



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA INDUSTRIAL**

ERIVAN PEREIRA DA SILVA JÚNIOR

**DETERMINAÇÃO DE POLIDISPERSIVIDADE E DIÂMETRO DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs) UTILIZANDO
ESPECTROSCOPIA UV-VIS E QUIMIOMETRIA**

**CAMPINA GRANDE
2018**

ERIVAN PEREIRA DA SILVA JÚNIOR

**DETERMINAÇÃO DE POLIDISPERSIVIDADE E DIÂMETRO DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs) UTILIZANDO
ESPECTROSCOPIA UV-VIS E QUIMIOMETRIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Química Industrial da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de graduado em Química Industrial

Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Simone da Silva Simões

**CAMPINA GRANDE
2018**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S586d Silva Júnior, Erivan Pereira da.
Determinação de polidispersividade e diâmetro de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando espectroscopia UV-Vis e quimiometria [manuscrito] / Erivan Pereira da Silva Junior. - 2018.
45 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2018.
"Orientação : Profa. Dra. Simone da Silva Simões, Coordenação do Curso de Química Industrial - CCT."
1. Nanotecnologia. 2. Calibração multivariada. 3. Quimiometria. I. Título
21. ed. CDD 660

ERIVAN PEREIRA DA SILVA JÚNIOR

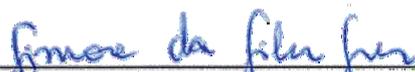
DETERMINAÇÃO DE POLIDISPERSIVIDADE E DIÂMETRO DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs) UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-
VIS E QUIMIOMETRIA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Química
Industrial da Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito parcial à
obtenção do título de graduado em
Química Industrial.

Área de concentração: Química
Analítica

Aprovada em: 26/11/2018

BANCA EXAMINADORA


Prof.^a Dr.^a Simone da Silva Simões (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof.^a Dr.^a Marília de Assis Alcoforado Costa
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Msc. Pedro Queiroz Guimarães
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

A minha mãe, por todo sacrificio esforço necessário
para que eu pudesse realizar esse nosso sonho,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida, por ser o que me guia em todos os momentos.

À professora e orientadora Simone Simões por tudo ensinado, pelo apoio, paciência e atenção ao longo dessa orientação.

A minha mãe, Aline Borges por ter sido sempre meu maior exemplo de perseverança e por ter me ajudado sempre nas horas difíceis.

A minha namorada Ellen Dayara por ter estado ao meu lado durante todo esse processo, me dando força e estímulo em todos os momentos.

Aos meus irmãos Everson e Eveline por sempre acreditarem em mim.

A meus avós maternos, Josefa e Antônio por todo carinho, à minha família de maneira geral.

Aos meus amigos de curso, em especial Adriele (melhor dupla), Gabriel e Yann, pelos momentos de estudo e descontração, e amizade construída durante o curso que levarei pra vida.

Aos meus amigos, Igor, Mikael, e João que me ajudaram me dando apoio e incentivo, a Filipe pelo incentivo dado no começo da caminhada e as contribuições com este trabalho.

Aos professores do Curso de Química Industrial da UEPB, que contribuíram ao longo da graduação com ensinamentos, por meio das disciplinas e debates, para o desenvolvimento profissional e desta pesquisa.

Aos funcionários e técnicos da UEPB, em especial Ademir, pela presteza e atendimento quando nos foi necessário.

De maneira geral agradeço a todos que contribuíram direto ou indiretamente para que fosse possível realizar esse trabalho.

“Sonhar custa caro demais, e desistir custa um sonho.” (Rosa de Saron)

RESUMO

A nanotecnologia compreende estudo, elaboração, caracterização de materiais que, por definição, apresentam pelo menos uma das suas dimensões na escala nanométrica. Os materiais na escala nanométrica, nanopartículas, apresentam propriedades funcionais diferentes dos materiais encontrados na escala macro. As nanopartículas de metais nobres têm atraído o interesse de diversos pesquisadores devido a sua aplicação em alguns campos como biomedicina, engenharia, tecnologia dos alimentos, cosméticos, dispositivos eletrônicos. Sua atividade bactericida, efeito anticâncer em células e a aplicação de nanopartículas em membranas e curativos de hidrogel são exemplos de aplicações na área da saúde. Dentre essas aplicações é necessário a caracterização de propriedades como o diâmetro e a polidispersividade e as metodologias convencionais para esta caracterização, apesar de precisas e exatas, possuem um custo elevado, são laboriosas e podem degradar a amostra. Diante do exposto, o uso da espectroscopia UV-Vis aliada a quimiometria surge como metodologia alternativa para a caracterização das nanopartículas, em relação ao seu diâmetro e polidispersividade. Para o desenvolvimento do modelo quimiométrico fez-se necessário a ampliação das propriedades de interesse. Assim foram sintetizadas 50 amostras, variando-se os reagentes utilizados, por meio da síntese das nanopartículas pela redução química. As amostras foram analisadas por espectroscopia UV-Vis em triplicata na faixa espectral de 200 a 700 nm. Para elaboração dos modelos de calibração multivariada vários pré-tratamentos espectrais foram avaliados. Os conjuntos de calibração e validação foram selecionados utilizando o algoritmo SPXY. A partir da elaboração dos modelos foi avaliada e comparada sua capacidade preditiva ao utilizar-se toda a faixa espectral de trabalho ou apenas os coeficientes selecionados pelo algoritmo Jack-Knife. A avaliação da capacidade preditiva dos modelos de calibração multivariada foi realizada através da análise de figuras de mérito. A partir das análises dos parâmetros foi constatado que o melhor pré-tratamento espectral foi a 1ª derivada com janela de 15 pontos e polinômio de 2ª ordem tanto para diâmetro quanto para polidispersividade. Os erros de predição obtidos para diâmetro e polidispersividade foram de 5,31% e 4,43%, respectivamente, sendo valores de erro baixos em relação a variação destas propriedades.

Palavras-Chave: Nanotecnologia. Calibração Multivariada. Caracterização.

ABSTRACT

Nanotechnology comprises the study, elaboration and characterization of materials which by definition have at least one of their dimensions in the gauge scale. The materials in the nanometric scale, nanoparticles, have functional properties different from the materials found in the macro scale. Noble metal nanoparticles have attracted the interest of several researchers due to their application in various fields such as biomedicine, engineering, food technology, cosmetics, electronic devices. Its antibacterial activity, anticancer effect on cells and the application of nanoparticles to membranes and hydrogel dressings are examples of applications in the health area. Among these applications it is necessary to characterize properties such as diameter and polydispersity and the conventional methodologies for this characterization, although precise and exact, they have a high cost, are laborious and can degrade the sample. In view of the above, the use of UV-Vis spectroscopy together with chemometrics emerges as an alternative methodology for the characterization of nanoparticles in relation to their diameter and polydispersity. For the development of the chemometric model it was necessary to increase the number of samples of interest. Thus 50 samples were synthesized, varying the reagents used, through the synthesis of nanoparticles by the chemical reduction. The samples were analyzed by means of UV-Vis spectroscopy in triplicate in the spectral range of 200 to 700nm. Several multivariate calibration models were evaluated for spectral pre-treatments. The calibration and validation sets were selected using the SPXY algorithm. From the elaboration of the models it was evaluated and compared its predictive capacity when using the whole spectral range of work or only the coefficient by the Jack-Knife algorithm. The evaluation of the predictive capacity of multivariate calibration models was performed through the analysis of figures of merit. From the analysis of the parameters it was verified that the best spectral pre-treatment was the 1st derivative with a 15-point window and a 2nd-order polynomial for both diameter and polydispersity. The prediction errors obtained for diameter and polydispersity were 5.31% and 4.43%, respectively, with low error values in relation to the variation of values for both diameter and polydispersity.

Keywords: Nanotechnology. Multivariate Calibration. Characterization.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Representação de um microscópio eletrônico de varredura.....	17
Figura 2 –	Espectro Uv-Vis da solução de AgNPs obtida através da condição padrão...	19
Figura 3 –	Organização de dados na calibração multivariada.....	21
Figura 4 –	Representação da síntese de AgNPs.....	25
Figura 5 –	Fluxograma das etapas para a construção dos modelos de calibração multivariada.....	29
Figura 6 –	Gráfico da faixa de variação de diâmetro em relação as amostras.....	30
Figura 7 –	Gráfico da faixa de variação de Polidispersividade em relação as amostras..	31
Figura 8 –	Espectros das amostras de AgNPs, sem pré-tratamentos.....	32
Figura 9 –	Espectros das amostras de AgNps com pré-tratamentos (D1-J15-P2).....	34
Figura 10 –	Gráfico de Influência em (a) X, em (b) Y para diâmetro.....	35
Figura 11 –	Gráfico de Influência em (a) X, em (b) Y para polidispersividade.....	35
Figura 12 –	Gráfico dos valores preditos pelo modelo D1-J15-POL2-JK versus valores medidos pelo método de referência para o diâmetro.....	37
Figura 13 –	Gráfico dos valores preditos pelo modelo D1-J15-POL2-JK versus valores medidos pelo método de referência para a polidispersividade.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Definição das concentrações e volumes padrões para síntese de AgNPs.....	26
Tabela 2 –	Variações de volume de H ₂ O ₂	26
Tabela 3 –	Variação da concentração de NaBH ₄	26
Tabela 4 –	Variação do volume de NaBH ₄	27
Tabela 5 –	Variação de volume de AgNO ₃	27
Tabela 6 –	Variação do volume de Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇	27
Tabela 7 –	Variação da concentração de Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇	27
Tabela 8 –	Pré-tratamento espectrais e figuras de mérito para diâmetro.....	33
Tabela 9 –	Pré-tratamento espectrais e figuras de mérito para polidispersividade.	33
Tabela 10 –	Figuras de mérito para os modelos destinados a predição de diâmetro.....	36
Tabela 11 –	Figuras de mérito para modelos destinados a predição de polidispersividade.....	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVO.....	13
2.1	OBJETIVO GERAL.....	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1	NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs).....	14
3.2	METODOLOGIAS CONVENCIONAIS PARA CARACTERIZAÇÃO DAS AgNPs.....	15
3.2.1	Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS).....	15
3.2.2	Potencial Zeta (PZ).....	16
3.2.3	Microscopia de Força Atômica (AFM).....	16
3.2.4	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	16
3.2.5	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	17
3.2.6	Espectroscopia no Ultravioleta Visível (UV-Vis).....	18
3.3	QUIMIOMETRIA.....	19
3.3.1	Calibração Multivariada.....	20
3.3.1.1	Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS).....	22
3.3.2	Seleção de Variáveis e Amostras.....	23
4	METODOLOGIA.....	25
4.1	SÍNTESE DE AGNPS.....	25
4.2	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS.....	28
4.2.1	Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS).....	28
4.2.2	Espectroscopia UV-Vis.....	28
4.2.3	Construção e Validação dos Modelos.....	28
4.2.4	Etapas para a construção dos modelos.....	28
5	RESULTADOS.....	30
5.1	AMOSTRAS E VALORES DE REFERÊNCIA	30
5.2	CONSTRUÇÃO DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA	31
6	CONCLUSÃO.....	39
7	PERSPECTIVAS.....	40
	REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é a ciência voltada para o estudo da caracterização, fabricação, manipulação e aplicação de estruturas biológicas ou não biológicas na escala nanométrica (MILANEZ, 2011). O prefixo nano está relacionado a uma escala de medida no qual os materiais se encontram, onde um nanômetro representa um milionésimo do milímetro ou um bilionésimo do metro. A nanotecnologia abrange materiais chamados de nanocompósitos que, por definição, são materiais em que pelo menos um de seus componentes tem dimensões na escala nanométrica. Estruturas em escala nanométricas apresentam propriedades funcionais diferentes das propriedades encontradas para estruturas na escala macro. A principal razão para as diferenças no comportamento entre materiais compósitos e nanocompósitos está relacionada com a elevada área superficial destes últimos, resultando em intensa interação entre a matriz na qual estão inseridos e as nanopartículas.

