

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS

ARI RIBEIRO JUNIOR

INSTRUMENTAÇÃO PARA SAXS E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA PRODUZIDAS POR SÍNTESE BIOGÊNICA

CURITIBA

2022

ARI RIBEIRO JUNIOR

INSTRUMENTAÇÃO PARA SAXS E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA PRODUZIDAS POR SÍNTESE BIOGÊNICA

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
como requisito parcial à obtenção do título de  
Licenciado em Física, Setor de Ciências Exatas,  
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Guinther Kellermann

CURITIBA

2022

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**ARI RIBEIRO JUNIOR**

### **INSTRUMENTAÇÃO PARA SAXS E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PRODUZIDAS POR SÍNTESE BIOGÊNICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Licenciado em Física, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

---

**Prof. Dr. Guinther Kellermann**  
**Orientador**

---

Prof. Dr. Fabiano Yokaichiya  
UFPR

---

Prof. Dr. Celso de Araujo Duarte  
UFPR

Curitiba, 19 de Setembro de 2022.

## RESUMO

Este trabalho tem como objetivos: (i) projetar e construir um arranjo experimental que permitirá estudos através da técnica de espalhamento de raios X a baixo ângulo (conhecida como SAXS do inglês *small-angle x-ray scattering*) e (ii) a análise de curvas de intensidade de SAXS de nanopartículas de prata produzidas por síntese biogênica. Foram projetados os suportes que permitirão a adaptação de uma fonte de raios X e um detetor sensível à posição de área a uma bancada com mesa de granito onde a instrumentação será instalada. Também foram projetados: um sistema de colimação do feixe de raios X primário, um suporte para porta-amostras e câmaras de vácuo que serão dispostas entre a amostra e o detetor. Para o sistema de colimação foram projetados um par de obturadores de tântalo com aberturas circulares espaçadas por cerca de 50 cm que irão definir o diâmetro da seção reta do feixe. Parafusos micrométricos serão utilizados para a centralização das aberturas do colimador no centro do feixe. O suporte do porta amostras foi projetado de modo a permitir a adaptação de diferentes tipos de porta-amostras indo desde sistemas para estudo de líquido até fornos de tratamento térmico para estudos in situ. As câmaras de vácuo entre a amostra e o detetor serão formadas por diversos módulos tubulares que poderão ser colocados em série em diferentes disposições, permitindo variar a distância amostra-detetor de 30 em 30 cm desde uma distância mínima de 30 cm até cerca de 170 cm. Isso permitirá a medição da intensidade espalhada de amostras contendo nanopartículas com diferentes valores de tamanho. Essas câmara terão janelas de Kapton® para permitir a passagem dos raios X. Sua utilização é necessária para minimizar o espalhamento dos raios X pelo ar. Na segunda etapa do trabalho foi realizada a análise de curvas de SAXS produzidas por nanopartículas de prata obtidas por síntese biogênica. Foram estudadas quatro diferentes amostras onde as nanopartículas foram produzidas pelo fungo *Trichoderma harzianum* em solução contendo nitrato de prata exposto e não exposto ao fungo fitopatogênico *sclerotinia sclerotiorum*. Parte das amostras foi submetida a remoção da capa externa orgânica que recobria as nanopartículas. Os resultados indicaram uma diminuição significativa na fração em volume e no número de nanopartículas de prata capeadas quando as amostras foram expostas ao fungo patogênico. Verificou-se ainda que o processo utilizado na remoção da capa orgânica resultou na remoção de uma fração significativa das nanopartículas menores.

**Palavras-chaves:** Instrumentação; SAXS; Nanopartículas de prata biogênicas.

## ABSTRACT

This work aims to: (i) design and build an experimental arrangement that will allow us to investigate the low-resolution structure of nanoparticles using the small-angle X-ray scattering technique (SAXS) and (ii) the analysis of SAXS intensity curves of silver nanoparticles produced by a biogenic synthesis method. Mechanic holders were designed to allow the adaptation of an X-ray source and a 2D position-sensitive detector to a vibration-free stable granite bench on which the instrumentation will be installed. We also designed a system for X-ray beam collimation, sample-holder stages, and vacuum chambers that will be placed between the sample and the detector. For the collimation system, a pair of tantalum plates with circular openings spaced apart about 50 cm were designed. This device will be used to define the cross-section diameter of the X-ray beam. Micrometric screws will be used to center the collimator openings in the center of the beam. The sample-holder stage was designed to allow the adaptation of different types of sample holders, ranging from systems for studying liquids to heat treatment furnaces for in situ studies. The vacuum chambers that will be placed between the sample and the detector will be formed by several tubular modules that can be placed in series in different arrangements, allowing us to vary the sample-to-detector distance by discrete amounts of 30 cm from a minimum distance of 30 cm to about 170 cm. This will allow us to measure the scattered intensity of samples containing nanoparticles with different size values ranging from a few to hundreds of nanometers. These chambers will have Kapton® windows to allow the passage of X-rays. Their use is necessary to minimize the scattering of X-rays by the air. In the second stage of the work, the analysis of SAXS curves produced by silver nanoparticles obtained by biogenic synthesis was performed. Four different samples were studied. The nanoparticles were produced by the fungus *Trichoderma harzianum* in aqueous solutions containing silver nitrate as a precursor for the silver nanoparticles. Some of the samples were exposed to the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* responsible for the white mold. After preparation, a fraction of the samples was submitted to physico-chemical processes to remove the organic outer layer covering the nanoparticles. The results indicated a significant decrease in the volume fraction and number of silver nanoparticles in the samples exposed to the pathogenic fungus. It was also verified that the process used to remove the organic layer resulted in the removal of a significant fraction of the smaller nanoparticles.

**Key-words:** instrumentation; SAXS; Biogenic silver nanoparticles

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>7</b>
1.1	A NANOTÉCNOLOGIA	7
1.2	NANOPARTÍCULAS DE PRATA	8
1.3	SÍNTESE BIOGÊNICA	8
1.4	OBJETIVOS	9
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>10</b>
2.1	OS RAIOS X	10
2.2	ESPALHAMENTO DE RAIOS X A BAIXO ÂNGULO	10
2.2.1	Princípios do espalhamento de raios X a baixo ângulo	10
2.2.2	Espalhamento de raios X por um elétron	11
2.2.3	Espalhamento de raios X por um átomo	11
2.2.4	Espalhamento por uma nanopartícula com distribuição de densidade eletrônica conhecida	12
2.2.5	Sistema de partículas com mesma forma e diferentes tamanhos	12
2.2.6	Lei de Porod	13
2.2.7	Lei de Guinier	14
<b>3</b>	<b>DESENVOLVIMENTO</b>	<b>15</b>
3.1	INSTRUMENTAÇÃO PARA ESTUDOS POR SAXS	15
3.1.1	Estrutura geral e componentes de uma instrumentação de SAXS	15
3.1.2	Dispositivos comerciais a serem adaptados	17
3.1.2.1	Microfonte de raios X	17
3.1.2.2	Detetor de raios X sensível a posição 2D	18
3.1.3	Acessórios e dispositivos projetados	20
3.1.3.1	Trilhos ópticos e base de granito	20
3.1.3.2	Suporte do trilho e garras deslizantes	20
3.1.3.3	Suporte da microfonte de raios X	21
3.1.3.4	Colimador	22
3.1.3.5	Suporte do porta amostra	22
3.1.3.6	Caminho de vácuo	23
3.1.3.7	Suporte do detetor de raios X	24
3.1.4	Instrumentação completa	25
3.2	ESTUDO POR SAXS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PRODUZIDAS PELA ROTA BIOGÊNICA <i>TRICHODERMA HARZIANUM</i>	26
3.2.1	Subtração da contribuição da água	27
3.2.2	Raios de giro	27
3.2.3	Distribuição em volumes e em raios	28
3.2.4	Distribuição dos Raios, número de nanopartículas, raio médio e dispersão em tamanho	30

3.2.5	Comparação dos resultados . . . . .	30
4	<b>CONCLUSÕES</b> . . . . .	32
	<b>REFERÊNCIAS</b> . . . . .	33

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 A NANOTECNOLOGIA

A nanotecnologia pode ser definida como a ciência e engenharia que projeta, sintetiza, caracteriza e aplica materiais e dispositivos que utilizam partículas com dimensões nanométricas, ou seja, cujas dimensões são da ordem de bilionésimo do metro (SAHOO et al., 2007). Ela envolve a produção e a aplicação em sistemas físicos, químicos e biológicos em escalas que variam de aglomerados formados por uns poucos átomos até objetos com uma de suas dimensões tendo até cerca de 100 nanômetros (BASTOS, 2006). Para produzir materiais na escala nanométrica pode se dizer que existem dois métodos gerais, o “de baixo para cima” que consiste em tentar construir a partir de seus componentes básicos (ou seja, seus átomos e moléculas) e o “de cima para baixo” que envolvem a obtenção de nanomateriais a partir de matérias que inicialmente se apresentam com dimensões macroscópicas, como a moagem e corrosão por agentes químicos, por exemplo (PIMENTA, 2004). Ambos os métodos necessitam de procedimentos precisos e controlados para se obter o resultado desejado.

A pesquisa e os desenvolvimentos na nanotecnologia têm crescido muito nos últimos anos, principalmente nas áreas de consumo e aplicações industriais como acelerômetros e sensores de pressão, por exemplo. Sua aplicação na medicina também tem um grande potencial através da possibilidade de funcionalização de macromoléculas para carregamento de drogas seletivamente até as células tumorais, tornando os tratamentos menos "tóxicos", pois os medicamentos atuam diretamente nas áreas afetadas pelas doenças. Na agricultura temos uma aplicação similar com a incorporação de nanosensores e nanocatalisadores capazes de monitorar e acelerar o diagnóstico de doenças nas plantas. Também se tem um aumento na eficiência e na aplicação dos pesticidas, herbicidas e fertilizantes (JESUS, 2012). Em termos de produtos tecnológicos a maior motivação da pesquisa em nanotecnologia é a possibilidade de que objetos e artefatos na escala nanométrica venham a ser reunidos em dispositivos cada vez menores, aumentando assim a compactação e sua capacidade para o processamento de informações (PIMENTA, 2004). Apesar de parecer distante, já existem mais de 1800 produtos de consumo que possuem nanopartículas (SHARMA et al., 2019). Em vista do grande potencial da nanotecnologia, em 2001 o Brasil criou a Iniciativa Brasileira em Nanotecnologia (IBN) com o intuito de criar uma rede de pesquisas onde hoje possui parcerias com vários países como os Estados Unidos e China (BASTOS, 2006). Assim, a nanotecnologia já movimentou bilhões de dólares, atraindo cada vez mais investidores e incentivando a pesquisa na área.

## 1.2 NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Dentre as áreas de pesquisa da nanotecnologia temos a que envolve as nanopartículas metálicas (NPMs), alguns metais mudam suas propriedades físico-químicas na forma nanométrica em parte devido ao aumento da sua área superficial, um exemplo é o ouro que apesar de ser um material relativamente inerte do ponto de vista químico pode se tornar bastante reativo quando transformado em nanopartículas (PIMENTA, 2004), dentre as propriedades mais afetadas pela miniaturização então as ópticas e as magnéticas, assim, as nanopartículas metálicas possuem inúmeras aplicações como por exemplo as nanopartículas de prata (AgNPs) objeto de estudo deste trabalho, elas possuem boa condutividade, elevado efeito catalítico, grande área superficial e excelente atividade antimicrobiana (HAMMES, 2020).

