

Desenvolvimento de um Dispositivo de Baixo Custo para Monitoramento da Validade de Nanopartículas Metálicas

Development of a Low Cost Device for Monitoring the Validity of Metallic Nanoparticles

RESUMO

Agentes teranósticos costumam ter nanopartículas (NP) como um de seus componentes. Entre os mais comumente utilizados, estão as NP de metais nobres que exibem uma ressonância de plasmon dentro do espectro da luz visível que depende do tamanho da partícula, estabilidade da solução e constante dielétrica do meio. Eventualmente, ao precipitarem, há uma mudança na ressonância de plasmon e, conseqüentemente, na coloração, além de se tornarem inutilizáveis de acordo com agências regulamentadoras. Um dispositivo que é capaz de conectar a ressonância de plasmon à cor exibida pelo coloide para determinar a validade do medicamento pode ser de grande valia. Com a evolução dos sensores e com o conhecimento das frequências de ressonância de plasmon das NP metálicas, é possível construir tal dispositivo. Assim, sintetizamos NP de ouro de diferentes tamanhos e medimos os espectros de absorção, escolhemos o sensor RGB, devido à sensibilidade para diferenciar as cores das NP e construímos um protótipo para posicionar o sensor e coletar os dados. Por fim, comparamos os espectros de absorção com as cores obtidas, construímos e calibramos o dispositivo.

PALAVRAS-CHAVE: Ressonância de plasmon. Nanopartículas. Medicamentos.

ABSTRACT

Theranostics agents often have nanoparticles (NP) as one of their components. Among the most commonly used are NP of noble metals that exhibit a plasmon resonance within the visible light spectrum that depends on the particle size, solution stability and dielectric constant of the medium. Eventually, when they precipitate, there is a change in plasmon resonance and, consequently, in staining, in addition to becoming unusable according to regulatory agencies. A simple device that might be able to connect the plasmon resonance data to the color displayed by the colloid in order to determine the drug's validity could be of great help. Due to the evolution of sensors and with the knowledge of plasmon resonant frequencies of metal NP, it is possible to construct such a device. Thus, we synthesized gold NP of different sizes, measured their absorption spectra, chose the RGB sensor, due the sensitivity to differentiate the colors of the NP and we built a prototype to position the sensor and collect the data. Finally, we compared the absorption spectra with the colors obtained, built and calibrate the device.

KEYWORDS: Plasmon resonance. Nanoparticles. Medicines.

Julia Luise Melo Carneiro

julialuise@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

Vinícius Mariani Lenart

vmleart@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

Sergio Leonardo Gómez

sgomez@uepg.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

Rozane de Fátima Turchiello Gómez

turchiel@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

Avanços tecnológicos nas áreas biomédicas mostram que a utilização de partículas em escala nanométrica apresenta resultados positivos em procedimentos como biodeteção de patógenos, sondagem de estrutura de DNA e realce de contraste por ressonância magnética (SALATA, 2004).

Esses materiais, denominados nanopartículas (NP), possuem características diferenciadas comparados com os que se apresentam em escala macro. Isso ocorre devido a ressonância de plasmon de superfície (SRP) – oscilação dos elétrons livres da nanopartícula estimulados pela luz incidente. No caso dos metais nobres, o pico de absorção de radiação eletromagnética ocorre na região visível (EL-SAYED, 2001).

Além disso, a escala e o comportamento desses materiais são responsáveis pelos efeitos fototérmicos – capacidade de gerar calor devido à absorção da radiação eletromagnética (GOVOROV, 2007). Na área médica, estudos sugerem a utilização de NP de ouro (AuNP) conjugadas com anticorpos como agente de terapia fototérmica no tratamento de câncer (GILJOHANN, 2010). Ao incidir luz com comprimento de onda próximo ao infravermelho nesses conjugados incubados com células cancerígenas, ocorre um aquecimento devido aos efeitos fototérmicos que ocasionam a morte das mesmas.

