tamanhos entre 1 e 100 nm e, dependendo de suas dimensões e morfologias podem ser classificadas como: inorgânicas, metálicas, óxidos metálicos, cerâmicas ou biológicas. (IJAZ *et al.*, 2020). Nanopartículas destacam-se por apresentar propriedades únicas que permitem sua aplicação em setores como: diagnósticos, sensoriamento, imagem e sistemas catalíticos.

Existem muitos métodos para a síntese de nanopartículas de ouro, sendo a proposta de Turkevich uma das mais utilizadas (TURKEVICH; STEVENSON; HILLER, 1951). Nesse método, o citrato atua simultaneamente como estabilizante e agente redutor. Já Frens (1973), baseando-se nessa proposta, investigou ajustes na proporção de citrato e ouro, enquanto

Kumar, Gandhi e Kumar (2007) pesquisaram o mecanismo de múltiplas etapas no método de Turkevich-Frens. A primeira etapa consiste na oxidação do citrato, produzindo dicarboxiacetona, a qual atua como estabilizante no meio reacional. Então, o sal áurico é reduzido, produzindo sal auroso e, posteriormente, formam-se as nanopartículas de ouro. A figura 1 apresenta o mecanismo proposto, usando o método de Turkevich-Frens (ZHAO; LI; ASTRUC, 2013).

Visando perspectivas mais sustentáveis, menos agressivas ao meio ambiente e de fácil acesso, diversas pesquisas têm sido desenvolvidas no âmbito da síntese verde, também conhecida como biossíntese. Nesse contexto, o uso de matérias-primas de fonte natural tem sido vastamente explorado no intuito de substituir os métodos tradicionais, os quais empregam reagentes, muitas vezes nocivos ao meio ambiente e à saúde humana. Diferentes substratos de fonte natural têm sido investigados para o desenvolvimento de nanopartículas, dentre eles cita-se o uso de extratos de plantas ou frutos, cujos componentes químicos equiparam-se com os existentes nos substratos sintéticos utilizados.

Figura 1 – Mecanismo, conforme método de Turkevich-Frens, para produção de AuNPs



Fonte: Zhao, Li e Astruc (2013).

Barzinjy *et al.* (2020) realizaram a síntese verde de nanopartículas de ZnO, a partir do extrato de romã, para utilização em filmes finos em *wafers* de silício. Os autores observaram que os agentes fenólicos, presentes no extrato de romã, atuam como agentes redutores e estabilizantes na síntese de nanopartículas

de ZnO, além de ser um método simples, ecológico e barato. Jha, Kumar e Prasad (2011) obtiveram nanopartículas de Ag e ZnO, através do extrato de laranja, cujos estudos discutiram a atuação do ácido cítrico e ascórbico, presentes no extrato de laranja, como agentes redutores e estabilizantes, bem como a possível

ação de compostos fenólicos como estabilizantes. Al-Thabaiti *et al.* (2015) realizaram a síntese verde de nanopartículas de Ag, utilizando extrato de limão como princípio, para obtenção do reagente redutor, a partir da qual observaram que as nanopartículas de Ag obtidas conseguiram alterar significativamente o processo metabólico de microrganismos, podendo atuar como agentes antimicrobianos. O ajuste de pH para síntese de nanopartículas, utilizando limão foi proposto, por Coura *et al.* (2018), de forma que o ácido cítrico esteja presente como ânion citrato, além de utilizar um reagente com pH próximo a do solvente usado, o qual, neste estudo, era a água.

A partir do exposto, o objetivo do presente trabalho foi realizar a biossíntese de nanopartículas de ouro, utilizando o extrato de limão taiti (*Citrus latifolia*) ou siciliano (*Citrus limon*). Ressalta-se que, embora na prática o limão taiti seja uma lima ácida, para fins de simplificar a linguagem ao longo do texto, optou-se por chamar as duas variedades estudadas de limões (COELHO *et al.*, 1998). Além da síntese, buscou-se avaliar as condições reacionais e verificar a eficiência do método proposto na obtenção de nanopartículas de ouro. Além disso, utilizar as técnicas de análise instrumentais de espectrofotometria de UV-Vis, FTIR-ATR e Microscopia de Força Atômica, para monitorar e verificar a obtenção das nanopartículas e suas características.

2 Metodologia

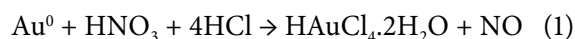
Nesta seção, serão apresentadas as etapas de obtenção dos reagentes, síntese das nanopartículas de ouro e técnicas de caracterização utilizadas (tanto para o extrato de limão quanto para as sínteses realizadas).

As vidrarias foram limpas com solução de água-régia (composta por ácido clorídrico e ácido nítrico na proporção molar 3:1), assegurando completa descontaminação de possíveis interferentes do meio reacional (MORAES, 2022). Após, as vidrarias foram submetidas à lavagem com água deionizada e secas à temperatura ambiente.

2.1 Obtenção da solução de ácido cloroáurico

O ácido cloroáurico (reagente precursor do ouro) foi obtido, conforme descrito por Moraes (2022), em que amostras de fios de ouro são dissolvidas em água-régia, e a solução é aquecida a 90°C. A partir de aproximadamente 140 mg de ouro metálico, é possível produzir 2 L de solução coloidal de nanopartículas de ouro, conforme método proposto. (MORAES, 2022).