As principais aplicações das nanopartículas de prata são devido a sua característica de controle biológico, elas possuem um grande potencial em reduzir infecções, prevenir a colonização bacteriana em superfícies de prótese, em cateteres e materiais odontológicos, assim como também podem ser aplicadas na indústria de alimentos, no tratamento de água e na fabricação de tintas antibacterianas (PAULA, 2009). O seu efeito antimicrobiano é devido à interação com proteínas compostas de enxofre nas células, bem como com os compostos contendo fósforo como o DNA, as nanopartículas de prata também se caracterizam por se situar em um intervalo de tamanho entre 1nm e 100nm (GRAF et al., 2003).

## 1.3 SÍNTESE BIOGÊNICA

Um dos meios de produção de nanopartículas metálicas mais comum é por redução química de sais que dependem de vários tipos de agentes estabilizadores podendo alguns serem tóxicos e de grande custo. Dentre vários outros métodos para essa finalidade, um que se destaca é o que utiliza rotas biogênicas envolvendo microrganismos como bactérias e fungos (SILVA, 2019). Este processo é mais vantajoso pois as NPs biológicas são mais estáveis e compatíveis com tecidos biológicos, além do processo de produção ser mais barato e não necessitar o uso de produtos tóxicos para a sua produção. Na biossíntese de NPMs por um fungo, seu micélio é exposto à solução de sal metálico levando o fungo a produzir enzimas e metabólitos para sua própria sobrevivência. Neste processo, os íons metálicos são reduzidos a nanopartículas sólidas metálicas através do efeito catalítico da enzima extracelular e metabólitos do fungo (ELAMAWI et al., 2018).

No caso das nanopartículas de prata, um dos maiores problemas é a estabilidade. Isso porque quanto menor a nanopartícula, maior a sua área superficial total, favorecendo o processo de agregamento em partículas maiores através das ligações

metal-metal, o que não é desejável (KLABUNDE, 2001). Em processos químicos é necessário a adição de agentes estabilizadores para se ligarem e envolverem a superfície das nanopartículas. Essa camada evita a formação de ligações entre elas (NOGUEIRA, 2012).

Já na síntese biogênica temos a criação de um recobrimento natural nas nanopartículas, este capeamento é composto por biomoléculas e outros compostos do metabolismo do fungo ou de outro agente biológico, como enzimas, aminoácidos, proteínas extracelulares e metabólitos secundários. Além deste processo aumentar a estabilidade do composto ele também o torna mais compatível com tecidos biológicos, esta característica a torna adequada para aplicações nas áreas de saúde, agricultura e meio ambiente. A síntese que será analisada neste trabalho é a *Trichoderma harzianum*, este é um fungo filamentosso microparasitário muito utilizado como agente de controle biológico contra fitopatógenos que afetam a produção de diversas espécies vegetais de importância agrícola. Seu principal mecanismo de ação é pelo crescimento de hifas e liberação de enzimas hidrolíticas que degradam a parede celular do fungo alvo. Resultados obtidos das AgNPs obtidas por esta síntese mostraram que as amostras capeadas são mais eficazes contra o fungo *S. sclerotiorum* em relação às não capeadas (GUILGER CASAGRANDE et al., 2021).

#### 1.4 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são: (i) apresentar o projeto inicial de uma instrumentação para estudos por espalhamento de raios X a baixo ângulo (do inglês *small angle X-ray scattering - SAXS*) com a finalidade de mostrar os seus componentes e condições adequadas (ii) a aplicação da técnica de SAXS na caracterização estrutural de 4 amostras de nanopartículas de prata produzidas pela rota biogênica do fungo *Trichoderma harzianum*, o filtrado do fungo foi submetido a 4 processos diferentes: (1) amostra capeada e sintetizada com a parede celular estimulada por um fungo fitopatogênico (2) amostra capeada sem estímulo (3) amostra não capeada e sintetizadas com a parede celular estimulada por um fungo fitopatogênico e (4) amostra não capeada sem estimulação. A caracterização estrutural deverá permitir que determinemos o número de partículas, fração em volume, raio médio, raio de giro e dispersão relativas em tamanho das nanopartículas nos diferentes tratamentos.

Este trata-se de um estudo em colaboração com o Prof. Fabiano Yokaichiya da UFPR (Universidade Federal do Paraná) e Prof. Renata Lima da UNISO (Universidade de Sorocaba), o objetivo geral do trabalho é investigar a importância do capeamento comparando os efeitos de nanopartículas biogênicas de prata capeadas e não capeadas sintetizadas usando o filtrado de *Trichoderma harzianum* contra o fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* (mofo branco).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 OS RAIOS X

A descoberta dos raios X se deu a partir de experimentos com os “tubos catódicos” que eram tubos de vidro dos quais se fazia vácuo e que continham terminais metálicos onde era aplicado uma diferença de potencial gerando uma corrente elétrica entre eles. Foi observada a emissão de raios conhecidos como “catódicos” pois eram provenientes do cátodo dos tubos. Estes raios eram compostos por pequenas partículas carregadas negativamente que seriam então conhecidas como elétrons. O físico alemão Wilhelm Conrad Röntgen passou a estudar as propriedades destes raios catódicos e em 1895 passou a observar a radiação que chamaria de raios X, sendo conhecido como o primeiro pesquisador dos raios X (SASAKI, 2000). O método mais comum para produzir raios X é fazendo com que elétrons de alta energia colidam com um alvo metálico, processo que pode levar à emissão de fótons de raios X.

Desde a sua descoberta no final do século XIX por Wilhelm os raios X têm sido exaustivamente pesquisados. A área mais conhecida de aplicação é na medicina, onde imagens geradas pelo contraste de absorção, chamadas radiografias, tornam possível identificar doenças respiratórias. Mas esta é apenas uma pequena parte das grandes possibilidades que os raios X apresentam, dentre elas podemos citar o fenômeno de difração. O estudo da difração de raios X em estruturas cristalinas se deu com Laue a partir de 1912. Na época já se sabia o modelo teórico dos cristais, que consistia num arranjo periódico de átomos em três dimensões com distâncias de espaçamento da ordem de  $10^{-8}$ cm. Laue percebeu que esta é a mesma ordem do comprimento de onda dos raios X e foi o primeiro a fazer experimentos que detectaram o fenômeno. Posteriormente ele formulou uma teoria para a difração de raios X, e ainda em 1912 ganhou o prêmio Nobel de Física (SASAKI, 2000).

### 2.2 ESPALHAMENTO DE RAIOS X A BAIXO ÂNGULO

#### 2.2.1 Princípios do espalhamento de raios X a baixo ângulo

Os raios X são ondas eletromagnéticas que sofrem espalhamento em maior parte devido à interação com os elétrons da estrutura atômica. O espalhamento de raios X a baixo ângulo (*SAXS*, do inglês *small angle X-ray scattering*) caracteriza-se por estar no intervalo entre  $0,1^\circ$  e  $5^\circ$ . Estes são os ângulos formados entre o feixe de raios X primário e os feixes espalhados. Nos experimentos de *SAXS* o feixe primário é colimado e formado por fótons que possuem aproximadamente a mesma energia (feixe monocromático). No caso da técnica de *SAXS* fazemos uso do chamado espalhamento

Thompson, que se constitui no espalhamento elástico dos raios X (ou seja, a energia dos fótons espalhados é igual a energia dos fótons incidentes). O espalhamento é devido a interferência das ondas espalhadas pela distribuição de elétrons localizados em diferentes partes da nanopartícula.

Note-se que de forma mais geral, quando os raios X interagem com a matéria também pode ocorrer o chamado espalhamento Compton, no qual existe perda da energia dos fótons. Contudo esse espalhamento é menos importante no caso das energias dos fótons de raios X comumente utilizados nos experimentos de SAXS (5-12 keV).

Ao serem espalhados pelos elétrons temos origem à curva de intensidade em função do ângulo de espalhamento. A partir da forma dessa curva se pode, em certos casos, determinar a forma ou a distribuição em tamanho das partículas presentes na amostra irradiada. Por ter uma característica não destrutiva, essa técnica é amplamente utilizada na caracterização de amostras contendo nanopartículas com dimensões na faixa entre 1nm até 100nm, dependendo das características da instrumentação utilizada. Podem ainda ser determinados os valores do tamanho médio, densidade numérica e fração em volume que as nanopartículas ocupam na amostra.

### 2.2.2 Espalhamento de raios X por um elétron

A intensidade espalhada elasticamente por um elétron ( $I_e$ ) é dada pela equação de Thompson:

$$I_e(2\theta) = I_p \cdot 7,90 \cdot 10^{-26} \cdot \frac{1}{a^2} \cdot \frac{1 + 2\theta}{2}, \quad (2.1)$$

onde  $I_p$  é a intensidade do feixe primário,  $a$  é a distância amostra-detetor e  $2\theta$  é o ângulo que o feixe espalhado faz com o feixe primário. O fator numérico nessa equação corresponde ao quadrado do raio clássico do elétron.

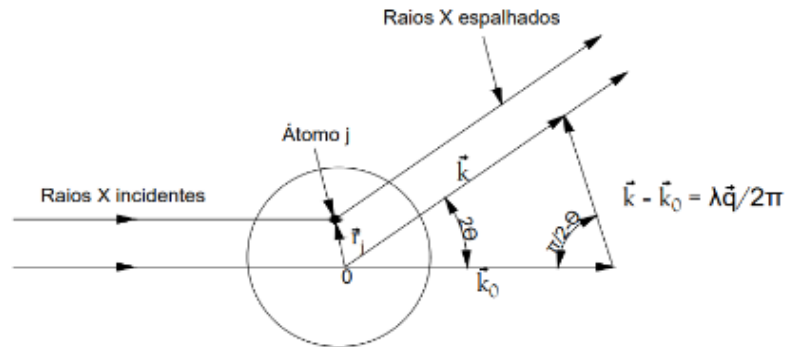
### 2.2.3 Espalhamento de raios X por um átomo

Neste estudo será considerado apenas o espalhamento coerente elástico. A amplitude da radiação elasticamente espalhada ( $A_j$ ) na direção do vetor unitário  $\vec{k}$  por um átomo na posição definida pelo vetor  $r_j$  é dada por: (GUINIER et al., 1955)

$$A_j = A_e f_j e^{-\frac{2i\pi}{\lambda}(\vec{k}-\vec{k}_0)\cdot r_j}, \quad (2.2)$$

onde  $A_e$  é a amplitude espalhada por um elétron para as mesmas condições;  $f_j$  é o fator de estrutura do átomo;  $\vec{k}_0$  é o vetor unitário de mesma direção e sentido do feixe incidente; e  $\lambda$  é o comprimento de onda da radiação incidente. A FIGURA 1 mostra as respectivas relações geométricas para o caso dos raios X serem espalhados por um único elétron.

FIGURA 1 – GEOMETRIA DO ESPALHAMENTO DOS RAIOS X CAUSADO POR UM ELÉTRON.



O ponto 0 é uma origem arbitrária para mostrar a diferença de caminho dos feixes incidentes e espalhados. A relação  $(2\pi/\lambda)(\vec{k} - \vec{k}_0)$  é conhecida como vetor de espalhamento  $\vec{q}$ , onde seu módulo é dado por:

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta \quad (2.3)$$

#### 2.2.4 Espalhamento por uma nanopartícula com distribuição de densidade eletrônica conhecida

Se a densidade eletrônica numa dada partícula  $\rho(\vec{r})$  é conhecida, a amplitude de espalhamento pode ser calculada a partir da equação:

$$A = \int [\rho(\vec{r}) - \rho_0] e^{-i\vec{q}\cdot\vec{r}} d\vec{r}, \quad (2.4)$$

onde a intensidade de espalhamento pode ser obtida multiplicando a amplitude de espalhamento pelo seu complexo conjugado.