As nanopartículas (NPs) de metais nobres, em específico as nanopartículas de prata (AgNPs) e nanopartículas de ouro (AuNPs) tem atraído a atenção de pesquisadores em diversos campos da ciência, como a biomedicina (BARANWAL *et al.*, 2018), engenharia (HAN *et al.*, 2018), tecnologia de alimentos (SHAO *et al.*, 2018), cosméticos (PULIT-PROCIAK *et al.*, 2018), dispositivos eletrônicos (XUAN *et al.*, 2018) e produtos destinados à construção civil (MOU *et al.*, 2018). Este interesse pode estar relacionado às propriedades únicas dos materiais em nanoescala são totalmente diferentes dos materiais em escala natural. A viabilidade celular (AHMADIAN *et al.*, 2018), efeito anticâncer em células (ZAHED *et al.*, 2018), e aplicação de nanopartículas de prata (AgNPs) em scaffolds (TONDA-TURO ET AL., 2018), membranas (KHARAGHANI *et al.*, 2018), curativos de hidrogel (NEŠOVIĆ *et al.*, 2018) são exemplos das aplicabilidades das NPs na área da saúde.

Propriedades características de NPs de prata como diâmetro e polidispersividade são extremamente importante e, muitas aplicações de NPs de prata são afetadas por estas propriedades, pois influenciam diretamente sua atividade antibacteriana contra uma ampla faixa de microrganismos (ESCÁRCEGA-GONZÁLEZ *et al.*, 2018; KUBO *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2018). A toxicidade das nanopartículas está relacionada com a concentração, dispersão, morfologia e tamanho apresentados (GORTH *et al.*, 2011; MEHENNAOUI *et al.*, 2018). Por este motivo, controlar e avaliar o tamanho de partículas e sua distribuição de tamanho são pré-requisitos para seu uso.

São vários os métodos utilizados para caracterização do tamanho de partículas, entre eles estão a Microscopia Eletrônica De Transmissão (MET), Microscopia Eletrônica De

Varredura (MEV), Microscopia De Força Atômica (AFM), espectroscopia Uv-Vis, ultracentrifugação analítica (AUC), fracionamento de campo de fluxo (FFF), difração de raios X (DRX) e espalhamento dinâmico de luz (DLS). No entanto, muitos destes requerem uma preparação minuciosa de amostras (MET, MEV, AFM), possibilidade de artefatos (AUC e FFF) e de alto custo (AFM) (TOMASZEWSKA ET AL., 2013). A Com relação a Espectroscopia Uv-Vis e DLS são, dentre as mencionadas, as mais utilizadas por serem as mais simples, rápidas e seletivas na caracterização de NPs.

Neste trabalho foi desenvolvido uma metodologia baseada na espectroscopia UV-vis e métodos quimiométricos com o objetivo de determinar diâmetro e polidispersividade de NPs coloidais (em específico NPs de prata) de forma rápida e precisa.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma metodologia simples, rápida e eficaz, capaz de determinar a polidispersividade e o diâmetro de nanopartículas de prata.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir nanopartículas de prata variando seu diâmetro e polidispersividade;
- Caracterizar as nano partículas de prata sintetizadas por métodos convencionais;
- Determinar qual o melhor pré-processamento espectral a ser utilizado;
- Construir modelos PLS para a determinação da polidispersividade e diâmetro das nanopartículas de prata;
- Comparar os modelos construídos utilizando toda a faixa espectral de trabalho com aqueles construídos utilizando os coeficientes Jack-Knife.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs)

Materiais nanoestruturados têm sido bastante estudados devido às suas propriedades únicas, que diferem dos materiais massivos, e do seu potencial para o desenvolvimento de novas tecnologias (FERREIRA *et al.*, 2016). A elevada área superficial e baixa citotoxicidade são características que tornam interessante o uso de materiais nanoparticulados. Na literatura, vários trabalhos relatam a síntese de nanopartículas metálicas, tais como: Au (IRFAN *et al.*, 2017), Ag (RODRIGUES *et al.*, 2016), Co (JAGADEESH *et al.*, 2017) e Cd (HONG *et al.*, 2017).

As AgNPs são nanopartículas obtidas através da redução química da prata, possuem propriedades físicas, químicas e biológicas únicas, dentre elas estão as propriedades ópticas, catalíticas, antimicrobianas, fungicidas e bactericidas (CHEN E SCHLUESENER, 2008; ALMEIDA, 2017). Contudo, é o largo espectro de atividade antimicrobiana da prata e o custo relativamente baixo de obtenção de AgNPs que as torna extremamente populares numa vasta gama de produtos de consumo como os cosméticos (FABREGA *et al.*, 2011), filtros de ar e água (ROSA *et al.*, 2016), cremes (CHAUDHRI *et al.*, 2015), resinas dentárias (KASSEY *et al.*, 2008), dentre outros.

É possível observar uma correlação entre a eficiência bactericida das AgNPs com sua estrutura cristalográfica, superfície-volume, tamanho de partícula, presença de estabilizantes e morfologia (Baker *et al.*, 2005). Apesar disso, devido à dificuldade no controle dessas características, as pesquisas se voltam apenas para obtenção dessas NPs através da aplicação de novos agentes redutores (verdes e biológicos) (HE *et al.*, 2017; GHIUTÀ *et al.*, 2018). Estas propriedades estão fortemente ligadas a características como tamanho, polidispersividade, morfologia, estrutura e entre outros. Dessa forma controlar e avaliar o tamanho de partículas e sua distribuição de tamanho são pré-requisitos para a utilização de NPs, e para isso vários métodos têm sido utilizados.

Os métodos em que são aplicados com maior frequência para caracterização de diâmetro e polidispersividade são a Microscopia Eletrônica De Transmissão (MET), Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV), Microscopia De Força Atômica (AFM), espectroscopia no ultravioleta e visível (UV-Vis), ultracentrifugação analítica (AUC), fracionamento de campo de fluxo (FFF), difração de raios X (DRX), potencial Zeta (PZ) e espalhamento dinâmico de luz (DLS).

Algumas dessas técnicas necessitam uma preparação minuciosa de amostras (MET, MEV, AFM), necessidade de artefatos (AUC e FFF) e possuem alto custo (AFM) (TOMASZEWSKA et al., 2013), o que pode se caracterizar como uma limitação do seu uso. Com relação a Espectroscopia Uv-Vis e DLS, pode-se afirmar que são técnicas seletivas, rápidas, simples e por isso são as mais utilizadas na caracterização de NPs.

3.2 METODOLOGIAS CONVENCIONAIS PARA CARACTERIZAÇÃO DAS AGNPS

3.2.1 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

A técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) é comumente utilizada para determinar o tamanho e a dispersão das AgNPs, o método se baseia no movimento Browniano das partículas, por meio da incidência de um feixe de luz sob a amostra. Quando a partícula é iluminada através do laser, a luz irá se espalhar por todas as direções. Devido o contínuo movimento Browniano das partículas dispersas no meio (relacionado à agitação térmica), a intensidade da luz espalhada observada no ângulo θ flutua no tempo. (DIALETACHI, 2017).

O tamanho das partículas tem uma influência em relação a intensidade da luz espalhada, logo que, partículas maiores se movem de maneira mais lenta e partículas menores se movem mais rapidamente. A partir da determinação da intensidade de luz espalhada em função do tempo, é determinada a velocidade das nanopartículas através de um correlograma. A velocidade é então convertida no coeficiente de difusão Dt das nanopartículas (DAHNEKE, 1983; BARROS, 2017).

A partir das informações obtidas através do Dt é possível calcular o diâmetro hidrodinâmico através da equação de Stokes, mostrada na Equação 1. O diâmetro hidrodinâmico (d_H) compreende o diâmetro do núcleo da nanopartícula, a carga orgânica em sua volta e a capa de solvatação,

$$d_H = \frac{6kT}{\pi\eta v} \quad \text{Equação (1)}$$

encontrada.

No qual k é a constante de Boltzman, η é a viscosidade do solvente e T é a temperatura.

A técnica DLS é bastante utilizada na nanotecnologia e tem extrema importância na caracterização de nanopartículas pois permite determinar características como a

polidispersividade e distribuição de tamanhos de amostras, sendo esses parâmetros de grande importância para a estabilidade do sistema coloidal das AgNPs.

3.2.2 Potencial Zeta (PZ)

A estabilidade da partícula é dada pelo seu potencial total, ou seja, a soma do potencial do solvente, do potencial repulsivo e da atração, chamado de potencial zeta. A medida do potencial zeta é comumente empregada na avaliação da estabilidade das AgNPs e é medido através da aplicação de um campo elétrico no meio em dispersão. Dessa forma os valores de potencial zeta determinam se ocorrerá a aglomeração das partículas e assim é possível determinar a estabilidade de suspensões ou emulsões coloidais (BECHTOLD, 2011). Para nanopartículas metálicas, valores de potencial zeta abaixo de $-0,30$ mV ou acima de $0,30$ mV são sinônimos de estabilidade (TAŞKIRAN *et al.*, 2017). Quanto mais próximo de zero for o valor do potencial zeta maior será a velocidade de aglomeração das partículas.

3.2.3 Microscopia de Força Atômica (AFM)

A caracterização de nanopartículas por meio da microscopia de força atômica é utilizada para a confirmação de tamanho e morfologia das partículas. A técnica consiste no uso de uma ponta fixa em uma haste móvel, promovendo a interação de forma repulsiva ou atrativa com os átomos presentes na amostra, o que permite a varredura de uma determinada área da amostra. Baseado no tipo de força entre a amostra e a ponta de prova é utilizado um laser para medir a inclinação da haste, ocasionando a geração de imagens com informações de topográficas, magnéticas, elétricas, estruturais, e informações químicas da amostra.

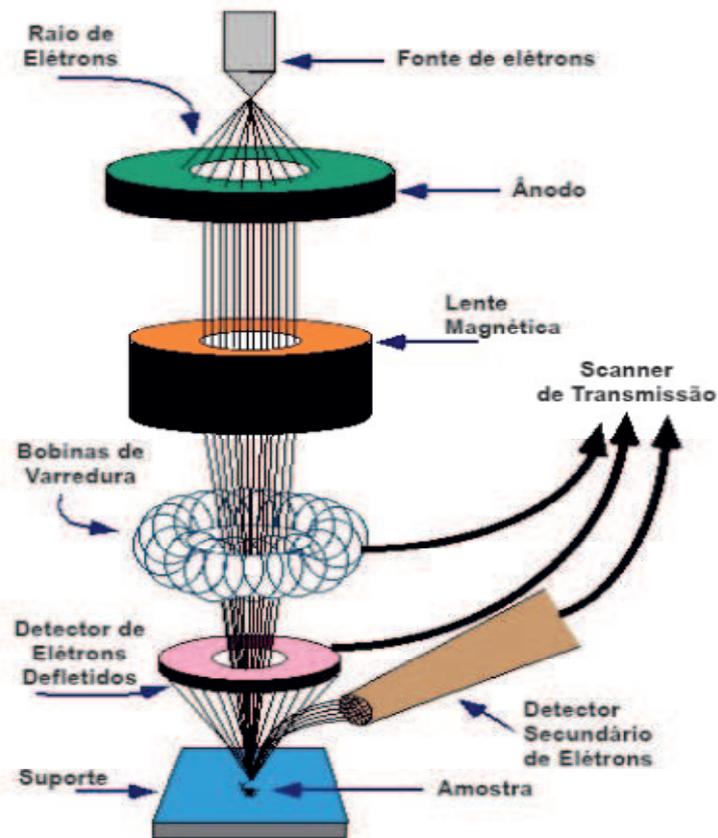
A aplicação desta técnica às AgNPs é capaz de fornecer informações morfológicas como rugosidade superficial, distribuição de tamanho e diâmetro de partícula, dispersão de fases em matrizes, e também informações físicas como acúmulo de cargas elétricas, condutividade e distribuição de domínios magnéticos. (MOCANU, 2013)

3.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) é utilizada na caracterização das nanopartículas pelo seu poder de resolução ampliado em relação a microscopia ótica tradicional, o seu potencial de resolução está entre 50-100 nm. Portanto para ser possível a obtenção de imagens com essa resolução, a técnica utiliza-se de elétrons. Dessa forma a

amostra é bombardeada com elétrons acelerados com energia, que por sua vez são focalizados por lentes magnéticas, proporcionando a geração de elétrons, espalhados responsáveis por fornecer informações de topografia das nanopartículas, e mais importante, elétrons secundários, como descrito na Figura 1. Os elétrons secundários emitidos pela amostra, geralmente com energias entre 0 e 50 eV, são detectados e utilizados para gerar uma imagem da amostra (JOY E HOWITT, 2003; BARROS, 2017). A amostra pode ser acessada em uma profundidade de 1 μm , resultando em informações de topografia, estrutura cristalina, comportamento elétrico e estrutura química.