A reação química entre os componentes produz ácido cloroáurico di-hidratado, com concentração ajustada para 2 mg/mL, demonstrado na equação química (1), apresentada a seguir (COURA *et al.*, 2018):



2.2 Obtenção do agente redutor

O agente redutor da síntese foi obtido, a partir de extrato de duas variedades de limão: taiti e siciliano; designadas no presente trabalho com o símbolo “T” e símbolo “S”, respectivamente. As frutas utilizadas foram obtidas no comércio local. A metodologia utilizada, para extração e purificação do extrato, foi baseada na proposta por Barnawi, Allehyani e Seoudi (2022). Para os dois tipos de limão, a fruta foi lavada, cortada ao meio e extraído o extrato, utilizando um espremedor de frutas elétrico. Posteriormente, o extrato foi filtrado e centrifugado a 2000 rpm por 20 minutos. Duas alíquotas de 5 mL de sobrenadante dos dois tipos de limão foram separadas, totalizando, assim, quatro alíquotas. Uma alíquota de cada tipo de limão passou por ajuste de pH para 7, utilizando-se uma solução de NaOH 1 M sob agitação e monitoramento constante no pHmetro. As duas outras alíquotas de cada limão foram utilizadas, conforme obtidas após centrifugação.

2.3 Síntese das nanopartículas

A síntese das nanopartículas de ouro (AuNPs) foi realizada, conforme metodologia descrita por Moraes (2022). Ela consiste em adicionar 90 mL de água deionizada a um béquer, seguido da adição de 5 mL da solução de ácido cloroáurico, com concentração de 2 mg/mL, previamente preparada. Essa solução foi submetida à agitação constante e aquecimento até atingir a temperatura de 90°C, adicionando-se, então, o extrato de limão clarificado.

O sistema foi mantido sob agitação constante por 20 minutos e temperatura controlada em torno de 90°C. Após, a solução obtida foi conservada em geladeira ($\pm 5^\circ\text{C}$).

2.4 Teor de ácido cítrico

Para a determinação do teor de ácido cítrico presente nos extratos purificados de limão, sendo dos tipos taiti e siciliano, foram realizadas diluições dos extratos em balões volumétricos de 100 mL, utilizando uma alíquota de 5 mL para o limão siciliano e de 2 mL para o limão taiti. Amostras contendo 10 mL do extrato diluído foram tituladas contra a

solução padronizada de hidróxido de sódio 0,1 M. Fenolftaleína foi usada como indicador do ponto de equivalência. Para determinação da concentração, a análise foi realizada em triplicata para cada amostra de extrato. O cálculo da concentração (C) foi realizado conforme a Eq. (2):

$$C = Fd \frac{V_{\text{titulado}} C_{\text{NaOH}}}{3V_{\text{extrato}}} M_{\text{cítrico}} \quad (2)$$

Onde:

Fd é o fator de diluição;

V_{titulado} o volume gasto de titulante;

C_{NaOH} a molaridade de NaOH;

V_{extrato} o volume usado de extrato para titulação e

$M_{\text{cítrico}}$ a massa molar do ácido cítrico de 192,124 g/mol.

2.5 Espectrofotometria de UV-visível

Para a obtenção da curva de absorção da solução, contendo as AuNPs, utilizou-se inicialmente o espectrofotômetro da Pro-tools, modelo UV-1600, no Laboratório de Química da Unisinos. Cubetas de vidro de caminho óptico de 1 cm foram escolhidas para as análises. O branco utilizado foi de água deionizada. Realizou-se uma varredura ponto a ponto para diferentes comprimentos de onda, lendo-se as respectivas absorbâncias. Inicialmente, realizou-se a medição da absorbância de 50 nm em 50 nm, começando em 400 nm até 800 nm. Após, realizou-se o ajuste médio de 10 nm em 10 nm próximos ao pico encontrado na etapa anterior. E, por último, realizou-se o ajuste fino de 1 nm em 1 nm na região de intensidade máxima de absorção.

Posteriormente, visando avaliar a estabilidade das nanopartículas, repetiu-se a análise em um espectrofotômetro da Shimadzu, modelo UV-2600, com cubetas de plástico de 1 cm de caminho ótico. Essa foi realizada no Instituto Tecnológico em Alimentos para a Saúde – itt Nutrifor da Unisinos. Assim, obteve-se a curva para toda a faixa de 400 nm a 800 nm.

2.6 Análise de pH

O pH foi medido em pHmetro Digimed, modelo DM-20 digital, com sensor de temperatura integrado, previamente calibrado com solução tampão de pH 4, 7 e 10.

2.7 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com acessório de ATR (FTIR-ATR)

A análise de FTIR-ATR foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular e Microbiologia da Unisinos. O equipamento utilizado foi o modelo

Cary 630 FTIR, da marca Agilent Technologies, utilizando o acessório ATR (*Attenuated Total Reflectance*), de cristal de diamante. A varredura foi realizada entre os números de onda de 650 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} com 30 *scans* e resolução de 4 cm^{-1} .

2.8 Microscopia de Força Atômica (AFM)

A análise de Microscopia de Força Atômica (AFM) foi realizada no Instituto Tecnológico de Semicondutores – itt Chip da Unisinos. Para tal, utilizou-se o equipamento AFM marca NT-MDT, modelo Solver Next, operando em atmosfera controlada. O *setpoint* foi de 5 nA, *gain* de 0,7, e a medida, para os resultados, foi de 5x5 micrômetros, com 500 pontos e frequência de 1 Hz. A ponteira utilizada nas análises foi da marca Scansens, modelo HA_NC/15, feita de silício.

As amostras submetidas à análise foram obtidas, a partir da síntese, contendo limão siciliano/taiti com ajuste de pH do extrato, sendo adicionadas 3 porções de 20 μL com uma micropipeta sobre um substrato de silício. Realizou-se uma secagem a 50 $^{\circ}\text{C}$ por 15 min em estufa entre cada aplicação.