#### 2.2.5 Sistema de partículas com mesma forma e diferentes tamanhos

Assumindo que os sistemas de nanopartículas a serem estudados possuem mesma forma e diferentes tamanhos<sup>1</sup> atribui-se um parâmetro  $D$  para se caracterizar o tamanho da partícula. Assim a função contínua  $N(D)dD$  representa a quantidade de partículas de tamanho entre  $D$  e  $D + dD$ . Se o sistema de nanopartículas for diluído, ou seja a quantidade de nanopartículas por unidade de volume é pequena, a intensidade dos raios X espalhados é dada por:

$$I(q) = (q, D)N(D)dD \quad (2.5)$$

<sup>1</sup> Já foram verificadas via microscopia eletrônica que as AgNPs estudadas possuem forma esférica (GUILGER et al., 2017).

Para o caso de partículas esféricas com densidade eletrônica  $\rho_p$  imersas em um meio homogêneo de densidade eletrônica  $\rho_0$  onde  $D$  representa o raio  $R$  de cada esfera, a equação para a intensidade total pode ser escrita como:

$$I(q) = I_e(\rho_p - \rho_0)^2 \left(\frac{4\pi^2}{3}\right) \int_{R_{min}}^{R_{max}} \left[3 \frac{\sin(qR) - qR \cos(qR)}{(qR)^3}\right]^2 R^6 N(R) dR, \quad (2.6)$$

onde  $I_e$  é a intensidade espalhada por um elétron para as mesmas condições em que amostra foi estudada (mesma posição e sob mesma intensidade de feixe incidente),  $N(R)dR$  é a função que descreve o número de partículas com raio entre  $R$  e  $R + dR$  ( $N(R)$  sendo a função distribuição de raios) e

$$[\phi(qR)]^2 = \left[3 \frac{\sin(qR) - qR \cos(qR)}{(qR)^3}\right]^2, \quad (2.7)$$

é a função que descreve a intensidade de espalhamento de uma partícula esférica de raios  $R$  em função do módulo do vetor de espalhamento  $q$ . Utilizando métodos numéricos, a função na equação 2.6 pode ser ajustada à curva experimental de SAXS para se encontrar a função  $N(R)$ . A partir dessa função podemos então determinar alguns parâmetros estruturais do sistema de partículas, tais como: a densidade numérica  $n$ , o raio médio  $\langle R \rangle$  e a dispersão relativa em tamanho  $\frac{\sigma_R}{\langle R \rangle}$  das nanopartículas. Os valores são obtidos, respectivamente, a partir das relações:

$$n = \left(\frac{1}{V}\right) \int_{R_{min}}^{R_{max}} N(R) d(R), \quad (2.8)$$

$$\langle R \rangle = \frac{\int_{R_{min}}^{R_{max}} N(R) d(R)}{n} \quad (2.9)$$

e

$$\frac{\sigma_R}{\langle R \rangle} = \frac{\sqrt{\frac{\int_{R_{min}}^{R_{max}} (R - \langle R \rangle)^2 N(R) dR}{n}}}{\langle R \rangle} \quad (2.10)$$

Nas equações acima  $R_{min}$  e  $R_{max}$  representam os valores do raio mínimo e raio máximo das nanopartículas.

## 2.2.6 Lei de Porod

Para altos valores de  $q$  há pouca contribuição da característica estrutural para o espalhamento. Nesta região os valores do módulo do vetor de espalhamento são bem maiores que o inverso do tamanho médio das partículas que causam o espalhamento.

Segundo Porod (POROD, 1951) quando  $q \rightarrow \infty$  o produto  $I(q)q^4$  tende a uma constante que é proporcional à superfície total da interface nanopartículas/meio,  $S$ . Para essa região da curva de SAXS a intensidade espalhada tem a forma dada por:

$$I(q) \approx \frac{2\pi I_e (\Delta\rho)^2 S}{q^4} \quad (q \rightarrow \infty) \quad (2.11)$$

Essa equação é conhecida como lei de Porod. Para que ela seja válida é requerido ainda que a interface entre a partícula e o meio varie de forma abrupta. Na prática se observa uma relação linear entre  $I(q)q^4$  e  $q^4$  que pode ser escrita como:

$$q^4 I_{total} = q^4 BG + k \quad (q \rightarrow \infty), \quad (2.12)$$

onde  $k = 2\pi I_e (\Delta\rho)^2 S$  é a constante de Porod ( $\Delta\rho$  correspondendo à diferença de densidade eletrônica entre a partícula e o meio onde ela está embebida) e  $BG$  (*back ground*) é um valor constante, que pode corresponder à contribuição para a intensidade total devida à flutuações de densidade eletrônica do meio onde as nanopartículas estão embebidas. Ao se determinar o valor de  $BG$  pela relação linear dada na equação 2.12 podemos subtraí-lo da intensidade total medida e assim obter apenas o espalhamento causado pelas nanoestruturas presentes na amostra.

### 2.2.7 Lei de Guinier

No outro extremo da curva de intensidade, quando temos baixos valores de  $q$ , entramos na chamada região de Guinier. No caso de sistemas formados por partículas idênticas a intensidade de SAXS na região de Guinier é dada por (GUINIER, 1939):

$$I(q) = I_0 e^{-\frac{(R_g q)^2}{3}} \quad (q \rightarrow 0), \quad (2.13)$$

onde  $R_g$  é o raio de giro, que é um parâmetro geométrico da partícula que não depende de qualquer suposição da sua forma, e  $I_0$  é a intensidade de SAXS extrapolada para  $q = 0$ . Para partículas com forma aproximadamente esférica o valor máximo de  $q$  para o qual a lei de Guinier continua sendo válida é  $q = \frac{1,3}{R_g}$ . A equação 2.13 pode ser linearizada tomando  $\ln[I(q)] \times q^2$ . O coeficiente angular da reta está relacionado com o  $R_g$ :

$$\ln I = -\frac{R_g^2}{3} q^2 + \ln I_0 \quad (q \rightarrow 0) \quad (2.14)$$

Mas esta aproximação tem validade apenas para o intervalo onde  $qR_g < 1,3$ , ou seja, para partículas grandes o valor de  $q$  deve ser pequeno, podendo esta ser uma grande limitação experimental.

### 3 DESENVOLVIMENTO

#### 3.1 INSTRUMENTAÇÃO PARA ESTUDOS POR SAXS

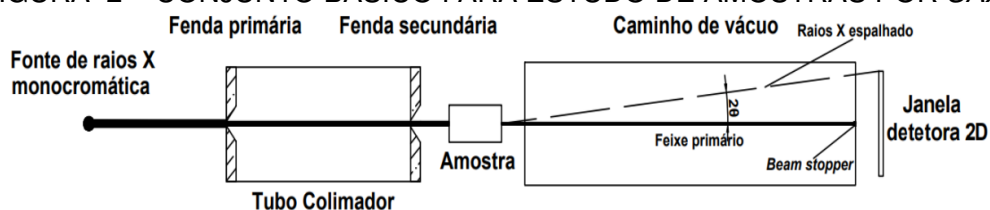
Nesta seção será feita uma descrição do projeto da instrumentação para SAXS.

##### 3.1.1 Estrutura geral e componentes de uma instrumentação de SAXS

O objetivo de uma instrumentação para SAXS é determinar a intensidade de raios X espalhada como função do vetor de espalhamento  $\vec{q}$  (GUINIER et al., 1955). Sendo assim, os dois componentes fundamentais para que se possa realizar a coleta dos dados são uma fonte de raios X monocromática e um detetor de raios X. Esta parte do trabalho tem como finalidade mostrar o conceito geral sobre os equipamentos, componentes e condições necessárias para se realizar medidas de SAXS. Descreveremos aqui o projeto de um arranjo experimental que permite o acoplamento de uma microfonte de raios X monocromática e um detetor de raios X sensível à posição de incidência dos fótons. Estes equipamentos serão instalados no Laboratório de Óptica de Raios X e Instrumentação (LORXI) na Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

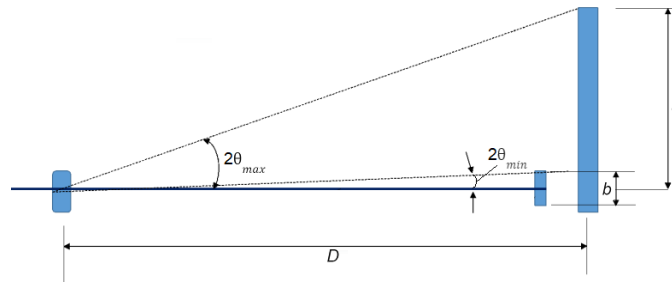
Além dos suportes para fixação e alinhamento da fonte e do detetor de raios X, também descreveremos outros dispositivos necessários para o funcionamento da instrumentação. Dentre esses dispositivos projetados estão um par de módulos de fenda que permitem (i) restringir as dimensões do feixe produzido pela microfonte e (ii) remover espalhamentos secundários produzidos por janelas e espaços de ar (chamado de espalhamento parasita). Também descreveremos um suporte para um porta-amostra com ajustes de posicionamento e câmaras de vácuo para suprimir o espalhamento dos espaços de ar entre a amostra e o detetor. A possibilidade de poder variar a distância amostra-detetor permitirá que o arranjo instrumental possa ser otimizado de modo a estudar partículas com diferentes ordens de grandeza em tamanho. A FIGURA 2 mostra uma representação esquemática da estrutura geral de uma instrumentação para SAXS e a interação esperada do feixe de raios X com cada parte do equipamento.

FIGURA 2 – CONJUNTO BÁSICO PARA ESTUDO DE AMOSTRAS POR SAXS.



Na instrumentação projetada a distância entre a amostra e o detetor poderá variar entre 30cm e 170cm. O ângulo mínimo e máximo acessíveis podem ser calculados com auxílio do desenho na FIGURA 3.

FIGURA 3 – ESQUEMA COM AS DIMENSÕES RELEVANTES PARA OS CÁLCULOS DOS ÂNGULOS E MÓDULOS DOS VETORES DE ESPALHAMENTO NA INSTRUMENTAÇÃO PROJETADA.



O ângulo mínimo será dado por:

$$2\theta_{min} = \frac{b}{D}, \quad (3.1)$$

onde  $b$  é o diâmetro do *beam stopper* e  $D$  é a distância entre a amostra e o detetor.

Por outro lado o ângulo máximo acessível será dados por:

$$2\theta_{max} = \frac{h}{D}, \quad (3.2)$$

onde  $h$  é o tamanho da janela sensível do detetor.

Na TABELA 1 estão os valores dos ângulos e módulos dos vetores de espalhamento que serão experimentalmente acessíveis de acordo com o projeto. Nos cálculos assumimos que o diâmetro mínimo do *beam stopper*, para cobrir toda a seção reta do feixe primário, será 1 mm e que  $h$  (comprimento do detetor) é 80mm. Nos cálculos utilizamos o valor 0,154nm para o comprimento de onda dos raios X.

TABELA 1 – VALORES MÁXIMOS E MÍNIMOS PARA OS ÂNGULOS E VETORES DE ESPALHAMENTO ACESSÍVEIS EXPERIMENTALMENTE.

$D$	$2\theta_{min}$ (graus)	$2\theta_{max}$ (graus)	$q_{min}$ (nm <sup>-1</sup> )	$q_{max}$ (nm <sup>-1</sup> )
30cm	0,095	14,9	0,0007	0,106
170cm	0,017	2,7	0,0001	0,019

Uma estimativa para o intervalo de tamanho de partículas que pode ser medida com a instrumentação pode ser feita utilizando a equação:

$$\phi = \frac{2\pi}{q}, \quad (3.3)$$

onde substituímos  $q$  pelos valores máximo e mínimo acessíveis experimentalmente para determinar o diâmetro  $\phi$  mínimo e máximo, respectivamente, das partículas que podemos estudar. Numa estimativa conservadora, para os intervalos em  $q$  mostrados na TABELA 1 deverá ser possível o estudo de partículas com dimensões que vão desde cerca 0,8nm até acima de 100nm, tornando esse um equipamento bastante mais versátil do que as configurações comerciais usualmente disponíveis.