Figura 1 - Representação de um microscópio eletrônico de varredura.



Fonte: Adaptado de BARROS, 2017.

3.2.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A caracterização por meio da técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET) possui vantagens em relação a MEV. A resolução de imagens pode chegar até 50 pm, com magnificação de 10.000.000 de vezes (ERNI *et al.*, 2009). A diferença da MET em relação a

MEV é devido ao bombardeamento dos elétrons na MET ocorrer em uma faixa de 40-100 kV e enquanto na MEV entre 0 a 50eV, os elétrons são bombardeados e ao atravessar a amostra são transmitidos pela mesma, de forma a fornecer um arranjo atômico da amostra e focalizados por lentes magnéticas projetoras reproduzindo uma imagem em uma tela fluorescente.

A técnica é bastante utilizada para nanopartículas de prata devido ao preparo de amostras ser simples, a alta resolução fornecer imagens facilmente o que garante a utilização da técnica para medidas precisas de tamanhos de AgNPs. (BARROS, 2017)

3.2.6 Espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis)

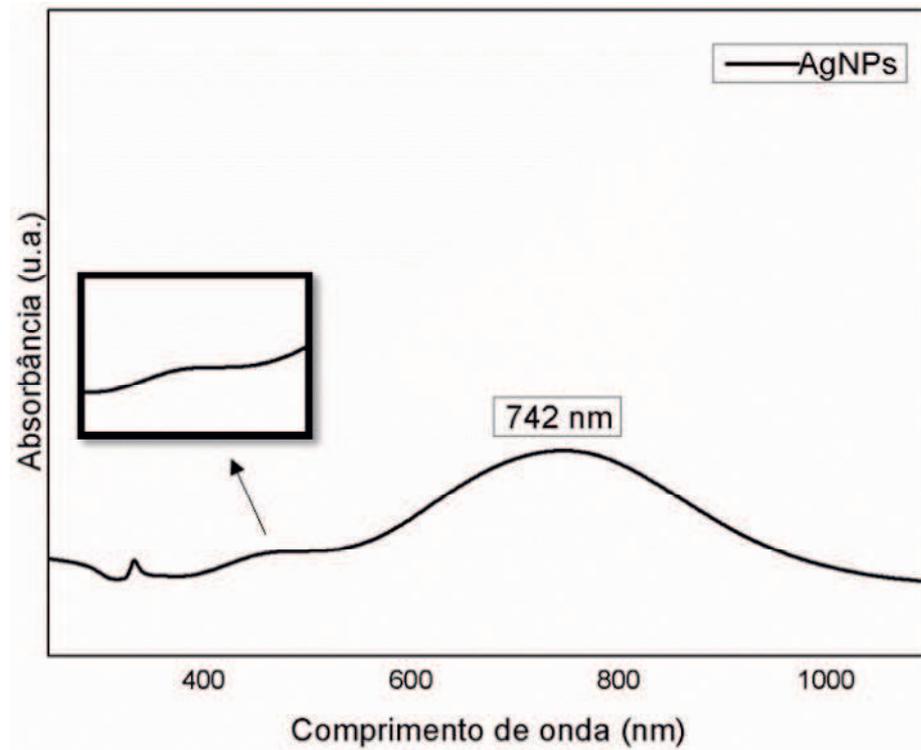
A utilização da técnica de espectroscopia no ultravioleta, diferente de outras técnicas como MEV, MET e AFM, é comumente utilizada devido ao seu baixo custo e fatores como seletividade, necessidade de pouco preparo das amostras para o experimento. As AgNPs são caracterizadas devido a um efeito conhecido como a absorção de fótons na região do visível, diferentemente de espécies orgânicas que são analisadas em relação às transições eletrônicas.

A ressonância plasmônica de superfície (SPR) é o fenômeno que rege o aparecimento das bandas relativas as AgNPs na região do uv-vis, esse fenômeno é profundamente ligado a suas propriedades físicas como tamanho e forma. Deste modo, nanoprismas de prata, por exemplo, podem ter colorações que variam de amarelo até azul e ter sua banda de SPR localizadas em aproximadamente 700 nm (FRANK *et al.*, 2010)

A Figura 2 apresenta o espectro uv-vis correspondente a solução de AgNPs obtida através da condição de síntese padrão. Pode-se observar um pico máximo de absorção de 742nm, característico de nanopartículas de prata com formato triangular perfeito (JIN *et al.*, 2001).

A segunda banda de absorção do espectro apresenta-se no formato de um ombro com absorção em 465nm, valor este que, de acordo com o cálculo de Schatz indica ressonâncias dipolo características de nanopartículas triangulares (CHALMERS E GRIFFITHS, 2002). Outro fator que corrobora com essa afirmação é a cor azul escura da solução, que é atribuída a excitação dos plasmons de superfície, e que, de acordo com (PACIONI *et al.*, 2015) é característica de nanopartículas com formato triangular.

Figura 2 – Espectro Uv/vis da solução de AgNPs obtida através da condição padrão.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

3.3 QUIMIOMETRIA

A quimiometria é a área da química que utiliza métodos matemáticos e estatísticos para o tratamento de dados químicos, de forma a extrair maior quantidade de informações e melhores resultados analíticos. (SIMÕES, 2008). O uso da quimiometria abrange diversas áreas da química e de outras ciências de forma geral, a partir do surgimento da quimiometria e da sua aplicação desenvolveu-se diversas metodologias possibilitando interpretar e analisar uma grande quantidade de dados.

Com a modernização da aplicação da técnica o crescimento da mesma tem se expandido por diversas áreas da Química e ciências de forma geral.

A quimiometria pode ser dividida por áreas como o planejamento e otimização de experimentos, classificação e reconhecimento de padrões, e calibração multivariada. Neste trabalho iremos nos ater ao detalhamento de algumas técnicas de calibração multivariadas por se tratar do nosso objeto de estudo.

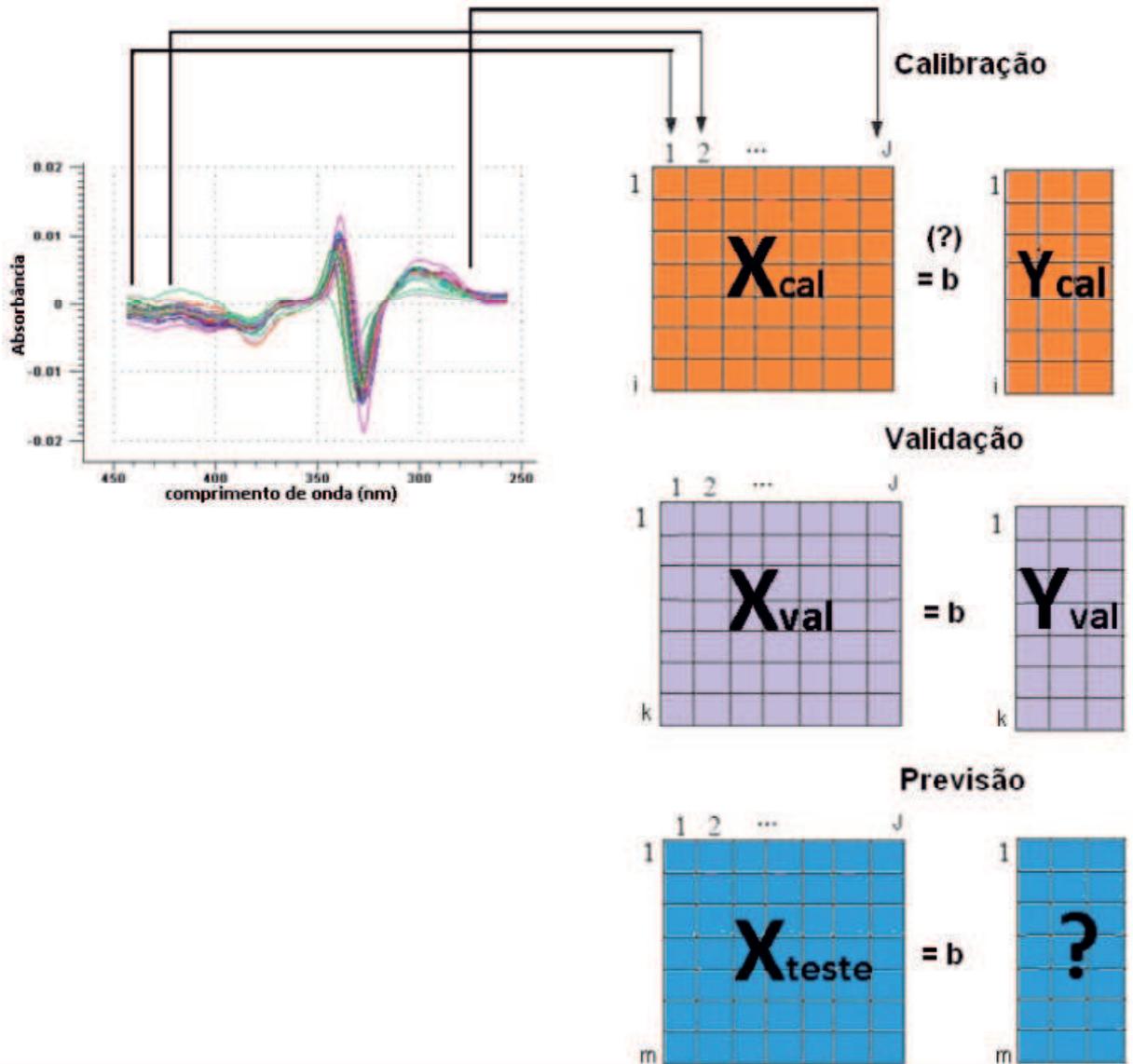
3.3.1 Calibração Multivariada

A definição de calibração está ligada a uma série de operações matemáticas que estabelecem uma relação entre medidas obtidas através de um instrumento e valores para uma ou mais propriedades de interesse. (SIMÕES 2008, GUIMARÃES 2017)

Os métodos de calibração mais conhecidos são os conhecidos como calibração univariada ou calibração de ordem zero, nesse caso é realizado a medida instrumental para cada uma das amostras, onde a amostra possui apenas um escalar, a aplicação desse tipo de metodologia é restrita devido a amostra não estar livre de interferentes, portanto a sua análise se torna dependente apenas da sua medida instrumental o que provavelmente ocasionará erros ou desvios na medição da propriedade de interesse. Uma alternativa viável para contornar esta limitação são os métodos de calibração multivariada. Esse tipo de calibração consiste na construção de modelos matemáticos para relacionar dados de saída de um instrumento (medidas instrumentais multivariadas) às concentrações dos analitos ou a outras propriedades das amostras. (SIMÕES, 2008; GUIMARÃES, 2017)

O processo de calibração é composto basicamente de três etapas (Figura 3), a) calibração, em que consiste na construção do modelo matemático relacionando-se matematicamente as repostas instrumentais a propriedade de interesse, b) validação, em que os modelos matemáticos são avaliados de acordo com sua capacidade preditiva através de ferramentas estatísticas e c) predição, que consiste em testar o modelo afim dele predizer a partir apenas das medidas instrumentais a propriedade de interesse da amostras desconhecidas. (SIMÕES, 2008)

Figura 3 - Organização de dados na calibração multivariada.



Fonte: Adaptado de SIMÕES, 2008.

O modelo de calibração corresponde a uma função matemática (f) em que se relaciona dois grupos de variáveis, o vetor (y) que representa a(s) a propriedade de interesse (variável dependente) e a matriz (X) das respostas instrumentais (variáveis independentes).

Dentre as técnicas de regressão mais utilizadas em calibração multivariada estão a regressão linear múltipla (MLR), a regressão por componentes principais (PCR), e a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). (SIMÕES, 2008; GUIMARÃES, 2017)

3.3.1.1 Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)

A regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) foi proposta inicialmente por H. Wold, é considerada o método de regressão mais utilizado para a construção de modelos de calibração multivariada a partir de dados de primeira ordem (VALDERRAMA, 2005). Para a construção de tais modelos, o método utiliza tanto as informações da matriz de dados espectroscópicos (matriz X), como as informações da matriz de concentrações (matriz Y). (SIMÕES, 2008; GUIMARÃES, 2017).

O PLS estende o conceito do modelo inverso (propriedade como função da resposta instrumental) trocando as variáveis originais por um subconjunto truncado das variáveis latentes dos dados originais. (GUIMARÃES, 2017) Considerando um caso geral para a determinação de mais de uma espécie de interesse, as matrizes X_{cal} e Y_{cal} (Figura 3) são decompostas em suas matrizes de pesos e escores (SIMÕES, 2008; GUIMARÃES, 2017) respectivamente, como mostrado nas Equações 2 e 3.