Outro ponto extremamente importante é que a mudança no tamanho das AuNP, como por exemplo, a formação de agregados, tende a mudar a coloração das mesmas. Sob radiação eletromagnética solar, as AuNP possuem uma coloração vermelho rubi na região espectral de comprimento de onda com máximo em 520 nm. A medida que ocorre uma aglomeração, essa coloração tende a se deslocar para a região do roxo ou azul. A mudança de cor de AuNP tem sido amplamente usada como uma forma de detecção de alvos químicos e biológicos (ZHENG, 2016).

Essa característica possibilita a aplicação das AuNP como biosensores. Sabe-se que o chumbo (Pb^{2+}) é um metal tóxico ao meio ambiente e prejudicial à saúde humana. Um método para detectá-lo em amostras de água é utilizar AuNP funcionalizadas com ácido lipóico. Essas partículas são induzidas a se agregarem na presença do Pb^{2+} e, devido a mudança no SPR, resulta em uma alteração da cor do fluido (GHANN, 2019). Uma das maneiras mais usuais de detectar essa modificação é através de espectrofotômetro UV-Vis. Deve-se salientar que a cor é uma percepção e, como tal, não é acessível a medições diretas. Logo, considera-se apenas o estímulo que terá como consequência da percepção. Uma métrica do estímulo psicofísico da cor amplamente utilizada é o sistema CIE. A sensação de luz que é perceptível aos humanos é produzida por radiação eletromagnética visível com comprimento de onda dentro dos limites de 380 nm e 780 nm, correspondente às cores do azul ao vermelho, respectivamente (SCHANDA, 2007).

Atualmente, existem dispositivos de baixo custo capazes de detectar os comprimentos de onda referentes a escala RGB – red (vermelho), green (verde) e blue (azul). Esses equipamentos, de maneira geral, utilizam um LED infravermelho e fotodiodos capazes de detectar diferentes comprimentos de ondas que são emitidos. Poucos estudos na literatura propõem alternativas de baixo custo para medição do espectro das amostras. Assim, este trabalho apresenta o desenvolvimento de um protótipo alternativo para validação de nanomateriais

com base em suas características ópticas para desenvolver um critério de qualidade segundo o valor RGB.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a síntese das AuNP foi utilizado o método adaptado de Turkevich (1951). Tal procedimento consiste na dissociação do agente precursor metálico seguida da nucleação e do crescimento. Para esse experimento foram utilizados 20 mL de uma solução de 1,0 mM de cloreto de ouro ácido trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ - Vetec). A fim de regular o crescimento, adicionou-se 2 mL de uma solução aquosa de 1% de citrato de sódio diidratado ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Synth), que, além de ser um material estabilizante, tem função de redutor. Inicialmente, colocou-se os 20 mL do sal em um Erlenmeyer e aqueceu, sob agitação magnética, até iniciar o processo de ebulição. Colocou-se um vidro relógio sobre o frasco para evitar a perda de água por evaporação. Com a solução em ebulição e sob agitação, foram adicionados 2 mL da solução de citrato de sódio. Logo, a solução coloidal se forma, gradualmente, à medida que o citrato de sódio reduz e apresenta uma cor vermelho rubi. Por fim, retirou-se o frasco do agitador magnético para armazenar em resfriamento.

Com o objetivo de alterar a SRP, através da indução da aglomeração das NP, colocou-se 6 mL do nanofluido sintetizado em um tubo de ensaio. Com isto era esperado observar a mudança da coloração do coloide e do espectro de absorção. Em seguida, adicionou-se em outro tubo de ensaio 50 μL de ácido clorídrico (HCl - Alphatec) diluído em 100 mL de água. Adicionou-se a solução de HCl em diferentes quantidades no tubo de ensaio que contém o nanofluido. Dessa forma, ao modificar a dimensão do raio médio das NP, a coloração do nanofluido também será alterada. Na Tabela 1 encontram-se as porcentagens dos volumes de cada solução em 10 diferentes amostras.