Toda a instrumentação será colocada sobre um trilho óptico para que as distâncias entre os componentes possam ser variadas sem que haja desalinhamento do feixe. O trilho por sua vez deve ser fixado a uma base sólida de sustentação. Deverá haver um conjunto de garras deslizantes para movimentação e travamento dos equipamentos além de um suporte rígido para o trilho ser fixado à base de sustentação.

Uma condição importante para se obter um espalhamento ideal da amostra é a redução do espalhamento parasita, este refere-se a radiação recebida pelo detetor sem a presença da amostra (GUINIER et al., 1955). Por outro lado, o ar também espalha os raios X. Portanto, é importante que tanto no tubo formado pelo colimador quanto no caminho entre a amostra e o detetor seja feito vácuo para se reduzir este espalhamento. Em certos casos, pode-se utilizar gás hélio nestas câmaras, embora, em geral, a realização de vácuo seja a solução mais simples, pois evita a necessidade de suprimentos de hélio para repor vazamentos.

Estes procedimentos permitem minimizar o espalhamento parasita, não eliminá-lo completamente. Por isso, é necessário que junto com a medida da amostra seja medido também o espalhamento sem a amostra. Dessa forma, através de um procedimento adequado é possível subtrair essa contribuição do espalhamento total. A correção é feita utilizando a equação:

$$I = \frac{I_{amostra}}{A} - I_{parasita}, \quad (3.4)$$

onde  $I$  é a intensidade corrigida,  $A$  é a atenuação da amostra,  $I_{amostra}$  é a intensidade de SAXS medida com a amostra e  $I_{parasita}$  é a intensidade parasita, medida sem a amostra.

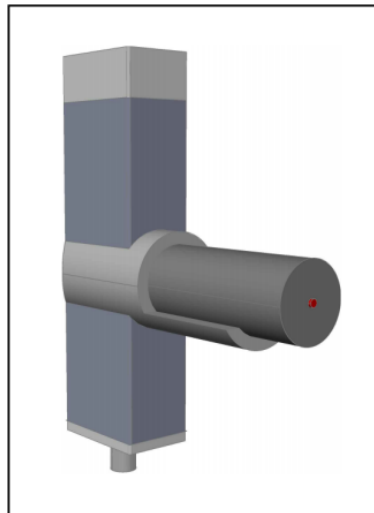
### 3.1.2 Dispositivos comerciais a serem adaptados

#### 3.1.2.1 Microfonte de raios X

A fonte de raios X é o dispositivo primário da instrumentação. Ela fica localizada na extremidade oposta ao detetor. O modelo a ser utilizado no projeto é compacto e

pode ser facilmente acoplado a um suporte. Ele também possui a vantagem de não necessitar de um monocromador adicional, já que possui acoplado a si um sistema de espelhos multicamadas que elimina parcialmente contribuições de comprimentos de onda diversos do correspondente à linha de emissão característica do alvo de cobre. Além disso, ela também possui alto brilho facilitando a visualização e análise das curvas de espalhamento. A FIGURA 4 mostra uma projeção da microfonte.

FIGURA 4 – PROJEÇÃO DA MICROFONTE DE RAIOS X, O PONTO VERMELHO MOSTRA DE ONDE PARTIRIAM OS RAIOS X.



Este modelo possui 90mm x 60mm x 320mm onde o tubo com o microfoco tem 80mm de diâmetro por 160mm de comprimento, sua tensão de funcionamento chega a 50kV e utiliza um alvo de cobre para produzir os raios X. Apesar de ser um dispositivo relativamente pequeno ainda se tem as partes de hardware, refrigeração e acesso para bomba de vácuo que não foram representados. Estes serão instalados abaixo da bancada onde serão montados os instrumentos.

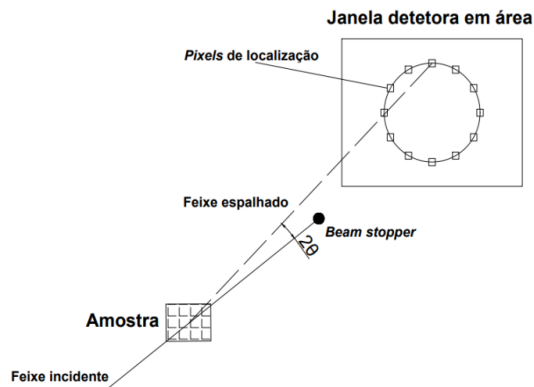
### 3.1.2.2 Detetor de raios X sensível a posição 2D

O detetor de raios X tem como finalidade medir a intensidade dos raios X espalhados pela amostra fornecendo as medidas de intensidade espalhada em função da posição de incidência do fóton no detetor. Sendo assim, deve ser um equipamento capaz de detectar a radiação ou quantificá-la (YOSHIMURA, 2010). Último equipamento posicionado no eixo óptico, o detetor utilizado no projeto é do tipo 2D que possui a vantagem coletar os fótons em uma grande área (aproximadamente 80mm x 80mm).

Para amostras com espalhamento isotrópico, ou seja, aquele no qual a intensidade é função apenas do módulo do vetor de espalhamento e não da direção desse vetor, a imagem que descreve a distribuição da intensidade no detetor apresenta

simetria circular em relação a posição que corresponderia a incidência do feixe direto. A FIGURA 5 mostra uma representação da relação geométrica para a coleta dos raios X espalhados por uma amostra em um detetor 2D.

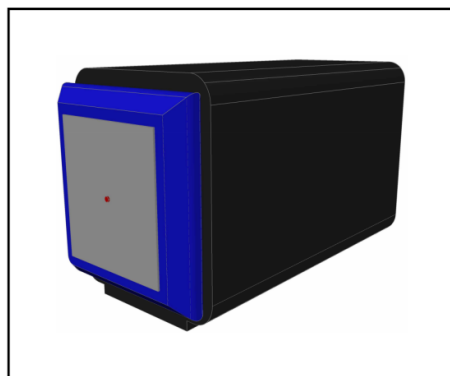
FIGURA 5 – GEOMETRIA DA LOCALIZAÇÃO DOS RAIOS X ESPALHADOS EM UM DETECTOR DO TIPO JANELA 2D.



A partir da somatória da intensidade medida em cada *pixels* localizado na posição  $2\theta$  obtemos os dados que relacionam a intensidade dos feixes de raios X espalhados pela amostra em função do ângulo de espalhamento  $2\theta$ .

O detector utilizado no projeto possui uma janela cujas dimensões exatas são de 77,1mm x 79,7mm e furações em sua base para a sua fixação em um suporte, a FIGURA 6 mostra um projeção do detector que será utilizado no projeto de instrumentação.

FIGURA 6 – PROJEÇÃO DO DETECTOR DE RAIOS X 2D. O PONTO VERMELHO MOSTRA O CENTRO DA JANELA DETETORA.



Assim como a microfona de raios X, o detector também precisa ser conectado à dispositivos secundários para a refrigeração e à hardwares de processamento de dados.

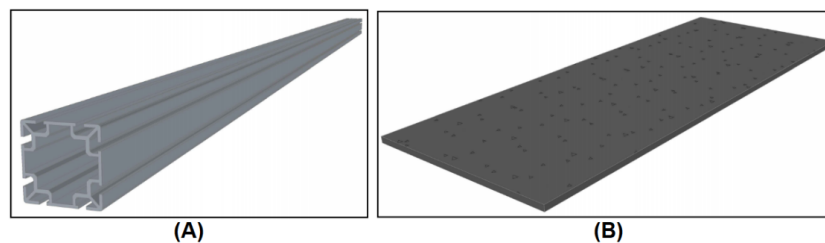
### 3.1.3 Acessórios e dispositivos projetados

A seguir serão descritos os diversos dispositivos e peças que foram projetados para a sustentação e adaptação da fonte e do detetor, bem como suporte para o porta-amostras e sistema de colimação do feixe de raios X.

#### 3.1.3.1 Trilhos ópticos e base de granito

A FIGURA 7 mostra uma projeção do trilho que será utilizado no projeto (A) e da base de granito que dará sustentação à instrumentação (B).

FIGURA 7 – PROJEÇÃO DO TRILHO ÓPTICO QUE SERÁ UTILIZADO (A) E PROJEÇÃO DA BASE DE GRANITO DE SUSTENTAÇÃO (B).

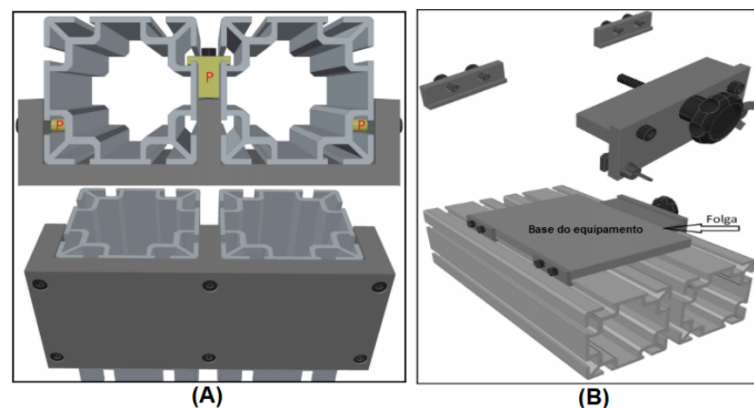


O trilho possui 80mm x 80mm e 2,5m de comprimento, serão utilizados dois deles dispostos paralelamente para aumentar a estabilidade. A mesa de granito possui 2450mm x 900mm x 33mm e será colocada sobre uma estrutura metálica de ferro que irá sustentar todo o conjunto.

#### 3.1.3.2 Suporte do trilho e garras deslizantes

A FIGURA 8 mostra o suporte dos trilhos ópticos (A) e como será o modelo de garra utilizado para a movimentação e fixação da base dos equipamentos (B).

FIGURA 8 – PROJEÇÃO DO SUPORTE DO TRILHO ÓPTICO (A) E PROJEÇÃO DA BASE DE GRANITO DE SUSTENTAÇÃO (B).

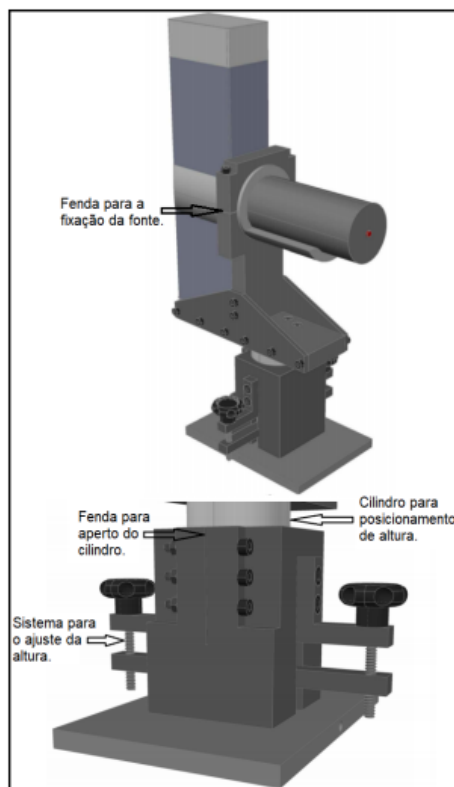


Serão colocados três suportes (A) ao longo do trilho, onde a fixação dos mesmos à mesa de granito será feita por meio de uma cola de alta resistência. O modelo de garra (B) possui um sistema de aperto devido a uma folga entre ele e a base dos instrumentos. Um manípulo e dois parafusos borboleta serão utilizados para a fixação das garras de modo que o aperto seja feito manualmente e o mesmos possam ser deslizados ao longo do trilho de acordo com a conveniência.