3 Resultados e discussões

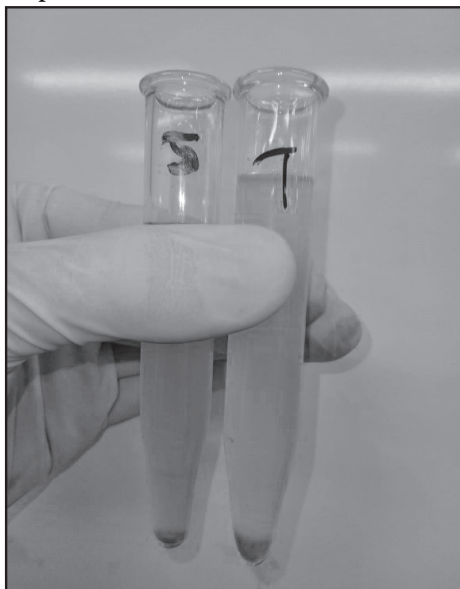
Nesta seção, serão apresentados os resultados obtidos, a partir da metodologia proposta, assim como as discussões destes.

3.1 Obtenção do agente redutor

Conforme descrito no item 2.2, o agente redutor foi proveniente de extratos de limão do tipo taiti e siciliano. Para obtenção dos extratos, utilizou-se espremedores elétricos, fazendo com que tanto o endocarpo quanto as sementes estivessem presentes. Posteriormente, filtrou-se em papel filtro quantitativo, porém, devido à presença de pequenas partículas sólidas, os filtros se saturaram muito rapidamente, impossibilitando a filtração simples. Procedeu-se, então, à filtração a vácuo, com posterior centrifugação (2.000 rpm), para separação entre a parte sobrenadante e o precipitado, figura 2.

É possível observar que houve uma separação dos sólidos presentes, sendo que estão presentes no fundo de ambos os tubos. Conforme descreve Coura *et al.* (2018), a etapa de centrifugação pode ser modificada no intuito de promover uma maior e melhor separação das fases presentes. Assim, a partir do evidenciado no presente estudo, acredita-se que um maior tempo, assim como uma maior velocidade de centrifugação podem ser fatores que agreguem melhorias ao processo e obtenção dos produtos.

Figura 2 – Amostras de extrato, após centrifugação, para o limão siciliano (S) e taiti (T)



Fonte: Os autores (2022).

3.2 Concentração de ácido cítrico presente nos extratos clarificados

Os resultados, obtidos no presente trabalho, estão demonstrados na tabela 1, assim como

Tabela 1 – Resultados da concentração de ácido cítrico, obtida nos extratos clarificados

Resultado	Limão taiti	Literatura	Limão siciliano	Literatura
C (% m/m)	4,88 ± 0,00	6,64 ± 0,05	6,23 ± 0,00	2,70 ± 0,00

Fonte: Os autores (2022), com base em Marmitt, Betti e Oliveira (2016).

3.3 Síntese das nanopartículas

Para as sínteses das nanopartículas de ouro com extratos de limão a pH 7, observou-se mudança instantânea da coloração da solução com a adição do extrato, passando de uma cor levemente amarelada, devido ao ácido cloroáurico, para vermelho, variando lentamente, conforme o tempo de agitação. Porém, para as sínteses com os extratos, cujos pH não foram ajustados, com valores em torno de 2, a coloração não se alterou instantaneamente. A alteração foi observada em torno de 7 minutos sob agitação, para um tom azulado, intensificando-se com o tempo e passando por um azul escuro e, por fim, um marrom-avermelhado, como mostrado na figura 3, para a síntese com limão taiti. De acordo com Giri (2017), a mudança de coloração para azul indica a redução do Au³⁺ para Au⁰, o qual se estabiliza em vermelho.

aqueles evidenciados nos estudos de Marmitt, Betti e Oliveira (2016). Os resultados de concentração em percentual massa-massa foram calculados, considerando a massa específica do extrato igual a 1 kg/L, estimando-se, portanto, como se fosse água, hipótese que condiz com os resultados obtidos por Minim *et al.* (2009) para extratos de limão taiti *in-natura* a 22°C e 90% em massa de água. O desvio padrão foi obtido, a partir das análises em triplicata, realizada para cada amostra de extrato clarificado, cujos valores de titulante gastos foram os mesmos.

Segundo Scopel *et al.* (2017, p. 915), “o ácido cítrico é um dos constituintes de frutas cítricas, como limão e laranja, podendo representar até cerca de 7% em massa no extrato de limão.” Esse valor corrobora com o que foi encontrado nos extratos de limão, utilizados no presente trabalho. Além disso, comparando com os resultados do estudo de Marmitt, Betti e Oliveira (2016), o extrato de limão taiti apresentou menor concentração de ácido cítrico, enquanto o de limão siciliano, maior. Essas variações podem ser explicadas, devido a diferenças no clima, no tipo de solo e nas condições de cultivo, conforme descrito por Mendonça *et al.* (2006 *apud* MARMITT; BETTI; OLIVEIRA, 2016, p. 250).

Polyakova *et al.* (2017), em seus estudos sobre pH 5, observaram a formação de nanopartículas esféricas bem definidas, que está associada com a coloração da solução vermelho rubi e pico de absorção em 520 nm na análise por espectrofotometria de UV-Vis; enquanto valores menores de pH produziram irregularidades no formato das partículas e estabilidade coloidal reduzida, associado com a coloração da solução azul escuro.