Tabela 1 – Valores percentuais dos volumes de HCl e nanofluidos para cada amostra.

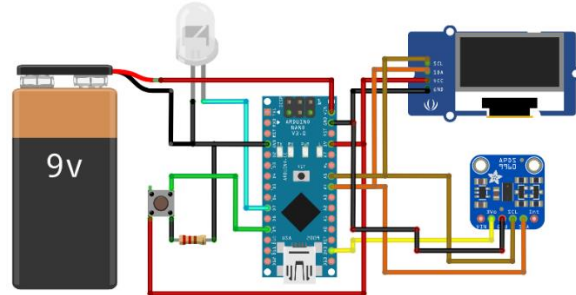
Amostra	Percentual do Volume de HCl(%)	Percentual do Volume do Nanofluido(%)
1	0	100
2	1.38	98.62
3	2.8	97.2
4	4.26	95.74
5	5.76	94.24
6	7.29	92.71
7	8.88	91.12
8	10.51	89.49
9	12.2	87.8
10	13.95	86.05

Fonte: Autoria própria.

Para a leitura dos valores de RGB das amostras sintetizadas, foi elaborado um dispositivo eletrônico. Utilizou-se uma placa de processamento Arduino Micro, um sensor de leitura RGB APDS-9960, um mostrador OLED I2C, um LED branco de 5

mm e um interruptor. O recipiente contendo nanopartículas foi posicionado em frente ao sensor que, ao pressionar o interruptor, o LED iluminou a solução e foi feita a leitura do RGB. Os valores correspondentes à coloração foram impressos na tela do mostrador. Uma representação esquemática é apresentada na Figura 1.

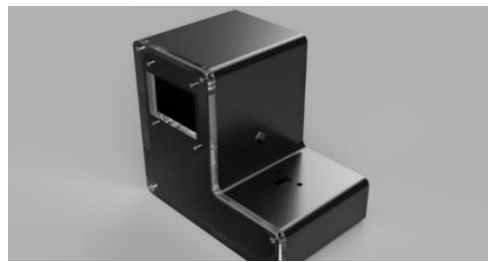
Figura 1 – Diagrama do dispositivo utilizado no experimento.



Fonte: Autoria própria.

O dispositivo foi alojado em um suporte impresso, por prototipagem 3D, em plástico acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS) como mostrado na Figura 2.

Figura 2 – Superfícies externas do aparato construído para o experimento.



Fonte: Autoria própria.

Para realizar a análise do espectro de absorção, utilizou-se um espectrofotômetro. Com isso, ao medir a quantidade de luz absorvida por cada amostra, obteve-se um gráfico de intensidade de absorção por comprimento de onda da luz que atravessa as amostras. Para cada amostra elaborada, foram feitas medições dos valores de RGB através do protótipo construído. Com tais valores, foi possível relacionar a intensidade de absorção e o comprimento de onda com os valores de cada amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 3 mostra os dez tubos de ensaio com as diferentes concentrações e colorações das amostras de NP.

Figura 3 – Amostras de AuNP em água com uma ordem crescente de níveis de aglomeração.

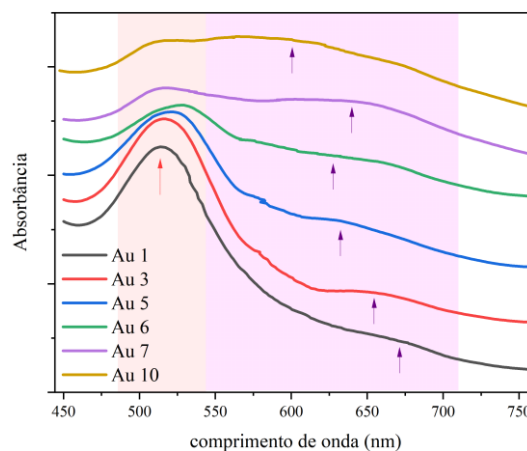


Fonte: Autoria própria.