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E} \quad (2)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}^T + \mathbf{F} \quad (3)$$

No qual \mathbf{T} e \mathbf{U} são as matrizes dos escores, \mathbf{P} e \mathbf{Q} são as matrizes dos pesos das matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} , respectivamente. O termo \mathbf{E} representa a matriz de resíduos espectrais, enquanto que, \mathbf{F} representa a matriz dos resíduos de concentração.

Na decomposição em escores e pesos pode-se utilizar diferentes tipos de algoritmos, que produzem resultados similares. Um exemplo, é o algoritmo NIPALS. O modelo PLS final consiste em relacionar linearmente os *scores* da (matriz X) com os *scores* da (matriz Y), de acordo com as Equações 4 e 5, respectivamente. (SIMÕES, 2008).

$$\mathbf{U} = \mathbf{BT} + \mathbf{G} \quad (4)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{BTQ}^T + \mathbf{H} \quad (5)$$

No qual \mathbf{B} é a matriz dos coeficientes de regressão; \mathbf{G} é a matriz de resíduos dos escores e \mathbf{H} a matriz de resíduos de concentração.

3.3.2 Seleção de Variáveis e Amostras

Uma das problemáticas que envolve a calibração multivariada é a complexidade de dados matriciais que refletem a natureza das amostras reais, onde as variáveis independentes são obtidas por meio de medidas instrumentais para a construção dos modelos matemáticos. Os objetivos de investigação na análise multivariada incluem redução de dados ou simplificação estrutural, classificação e agrupamento de objetos similares, investigação das dependências entre variáveis, predição, e formulação e teste de hipóteses (JOHNSON, 2014; ALVES 2017).

A divisão do conjunto original de amostras em subconjuntos de calibração e validação é uma etapa de suma importância para a construção de modelos de calibração multivariada (GRANGEIRO JÚNIOR, 2011). Pois, as amostras de calibração precisam representar de forma ideal os dados das amostras originais, ou seja, o problema que está se tentando resolver.

Já a seleção de variáveis traz como objetivos principais a remoção de variáveis sem correlação com o parâmetro de interesse, produzindo modelos mais simples e robustos. Além de ser indispensável na construção de modelos MLR, onde no número de variáveis espectrais deve ser menor ou igual ao número das amostras de calibração (GOMES, 2012).

Uma forma simples e comumente empregada para esta finalidade é o método de seleção aleatória, que emprega a distribuição estatística do conjunto inteiro na extração do grupo de dados do conjunto maior (GUIMARÃES, 2017). Porém o método não apresenta uma representatividade ideal dos dados,

Diante da problemática surge a necessidade de desenvolver algoritmos, para a seleção de amostras e variáveis.

O algoritmo Kennard-Stone e o SP-Xy são exemplos de algoritmos para seleção de amostras e. O Kennard-Stone (KS), utiliza as distâncias euclidianas para selecionar as amostras. O algoritmo seleciona um número N de amostras com base em etapas, as amostras selecionadas e novas seleções são tomadas longe das amostras selecionadas na etapa anterior afim de obter uma representatividade do conjunto e uma distribuição uniforme no subconjunto. Já o algoritmo SP-XY, proposto por (GALVÃO *et al.* 2005), é uma extensão do algoritmo KS e surge como alternativa para seleção de amostras, o diferencial desse método de seleção se dá pois o SPXY leva em consideração tanto a matriz \mathbf{X} quanto o vetor \mathbf{y} para

calcular as distâncias e obter uma representatividade adequada nos subconjuntos dos dados. Para atribuir o mesmo grau de importância à distribuição das amostras nos espaços X e Y , as distâncias $d_y(p,q)$ são divididas pelos seus valores máximos no conjunto de dados. Desta forma, uma distância x e y normalizada é calculada como (GALVÃO 2005), na equação 6

$$d_y(p,q) = \sqrt{(y_p - y_q)^2} = |y_p - y_q|; p \text{ e } q \in [1, N] \quad (6)$$

O algoritmo genérico - GA (GUIMARÃES, 2017) e o algoritmo das projeções sucessivas (APS) são exemplos de algoritmos para seleção de variáveis. O algoritmo genético que se baseia na simulação matemática do mecanismo de evolução de Charles Darwin para otimizar sistemas complexos, (GOMES, 2012). Ele tem sido bastante utilizado, contudo os resultados gerados a partir dele podem não ser reprodutíveis.

O algoritmo SPA desenvolvido por (ARAÚJO et al. 2001) é conhecido um método de seleção direta, ou seja, ele inicia com um comprimento de onda e adiciona novos comprimentos de onda a cada iteração, até atingir um número estabelecido de N de comprimentos de onda. O SPA tem como objetivo selecionar comprimentos de onda cujo conteúdo de informações seja minimamente redundante, para resolver problemas de colinearidade (GUIMARÃES, 2017).

Outra forma de selecionar as variáveis mais informativas de um conjunto de dados é utilizando-se o teste de incerteza de Martens. Este teste é um método de significância, implementado no software The Unscrambler[®], que tem como objetivo avaliar a invariabilidade dos resultados de modelos de regressão e análise por componentes principais (PCA). (GUIMARÃES, 2017) Esta ferramenta avalia e identifica variáveis que venham a interferir de forma negativa nos resultados dos modelos e a seleção de variáveis espectrais. No teste de incerteza de Martens é avaliada a incerteza dos parâmetros do modelo individual, em cada segmento de validação cruzada é obtido um conjunto de estimativas de parâmetros do modelo.

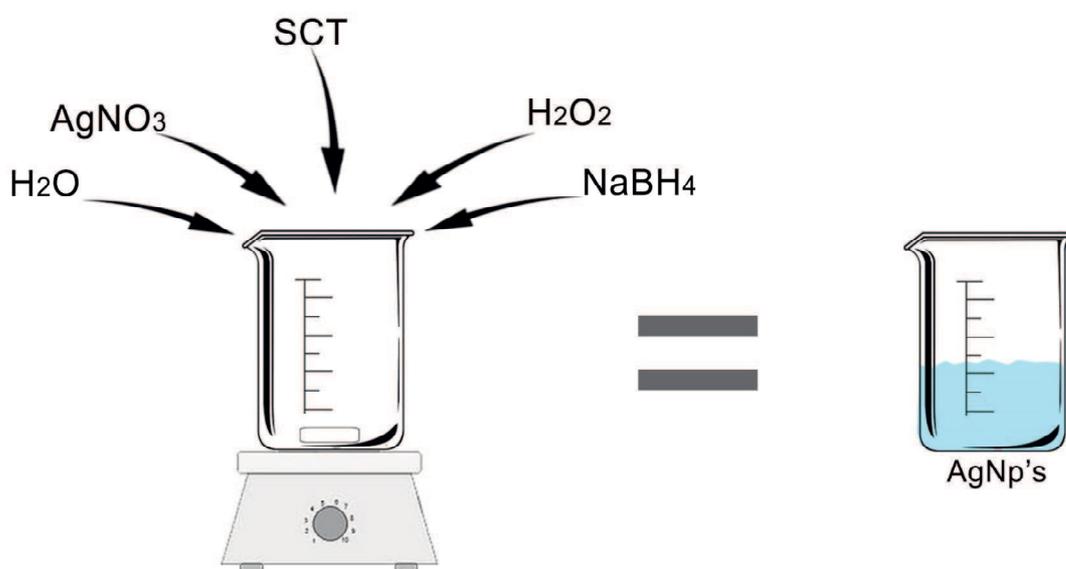
4 METODOLOGIA

4.1 SÍNTESE DE AGNPS

A síntese das AgNPs foi realizada no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO), e seguiu o método de redução química, descrito por Rodrigues *et al.* (2016) adaptada de Zhang *et al.* (2011). A figura 4 ilustra as etapas da síntese.

Inicialmente, 30mL de água ultrapura foram transferidos para um becker (100mL). Em seguida, 30 μ L de nitrato de prata (AgNO_3 , 0,1 mol.L⁻¹, agente precursor), 1,5mL de Citrato de Sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, 0,9mmol.L⁻¹, agente estabilizante), peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , 35%, agente oxidante) e borohidreto de sódio (NaBH_4 , agente redutor) foram adicionados ao sistema de acordo com os volumes e concentrações variados dos reagentes. Após adição do último reagente, elevou-se a agitação a 1500rpm por 3 minutos.

Figura 4 - Representação da síntese de AgNPs.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

De acordo com a definição das concentrações e volumes padrões para a síntese das AgNPs foram preparadas 7 amostras, nestas condições.

Tabela 1 - Definição das concentrações e volumes padrões para síntese de AgNPs.

Nitrato de Prata (AgNO₃, 0,1mol.L⁻¹)	Citrato de Sódio (Na₃C₆H₅O₇, 90mmol.L⁻¹)	Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂, 35%)	Borohidreto de Sódio (NaBH₄, 90mmol.L⁻¹)
30µL	1,5mL	60 µL	200 µL

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Para ampliar a faixa de diâmetro e polidispersividade das nanopartículas produzidas, visando a construção dos modelos de calibração multivariada, as quantidades de reagentes como H₂O₂, NaBH₄, AgNO₃, e Na₃C₆H₅O₇ foram variados de acordo com as tabelas de 1 a 6. Essa variação resultou em um total de 43 amostras de NPs que adicionadas a síntese de 7 amostras preparadas nas condições padrões compreende um conjunto de 50 amostras de AgNPs no total.

Tabela 2 – Variações de volume de H₂O₂.

Variável	Amostra	Varição
H ₂ O ₂ (Volume - µL)	H1	20
	H2	30
	H3	40
	H4	50
	H5	60
	H6	90
	H7	100
	H8	110
	H9	120
	H10	130
	H11	140
	H12	150

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Tabela 3 - Variação da concentração de NaBH₄

Variável	Amostra	Varição
NaBH ₄ (Concentração - mmol.L ⁻¹)	B1	50
	B2	60
	B3	70
	B4	80
	B5	90
	B6	100
	B7	110
	B8	120

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Tabela 4 – Variação do volume de NaBH_4

Variável	Amostra	Variação
NABH_4 (Volume - μL)	BV1	150
	BV2	200
	BV3	250

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Tabela 5 – Variação de volume de AgNO_3

Variável	Amostra	Variação
AgNO_3 (Volume - μL)	A1	20
	A2	25
	A3	30
	A4	35
	A5	40
	A6	45

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Tabela 6 - Variação do volume de $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$

Variável	Amostra	Variação
$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ (Volume - μL)	SV1	0,75
	SV2	1
	SV3	1,25
	SV4	1,5
	SV5	1,75
	SV6	2
	SV7	2,25
	SV8	2,5

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Tabela 7 – Variação da concentração de $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$

Variável	Amostra	Variação
$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ (Concentração - mmol.L^{-1})	SC1	15
	SC2	20
	SC3	25
	SC4	30
	SC5	35
	SC6	40

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Essas variações tem influência direta nas propriedades estudadas das AgNPs.

Todas as nanopartículas sintetizadas foram caracterizadas por DLS e tiveram seus espectros UV-vis registrados

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

A caracterização das amostras de nanopartículas foram realizados a partir dos métodos convencionais onde foi utilizada a técnica padrão de espalhamento dinâmico de luz (DLS) e Espectroscopia UV-Vis, para determinação de tamanho e polidispersividade.

4.2.1 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

O DLS foi usado para determinação do tamanho e dispersão das AgNPs. As análises foram conduzidas em um Instrumento ZetaPals da Brookhaven. As medidas foram coletadas a temperatura ambiente com um ângulo de espalhamento fixo de 90°.

4.2.2 Espectroscopia UV-Vis

A espectroscopia UV-Vis foi realizada em um espectrofotômetro Bomem-Michelson FT-IR, modelo MB-102, na faixa de comprimento de onda de 200-700nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.3 Construção e Validação dos Modelos

A etapa de construção e validação dos modelos quimiométricos utilizou o software The Unscrambler® v9.1 da CAMO Process A. para pré-processamento dos espectros e construção dos modelos PLS. Na etapa de seleção das amostras para os conjuntos calibração e predição foi utilizado o algoritmo SPXY executados onde utilizou do software Matlab®, versão 6.5.