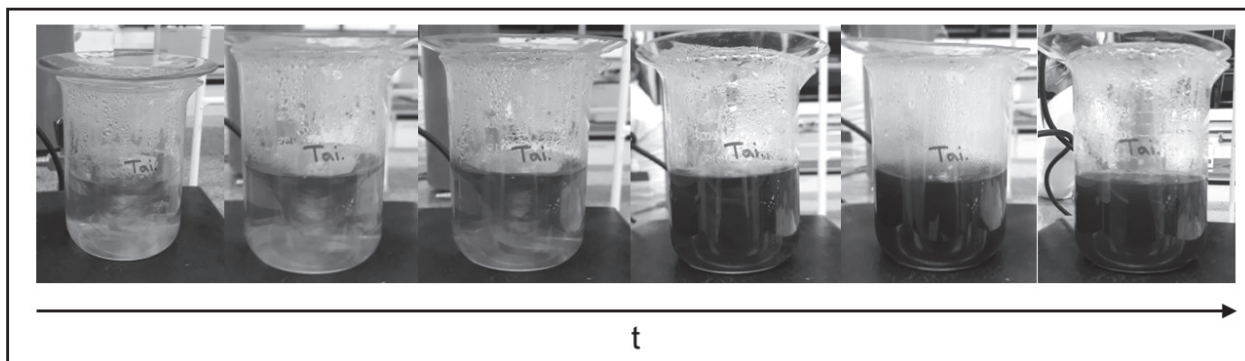
A figura 4 apresenta as fotografias das sínteses realizadas, enquanto a figura 5 apresenta alíquotas de cada síntese, na mesma sequência em que aparecem na figura 4, onde é possível observar a diferença de cores entre cada uma das sínteses.

É interessante notar a similaridade entre as sínteses com ajuste de pH do agente redutor para próximo de 7 (tubos A e C da fig. 5) quanto às cores e suas tonalidades. O fato indica não haver influência

do tipo de limão empregado (siciliano ou taiti) como matéria-prima base, para obtenção do agente redutor (citrato de sódio, considerando que o ajuste de pH neutraliza o ácido cítrico, convertendo-o ao respectivo sal de sódio). Porém, ao compararmos as amostras S e T, sem ajuste de pH (pH próximo de 2, tubos B e D da fig. 5), observa-se uma diferença tanto na cor quanto na

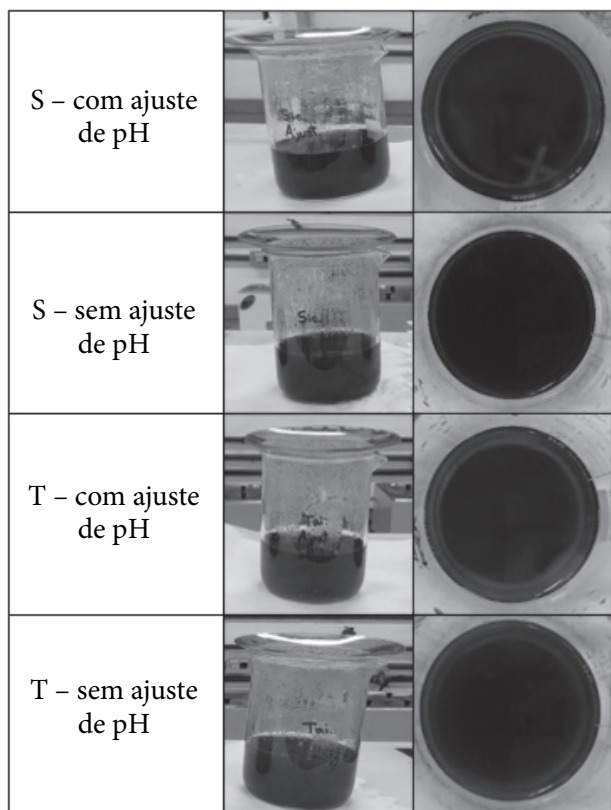
sua intensidade, demonstrando a influência do pH no meio reacional e, conseqüentemente, na obtenção das nanopartículas de ouro e sua morfologia. Silva (2016), em suas pesquisas, também comenta sobre variações quanto às cores e tonalidades, associadas à morfologia e real eficácia do processo de síntese e obtenção de nanopartículas de ouro.

Figura 3 – Mudança de coloração com o tempo para a síntese de nanopartículas de ouro, com extrato de limão taiti, sem ajuste de pH



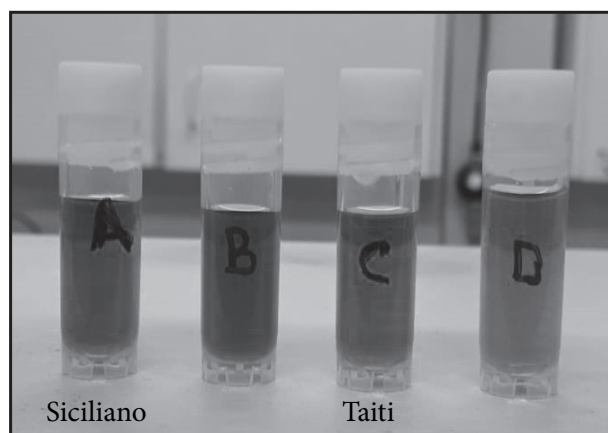
Fonte: Os autores (2022).

Figura 4 – Fotografias das sínteses de nanopartículas de ouro (AuNPs), utilizando extrato de limão siciliano (S) e limão taiti (T)



Fonte: Os autores (2022).

Figura 5 – Pequenas alíquotas das sínteses, utilizando extrato de limão siciliano (A e B) e taiti (C e D)



Fonte: Os autores (2022).

Dessa forma, a probabilidade da formação de AuNPs em todos os testes, realizados neste trabalho, é alta, com a obtenção de nanopartículas mais estáveis e esféricas nas amostras com coloração vermelha (com ajuste do pH), enquanto as amostras com coloração arroxeada (sem ajuste do pH) podem possuir outras morfologias e maior agregação. Uma explicação possível é que, ao realizar o ajuste do pH, o ácido cítrico converte-se a ânion citrato que atua, estabilizando as nanopartículas por repulsões

eletrostáticas. No caso em que não é feito o ajuste, o ácido cítrico promove a redução química, porém, sem a estabilização, e as partículas formadas tendem a se aglomerar (KANG *et al.*, 2019).

