

## SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS POR ABLAÇÃO A LASER: CONTROLE DA PRODUÇÃO DE ÓXIDO DE VANÁDIO COLOIDAL PARA APLICAÇÕES EM BIOENSAIOS

Miguel Grissai Santos, miguelgrissai@gmail.com<sup>1</sup>  
Vinícius Silva de Oliveira, silvadeoliveira.vinicius@gmail.com<sup>2</sup>  
Franciele Renata Henrique, frh10@fisica.ufpr.br<sup>2</sup>  
Daniel Hioki, hioki@utfpr.edu.br<sup>1</sup>  
Wido H. Shreiner, wido@fisica.ufpr.br<sup>2</sup>  
Arandi Ginane Bezerra Jr., arandi@utfpr.edu.br<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Avenida Sete de Setembro, 3165, Centro, 80230-010, Curitiba, Paraná, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Física, Universidade Federal do Paraná– UFPR, Centro Politécnico, Jardim das Américas, 81531-880, Curitiba, Paraná, Brasil.

**Resumo:** Neste trabalho apresentamos a ablação a laser como processo eficiente para geração de nanopartículas. Descrevemos os aspectos experimentais importantes para a implantação da técnica e damos destaque à produção e caracterização de nanopartículas de óxido de vanádio ( $V_2O_5$ ) em meio aquoso. Estas nanopartículas apresentam grande potencial de aplicação em bioensaios, dentre outras. A caracterização dos colóides é baseada em espectroscopia de absorção óptica e em espalhamento dinâmico de luz, para a determinação do tamanho e dispersão das nanopartículas. Desenvolvemos também um procedimento para a determinação das quantidades produzidas, com vistas à criação de protocolos para o aperfeiçoamento do método. Concluímos que a ablação a laser desponta como técnica promissora para a síntese verde de nanopartículas a serem utilizadas em diversas aplicações.

**Palavras-chave:** nanopartículas, ablação a laser, biofotônica, nanomateriais, “síntese verde” de materiais.

### 1. INTRODUÇÃO

Este trabalho insere-se no contexto do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Diagnósticos em Saúde Pública, o INDI-Saúde. O objetivo do INDI-Saúde é o desenvolvimento e a implantação de novas tecnologias para o diagnóstico de doenças causadas por microorganismos relevantes para a saúde pública. O foco inicial adotado são as doenças ditas negligenciadas, como a doença de Chagas e a dengue, além das patologias cujo diagnóstico é compulsório para o sangue, como o HTVL1, HTVL2, HIV1, HIV2, hepatite B, hepatite C e a sífilis (INDI-Saúde, [http://www.cnpq.br/programas/inct/\\_apresentação/inct\\_diag\\_saude.html](http://www.cnpq.br/programas/inct/_apresentação/inct_diag_saude.html), acesso em 7 de outubro de 2011). (Prasad, 2003; Giljohann & Mirkin, 2009) mostram o desenvolvimento de tecnologias do tipo *point of care* que é o que se busca realizar nesse trabalho. Além disso, os bioensaios apresentados por (Prasad, 2003) e (L. M. Araújo *et al.*, 2010) vem sendo pesquisados para se obter o seu desenvolvimento com potencial para aplicações em biologia, saúde e medicina.

Recentemente demonstramos a possibilidade de utilizar nanopartículas (NPs) de um óxido de vanádio, o  $V_2O_5$ , para detecção de moléculas biológicas. (W. Celestino Santos *et al.*, 2011) determinaram que a sua interação com moléculas biológicas é seletiva, especificamente com a cisteína, um dos vinte aminoácidos encontrados nas proteínas. Dessa forma as NPs de  $V_2O_5$  podem ser utilizadas como eficientes sensores de cisteína.

O objetivo do presente trabalho é aprimorar a produção de NPs de  $V_2O_5$  por meio da técnica LaSiS (*Laser Ablation Synthesis in Solution*) apresentada por (Amendola & Meneghetti, 2009). Especificamente, busca-se determinar uma metodologia para quantificar a produção de NPs, tendo em vista o potencial de utilização destas.