A amostra número 1, como descrito na Tabela 1, não teve adição da solução de HCl. Devido a esse fato, apresenta uma cor vermelho rubi, que conforme se adicionou a solução do ácido, a coloração foi mudando para um tom azulado evidenciando a formação de aglomerados. Ao passar alguns dias, todas as amostras coalescem e decantam, sendo um efeito gradual dependente da quantidade de HCl. Sendo assim, todas as amostras foram preparadas ao mesmo tempo e logo em seguida medidas. É importante evidenciar que esse efeito de aglomeração ocorre naturalmente em amostras com estabilização estérica, as quais são as mais utilizadas como sensores pelas possibilidades de ligações que podem fazer. Por tanto, estamos apenas acelerando esse processo com a adição de HCl, que desequilibra o potencial entre o fluido e as partículas causando a aglomeração.

De forma geral as nanopartículas usadas com sensores, utilizam o princípio do deslocamento da banda de ressonância de plasmon para evidenciar a detecção. O processo é bastante simples, como mostrado na Figura 4: a amostra 1 tem uma banda de SPR muito bem definida, e se algum elemento se liga à sua superfície (um íon de chumbo, ou uma proteína), espera-se o que exista um deslocamento do máximo de absorção. Contudo isso também ocorre se uma NP de ouro se ligar a outra NP de ouro, formando um dímero e a partir disso um trímero e sucessivamente. Esse processo leva à uma aglomeração da amostra e a um alargamento da do pico de absorção. É exatamente o que a Figura 4 evidencia com o aumento da adição de ácido.

Figura 4 – Picos de absorção por comprimento de onda de amostras características.

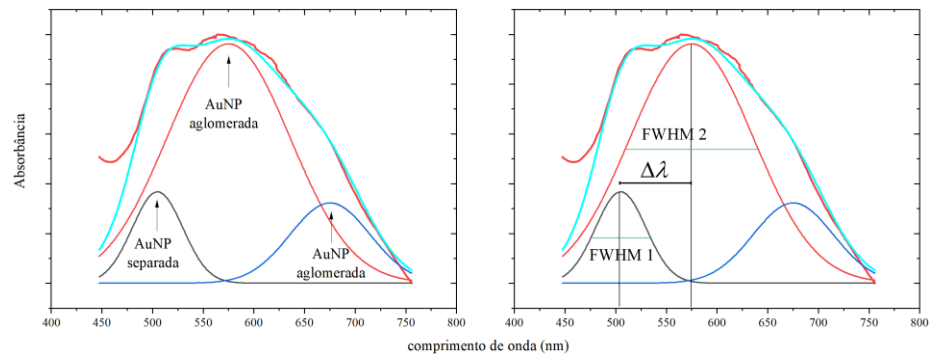


Fonte: Autoria própria.

Observa-se que existe uma banda referente a partículas separadas, ou seja, que não agregaram e uma banda entre 600 e 700 nanômetros que cresce segundo à adição de HCl, que está relacionada com nanopartículas aglomeradas.

É possível separar as distribuições de partículas através do processo de deconvolução, como mostrado na Figura 5.

Figura 5 – Exemplo do processo de deconvolução do espectro da amostra 10.

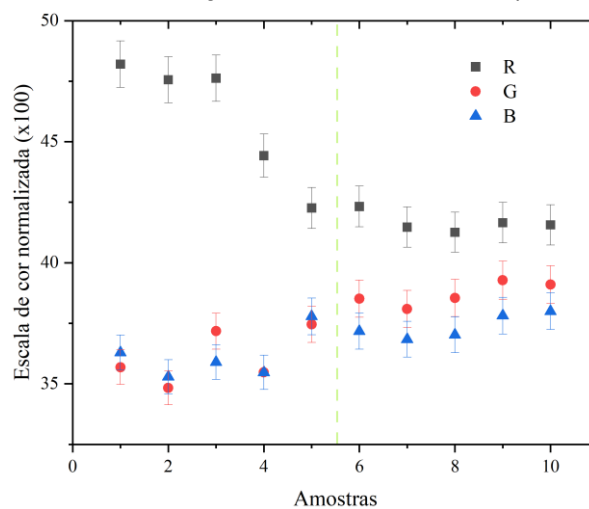


Fonte: Autoria própria.