### 3.1.3.3 Suporte da microfonte de raios X

É o local onde a fonte de raios X será colocada possibilitando um ajuste preciso da altura do feixe. O sistema de fixação utilizado é baseado em um aperto de parafusos fornecendo compressão à peça devido a uma folga no seu suporte. Todas as peças são em alumínio. Apesar de ser robusto para garantir que não haja movimento após o alinhamento temos que o encaixe da fonte também possui folgas ajustáveis para que não hajam forças desnecessárias, evitando deformações e o desalinhamento do feixe da fonte. A FIGURA 9 mostra a projeção do suporte e da microfonte, e detalhes do sistema de ajuste e fixação.

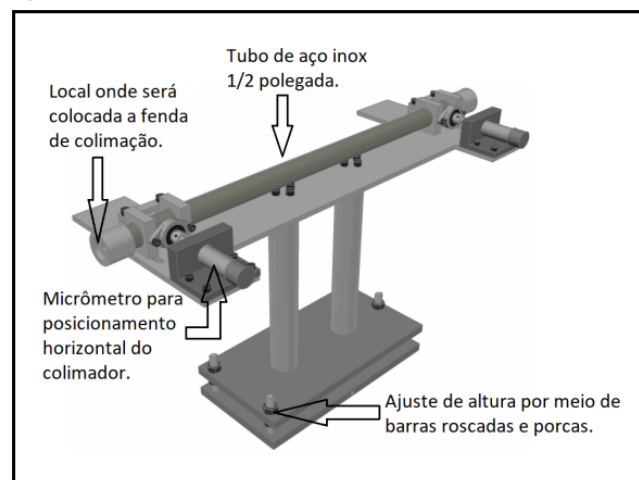
FIGURA 9 – PROJEÇÃO DO SUPORTE DA MICROFONTE E DETALHES DO SISTEMA DE FIXAÇÃO E POSICIONAMENTO.



### 3.1.3.4 Colimador

Responsável por definir o tamanho do feixe de raios X primário e reduzir o espalhamento parasita, será constituído de um tubo de aço inoxidável com  $\frac{1}{2}$  polegada de diâmetro e 50cm de comprimento no qual será feito vácuo por meio de conectores instalados nas suas extremidades, também haverá fendas circulares em forma de cone usinadas em placas de tântalo em suas tampas. A orientação da abertura cônica das fendas é a mostrada na figura 2 (3.1.1). Um fator importante é que a fenda primária, por entrar em contato com o feixe direto, acaba causando o espalhamento dos raios X. Assim a fenda secundária (anti-parasita) deve ser um pouco mais larga que a primária, para impedir que ela toque o feixe primário e ao mesmo tempo evite que o espalhamento parasita gerado pelas fendas de definição chegue até a amostra e detetor. Um par de micrômetros será utilizado para o ajuste de posicionamento horizontal das fendas e a altura será definida a partir de um ajuste na base do equipamento por meio de porcas e barras roscadas. A FIGURA 10 mostra o projeto do colimador e seu suporte.

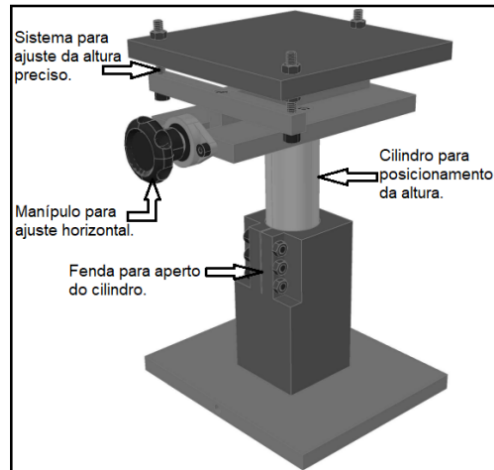
FIGURA 10 – PROJEÇÃO DO SISTEMA COLIMADOR E DETALHES DOS COMPONENTES.



### 3.1.3.5 Suporte do porta amostra

É o local onde o porta-amostras será posicionado. Possui uma base plana que permite um ajuste horizontal e vertical com uma boa precisão. A posição horizontal é definida por meio de um manípulo, já a posição vertical possui dois ajustes: um com o cilindro de aperto (que possui uma maior amplitude possibilitando a utilização de vários tipos e tamanhos de porta amostras) e um ajuste secundário mais preciso, com parafusos e porcas. Junto ao porta-amostras deve haver outra fenda chamada de “fenda de guarda”, ela deve ficar o mais próximo possível da amostra para que se possa reduzir ao máximo os raios parasitas. A FIGURA 11 mostra a projeção do porta-amostras.

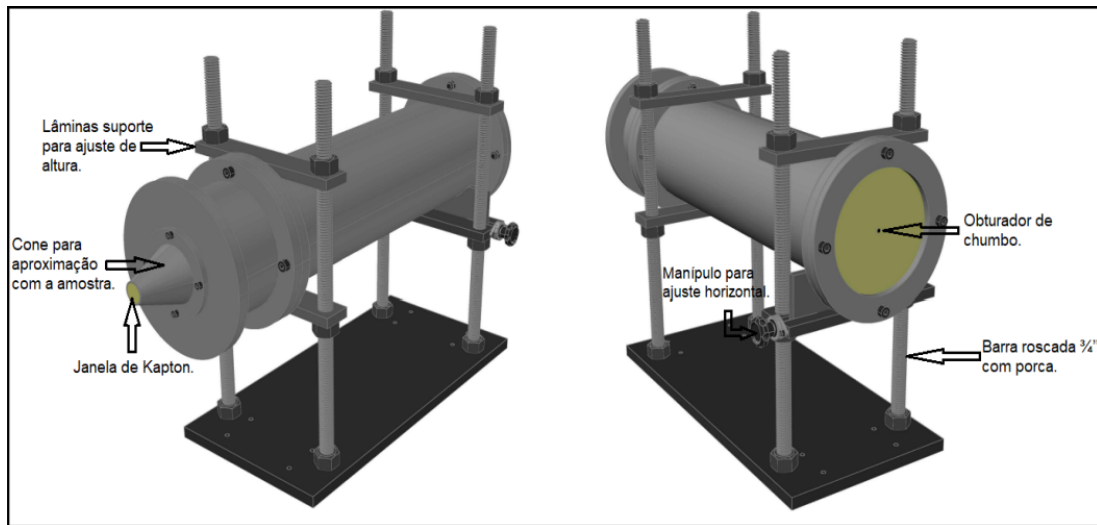
FIGURA 11 – PROJEÇÃO DO SUPORTE DO PORTA AMOSTRA E DETALHES DOS COMPONENTES DE AJUSTE E FIXAÇÃO.



### 3.1.3.6 Caminho de vácuo

O objetivo do caminho de vácuo é reduzir o espalhamento parasita entre a amostra e o detector. Ele será constituído de tubos de alumínio com 6 polegadas de diâmetro com flanges de vedação para realizar vácuo em seu interior. Para que se possa aproximar ao máximo o caminho de vácuo da amostra, um tubo de 10cm será anexado ao tubo de maior comprimento. Nele haverá uma peça em forma de cone em uma das extremidades, o que permitirá uma maior aproximação com a amostra. Este tubo menor também poderá ser utilizado como caminho de vácuo pois a sua configuração permite a coleta de raios espalhados a pequenas distâncias entre amostra e detector. Uma janela de kapton (polímero translúcido aos raios X) será colocada na extremidade do tubo maior e do cone, sendo que na face voltada ao detector terá colada em seu centro um pequeno obturador de chumbo em forma disco com 1mm de diâmetro (*beam stopper*) para obstruir o feixe principal de alta intensidade e não danificar o detector. Os detectores que medem o espalhamento operam em taxas de contagem bem mais baixas do que a intensidade associada ao feixe primário. O uso deste detector em feixes com intensidade muito superiores às aquelas para as quais ele foi projetado podem levar à perda de contagens e até mesmo a danos estruturais no detector. Um sistema de posicionamento horizontal por meio de um manípulo será colocado para facilitar o alinhamento. O tubo será fixado ao trilho por uma chapa de alumínio de  $\frac{5}{8}$  de polegada e barras roscadas e porcas de  $\frac{3}{4}$  de polegada, onde a altura do caminho de vácuo será definida por lâminas de alumínio que sustentam o tubo. Será possível fazer vários tubos de comprimentos diferentes podendo ser associados e variar a distância entre a amostra e o detector permitindo o estudo de partículas com uma grande variedade de tamanhos. A FIGURA 12 mostra uma representação do caminho de vácuo projetado.

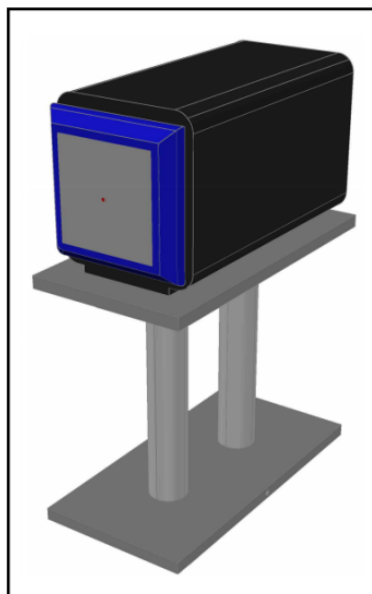
FIGURA 12 – PROJEÇÃO DO CAMINHO DE VÁCUO E DETALHES DOS COMPONENTES.



### 3.1.3.7 Suporte do detetor de raios X

É o único equipamento que não permite o ajuste da altura, mas que pode ser modificado facilmente se necessário. Consiste em uma base plana de apoio para o detetor de raios X com as furações necessárias para a sua fixação. A altura foi definida a partir da altura da posição mediana do feixe da microfonte de raios X. A FIGURA 13 mostra como é o projeto desta parte.

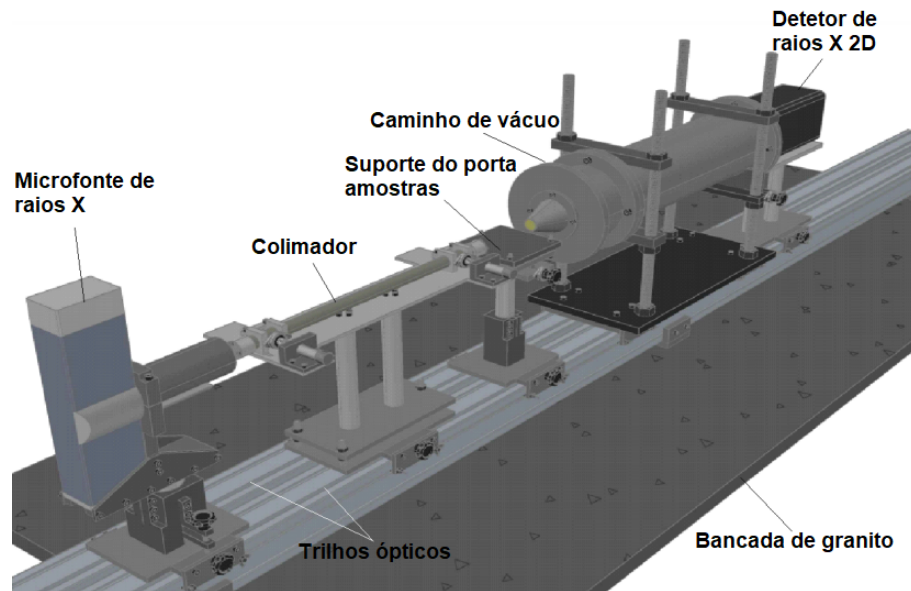
FIGURA 13 – PROJEÇÃO DO SUPORTE DO DETETOR DE RAIOS X 2D , O PONTO EM VERMELHO MOSTRA A LOCALIZAÇÃO DO CENTRO DA JANELA DETETORA.