4.2.4 Etapas para a construção dos modelos

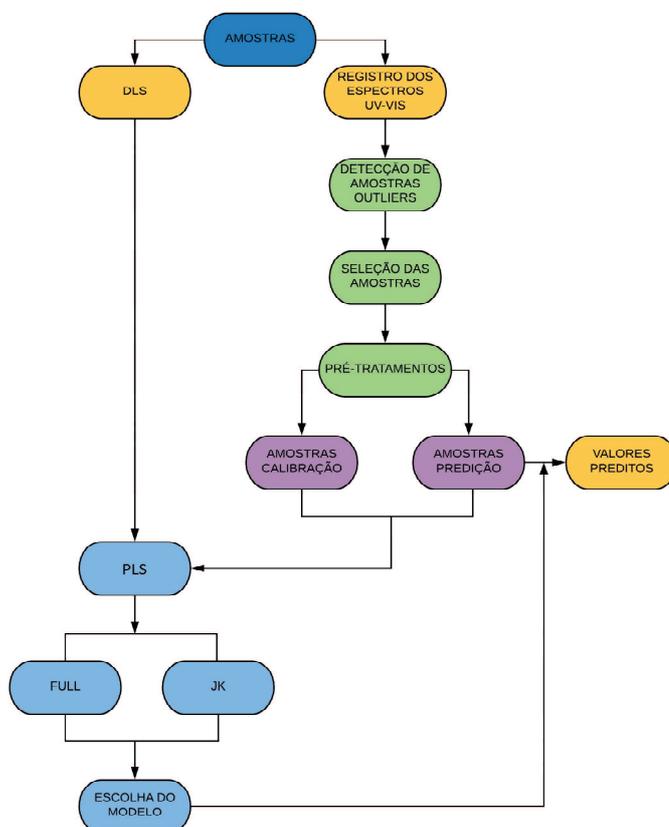
Nesta etapa, após os registros dos espectros no UV-Vis deu início a escolha da faixa de trabalho para a construção do modelo, a partir de uma análise prévia dos espectros concluiu-se a melhor faixa de trabalho para a construção do modelo entre 450 a 250 nm, devido os

espectros apresentarem ruídos que influenciavam de forma negativa a construção dos modelos multivariados.

A partir da avaliação de dados em relação a presença de amostras anômalas usando o gráfico de influência versus resíduo em relação ao ruído espectral na matriz X quanto a erros na determinação dos parâmetros estudados vetor Y. Em seguida foram selecionadas através do algoritmo SPXY as amostras dos conjuntos de calibração e predição. Após isso avaliou-se quais pré-tratamentos forneciam melhores modelos, baseados em parâmetro de validação como o erro médio quadrado de calibração RMSEC e predição RMSEP, r^2 , correlação, bias, slope, offset e número de variáveis latentes utilizadas na construção do modelo, nesta etapa testou-se a seleção de variáveis após os testes com os pré-tratamentos para verificar a influência nos parâmetros dos modelos de calibração e validação.

Os pré tratamentos testados na construção do modelo foram: correção de linha de base, MSC, EMSC, SNV, derivadas, suavização e a combinação de alguns destes. Os modelos de predição foram onstruídos com base nos parâmetros avaliados na calibração. As etapas empregadas na construção dos modelos multivariados estão descritas no fluxograma apresentado na Figura 5.

Figura 5 – Fluxograma das etapas para a construção dos modelos de calibração multivariada.

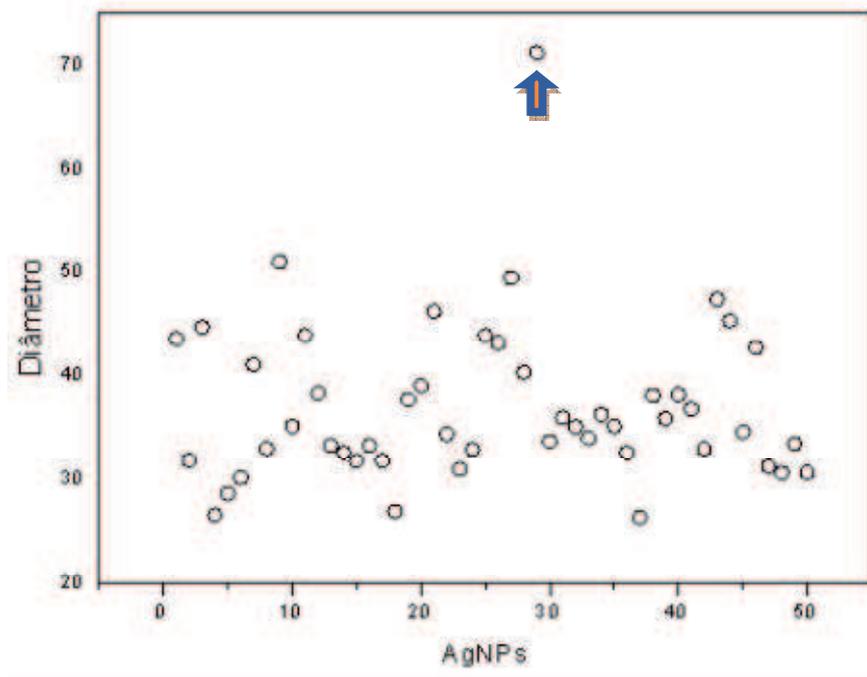


5 RESULTADOS

5.1 AMOSTRAS E VALORES DE REFERÊNCIA

Os métodos de calibração multivariada têm como finalidade desenvolver, a partir de dados instrumentais, modelos que possam prever com precisão as propriedades ou características das amostras. Portanto é necessário que as amostras que irão compor o conjunto de calibração possuam uma variabilidade adequada da faixa dinâmica do parâmetro estudo. Neste trabalho foram sintetizadas 50 amostras, como descrito na metodologia, variando o diâmetro (tamanho da partícula) no intervalo de 26,38 nm a 71,19 nm, e a polidispersividade no intervalo de 0,021 a 0,472. As Figuras 6 e 7 apresentam a variabilidade das amostras em relação aos parâmetros estudados, diâmetro e polidispersividade, respectivamente.

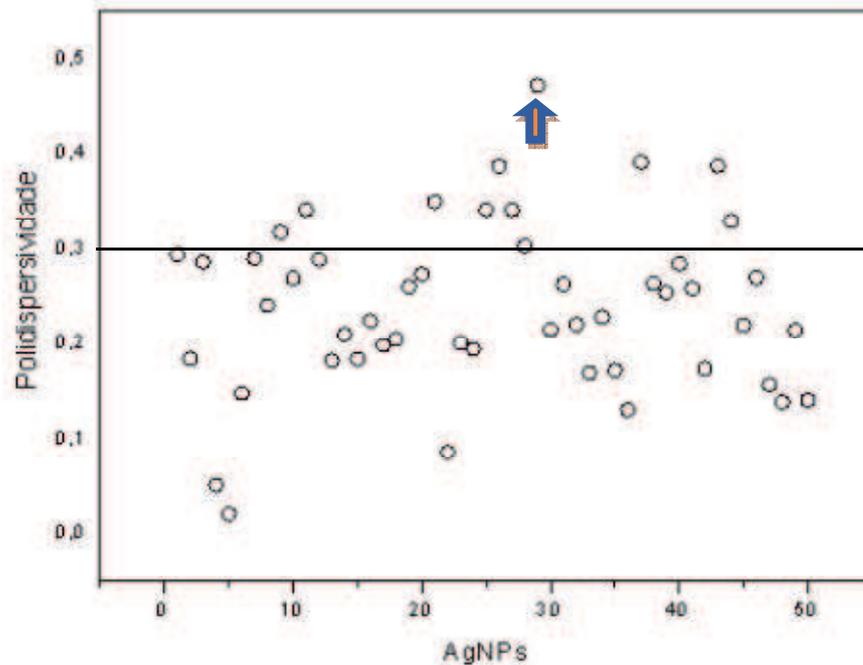
Figura 6 – Gráfico da faixa de variação de diâmetro em relação as amostras.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

De acordo com o gráfico da figura 6, apenas uma amostra apresenta diâmetro superior a 55nm, no entanto todas as amostras estão dentro dos valores de escala nanométricas, isto é de 1 a 100 nm.

Figura 7 – Gráfico da faixa de variação de Polidispersividade em relação as amostras.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

De acordo com a literatura (ALBERNAZ, 2014) amostras com valores de polidispersividade acima de 0,300 indicam que a solução encontra-se polidispersa e valores abaixo de 0,300 indicam uma monodispersividade. De acordo com a figura 7, pode-se notar que a maioria (80%) das amostras se encontram na forma monodispersa e a minoria apresenta polidispersividade (20%). Partículas com valores de polidispersividades inferiores a 0,3 representam partículas com o mesmo formato e tamanho aproximado. Já partículas com valores superiores a 0,3 apresentam tamanho diversos e, deste modo podem fornecer valores de referência pouco reprodutíveis. No entanto para ampliar a faixa de variação do parâmetro polidispersividade e evitar extrapolação do modelo, a apenas a amostra destacada nas figuras 6 e 7, foi excluída da construção dos modelos.

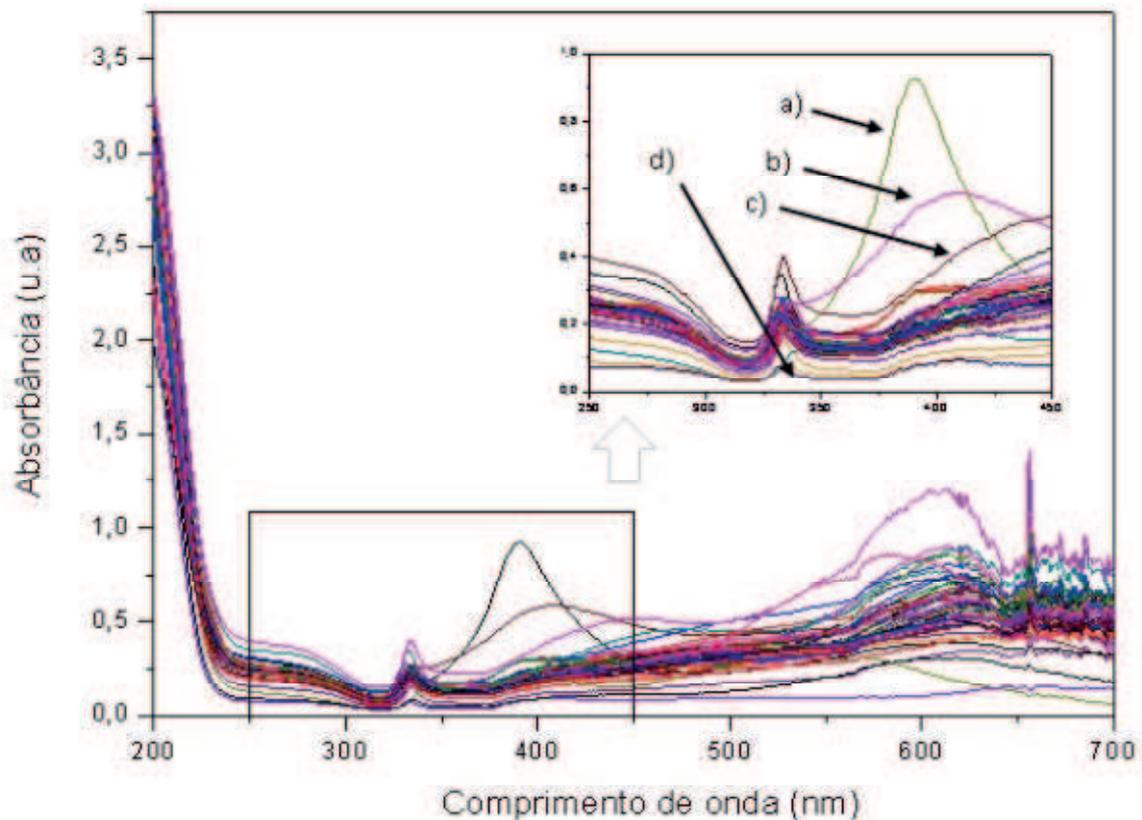
5.2 CONSTRUÇÃO DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

Para construção de modelos de calibração multivariada faz-se necessário a definição da região espectral de trabalho, ou seja, a exclusão de regiões com alto ruído ou sinal “estourado”, para que se possa trabalhar com a região espectral mais informativa. Isto é feito a partir da análise visual dos dados brutos (Figura 8). Esta análise visual também pode levar a identificação de espectros que se comportam de forma anômala, que podem, posteriormente,

vir a ser excluídos do conjunto de dados. Essa análise previa é realizada afim de obter-se modelos mais robustos e precisos.