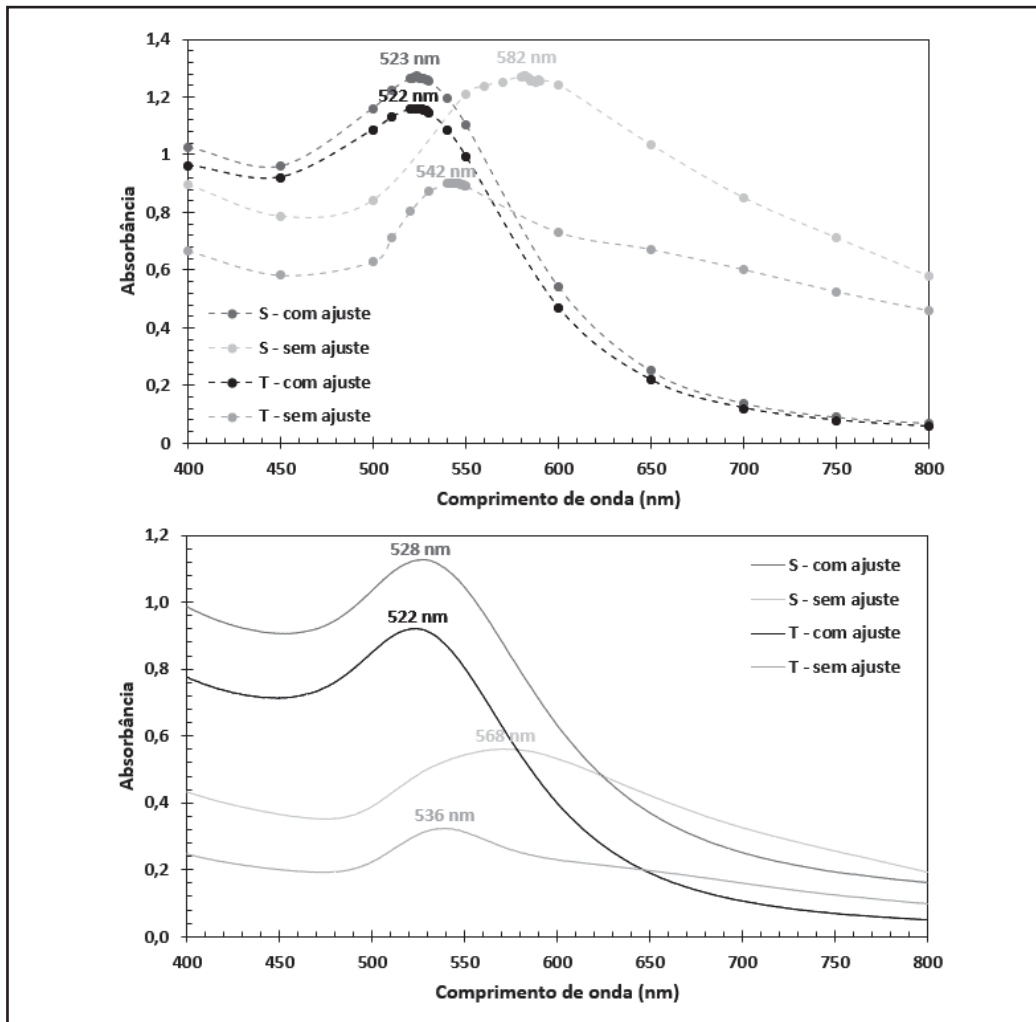
3.4 Análise por UV-Vis e estabilidade

Os resultados obtidos da análise de espectrofotometria UV-Vis estão apresentados na figura 6 (a, b). A figura 6 (a) refere-se ao espectro obtido na semana seguinte à realização da síntese, e a figura 6 (b) refere-se ao espectro obtido, após aproximadamente dois meses da realização da síntese em conservação a frio.

Conforme descrito por Toma, Bonifácio e Anaisi

(2005), o comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\text{máx}}$) observado pode ser um indicativo da presença de nanopartículas na solução analisada, uma vez que para diferentes tamanhos de partícula, observam-se diferentes valores de $\lambda_{\text{máx}}$. Esse efeito está relacionado com o fenômeno de ressonância plasmônica de superfície (SPR) dos elétrons superficiais. Ainda, o perfil da curva observada orienta sobre a dispersão das partículas presentes na solução, assim como sobre sua morfologia. Conforme estudos realizados por Moraes (2022), a presença de uma banda principal de absorvância entre 500 e 550 nm indica a presença de ouro metálico nas amostras.

Figura 6 – Curvas de absorção UV-Vis, para as quatro sínteses, em (a) na semana da síntese e, em (b), após aproximadamente 2 meses



Fonte: Os autores (2022).

A partir da figura 6 (a,b), observa-se que as sínteses realizadas com os extratos de limão taiti (T) e siciliano (S), nas quais o pH do meio foi ajustado para

7, o pico máximo de absorção está localizado a 523 nm (S) e a 522 nm (T), próximo ao dia da síntese, e em 528 nm (S) e 522 nm (T), após dois meses. Valores

muito próximos, cujas curvas apresentaram um perfil bastante similar, indicando que, em ambos, os casos ocorreram uma formação semelhante quanto à dispersão e dimensão de nanopartículas formadas, assim como uma boa estabilidade coloidal delas.