### 3.1.4 Instrumentação completa

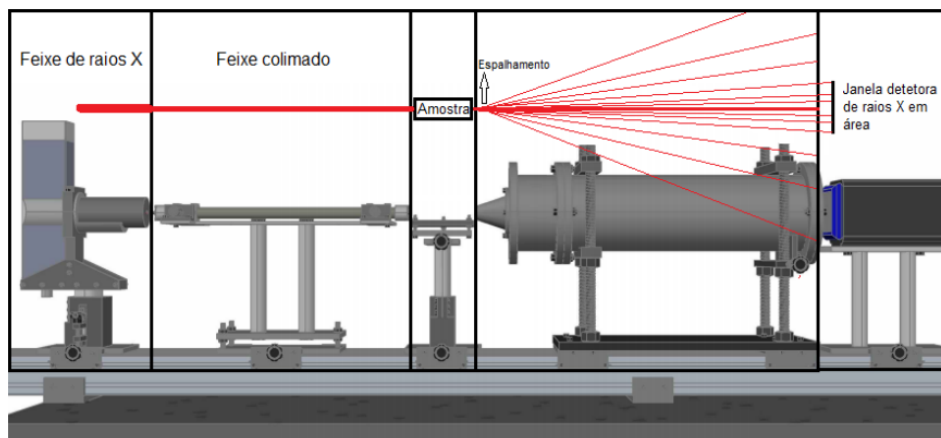
A FIGURA 14 mostra a instrumentação completa com todos os componentes nas posições em que ficarão quando a instrumentação for concluída.

FIGURA 14 – PROJEÇÃO DA INSTRUMENTAÇÃO APÓS SER MONTADA.



A FIGURA 15 mostra uma representação ilustrativa da interação de cada parte do equipamento com o feixe de raios X (em vermelho), o objetivo final é coletar com o detetor em área os raios X espalhados pela amostra a baixo ângulo.

FIGURA 15 – PROJEÇÃO DA INSTRUMENTAÇÃO E ESPERADO PARA INTERAÇÃO DO FEIXE DE RAIOS X COM OS EQUIPAMENTOS.

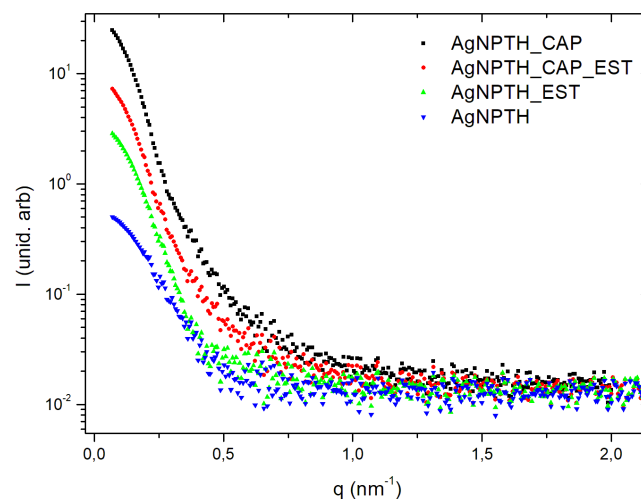


Estas são as principais características da instrumentação para estudos por SAXS que está sendo projetada. A construção e montagem das partes já está em execução.

### 3.2 ESTUDO POR SAXS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PRODUZIDAS PELA ROTA BIOGÊNICA *TRICHODERMA HARZIANUM*

Como foi mencionamos na introdução, um dos objetivos deste TTC também foi caracterizar de AgNPs em solução aquosa obtidas por diferentes tratamentos pela rota biogênica do fungo *Trichoderma harzianum*. Além da importância intrínseca relacionada à essa pesquisa, a possibilidade de análise de dados reais de SAXS permitirá uma melhor compreensão de alguns dos parâmetros estruturais que podem ser determinados por essa técnica. Foram analisadas curvas de intensidade de SAXS de AgNPs em água obtidas por síntese biogênica utilizando o fungo *Trichoderma harzianum*. Nitrato de prata ( $AgNO_3$ ) na concentração de  $1 \times 10^{-3} molL^{-1}$  foi adicionado à solução contendo o fungo. Em duas das amostras o capeamento natural obtido pela síntese foi removido utilizando processos físico-químicos e também em duas das amostras se teve a produção de enzimas estimulada pela presença da parede celular do fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* (mofo branco). Estudos mostram que AgNPs possuem atividade antimicrobiana inibindo a germinação do *Sclerotinia sclerotiorum* (GUILGER et al., 2017). As amostras preparadas usando o fungo *Trichoderma harzianum* foram: (1) amostra com nanopartículas capeadas (assim como produzidas) estimulada por fungo fitopatogênico (AgNPTH\_CAP\_EST) (2) amostra com nanopartículas capeadas sem estímulo (AgNPTH\_CAP) (3) amostra com as partículas de prata utilizando o estímulo por um fungo fitopatogênico não capeadas (capa removida por métodos físico-químicos) (AgNPTH\_EST) e (4) amostra com nanopartículas de prata não capeadas obtidas sem estimulação por fungo fitopatogênico (AgNPTH). A FIGURA 16 mostra a intensidade de SAXS em função do vetor de espalhamento ( $q$ ) para as diferentes amostras estudadas, o intervalo das curvas situou-se entre  $0,01$  e  $2,0 nm^{-1}$ .

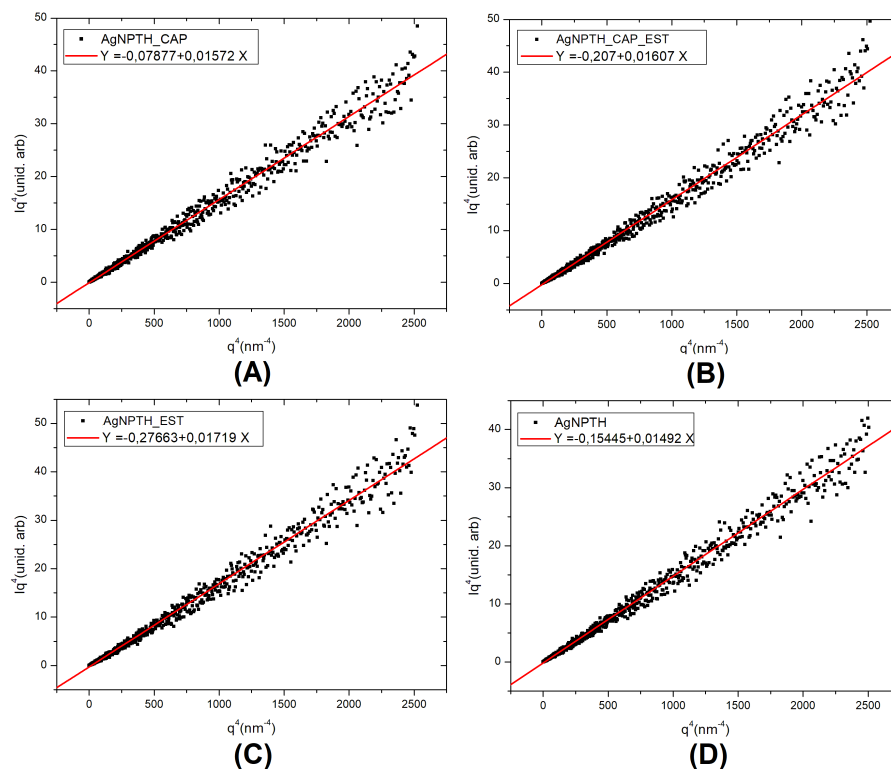
FIGURA 16 – CURVAS DE SAXS PARA AS QUATRO AMOSTRAS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOGÊNICAS: AGNPTH\_CAP (PRETO), AGNPTH\_CAP\_EST (VERMELHO), AGNPTH\_EST (VERDE) E AGNPTH (AZUL).



### 3.2.1 Subtração da contribuição da água

Para a determinação da intensidade devida unicamente às AgNPs foi necessário subtrair a contribuição da água da curva de espalhamento total. Utilizamos um procedimento que aplica a lei de Porod, válida para altos valores de  $q$  (equação 2.11). Esse espalhamento tem origem estatística e depende da temperatura (GUINIER et al., 1955). Devido a sua pequena dimensão, essas flutuações produzem uma intensidade de espalhamento que é aproximadamente constante no intervalo em  $q$  correspondente a região de baixo ângulo. Fazendo uso da equação 2.12 vemos que a contribuição da água pode ser associada ao coeficiente angular do gráfico  $Iq^4 \times q^4$  para altos valores de  $q$ , região para a qual se espera um comportamento linear para esta curva. A FIGURA 17 mostra os resultados obtidos para as quatro amostras estudadas.

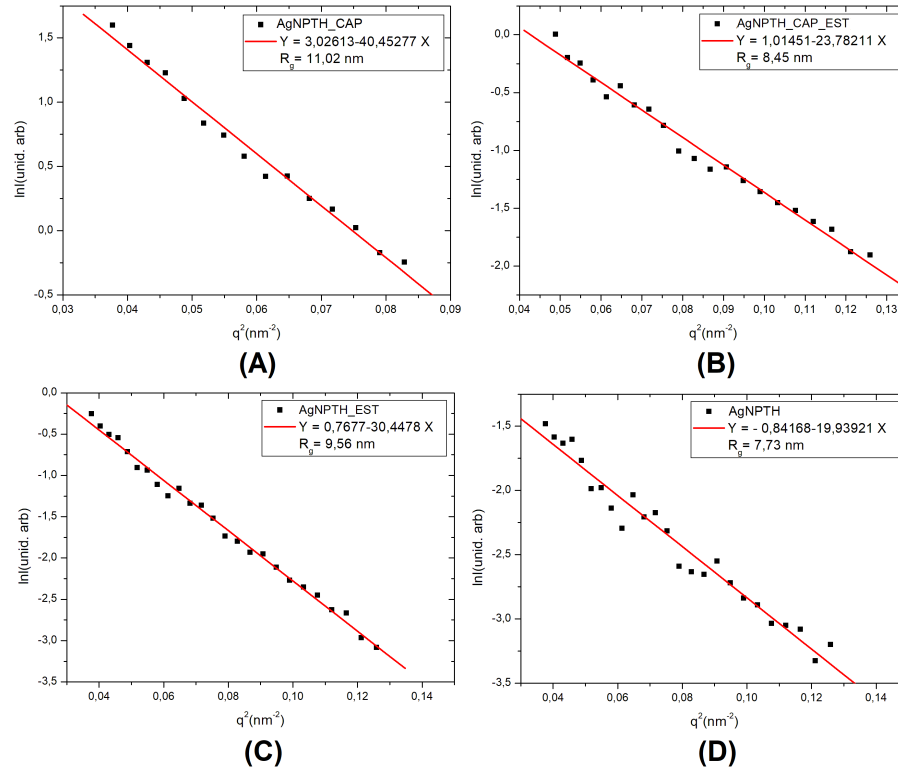
FIGURA 17 – LEI DE POROD PARA AS AMOSTRAS AGNPTH\_CAP (A), AGNPTH\_CAP\_EST (B), AGNPTH\_EST (C) E AGNPTH (D).