A Figura 8 apresenta os espectros UV-Vis, na faixa de 200 a 700 nm, de todas as amostras analisadas das AgNPs sem pré-tratamento. A partir da análise dos espectros percebeu-se que as regiões de 200 a 250 e de 450 a 700 nm eram bastante ruidosas e possuem valores de absorbância superiores a 1,5 u.a (sinal “estourado”) os quais poderiam levar a construção de modelos pouco robustos e com baixo poder preditivo. Deste modo, a faixa espectral de trabalho utilizada foi de 250 a 450 nm, destacado na figura 2. De acordo com a literatura (BALLOTTIN, 2014) esta é a região onde se localizam as bandas de absorção características das AgNPs. A partir desta análise previa, também foi possível detectar alguns espectros com comportamento anômalo, identificados como [a), b), c) e d)], que foram prontamente excluídas do conjunto de dados.

Figura 8 – Espectros das amostras de AgNPs, sem pré-tratamentos.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Toda medida instrumental é composta de uma porção de sinal e também de ruído. Deste modo, a fim de construir modelos robustos alguns pré-tratamentos espectrais foram

testados para minimização de ruídos ou características espectrais que não estivessem relacionadas as propriedades de interesse, como deslocamento de linha de base ou espalhamento do sinal. Neste trabalho foram testados MSC, EMSC, SNV, derivadas e a combinação dos mesmos. A escolha do melhor pré-tratamento foi realizada com base nos valores de RMSEC, RMSEP, r^2 , correlação, bias, slope, offset e número de variáveis latentes utilizadas para a construção do modelo. Os resultados, dos melhores pré-tratamentos, são apresentados nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8 – Pré-processamentos espectrais e figuras de mérito para diâmetro.

Figuras de Mérito (Diâmetro)								
Pré-processamento	VL	Etapa	RMSE	Correlação	R ²	Slope	Offset	Bias
BRUTOS	5	Cal	2,65367	0,86351	0,7456	0,7456	9,27196	1,589E-06
		CV	3,57942	0,74199	0,5672	0,6361	13,36426	0,100216
MSC	3	Cal	2,91482	0,82616	0,6825	0,6825	11,5724	1,335E-06
		CV	3,40373	0,75630	0,5955	0,6247	13,6758	-0,003961
D1-J9-P2	5	Cal	2,5321	0,87202	0,7604	0,7604	8,73333	1,526E-06
		CV	3,7149	0,71566	0,5181	0,6309	13,5435	0,089278
D1-J15-P2	5	Cal	2,6677	0,866290	0,7504	0,7504	9,072963	-1,78E-06
		CV	3,6959	0,726852	0,5370	0,6395	13,20012	0,095595

VL: Variáveis Latentes; **Cal:** Etapa de Calibração; **CV:** Validação Cruzada; **D1-J9-POL2:** 1ª Derivada-Janela de 9 Pontos-Polinômio de 2ª Ordem; **D1-J15-POL1:** 1ª Derivada-Janela de 15 Pontos-Polinômio de 2ª Ordem.

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Tabela 9 – Pré-processamentos espectrais e figuras de mérito para polidispersividade.

Figuras de Mérito (Polidispersividade)								
Pré-processamento	VL	Etapa	RMSE	Correlação	R ²	Slope	Offset	Bias
BRUTOS	6	Cal	0,04253	0,90370	0,8166	0,8166	0,0440	-3,201E-09
		CV	0,06771	0,75013	0,5640	0,6795	0,0824	0,005383
MSC	2	Cal	0,05713	0,81808	0,6692	0,6692	0,0795	1,123E-08
		CV	0,06629	0,74849	0,5821	0,6153	0,0933	0,000901
D1-J9-P2	5	Cal	0,04779	0,87671	0,7686	0,7686	0,0556	9,837E-09
		CV	0,07386	0,69595	0,4812	0,6152	0,6152	0,004114
D1-J15-P2	5	Cal	0,04856	0,87625	0,7678	0,7678	0,0553	-8,731E-10
		CV	0,06906	0,75132	0,5592	0,7008	0,0747	0,003526

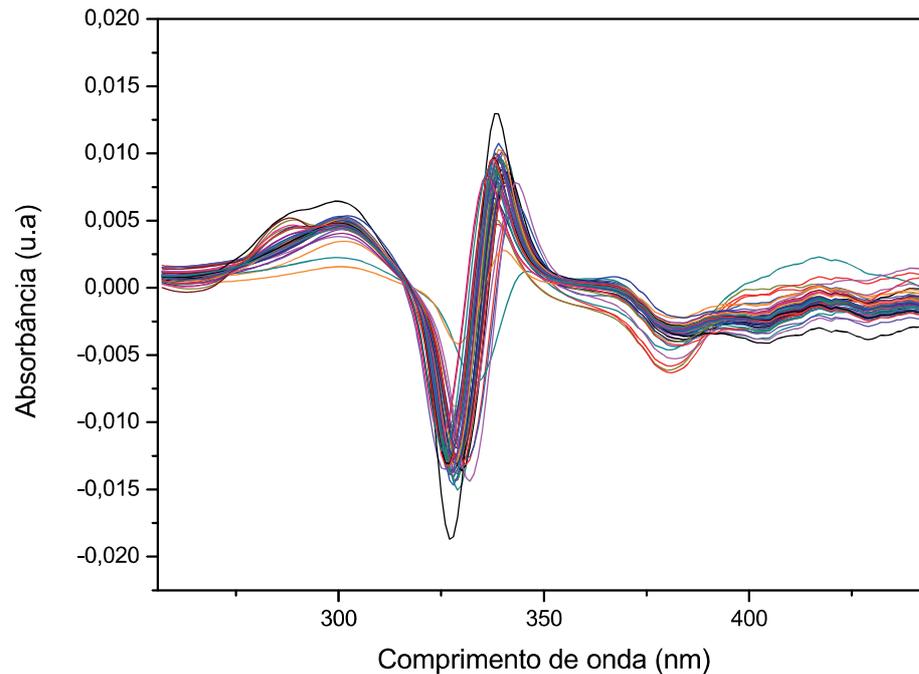
VL: Variáveis Latentes; **Cal:** Etapa de Calibração; **CV:** Validação Cruzada; **D1-J9-POL2:** 1ª Derivada-Janela de 9 Pontos-Polinômio de 2ª Ordem; **D1-J15-POL1:** 1ª Derivada-Janela de 15 Pontos-Polinômio de 2ª Ordem.

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Para a determinação do diâmetro os modelos construídos com os dados brutos ou com primeira derivada com janela de 15 pontos e polinômio de segunda ordem (D1-J15-P2) apresentaram resultados comparáveis. Já para a determinação da polidispersividade o pré-tratamento primeira derivada com janela de 15 pontos e polinômio de segunda ordem (D1-J15-P2) apresentou o menor número de variáveis latentes utilizadas para a construção do modelo. No entanto, visando a implementação mais prática da metodologia desenvolvida como análise de rotina, iremos adotar como melhor pré-tratamento para os dois parâmetros de interesse a D1-J15-P2.

A Figura 10 mostra os espectros UV-Vis das amostras de AgNPs com os pré-tratamento utilizado para construção do modelo de diâmetro e polidispersividade (D1-J15-P2).

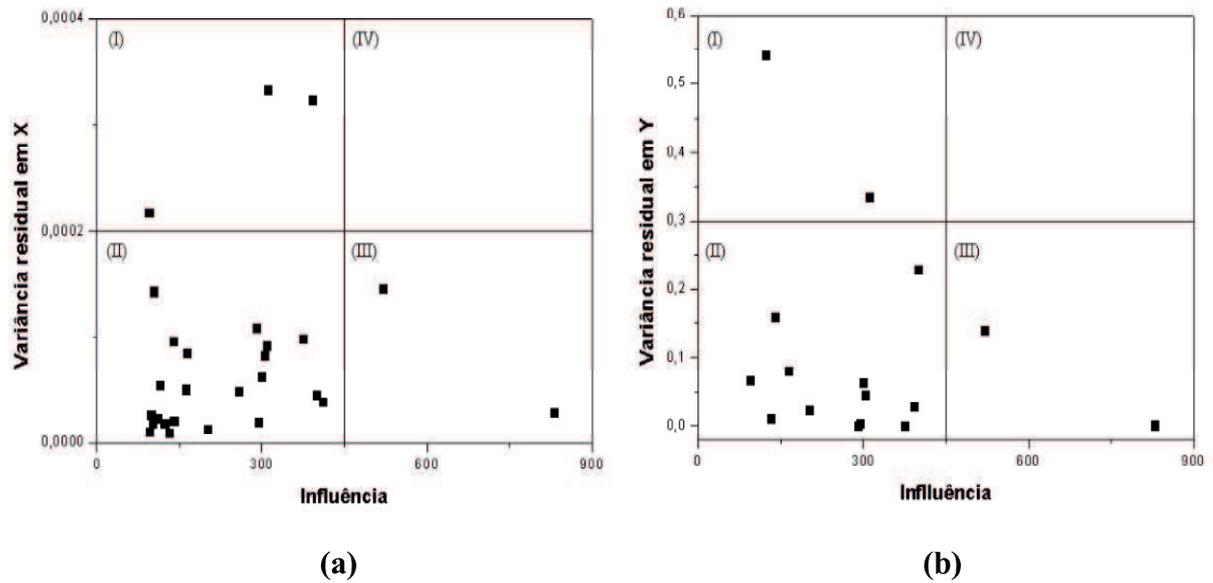
Figura 9 – Espectros das amostras de AgNps com pré-tratamentos (D1-J15-P2).



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

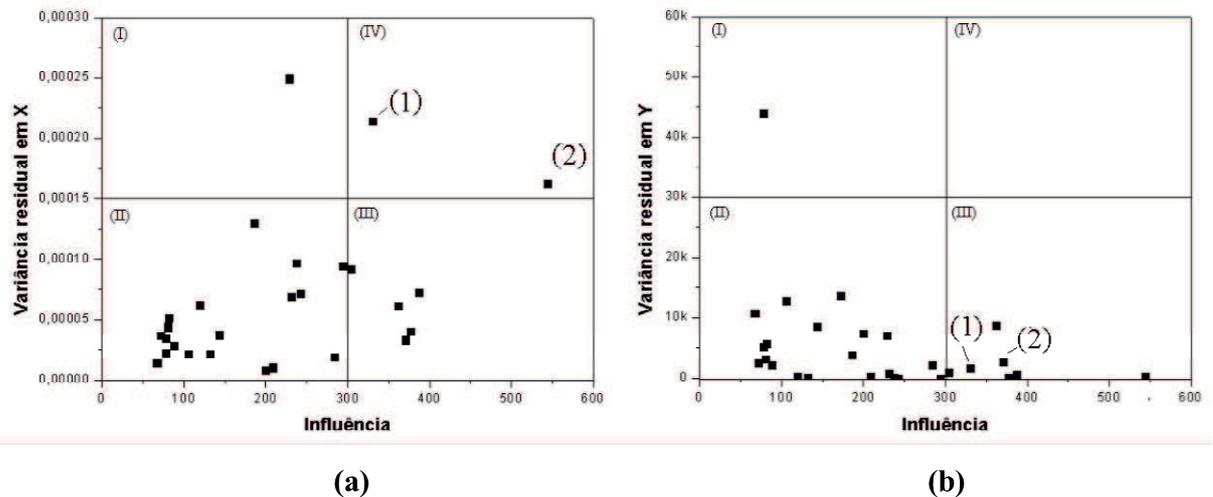
Antes de efetivamente se construir os modelos, um novo gráfico de influência foi construído com os dados pré-tratados (D1-J15-P2). A Figura 10 apresenta o gráfico de influência para polidispersividade e a Figura 11 para diâmetro. Como pode-se observar não existem amostras anômalas para o parâmetro polidispersividade. No entanto para diâmetro, duas amostras (indicadas com 1 e 2) aparecem no quadrante IV em relação aos espectros (Figura 11a), mas não em relação a valor de referência, (Figura 12b). Estas amostras não foram excluídas do modelo devido ao baixo valor de resíduo.