Por outro lado, as sínteses nas quais não foi realizado um ajuste do pH do agente redutor, e essas procederam em pH ácido, observou-se um deslocamento quanto ao pico máximo de absorção para ambas as análises, em relação ao valor esperado, em torno de 520 nm. Além disso, após decorridos os dois meses, ocorreu uma redução significativa da absorvância que pode ser referente a uma maior aglomeração e redução da estabilidade coloidal das AuNPs formadas. Para o limão taiti, o comprimento de onda de máxima absorção situa-se a 542 nm inicialmente e, ao final, 536 nm, cuja curva demonstra um pico e um ombro, não definido, ou seja, uma heterogeneidade quanto ao tamanho e dispersão das partículas formadas. Já para o siciliano, inicialmente 582 nm e posteriormente 568 nm, com um perfil bastante alargado, indicando, conforme descreve Moraes (2022), a formação de partículas maiores ou aglomeração delas.

Liz-Marzán (2006) observou uma relação do pico máximo de absorção no espectro UV-visível com os diâmetros das nanopartículas de ouro na solução e seu tamanho, inferindo que o aumento do diâmetro da

partícula aumenta o valor do pico máximo de absorção.

Assim, a partir dos resultados evidenciados na figura 6 e as conclusões de Liz-Marzán (2006), pode-se inferir que o tamanho das nanopartículas de ouro sintetizadas com o extrato de limão siciliano, sem ajuste de pH, é maior que as obtidas para as sintetizadas com limão taiti também sem ajuste de pH. Da mesma forma, as cores observadas nas soluções, figura 5, item 3.3, corroboram com os valores para os picos máximos de absorção, obtidos na análise de UV-Vis.

A partir do exposto, observa-se que o ajuste de pH do extrato, fonte de ácido cítrico, o qual atua como agente redutor na obtenção de nanopartículas de ouro, é fator primordial para obtenção de nanopartículas com diâmetros e tamanhos similares, além de garantir uma estabilidade maior delas no meio líquido. Ainda, conforme descrito por Polyakova *et al.* (2017), soluções ácidas têm a tendência de desestabilizar a suspensão e aglomerar as nanopartículas, cujo fato pode ser evidenciado por UV-Vis, a partir dos valores dos picos máximos de absorção.

3.5 Medidas de pH

A fim de monitorar o pH do meio reacional, ele foi determinado, após o processo de síntese, cujos resultados estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Valores de pH dos extratos de limão, antes e após ajuste e das soluções, após a síntese

Síntese	pH inicial do extrato	pH ajustado do extrato	pH das soluções após a síntese
Limão siciliano – com ajuste	2,09	7,01	5,47
Limão siciliano – sem ajuste	2,09	-	2,09
Limão taiti – com ajuste	2,14	7,87	5,41
Limão taiti – sem ajuste	2,14	-	2,10

Fonte: Os autores (2022).

Para as sínteses, nas quais utilizou-se o ácido cítrico proveniente dos extratos sem ajuste de pH, esse praticamente não sofreu alteração, após o processo de síntese das nanopartículas, cujo valor situa-se próximo ao pH característico para os limões taiti e siciliano utilizados, sendo de 2,3 e 2,8, respectivamente (MARMITT; BETTI; OLIVEIRA, 2016).

Já no caso das sínteses, a partir dos extratos nos quais ajustou-se seu pH anteriormente à síntese, observa-se uma diminuição do valor desse parâmetro, após o processo de síntese. Esse fato pode estar relacionado à liberação de ácido clorídrico, proveniente da reação química do citrato de sódio com o ácido

cloroáurico, precursor de ouro. De forma geral, o pH das sínteses ficou muito próximo, com menos de 1,1% de variação entre as sínteses, em relação à variedade de limão utilizada, para os casos com e sem ajuste de pH do extrato previamente à síntese.

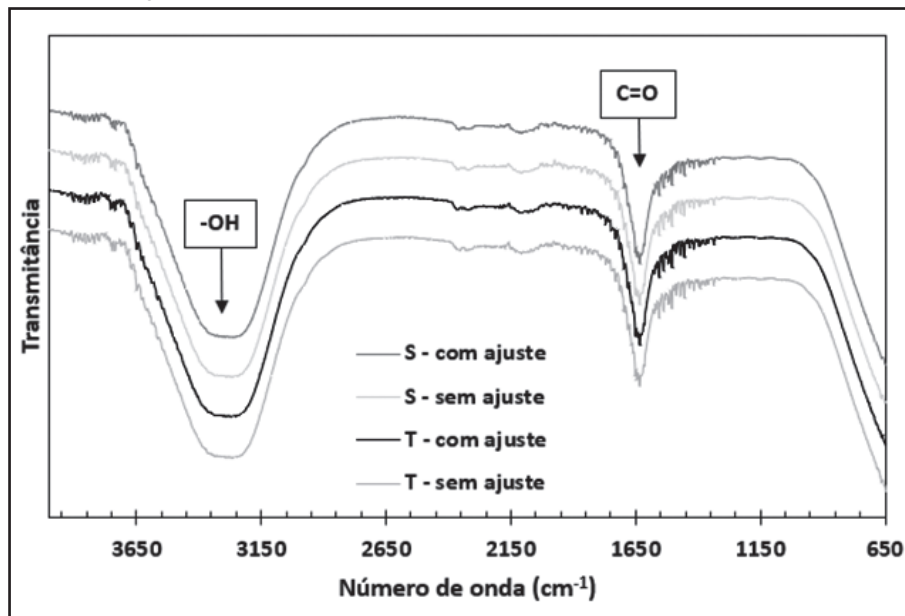
3.6 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR-ATR)

A realização da análise de espectroscopia no infravermelho pelo método FTIR-ATR produziu os espectros apresentados na figura 7. As curvas foram defasadas no eixo da transmitância para uma melhor visualização e análise.