### 3.2.2 Raios de giro

Após a subtração da contribuição da água das intensidades espalhadas foi feita a análise das curvas na região de baixos valores de  $q$  onde é válida a lei de Guinier (equação 2.13). Usando os gráficos de  $\ln I \times q^2$  ( $q \rightarrow 0$ ) esta análise permitiu encontrar o raio de giro ( $R_g$ ) das nanopartículas. A FIGURA 18 mostra os gráficos de  $\ln I \times q^2$  para as amostras e os valores dos raios de giro obtidos em cada caso.

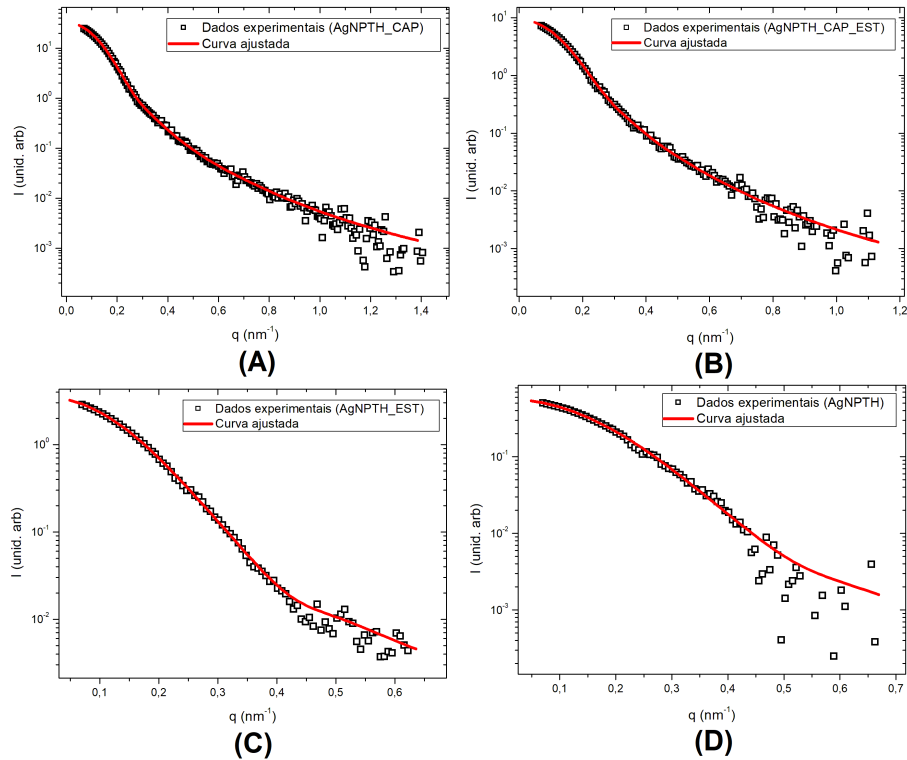
FIGURA 18 – LEI DE GUINIER PARA AS AMOSTRAS AGNP<sub>TH</sub>\_CAP (A), AGNP<sub>TH</sub>\_CAP\_EST (B), AGNP<sub>TH</sub>\_EST (C), AGNP<sub>TH</sub> (D) E RESPECTIVOS RAIOS DE GIRO.



### 3.2.3 Distribuição em volumes e em raios

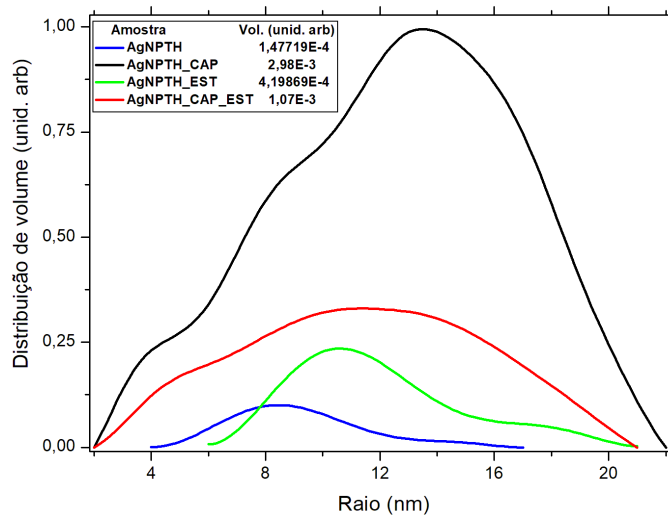
Os raios de giro anteriormente são uma espécie de média ponderada pelo volume das NPs ao quadrado. Embora permita uma comparação relativa entre os tamanhos das NPs ela não pode ser diretamente relacionado com o tamanho médio das NPs. Populações de partículas com o mesmo raio médio, mas que apresentam diferentes dispersões em tamanho podem possuir raios de giração bem bastante distintos, sendo assim, a comparações entre valores de raio de giro são mais úteis em sistemas de partículas idênticas. Para sistema polidispersos em tamanho como as AgNP, informações mais precisas são obtidas na funções distribuição de raios  $N(R)$  ou da função distribuição em volumes  $V(R) = \frac{4\pi R^3 N(R)}{3}$ , onde  $N(R)dR$  é o número de partículas cujos valores de raio se encontram entre  $R$  e  $R + dR$ , já  $V(R)$  está relacionado com o volume total ocupado pelas partículas com raio  $R$ . Os dados das curvas de intensidade foram colocadas no software GNON versão 4.5a que é uma ferramenta de análise de curvas de SAXS. A partir de condições iniciais o programa é capaz de ler as curvas de espalhamento e determinar a curva  $V(R)$  que leva ao melhor ajuste da função da intensidade à curva de SAXS experimental. A FIGURA 19 mostra os dados experimentais e as curvas de intensidade ajustadas para as amostras.

FIGURA 19 – DADOS EXPERIMENTAIS E CURVAS DE INTENSIDADE AJUSTADAS PARA AS AMOSTRAS AGNPTH\_CAP (A), AGNPTH\_CAP\_EST (B), AGNPTH\_EST (C), AGNPTH (D) E RESPECTIVOS RAIOS DE GIRO.



As funções  $V(R)$  determinadas com o programa GNOM estão na FIGURA 20.

FIGURA 20 – CURVAS DAS DISTRIBUIÇÕES DE VOLUME E VOLUMES TOTAIS PARA AS AMOSTRAS AGNPTH\_CAP (A), AGNPTH\_CAP\_EST (B), AGNPTH\_EST (C), AGNPTH (D) E RESPECTIVOS RAIOS DE GIRO.

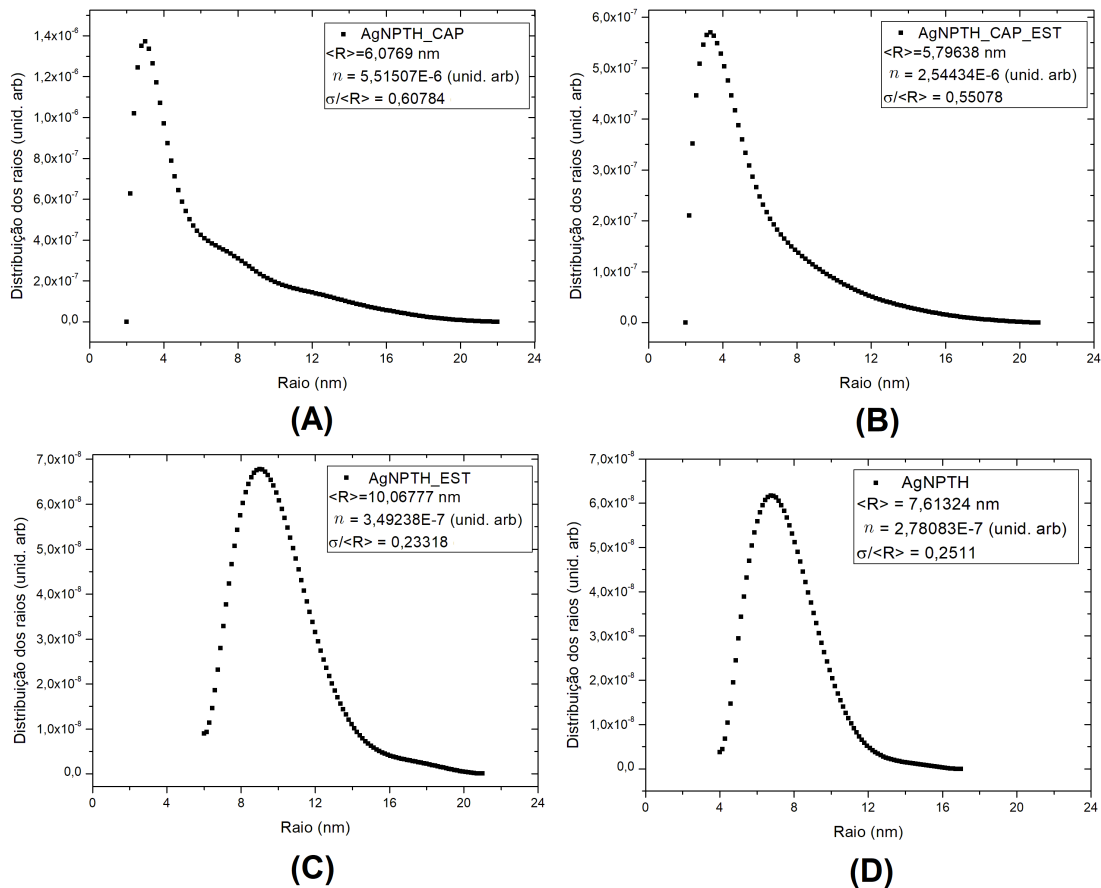


### 3.2.4 Distribuição dos Raios, número de nanopartículas, raio médio e dispersão em tamanho

A partir da distribuição de volume da amostra pode-se determinar a função distribuição dos raios  $N(R)$  utilizando a relação  $V(R) = \frac{4\pi R^3 N(R)}{3}$ . Conhecida a função  $N(R)$ , as equações 2.8, 2.9 e 2.10 podem ser utilizadas para a obtenção do: número total  $n$ , raio médio  $\langle R \rangle$  e dispersão relativas em tamanho  $\frac{\sigma_R}{\langle R \rangle}$  das quatro amostras de nanopartículas de prata estudadas.

A FIGURA 21 mostra as funções de distribuição dos raios  $N(R)$  obtidas para as amostras juntamente com os respectivos valores de  $n$ ,  $\langle R \rangle$  e  $\frac{\sigma_R}{\langle R \rangle}$ .

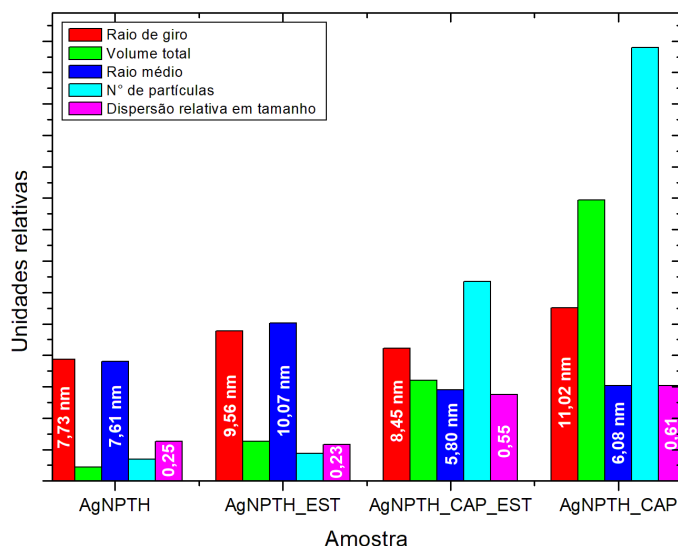
FIGURA 21 – DISTRIBUIÇÃO DOS RAIOS, RAIOS MÉDIO, NÚMERO RELATIVO DE NANOPARTÍCULAS E DISPERSÃO RELATIVA EM TAMANHO PARA AS AMOSTRAS AGNPTH\_CAP (A), AGNPTH\_CAP\_EST (B), AGNPTH\_EST (C), AGNPTH (D).