Figura 10 – Gráfico de Influência em (a) X, em (b) Y para polidispersividade



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Figura 11 – Gráfico de Influência em (a) X, em (b) Y para diâmetro.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Outra etapa importante na construção de modelos de calibração multivariada é a seleção dos conjuntos de calibração e predição, que neste trabalho foi realizada utilizando-se o algoritmo SPXY (GALVÃO et al. 2005). Existe uma relação entre a complexidade do problema a ser resolvido e o número de amostras necessárias para o conjunto de calibração. Para sistemas complexos, em que existe pouca variação na sua concentração, o conjunto de calibração pequeno é capaz de contemplar a relação de variáveis latentes e a propriedade de interesse. No caso de amostras com uma maior complexidade, em que possuem uma porção maior de variação na concentração, o conjunto de calibração requer um maior número de

amostras para contemplar a relação de variáveis latentes e a propriedade de interesse (GUIMARÃES, 2017).

Inicialmente tomou-se como base a proporção de 2/3 de amostras para o conjunto de calibração e 1/3 para o conjunto de validação (30:15).

A fim de melhorar a performance dos modelos construídos, implementou-se o algoritmo Jack Knife para selecionar os coeficientes de regressão, pelo teste de incerteza de Martens, mais relacionados com os parâmetros estudados e com estes, novos modelos PLS foram desenvolvidos. Os resultados obtidos para os novos modelos construídos com os coeficientes de regressão, com os espectros brutos e pré-tratados, são apresentados nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10 – Figuras de mérito para os modelos destinados a predição de diâmetro.

Figuras de mérito para Diâmetro									
Pré-processamento	Método para seleção de variáveis	VL	Etapa	RMSE	Correlação	R ²	Slope	Offset	Bias
BRUTOS	-	6	Cal	2,6536	0,8635	0,7456	0,7456	9,27196	1,589E-06
			Pred.	5,6666	0,5945	0,2939	0,2281	28,0886	-0,827481
BRUTOS	JK	4	Cal	3,0167	0,8123	0,6599	0,6599	12,396	1,399e-06
			Pred.	6,1412	0,4381	0,1707	0,1544	30,8809	-0,794658
D1-J15-POL2	-	5	Cal	2,2741	0,9057	0,8204	0,8204	6,5586	4,087e-07
			Pred.	2,9779	0,8369	0,7136	0,7772	8,1825	0,046155
D1-J15-POL2	JK	6	Cal	2,1209	0,9185	0,8437	0,8437	5,7045	4,087e-07
			Pred.	2,7658	0,8916	0,7586	0,6282	13,745	0,206206

VL: Variáveis Latentes; **Cal:** Etapa de Calibração; **CV:** Validação Cruzada; **D1-J9-POL2:** 1ª Derivada-Janela de 9 Pontos-Polinômio de 2ª Ordem; **D1-J15-POL1:** 1ª Derivada-Janela de 15 Pontos-Polinômio de 2ª Ordem. **JK:** coeficientes Jack-Knife.

Fonte: Dados da pesquisa, 2018

Tabela 11 – Figuras de mérito para modelos destinados a predição de polidispersividade

Figuras de mérito para Polidispersividade									
Pré-processamento	Método para seleção de variáveis	VL	Etapa	RMSE	Correlação	R ²	Slope	Offset	Bias
BRUTOS	-	6	Cal	0,04253	0,9037	0,8166	0,8166	0,0440	-3,201e-09
			Pred.	0,04037	0,8123	0,5766	0,8657	0,0238	-0,008580
BRUTOS	JK	1	Cal	0,07827	0,6264	0,3923	0,3923	0,1472	-9,013e-10
			Pred.	0,05624	0,4721	0,1782	0,1248	0,2088	-0,002418
D1-J15-POL2	-	6	Cal	0,03995	0,9226	0,8512	0,8512	0,0358	8,506e-09
			Pred.	0,05728	0,8399	0,7141	0,7937	0,0514	0,001871
D1-J15-POL2	JK	6	Cal	0,04110	0,9178	0,8425	0,8425	0,0378	9,499e-09
			Pred.	0,02076	0,9295	0,8299	0,9945	-0,004	-0,006023

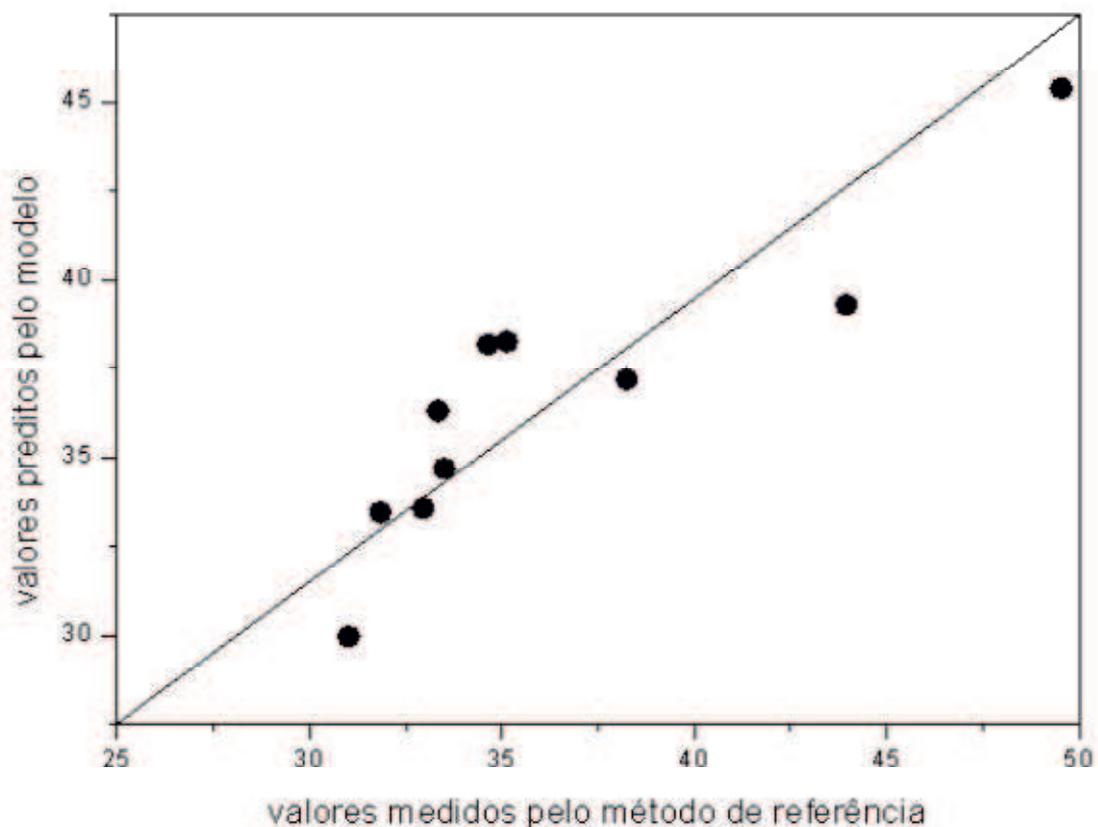
VL: Variáveis Latentes; **Cal:** Etapa de Calibração; **CV:** Validação Cruzada; **D1-J9-POL2:** 1ª Derivada-Janela de 9 Pontos-Polinômio de 2ª Ordem; **D1-J15-POL1:** 1ª Derivada-Janela de 15 Pontos-Polinômio de 2ª Ordem. **JK:** coeficientes Jack-Knife.

Fonte: Dados da pesquisa, 2018

Analisando as figuras de mérito como RMSE, r^2 , número de variáveis utilizadas, que descrevem a performance preditiva, o modelo D1-J15-POL2-JK foi confirmado como sendo o modelo mais adequado para a predição dos parâmetros de diâmetro e polidispersividade. Os modelos D1-J15-POL2 sem o coeficiente Jack-Knife apresentaram valores de RMSEC, RMSECV e RMSEP comparáveis aos apresentados pelo modelo D1-J15-POL2-JK, no entanto o primeiro apresenta um menor número de VL para a construção do modelo.

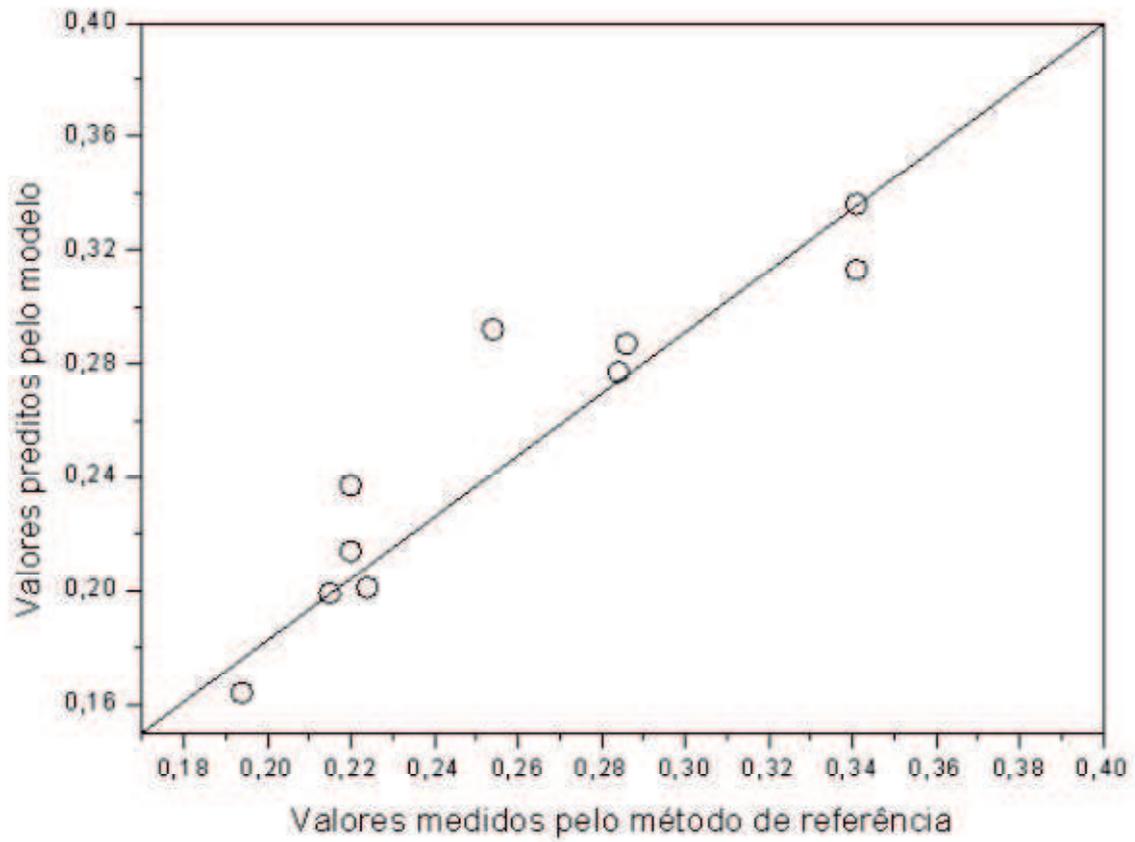
As Figuras 12 e 13 mostram os gráficos dos valores preditos pelo modelo versus valores medidos pelo método de referência para o diâmetro e polidispersividade, respectivamente, que demonstram a concordância do valor predito pelo modelo com os valores medidos pelo método de referência (DLS). Pode-se observar a distribuição aleatória das amostras em torno da bissetriz, o que mostra que não há tendências nos resultados.

Figura 12 - Gráfico dos valores preditos pelo modelo D1-J15-POL2 versus valores medidos pelo método de referência para o diâmetro.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018

Figura 13 - Gráfico dos valores preditos pelo modelo D1-J15-POL2-JK versus valores medidos pelo método de referência para a polidispersividade.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018

6 CONCLUSÃO

As metodologias de referência utilizadas para a caracterização das AgNPs, apesar de serem precisas, são técnicas laboriosas, e na sua maioria possuem um custo maior. Com isso a espectroscopia UV-Vis aliada a quimiometria surge como uma boa alternativa para a determinação de características como diâmetro e polidispersividade. Os modelos construídos com toda a faixa espectral de trabalho apresentaram uma melhor performance que os construídos com os coeficientes Jack-Knife, pois utilizaram um menor número de variáveis latentes. O erro obtido para a predição de diâmetro foi de 5,31% e em relação a polidispersividade o erro foi de 4,43%, sendo valores de erro aceitáveis em relação a variação dos valores de diâmetro e polidispersividade.