Para todos os casos, observa-se uma banda de vibração de estiramento de OH em torno de 3300 cm^{-1} , referente às hidroxilas presentes na estrutura do ácido cítrico/citrato de sódio e da água. Além dessa, observa-se

uma banda próximo a 1650 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação C=O da carbonila do ácido cítrico/citrato de sódio. Assim, confirma-se que não houve a formação de compostos indesejados no processo de síntese.

Figura 7 – Espectros de infravermelho para as quatro sínteses



Fonte: Os autores (2022).

3.7 Microscopia de Força Atômica (AFM)

Para a análise de microscopia de força atômica, optou-se por analisar apenas as amostras que demonstraram, a partir das demais técnicas de caracterização, serem mais promissoras em termos de estabilidade coloidal, morfologia e tamanho das partículas, além da possibilidade de uma maior padronização de sua produção em nível industrial. Portanto, as amostras submetidas à análise por AFM foram as que tiveram ajuste prévio do pH do agente redutor.

Na figura 8, é possível observar pontos claros nas imagens de topografia à esquerda, indicando partículas acima do substrato. Nas mesmas posições, é possível observar no contorno de fases (à direita) as partículas, com contraste em relação ao substrato. Dessa forma, conclui-se que existem nanopartículas depositadas sobre o substrato, sendo que as estimativas de tamanho de algumas delas são demonstradas no contorno à direita, para cada uma das variedades de limão utilizados. Nas regiões analisadas, percebe-se que as nanopartículas estão mais dispersas para (a) a síntese com limão siciliano (b) relativamente à síntese com limão taiti. Com relação ao diâmetro das partículas, observa-se uma variação em ambos os casos,

tendo-se uma diversidade e heterogeneidade quanto à dimensão observada. Já a respeito da morfologia, observa-se um predomínio de partículas esféricas.

4 Conclusão

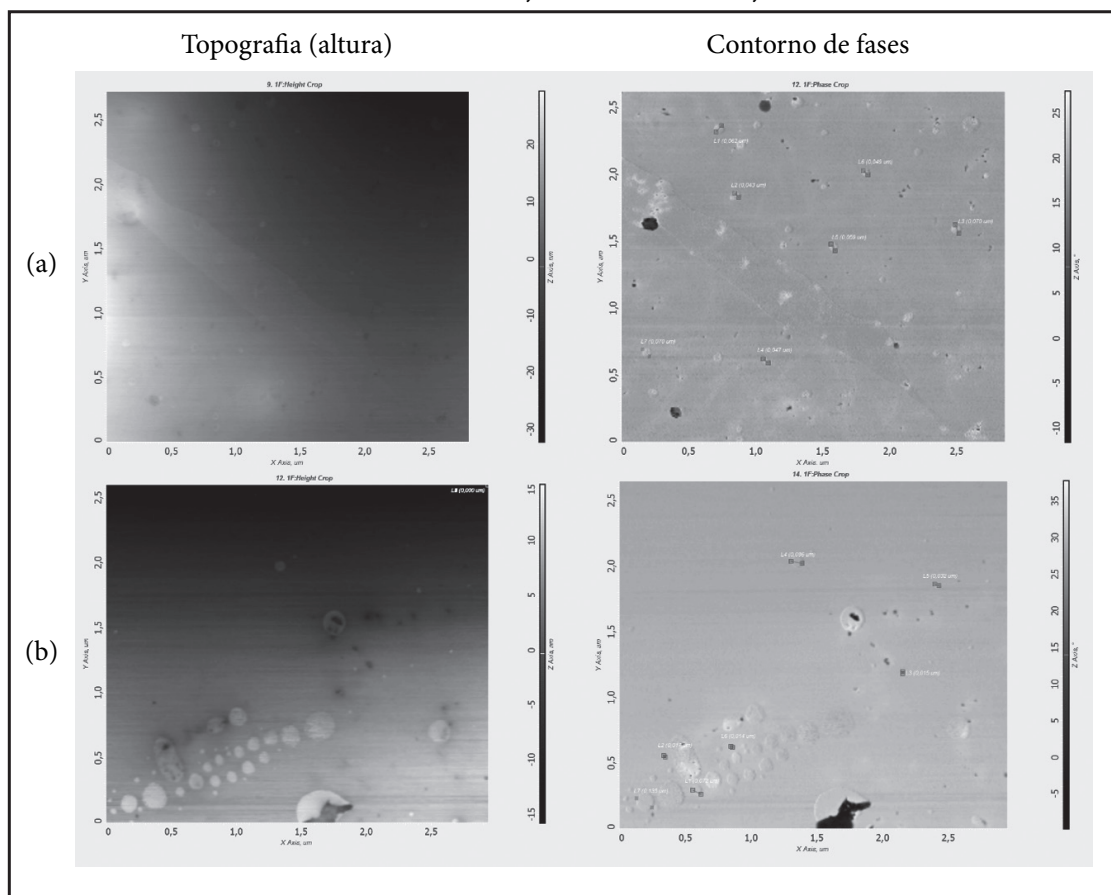
O presente trabalho teve como objetivo a biossíntese de nanopartículas de ouro e, para tal foi proposta uma metodologia, utilizando extrato de limão siciliano ou taiti como agente redutor. Duas principais vias foram testadas, com ajuste do pH do extrato para sete (7) ou sem o ajuste do pH, cujo valor de pH ficou próximo ao extrato natural de limão.

A partir dos estudos, conclui-se que é possível sintetizar nanopartículas de ouro predominantemente esféricas, porém com uma distribuição granulométrica heterogênea, utilizando extratos de duas variedades de limões, sendo limão taiti e siciliano, desde que o pH do extrato esteja neutro, ou seja, pH igual a 7,0. Essas sínteses obtiveram nanopartículas de menor tamanho e sem aglomeração, justificada pela presença da coloração vermelha intensa na solução obtida. Nas sínteses, nas quais o extrato foi usado sem a realização do ajuste do pH para um valor na faixa neutra, obteve-se uma coloração azulada para violeta, indicando a

presença de partículas com maior tamanho ou maior grau de aglomeração. Por apresentar resultados pouco

promissores nas análises de UV-vis, não foi investigado sua morfologia.