A Figura 5 é um exemplo extremo de amostra aglomerada. É possível perceber que a banda relacionada à ressonância de partículas aglomeradas excede a das partículas separadas. Se as NP têm como objetivo a aplicação como sensores, o seu envelhecimento causa um alargamento do espectro devido à aglomeração natural que as inutilizam, uma vez que não é mais possível resolver o pico de uma partícula isolada de uma aglomeração, pois a largura de linha à meia altura (FWHM) se sobrepõe ao deslocamento da banda de ressonância.

Uma vez que, para NP de metal nobre, a cor é determinada pela SPR, então a aglomeração deve refletir na alteração da cor da amostra. Assim, junto com as informações obtidas pelo sensor de RGB, pôde-se obter a relação entre o espectro e a coloração das amostras. Na Figura 6, encontram-se os valores da escala de cor normalizada de cada amostra.

Figura 6. Resultado das medições de RGB feitas com o dispositivo proposto.



Fonte: Autoria própria.

Seguindo um critério de qualidade da amostra, segundo a superposição do FWHM das bandas relacionadas às AuNP separadas e aglomeradas em relação ao deslocamento do comprimento de onda entre eles, comparamos os espectros com as medidas de RGB. Dos espectros da Figura 4, na amostra 5, esse critério começa a ser desobedecido, ou seja, na deconvolução das bandas, o FWHM começa a se superpor ao deslocamento do comprimento de onda entre AuNP separadas e aglomeradas. Não obstante, nas medidas de RGB, existe um limiar a partir da amostra 5 em que os valores de RGB começam a permanecer aproximadamente constantes. Sendo assim é possível traçar um padrão usando um dispositivo leitor de RGB de baixo custo em que se possa avaliar a qualidade de uma amostra de AuNP usada como sensor por SPR.

CONCLUSÃO

O dispositivo proposto de baixo custo provou ser promissor. Houve uma diferenciação das amostras que apresentavam um nível de aglomeração muito alto para serem utilizadas em aplicações biomédicas. Entretanto, é necessário um estudo mais aprofundado para permitir discutir o grau de aglomeração ou o tamanho médio das partículas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, INCT-FCx, Fundação Araucária, SETI e Capes pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- EL-SAYED, M. Y. Some Interesting Properties of Metals Confined in Time and Nanometer Space of Different Shapes. **Accounts of Chemical Research**, Atlanta, v. 34, n. 4, p. 257-264, abril 2001.
- GHANN, W. et al. Lipoic Acid Decorated Gold Nanoparticles and Their Application in the Detection of Lead Ions. **Journal of Nanomedicine and Nanotechnology**, Baltimore, v. 10, n. 5, p. 1-5, dezembro 2019.
- GILJOHANN, D.A. et al. Gold nanoparticles for biology and medicine. **Angewandte Chemie International Edition**, Evanston, v. 49, n. 19, p. 3280-3294, abril 2010.
- GOVOROV, A. O. et al. Generating heat with metal nanoparticles. **Nano Today**, Athens, v. 2, n. 1, p. 30 – 38, fevereiro 2007.
- SALATA, O.V. Applications of nanoparticles in biology and medicine. **Journal of Nanobiotechnology**, Oxford, vol. 2, n. 3, p. 1-6, abril 2004.
- SCHANDA, J. **Colorimetry**: Understanding the CIE System. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2007.

TURKEVICH, J. et al. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, Princeton, v. 11, p. 55-75, maio 1951.

ZHENG, T. et al. Techniques for Accurate Sizing of Gold Nanoparticles Using Dynamic Light Scattering with Particular Application to Chemical and Biological Sensing Based on Aggregate Formation. **ACS Applied Materials & Interfaces**, Orlando, v. 8, p. 21585-21594, julho 2016.