7 PERSPECTIVAS

- Ampliar o número de amostras de calibração e a variação dos parâmetros de interesse
- Avaliar o desempenho da espectroscopia no Infravermelho Próximo para a quantificação dos parâmetros estudados

REFERÊNCIAS

ALBERNAZ, V. L. **Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de *Brosimum gaudichaudii*, caracterização fisicoquímica, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico**. 2014. 121 f., il. Dissertação (Mestrado em Nanociência e Nanobiotecnologia)-Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

ALVES, A. L. **Particionamento de conjunto de dados e seleção de Variáveis em problemas de calibração multivariada**, 2017. 51 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção e Sistemas), Pontifícia Universidade Católica de Góias, 2017.

ARAUJO, M. C. U; SALDANHA T. C. B.; GALVAO, R. K. H.; YONEYAMA, T, C. H. A. M. E. H. C.; VISANI, V. The successive projections algorithm for variable selection in spectroscopic multicomponent analysis. **Chemom Intell Lab Syst.**, v. 57, n. 2, p. 65–73, 2001.

BAKER, C.; PRADHAN, A.; PAKSTIS, L.; POCHAN, D. J.; SHAH, S. I. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, v. 5, n. 2, p. 244-249, 2005.

BALLOTTIN, D. P. M. **Caracterização de nanopartículas de prata e sua aplicação na produção de tecidos antimicrobianos**. 2014. 202 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/248431>>. Acesso em: 02 jun. 2018.

BARANWAL, Anupriya et al. Design of commercially comparable nanotherapeutic agent against human disease-causing parasite, Leishmania. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 8814, 2018.

BARROS, C. H. N. D. **Síntese e caracterização de Nanopartículas de Prata: Estudo de Interações com Biomoléculas e Atividade Antimicrobiana**. 2017. 135 f. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade de São Paulo. 2017.

BECHTOLD, M. **Síntese e caracterização de nanopartículas de prata e aplicação como agente biocida em tinta poliuretânica hidrossolúvel**. 2011. 116 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina. 2011.

CHALMERS, J.; GRIFFITHS, P. **Handbook of Vibrational Spectroscopy. 5 volumes set**. Wiley, 2002. ISBN 0471988472.

CHAUDHRI, N.; SONI, G. C.; PRAJAPATI, S. Nanotechnology: an advance tool for nanocosmetics preparation. **International Journal of Pharma Research & Review**, v. 4, n. 4, p. 28-40, 2015.

CHEN, S.; CARROLL, D. L. Synthesis and characterization of truncated triangular silver nanoplates. **Nano letters**, v. 2, n. 9, p. 1003-1007, 2002.

CHEN, X.; SCHLUESENER, H. Nanosilver: a nanoparticle in medical application. **Toxicology letters**, v. 176, n. 1, p. 1-12, 2008.

DAHNEKE, Barton E. (Ed.). **Measurement of suspended particles by quasi-elastic light scattering**. John Wiley & Sons, 1983.

DIALETACHI, E. L. G. **Espalhaento Dinâmico de Luz em Sistemas Coloidais Diluídos**. 2017. 165 f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo. 2017.

ERNI, R.; ROSSELL, M. D.; KISIELOWSKI, C.; et al. Atomic-resolution imaging with a sub50-pm electron probe. **Phys Rev Lett**, 2009, 102, 09610110961014.

ESCÁRCEGA-GONZÁLEZ, Carlos Enrique et al. In vivo antimicrobial activity of silver nanoparticles produced via a green chemistry synthesis using *Acacia rigidula* as a reducing and capping agent. **International journal of nanomedicine**, v. 13, p. 2349, 2018.

FABREGA, J.; LUOMA, S. N.; TYLER, C. R.; GALLOWAY, T. S.; LEAD, J. R. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. **Environment international**, v. 37, n. 2, p. 517-531, 2011.

FERREIRA, M.; RÓZ, A.; LEITE, F.; NOVAIS, O. **Nanoestruturas**. [S. l.]: Elsevier Brasil, 2016. ISBN 8535280928.

GALVÃO RKH, ARAUJO MCU, JOSÉ GE, PONTES MJC, SILVA EC, SALDANHA TCB. A method for calibration and validation subset partitioning. **Talanta**, v. 67, n. 4, p. 736-40, 2005.

GOMES, A. de A. **Algoritmo das projeções sucessivas aplicado à seleção de variáveis em regressão PLS**. 2012. 121 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

GUIMARÃES, P. Q. **Metodologia baseada em NIRS e Quimiometria para a determinação de parâmetros de qualidade da quitosana para fins biomédicos**. 2017. 75f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química - PPGQ) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.

HAISS, Wolfgang et al. Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV–Vis spectra. **Analytical chemistry**, v. 79, n. 11, p. 4215-4221, 2007.

HE, H.; TAO, G.; WANG, Y.; CAI, R.; GUO, P.; CHEN, L.; ZUO, H.; ZHAO, P.; XIA, Q. In situ green synthesis and characterization of sericin-silver nanoparticle composite with effective antibacterial activity and good biocompatibility. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 80, p. 509-516, 2017.

HONG, L.; CHEUNG, T.-L.; RAO, N.; OUYANG, Q.; WANG, Y.; ZENG, S.; YANG, C.; CUONG, D.; CHONG, P. H. J.; LIU, L. Millifluidic synthesis of cadmium sulfide nanoparticles and their application in bioimaging. **RSC Advances**, v. 7, n. 58, p. 36819-36832, 2017.

IRFAN, M.; MONIRUZZAMAN, M.; AHMAD, T.; MANDAL, P. C.; BHATTACHARJEE, S.; ABDULLAH, B. Ionic liquid based extraction of flavonoids from *Elaeis guineensis* leaves and their applications for gold nanoparticles synthesis. **Journal of Molecular Liquids**, v. 241, p. 270-278, 2017.

JAGADEESH, R. V.; MURUGESAN, K.; ALSHAMMARI, A. S.; NEUMANN, H.; POHL, M.-M.; RADNIK, J.; BELLER, M. MOF-derived cobalt nanoparticles catalyze a general synthesis of amines. **Science**, v. 358, n. 6361, p. 326-332, 2017.

JIN, R.; CAO, Y.; MIRKIN, C. A.; KELLY, K.; SCHATZ, G. C.; ZHENG, J. Photoinduced conversion of silver nanospheres to nanoprisms. **Science**, v. 294, n. 5548, p. 1901-1903, 2001.

JOHNSON, R.; WICHERN, D. **Applied Multivariate Statistical Analysis**. 6. ed. [S.l.]: Pearson New International Edition, 2014.

Grangeiro Júnior, S. **Aplicação de métodos quimiométricos em análises de formas farmacêuticas sólidas lamivudina (3TC) + Zidovudina (AZT) baseados na espectrofotometria de absorção na região do Ultravioleta e do infravermelho próximo**. 2011. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

KASSAEI, M.; AKHAVAN, A.; SHEIKH, N.; SODAGAR, A. Antibacterial effects of a new dental acrylic resin containing silver nanoparticles. **Journal of applied polymer science**, v. 110, n. 3, p. 1699-1703, 2008.

KHARAGHANI, Davood et al. Electrospun antibacterial polyacrylonitrile nanofiber membranes functionalized with silver nanoparticles by a facile wetting method. **European Polymer Journal**, v. 108, p. 69-75, 2018.

KHLEBTSOV, Nikolai G. Determination of size and concentration of gold nanoparticles from extinction spectra. **Analytical chemistry**, v. 80, n. 17, p. 6620-6625, 2008.

MEHENNAOUI, Kahina et al. Do the pristine physico-chemical properties of silver and gold nanoparticles influence uptake and molecular effects on *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda) **Science of The Total Environment**, v. 643, p. 1200-1215, 2018.

MILANEZ, D. H. **Nanotecnologia**: indicadores tecnológicos sobre os avanços em materiais a partir da análise de documentos de patentes. 2011. 208 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

MOCANU, Aurora et al. New procedure to synthesize silver nanoparticles and their interaction with local anesthetics. **International journal of nanomedicine**, v. 8, p. 3867, 2013.

MORENO-MARTIN, G.; LEÓN-GONZALEZ, M. E.; MADRID, Y. Simultaneous determination of the size and concentration of AgNPs in water samples by UV-Vis spectrophotometry and chemometrics tools. **Talanta**, 2018.

MOU, Yun et al. Fabrication of highly conductive and flexible printed electronics by low temperature sintering reactive silver ink. **Applied Surface Science**, v. 459, p. 249-256, 2018.

NEŠOVIĆ, Katarina et al. Silver/poly (vinyl alcohol)/chitosan/graphene hydrogels—Synthesis, biological and physicochemical properties and silver release kinetics. **Composites Part B: Engineering**, v. 154, p. 175-185, 2018. New York: Wiley, 1983.

OTARI, S. V. et al. Green phytosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of Manilkara zapota (L.) seeds and its inhibitory action against Candida species. **Materials Letters**, v. 116, p. 367-369, 2014.

PACIONI, N. L.; BORSARELLI, C. D.; REY, V.; VEGLIA, A. V. Synthetic routes for the preparation of silver nanoparticles. In: (Ed.). **Silver nanoparticle applications**: Springer, 2015. p. 13-46.

PULIT-PROCIAK, Jolanta et al. Incorporation of Metallic Nanoparticles into Cosmetic Preparations and Assessment of Their Physicochemical and Utility Properties. **Journal of Surfactants and Detergents**, 2018.

PULIT-PROCIAK, Jolanta et al. Incorporation of Metallic Nanoparticles into Cosmetic Preparations and Assessment of Their Physicochemical and Utility Properties. **Journal of Surfactants and Detergents**, 2018.

RABBANI, Faride; NEZHAD, Mohammad Reza Hormozi; ABDOLLAHI, Hamid. Useful multivariate kinetic analysis: Size determination based on cystein-induced aggregation of gold nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 115, p. 588-594, 2013.

RODRIGUES, J. F. B.; OLIVEIRA, M. R. P.; FOOK, M. V. L.; BARBOSA, R. C.; SANTOS, K. O.; SILVA, R. N.; BARRETO, G. B. C.; SOARES, C. R. D. M. Silver Nanoprismas Production Optimization by Using Fatorial Design. **Biological and Chemical Research**, v. 3, n. 10, p. 8, 2016.

ROSA, P. D. F.; AGUIAR, M. L.; BERNARDO, A. Elimination of evaluation of bioaerosols in mesh filter modified with silver nanoparticles. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 21, n. 4, p. 747-752, 2016.

SHAO, Baoyi et al. Nanogapped Au (core)@ Au-Ag (shell) structures coupled with Fe₃O₄ Magnetic nanoparticles for the detection of Ochratoxin A. **Analytica Chimica Acta**, 2018.

SIMÕES, S. S. **Desenvolvimento de métodos validados para a determinação de captopril usando espectrometria NIR e calibração multivariada**. 2008. 83 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

SINGH, Hina et al. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by Pseudomonas sp. THG-LS1. 4 and their antimicrobial application. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 2018.

TAŞKIRAN, Fahriye; UZUNOĞLU, Deniz; ÖZER, Ayla. BIOSYNTHESIS, CHARACTERISATION AND DETERMINATION OF ADSORBENT PROPERTIES OF SILVER NANOPARTICLES WITH CYPRUS ACACIA (Acacia cyanophylla) LEAF EXTRACT. **Anadolu Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi A-Uygulamalı Bilimler ve Mühendislik**, v. 18, n. 3, p. 733-745.

TOMASZEWSKA, Emilia et al. Detection limits of DLS and UV-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids. **Journal of Nanomaterials**, v. 2013, p. 60, 2013.

TONDA-TURO, Chiara et al. Nanostructured scaffold with biomimetic and antibacterial properties for wound healing produced by 'green electrospinning'. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 172, p. 233-243, 2018.

UV-Vis spectra. **Analytical chemistry**, v. 79, n. 11, p. 4215-4221, 2007.

VALDERRAMA, P. **Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle de qualidade em indústria alcooleira por espectroscopia no infravermelho próximo**. 2005. 119 f. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 2005.

XUAN, X. et al. A highly stretchable and conductive 3D porous graphene metal nanocomposite based electrochemical-physiological hybrid biosensor. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 120, p. 160-167, 2018.

ZAHED, Fatemeh Modarres et al. Silver nanoparticles decorated polyaniline nanocomposite based electrochemical sensor for the determination of anticancer drug 5-fluorouracil. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 161, p. 12-19, 2018.