Figura 8 – Imagens da topografia (esquerda) e contorno de fases (direita) das sínteses S – com ajuste (a) e T – com ajuste (b)



Fonte: Os autores (2022).

A partir dos resultados obtidos, fica evidente que fatores como: agitação, temperatura do meio reacional, durante a síntese, reagentes utilizados, limpeza das vidrarias e processos de purificação e separação são de grande importância. Tais fatores influenciam na eficiência e rendimento reacional e, portanto, precisam ser devidamente monitorados. Contudo, o controle do pH do meio demonstrou ser primordial e fator decisivo para obtenção de nanopartículas com dimensões mais homogêneas e de interesse para futuras aplicações.

Referências

AL-THABAITI, S. A. *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles and its antibacterial and antifungal activities towards Gram-positive, Gram-negative bacterial strains and different species of *Candida*

fungus. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, n. 9, p. 1773-1781, 2015. DOI: 10.1007/s00449-015-1418-3.

BARNAWI, N.; ALLEHYANI, S.; SEOUDI, R. Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles and its application in eliminating nickel from water. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 17, p. 537-545, 2022. DOI: 10.1016/j.jmrt.2021.12.013.

BARZINJY, A. A. *et al.* Biosynthesis and characterisation of zinc oxide nanoparticles from *Punica granatum* (pomegranate) juice extract and its application in thin films preparation by spin-coating method. **Micro & Nano Letters**, v. 15, n. 6, p. 415-420, 2020. DOI: 10.1049/mnl.2019.0501.

- COELHO, Y. S. *et al.* **A cultura do limão-taiti**. 2. ed. rev. e aum. Brasília: Embrapa-SPI, 1998.
- COURA, M. *et al.* Como obter nanopartículas de ouro usando suco de limão? **Química Nova**, v. 41, n. 5, p. 533–539, 2018. DOI: 10.21577/0100-4042.20170202.
- FRENS, G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. **Nature Physical Science**, v. 241, n. 105, p. 20–22, 1973.
- GIRI, B. Synthesis of gold nanoparticles on microchip. In: GIRI, B. (org.). **Laboratory methods in microfluidics**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 103-107.
- IJAZ, I. *et al.* Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 13, n. 3, p. 59–81, 2020. DOI: 10.1080/17518253.2020.1802517.
- JHA, A. K.; KUMAR, V.; PRASAD, K. Biosynthesis of metal and oxide nanoparticles using orange juice. **Journal of Bionanoscience**, v. 5, n. 2, p. 162-166, 2011. DOI: 10.1166/jbns.2011.1053.
- KANG, H. *et al.* Stabilization of silver and gold nanoparticles: preservation and improvement of plasmonic functionalities. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 1, p. 664–699, 2019. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00341.
- KUMAR, S.; GANDHI, K. S.; KUMAR, R. Modeling of formation of gold nanoparticles by citrate method. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 46, n. 10, p. 3128–3136, 2007. DOI: 10.1021/ie060672j.
- LIZ-MARZÁN, L. M. Tailoring surface plasmons through the morphology and assembly of metal nanoparticles. **Langmuir**, v. 22, n. 1, p. 32-41, 2006. DOI: 10.1021/la0513353.
- MARMITT, L. G.; BETTI, J.; OLIVEIRA, E. C. Determinação de ácido cítrico e ph em diferentes cultivares de limão e marcas de sucos artificiais de limão em pó. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 8, n. 4, p. 245–252, 2016. DOI: 10.22410/issn.2176-3070.v8i4a2016.1226.
- MINIM, L. A. *et al.* Thermophysical properties of lemon juice as affected by temperature and water content. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 54, n. 8, p. 2269–2272, 2009. DOI: 10.1021/je900155c.
- MORAES, D. S. **Síntese de solução coloidal de nanopartículas de ouro para aplicação em dispositivos de detecção de biomarcadores**. 2022. 158 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, 2022.
- POLYAKOVA, N. Y. *et al.* The defining role of pH in the green synthesis of plasmonic gold nanoparticles using *Citrus limon* extract. **Gold Bulletin**, v. 50, n. 2, p. 131–136, 2017. DOI: 10.1007/s13404-017-0203-2.
- SCOPEL, E. *et al.* Citric acid extraction from lemon and its use for removal of hard water: an alternative method for chemistry classes. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 912–923, 2017. DOI: 10.21577/1984-6835.20170058.
- SILVA, A. A. **Síntese e estabilização de nanopartículas de ouro para fins biotecnológicos e cosméticos**. 2016. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear-Materiais) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.
- SUJITHA, M. V.; KANNAN, S. Green synthesis of gold nanoparticles using Citrus fruits (*Citrus limon*, *Citrus reticulata* and *Citrus sinensis*) aqueous extract and its characterization. **Spectrochimica Acta – Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 102, p. 15–23, 2013. DOI: 10.1016/j.saa.2012.09.042.
- TOMA, H. E.; BONIFÁCIO, L. S.; ANAISSI, F. J. Da cor à cor inexistente: uma reflexão sobre espectros eletrônicos e efeitos cromáticos. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 897-900, 2005. DOI: 10.1590/S0100-40422005000500030.
- TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, p. 55-75, 1951. DOI: 10.1039/DF9511100055.
- ZHAO, P.; LI, N.; ASTRUC, D. State of the art in gold nanoparticle synthesis. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, n. 3–4, p. 638–665, 2013. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.09.002.