### 2. PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS

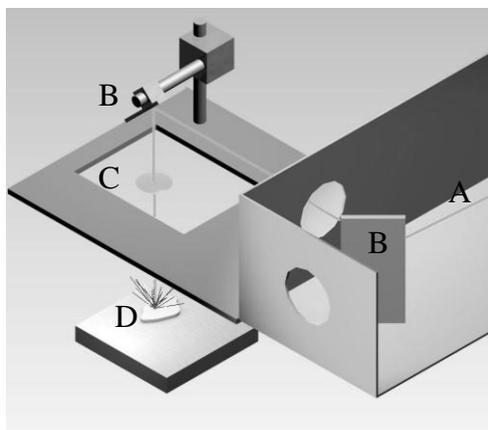
(Amendola & Meneghetti, 2009; Eustis & El-Sayed, 2006) apresentam a produção de nanopartículas em dois tipos: os que fazem com que átomos se agreguem para formar a nanoestrutura (*bottom up*) e, os em que há remoção de material para se obter a estrutura desejada (*top down*). As técnicas de agregação são mais usadas por serem de fácil reprodução e apresentarem pouca dispersão quanto ao tamanho das partículas obtidas. Normalmente, usam substâncias

químicas para fazer com que o crescimento das partículas não ocorra desordenadamente. Porém, esses métodos têm rendimento restrito e podem conter vestígios das substâncias usadas na síntese, ademais, carregando o meio ambiente. Alternativamente, a ablação a laser é uma maneira de se fabricar nanopartículas diretamente, quase sempre sem a adição de substâncias que possam inviabilizar suas aplicações científicas e tecnológicas. A ablação a laser é uma técnica bem estabelecida em diversos campos, como na remoção de tecidos em cirurgias médicas, na ionização de alvos para deposição de filmes em alto vácuo (PLD – *pulsed laser deposition*) e para espectrometria de massa. (Amendola & Meneghetti, 2009) Atualmente, é uma técnica que vem se estabelecendo como alternativa eficiente para a produção de nanopartículas. Assim, como W. Celestino Santos *et al* (2011) demonstram, a produção de NPs de  $V_2O_5$  por ablação em meio líquido apresenta-se como alternativa interessante para se fabricar estas nanopartículas diretamente, sem a adição de substâncias que possam inviabilizar suas aplicações.

Segundo (Amendola & Meneghetti, 2009) a técnica consiste em focalizar a luz de um laser pulsado sobre um material sólido que é submerso em meio líquido. A luz laser é focalizada na superfície do material e a energia absorvida produz sua vaporização, seguida de uma pluma de plasma de alta temperatura. Nesse processo ocorre simultaneamente a vaporização, explosão e fotoionização do material o que resulta na formação das nanopartículas.

### 3. O EXPERIMENTO

Um esquema do experimento realizado é mostrado na Fig. (1). Foi utilizado o harmônico fundamental (1064 nm) de um laser de Nd: YAG operando em regime Q-switched com pulsos de 200 ns e taxa de repetição de 1 KHz, com a energia de pulso sendo da ordem de 1mJ.



**Figura 1 - Montagem experimental para ablação a laser. A: feixe de luz; B: espelhos; C: lente focalizadora; D: amostra imersa em meio líquido.**

#### 3.1. Ablação a laser

O feixe de luz é guiado até a amostra por meio de espelhos e focalizado em sua superfície com uma lente de 5 cm de distância focal. O alvo de vanádio (*Williams Advanced Materials 2N7*) é colocado em um recipiente preenchido com 2 ml de água deionizada. O diâmetro do feixe ao atingir o alvo é da ordem de 30  $\mu\text{m}$ . O recipiente é apoiado sobre uma plataforma móvel que pode ser movimentada mecanicamente ou manualmente. Os movimentos são realizados a fim de não deixar o feixe de luz incidir na mesma parte da superfície, evitando o aprofundamento de crateras em somente alguns locais da amostra. Desta forma, a remoção do material superficial será mais uniforme e haverá um melhor aproveitamento do alvo.

Depois de realizada uma série de experimentos preliminares, foi escolhido um tempo total de 5 minutos para irradiação do alvo e produção dos colóides. Após cerca de 2 min do início da ablação, já é possível perceber a presença de nanopartículas pela coloração da solução. As amostras produzidas pelo procedimento acima descrito são constituídas de  $V_2O_5$ , segundo W. Celestino Santos *et al* (2011) cujos resultados foram obtidos com a técnica de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS).

#### 3.2. Caracterização das amostras

A fim de aperfeiçoar o processo de produção de nanopartículas de  $V_2O_5$ , precisa-se determinar a quantidade de NPs que são produzidas durante a ablação. Assim, é possível incluir melhorias no bioteste desenvolvido por W. Celestino Santos *et al* (2011), quantificando melhor as relações de massa entre NPs de  $V_2O_5$  e a cisteína. Além disso, é importante determinar as taxas de produção de NPs (em unidades de mg/min), como Dahl *et al* (2007) verifica, para que se avalie a viabilidade da técnica do ponto de vista da síntese verde de nanomateriais.