### 3.2.5 Comparação dos resultados

A FIGURA 22 mostra um comparativo dos resultados encontrados para o raio de giro, volume total, raio médio, número de nanopartículas e dispersão relativa em tamanho para as quatro amostras estudadas, o eixo das ordenadas está em unidades relativas e os resultados em termos absolutos estão descritos em cada parâmetro.

FIGURA 22 – COMPARATIVO DOS RESULTADOS OBTIDOS PARA O RAIOS DE GIRO (VERMELHO), VOLUME TOTAL (VERDE), RAIOS MÉDIOS (AZUL), NÚMERO DE NANOPARTÍCULAS (CIANO) E DISPERSÃO RELATIVA EM TAMANHO (MAGENTA) PARA AS QUATRO AMOSTRAS.



As amostras contendo as nanopartículas capeadas se destacam por apresentarem valores de número e volume total ocupados pelas nanopartículas muito superiores aos das amostras onde a capa externa foi removida. Por outro lado, o raio médio dessas nanopartículas é menor do que nas amostras não capeadas. Esses resultados sugerem que os processos físico-químicos utilizados na remoção da capa podem ter removido parte das partículas menores. Também observou-se que o procedimento de se ter a produção de enzimas estimulada pela presença da parede celular do fungo *sclerotinia sclerotiorum* resultou em uma diminuição significativa na fração em volume e no número de nanopartículas de prata capeadas. Esse processo todavia não afetou significativamente os valores de raio médio e dispersão relativa em tamanho.

Notamos também que a dispersão em tamanho das nanopartículas não capeadas é muito menor do que a das capeadas. Esse comportamento juntamente com o aumento no valor do raio médio fornece subsídios adicionais para concluir que o processo utilizado na remoção das capas resulta na remoção de parte das partículas menores. Outra possível explicação para o comportamento observado para as amostras com AgNPs não capeadas é que pode ter ocorrido a aglomeração das partículas menores resultado em aglomerados com partículas muito grandes para as quais o espalhamento se concentra na região de ângulos muito baixos que não são acessíveis no experimento. O raio de giração, por outro lado, não sofre variação muito significativa, o que é esperado já que seu valor é determinado principalmente pelas partículas maiores que são as que mais contribuem para a intensidade de SAXS e cuja proporção não muda muito entre as várias amostras.

## 4 CONCLUSÕES

Na primeira etapa deste TCC foi realizado o projeto preliminar de uma instrumentação para medidas de espalhamento de raios X a baixo ângulo SAXS. O projeto consistiu em (i) desenho e dimensionamento de diversas partes mecânicas para permitir a adaptação de uma fonte de raios X do tipo microfente e de um detetor de raios X sensível a posição 2D a uma instrumentação para medidas de SAXS e (ii) projeto de partes mecânica consistindo de um sistema de colimação, suporte para porta amostras e câmaras de vácuo. A construção de parte dessa instrumentação já está em andamento. Pequenas mudanças no projeto deverão ser necessárias durante a montagem e alinhamento dessas partes. Alguns dos conceitos do projeto nunca foram testados e constituem-se de ideias originais alternativas aos equipamentos comerciais. A instrumentação que existe atualmente no Laboratório de óptica de Raios X e Instrumentação (LORXI) permite o estudo de nanopartículas pequenas, com alguns nanômetros. A nova instrumentação, quando finalizada, deverá ampliar o intervalo em tamanho acessível para cerca de 80 nm. A partir da análise das curvas de espalhamento deverá ser possível estudar a forma de macromoléculas em solução de sistemas formados por partículas monodispersas em tamanho e forma (idênticas), além também o estudo da distribuição em tamanho de nanopartículas com forma conhecida.

Na segunda parte do TCC foi realizada a caracterização estrutural em baixa resolução de nanopartículas de prata produzidas por métodos de síntese biogênicas. As nanopartículas foram produzidas a partir do fungo *Trichoderma harzianum*. Parte das amostras foram ainda sintetizadas expondo esse fungo a um fungo patogênico (*sclerotinia sclerotiorum*) causador do mofo branco. Após a síntese parte das amostras também foram submetidas a processos físico-químicos para a remoção da capa orgânica que envolve as nanopartículas. A análise das curvas de SAXS permitiu a determinação do raio médio, dispersão em tamanho, número e volume total ocupado pelas nanopartículas. Os resultados obtidos sugerem que a exposição ao fungo patogênico resulta numa quantidade e volume de partículas menor do que no caso da não exposição a esse fungo quando comparamos as amostras capeadas. O raio médio, no entanto, não é afetado. O possível agregamento em partículas maiores onde o espalhamento não estaria no intervalo estudado juntamente com a própria remoção da capa externa com os processos físico-químicos que retiraram parte das nanopartículas menores contribuíram para a queda no número e volume total das nanopartículas não capeadas, o que é indicado pelo aumento no valor do raio médio e diminuição na dispersão em tamanho das partículas.

## REFERÊNCIAS

BASTOS, R. M. P. Nanotecnologia: Uma Revolução no Desenvolvimento de Novos Produtos. **Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG**, 2006. Disponível em: [https://www2.ufjf.br/engenhariadeproducao//files/2014/09/2006\\_1\\_Ricardo.pdf](https://www2.ufjf.br/engenhariadeproducao//files/2014/09/2006_1_Ricardo.pdf). Citado 2 vez na página 7.

ELAMAWI, R. M.; AL-HARBI, R. E.; HENDI, A. A. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma longibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, n. 1, p. 28, 2018. ISSN 2536-9342. DOI: [10.1186/s41938-018-0028-1](https://doi.org/10.1186/s41938-018-0028-1). Citado 1 vez na página 8.

GRAF, C.; VOSSEN, D. L. J.; IMHOF, A.; BLAADEREN, A. van. A General Method To Coat Colloidal Particles with Silica. **Langmuir**, v. 19, n. 17, p. 6693–6700, 2003. DOI: [10.1021/1a0347859](https://doi.org/10.1021/1a0347859). Citado 1 vez na página 8.

GUILGER, M.; PASQUOTO-STIGLIANI, T.; BILESKY-JOSE, N.; GRILLO, R.; ABHILASH, P. C.; FRACETO, L. F.; LIMA, R. d. Biogenic silver nanoparticles based on *trichoderma harzianum*: synthesis, characterization, toxicity evaluation and biological activity. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 44421, 2017. ISSN 2045-2322. DOI: [10.1038/srep44421](https://doi.org/10.1038/srep44421). Citado 2 vezes nas páginas 12, 26.

GUILGER CASAGRANDE, M.; GERMANO COSTA, T.; BILESKY-JOSÉ, N.; PASQUOTO-STIGLIANI, T.; CARVALHO, L.; FRACETO, L. F.; LIMA, R. de. Influence of the capping of biogenic silver nanoparticles on their toxicity and mechanism of action towards *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 19, n. 1, p. 53, 2021. ISSN 1477-3155. DOI: [10.1186/s12951-021-00797-5](https://doi.org/10.1186/s12951-021-00797-5). Citado 1 vez na página 9.

GUINIER. La diffraction des rayons X aux très petits angles : application à l'étude de phénomènes ultramicroscopiques. **Ann. Phys.**, v. 11, n. 12, p. 161–237, 1939. DOI: [10.1051/anphys/193911120161](https://doi.org/10.1051/anphys/193911120161). Citado 1 vez na página 14.

GUINIER, A.; FOURNET, G.; WALKER, C. **Small-angle Scattering of X-rays**. [S.l.]: Wiley, 1955. (Structure of matter series). ISBN 9780598669933. Citado 4 vezes nas páginas 11, 15, 17, 27.

HAMMES, I. S. Aplicação de nanopartículas de prata em produtos agrícolas e seus efeitos no meio ambiente: Uma Revisão. **Universidade Federal de Santa Catarina**,

SC, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/218816>. Citado 1 vez na página 8.

JESUS, L. G. O. A. C. B. K. Nanotecnologia na Agricultura: Prospecção dos Indicadores de Impactos Ambientais e Siciais. **6º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica - CIIC 2012, Jaguariúna, SP**, 2012. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/951865/1/2012AA87.pdf>. Citado 1 vez na página 7.

KLABUNDE, K. J. Nanoscale Materials in Chemistry. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 35, p. 10629–10630, 2001. DOI: [10.1021/ja0252072](https://doi.org/10.1021/ja0252072). Citado 1 vez na página 9.

NOGUEIRA, M. J. L. S. M. G. A. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872–1878, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000900030>. Citado 1 vez na página 9.

PAULA, F. L. Investigação da ordem local de nanocolóides magnéticos por espalhamento em baixo ângulo. **Universidade de Brasília, Brasília, DF**, 2009. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/4565?locale=en>. Citado 1 vez na página 8.

PIMENTA, C. P. M. M. Nanociências e nanotecnologia. **Parcerias Estratégicas, Número 18, Brasília, DF**, 2004. Disponível em: [https://www.cgee.org.br/documents/10195/734063/8.1.1\\_1891.pdf/6b427684-e7dc-4c9b-95fd-dd4410a4d481?version=1.0](https://www.cgee.org.br/documents/10195/734063/8.1.1_1891.pdf/6b427684-e7dc-4c9b-95fd-dd4410a4d481?version=1.0). Citado 3 vezes nas páginas 7, 8.

POROD, G. Die Röntgenkleinwinkelstreuung von dichtgepackten kolloiden Systemen. **Kolloid-Zeitschrift**, v. 124, n. 2, p. 83–114, 1951. ISSN 1435-1536. DOI: [10.1007/BF01512792](https://doi.org/10.1007/BF01512792). Citado 1 vez na página 14.

SAHOO, S.; PARVEEN, S.; PANDA, J. The present and future of nanotechnology in human health care. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 3, n. 1, p. 20–31, 2007. ISSN 1549-9634. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2006.11.008>. Citado 1 vez na página 7.

SASAKI, L. B. J. M. Introdução à Difração de Raios-X em Cristais. **Universidade Federal do Ceará**, 2000. Disponível em:

<http://www.raiosx.ufc.br/site/wp-content/uploads/downloads/2013/01/apostila.pdf>.  
Citado 2 vez na página 10.

SHARMA, V. K.; SAYES, C. M.; GUO, B.; PILLAI, S.; PARSONS, J. G.; WANG, C.; YAN, B.; MA, X. Interactions between silver nanoparticles and other metal nanoparticles under environmentally relevant conditions: A review. **Science of The Total Environment**, v. 653, p. 1042–1051, 2019. ISSN 0048-9697. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.411>. Citado 1 vez na página 7.

SILVA, V. C. Síntese biogênica de nanopartículas de prata por fungos marinhos: Seleção, otimização , caracterização atividade antimicrobiana e potencial toxicidade em organismos aquáticos. **Universidade Estadual Paulista, São Vicente, SP**, 2019. Citado 1 vez na página 8.

YOSHIMURA, E. O. E. **Física das Radiações**. Edição: Oficina de Textos. [S.l.: s.n.], 2010. Disponível em: <https://doceru.com/doc/n1c1ss8>. Citado 1 vez na página 18.