Para determinar a massa produzida durante a ablação, foram selecionados 6 recipientes de vidro idênticos, para os quais mediu-se a massa em uma balança de precisão Shimadzu – AY220. Após as ablações, 4 ml da solução de NPs

foram adicionados a cada um dos recipientes e o líquido foi evaporado em ambiente de temperatura controlada ( $T=60^{\circ}\text{C}$ ). Mediu-se a massa resultante (vidro mais NPs restantes) novamente. Dessa forma, por uma medida de diferença, foi possível determinar a quantidade de nanopartículas produzidas (vide seção Resultados).

Para melhor caracterizar as NPs, foi utilizada a técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) (Berne & Pecora, 2000), com a qual é possível obter a distribuição de tamanhos (diâmetro médio e dispersão). Também foram medidos os espectros de absorção óptica das amostras com um espectrômetro UV-Vis-NIR USB 2000 (Ocean Optics). A partir dos dados obtidos por DLS, usando o equipamento Nanotrak NP 253 (Microtrac) e com as medidas de massa efetuadas, podemos realizar uma análise da distribuição de massa em relação ao tamanho e quantidade de NPs presentes no colóide. Considerando as NPs como esferas, temos que de acordo com a Eq. (1):

$$m_n = \frac{1}{6} \pi d^3 \rho \quad (1)$$

Onde  $m_n$  é a massa da NP,  $d$  é o seu diâmetro e  $\rho$  é a densidade do  $\text{V}_2\text{O}_5$  ( $3350\text{kg/m}^3$ ). Considerando que a massa medida ( $\Delta M$ ) é igual à massa total de NPs presentes na solução de 24 ml, distribuídas nas 6 cubetas, temos, na Eq. (2):

$$\Delta M = \frac{1}{6} \pi \rho \sum d^3 \quad (2)$$

Onde o somatório se estende para todas as partículas da amostra. Usaríamos a Eq. (2) se as NPs na solução fossem monodispersas, mas existe uma dispersão (que pode ser média por meio da técnica DLS) que deve ser levada em conta nos cálculos. Assim, na Eq. (3) temos:

$$\Delta M' = \frac{1}{6} \pi \rho \sum f_n \times d_n^3 \quad (3)$$

Onde  $f_n$  é a frequência com que cada diâmetro aparece e  $d_n$  é o diâmetro correspondente (dados pelo DLS).  $\Delta M'$  corresponde, assim, à massa de 100 NPs, pois a distribuição de tamanho encontrada pelo DLS é apresentada de modo percentual.

#### 4. RESULTADOS

Na Figura (2) é mostrado o espectro de absorção de luz (UV-Vis) do colóide. A banda que se estende a partir da região do azul até o UV é característica de semicondutores e, neste caso, corresponde a coloração amarelada das amostras de  $\text{V}_2\text{O}_5$  produzidas. A Figura (3), por sua vez, mostra o gráfico de dispersão dos tamanhos das nanopartículas de  $\text{V}_2\text{O}_5$ , segundo dados de DLS. Note-se uma faixa principal de distribuição centrada na região em torno de 120 nm. Nanopartículas com diâmetros menores podem ser obtidas caso a potência do laser e as condições de focalização sejam modificadas.

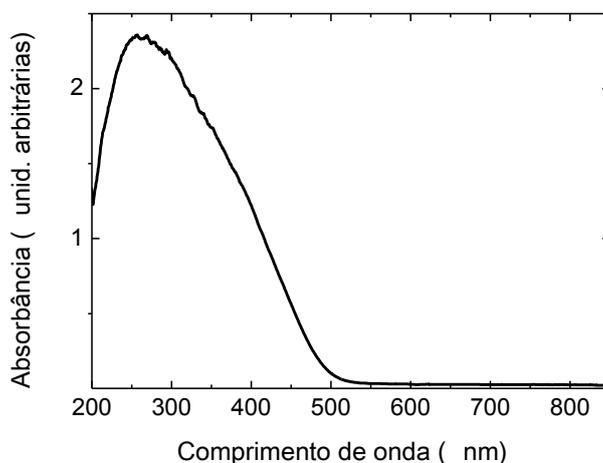
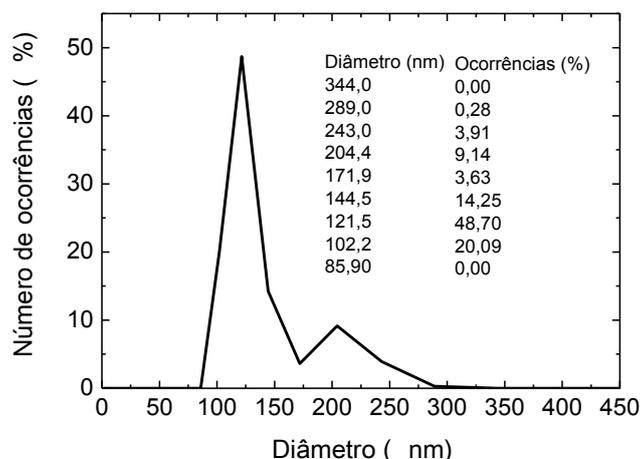


Figura 2 - Espectro de absorção linear da solução aquosa de  $\text{V}_2\text{O}_5$  produzida por ablação a laser.

A partir dos dados do DLS da Fig. (3) e da Eq. (3), pode-se determinar a quantidade  $\Delta M'$ . A massa de cada um dos 6 recipientes de vidro, conforme discutido anteriormente, foi medida antes da ablação ( $m_a$ ), com os recipientes vazios. Após inserir 4 ml de colóide em cada recipiente – e provocar a evaporação da água –, foi medida a massa dos recipientes

secos ( $m_d$ ). Com isso, foi estimada a massa de nanopartículas produzidas ( $\Delta M$ ). Os respectivos valores de  $\Delta M$  são apresentados na Tab. (1).



**Figura 3 - Distribuição de tamanhos da solução de NPs de  $V_2O_5$ . Os valores obtidos na análise de DLS (diâmetro e ocorrências, ou  $d_n$  e  $f_n$ ) utilizados na Eq. (3) também são apresentados no gráfico.**

**Tabela 1. Massa de NPs de  $V_2O_5$  ( $\Delta M$ ) em cada recipiente de vidro. Nota:  $m_a$  é a massa dos recipientes vazios e  $m_d$  é a massa corresponde ao recipiente acrescido das NPs.**

Recipiente	$m_a$ (g)	$m_d$ (g)	$\Delta M$ (g)
1	3,90050	3,90153	0,00103
2	3,80650	3,80746	0,00096
3	3,83030	3,83143	0,00113
4	3,83110	3,83223	0,00113
5	3,85250	3,85360	0,00110
6	3,81460	3,81600	0,00140
Média			0,001125

O desvio padrão ( $\sigma$ ) correspondente à distribuição da Tab. (1) é mostrado da Eq. (4). O seu valor espelha o fato de as amostras serem homogêneas.

$$\sigma = 0,000150 \text{ g} \quad (4)$$

A Equação (5) mostra que utilizando uma simples regra de três podemos encontrar a quantidade total de NPs presentes na solução ( $n$ ).

$$n = \frac{\Delta M}{\Delta M'} \times 100 \quad (5)$$

A Equação (6) mostra a quantidade total de nanopartículas contidas na solução.

$$n = 2,06 \times 10^7 \quad (6)$$

Ao analisarmos a massa e a frequência de cada tamanho, vemos que as partículas menores que o tamanho médio (124,7 nm) correspondem a 68,79% do total de NPs. Além disso, podemos estimar a taxa de produção como sendo da ordem de 0,1 mg/minuto. Este valor qualifica a técnica de ablação a laser como apresentando bom rendimento para a produção de NPs de  $V_2O_5$  de modo a que possa ser considerada como síntese verde.

## 5. CONCLUSÕES

Neste trabalho, descrevemos o processo de produção de NPs de  $V_2O_5$  por meio da técnica de ablação a laser. As NPs obtidas foram caracterizadas usando espectroscopia UV-Vis e DLS. Também desenvolvemos uma metodologia para medir a quantidade de NPs produzidas e o método para quantificação se mostrou adequado para o controle da produção de NPs.

A técnica de ablação a laser tem sido empregada por nosso grupo para a produção em escala de NPs de diversos materiais. Com o controle da produção e a quantificação das NPs, podemos aperfeiçoar o processo de fabricação tendo em vista nossos objetivos específicos, por exemplo, a utilização de NPs de  $V_2O_5$  em sensores de cisteína. Este controle significa poder determinar com mais precisão tanto a massa quanto a quantidade de NPs produzidas por ablação. Assim, podemos desenvolver protocolos para aperfeiçoar a referida técnica e, deste modo, ampliar e aprofundar o potencial de aplicação das NPs em biodiagnósticos.

## 6. AGRADECIMENTOS

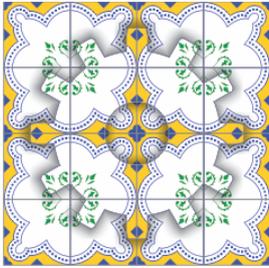
Agradecemos o apoio financeiro recebido do CNPq por meio do Instituto Nacional para Diagnósticos em Saúde Pública, INDI-Saúde.

## 7. REFERÊNCIAS

- Amendola, V. and Meneghetti, M., 2009, "Laser ablation synthesis in solution and size manipulation of noble metal particles", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 11, 3805-3821.
- Araújo, L. M., Oliveira, V. S., Bezerra, A. G., Jr., Schneider, F. K., Gewehr, P. M., Turchetti, D. A. and Akcelrud, L. C., 2010, "Optical Characterization of the Molecule Lapps34m for use as a New Fluorophore" in Latin America Optics and Photonics Conference, OSA Technical Digest (CD), Optical Society of America, paper MC4.
- Berne, B. J., and Pecora, R., "Dynamic Light Scattering", New York: Dover, 2000.
- Dahl, J. A., Maddux, B. L. S. and Hutchison, J. E., 2007, "Toward Greener Nanosynthesis", *Chem. Rev.*, 107, 2228-2269.
- Eutis, S. and El-Sayed, M. A., 2006, "Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes", *Chem. Soc. Rev.*, 35, 209-207.
- Giljohann, D. A. and Mirkin, C. A., 2009, "Drivers of biodiagnostic development", *Nature*, 462, 461-464.
- INDI-Saúde: Instituto Nacional Para Diagnósticos em saúde Pública, projeto aprovado no edital MCT/CNPq 014/2008 (Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia – INCT) Disponível em: [http://www.cnpq.br/programas/inct/\\_apresentacao/\\_inct\\_diag\\_saude.html](http://www.cnpq.br/programas/inct/_apresentacao/_inct_diag_saude.html). Acesso em 7 de outubro de 2011.
- Prasad, P. N., 2003, "Introduction to Biophotonics", New Jersey: Wiley – Interscience.
- Santos, W. C., Bezerra, A. G., Jr, Cezar, A. B., Mattoso, N. and Schreiner, W. H., 2011, "Vanadium Oxide Nanoparticles as Optical Sensors of Cysteine"; *J. Nanoscience and Nanotechnology*, 11, 4702-4707.

## 8. DIREITOS AUTORAIS

Os autores são os únicos responsáveis pelo material incluído nesse artigo.



## NANOPARTICLE GREEN SYNTHESIS BY LASER ABLATION: PRODUCTION CONTROL OF COLLOIDAL VANADIUM OXIDE FOR APPLICATIONS IN BIOASSAYS

Miguel Grissai Santos, [miguelgrissai@gmail.com](mailto:miguelgrissai@gmail.com)<sup>1</sup>  
Vinícius Silva de Oliveira, [silvadeoliveira.vinicius@gmail.com](mailto:silvadeoliveira.vinicius@gmail.com)<sup>2</sup>  
Franciele Renata Henrique, [frh10@fisica.ufpr.br](mailto:frh10@fisica.ufpr.br)<sup>2</sup>  
Daniel Hioki, [hioki@utfpr.edu.br](mailto:hioki@utfpr.edu.br)<sup>1</sup>  
Wido H. Shreiner, [wido@fisica.ufpr.br](mailto:wido@fisica.ufpr.br)<sup>2</sup>  
Arandi Ginane Bezerra Jr., [arandi@utfpr.edu.br](mailto:arandi@utfpr.edu.br)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Avenida Sete de Setembro, 3165, Centro, 80230-010, Curitiba, Paraná, Brazil.

<sup>2</sup> Departamento de Física, Universidade Federal do Paraná– UFPR, Centro Politécnico, Jardim das Américas, 81531-880, Curitiba, Paraná, Brazil.

**Abstract:** *In this paper we present laser ablation as an efficient process for nanoparticle production. We describe relevant experimental aspects for the implantation of the technique. Emphasis is given to the production and characterization of vanadium oxide nanoparticles ( $V_2O_5$ ) in solution. These nanoparticles show large potential for applications in bioassays, among others. The colloids characterization is based in UV-Vis optical spectroscopy and dynamic light scattering-DLS for the determination of shape and size of the nanoparticles. We also developed a procedure to quantitatively determine the mass amount of the produced nanoparticles. One of our main goals is the development of protocols which could lead to the improvement of the method. It follows that laser ablation emerges as a promising technique for the green synthesis of nanoparticles with potential applications to many fields, including bioassays.*

**Keywords:** *nanoparticles, laser ablation, biophotonics, nanomaterials, "green synthesis" of materials.*