



Universidade de Aveiro Departamento de Química

2013

**CINDY NOVO DE
CARVALHO**

**CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
PRATA COLOIDAIIS DISPERSAS EM SOLOS**



**CINDY NOVO DE
CARVALHO**

**CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
PRATA COLOIDAIIS DISPERSAS EM SOLOS**

Tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestrado em Engenharia Química, realizada sob a orientação científica da Doutora Sónia Morais Rodrigues e da Professora Doutora Eduarda Pereira do Departamento de Química/CESAM da Universidade de Aveiro

Este trabalho é financiado por Fundos FEDER através do Programa Operacional Fatores de Competitividade – COMPETE e por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do projeto PTDC/AGR-PRO/4091/2012.

o júri

Presidente

Prof. Doutor Carlos Manuel Santos Silva

professor auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof.^a Doutora Maria Eduarda da Cunha Pereira

professora auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutor David Paulo Fangueiro

bolseiro de Pós-Doutoramento do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

agradecimentos

Não quero deixar de aproveitar este espaço para tecer os devidos agradecimentos que este trabalho requer. É-me difícil destacar uma ou outra pessoa em específico de entre todas as que me ajudaram neste projeto, pois todas tiveram o seu grau de importância, dentro do contexto em que se inseriram. No entanto, não posso, obviamente, deixar de referir e agradecer a enorme ajuda proporcionada pelas orientadoras Sónia Morais e Maria Eduarda Pereira e pelas pessoas do laboratório sempre disponíveis para me acompanhar ao longo do processo, quando necessário, como, por exemplo, o Nuno Cruz e a Daniela Tavares, sem esquecer todos os outros que, de uma forma ou de outra, participaram neste trabalho

Um agradecimento ainda ao Professor Tito Trindade que disponibilizou o laboratório e as técnicas de síntese de nanopartículas de prata.

Também não posso deixar de referir o apoio prestado por familiares e amigos, tanto ao longo desta última etapa académica como ao longo de todo esse percurso. Sem eles, também não me teria sido possível concretizar este trabalho.

A todos, um enorme obrigado.

palavras-chave

nanopartículas metálicas, contaminação do solo, solução do solo, partição solo-solução

Resumo

As nanopartículas de prata (AgNP) têm sido usadas de modo crescente pela indústria. Devido às suas propriedades antibacterianas, são vários os produtos em que estas partículas são adicionadas. Desde pastas dentífricas a cosméticos, tintas a têxteis, as AgNP são utilizadas em larga escala, o que aumenta a sua dispersão em águas residuais quer urbanas quer industriais. Na sequência da libertação de AgNP para águas residuais poderá ocorrer contaminação de águas superficiais, subterrâneas e solos.

O destino das AgNP aquando a sua dispersão no ambiente tem vindo a ser estudado nos últimos anos. Em particular, o seu comportamento químico em meios aquosos e nos solos, assim como o seu impacto nos ecossistemas tem sido alvo de estudo de forma a perceber as implicações do seu uso quotidiano. Nos solos, as AgNP podem ser absorvidas por plantas, e entrar na alimentação de animais e do Homem, com possíveis efeitos prejudiciais para a saúde. As concentrações que atingem no ambiente e as alterações que possam sofrer durante o seu percurso afetarão o seu impacto. É por isso necessário estudar o comportamento dessas partículas e o seu destino, para entendermos se elas realmente representam uma ameaça à saúde e ao ambiente e regulamentar o seu uso.

Assim, este trabalho teve por objetivo caracterizar AgNP dispersas em solos. As análises efetuadas ao longo do estudo permitiram concluir que o pH dos solos não é afetado pela presença de AgNP e que as AgNP são fortemente retidas no fração sólida dos solos. A concentração de prata recolhida nas soluções de solo é baixa (< 10% da concentração de Ag adicionada) e a Ag encontra-se, principalmente, sob a forma de iões em solução. A soma da percentagem recolhida na solução de solo e da percentagem de prata obtida após extração com HNO_3 2 mol L^{-1} da fração sólida do solo nunca ultrapassa os 30% do Ag adicionado.

Foi ainda possível construir modelos empíricos que explicam a concentração de prata em solução às 24, 48 e 72 horas, sendo que em todos os casos se observou que a concentração de prata é função da concentração de Fe em solução.

palavras-chave

metal-based nanoparticles, soil contamination, soil solution, soil – solution partition.

Resumo

Silver nanoparticles (AgNP) have been used increasingly by the industry . Due to its antibacterial properties there are several products in which these particles are added. Since cosmetic products, dentifrice pastes, paints, textiles, silver nanoparticles are used on a large scale which increases its dispersion in wastewater, either industrial or urban. Following the release of silver nanoparticles for wastewater contamination of surface and groundwater and soil may occur.

The fate of AgNP during their dispersion in the environment has been studied in recent years. Particularly their chemical behavior in aqueous media and soils as well as their impact on ecosystems has been studied in order to understand the implications of their daily use. In soils, silver nanoparticles can be absorbed by plants and enter the animal feed and human with possible adverse health effects. Concentrations that affect the environment, the changes that they may suffer during their journey and the level to which they are absorbed by plants certainly affect their impact. That is why it is necessary to study the behavior of these particles and their destiny in order to understand whether they really represent a threat to health and the environment and regulate their use.

Thus, this study aimed to characterize silver nanoparticles dispersed in soils. The studies carried out throughout this work allowed to conclude that the soil pH is not affected by the presence of AgNP and AgNP are retained by soil at least at 70%. Furthermore, the silver concentration in the soil solutions represents 10% maximum of its entry value and is mainly in the form of ions.

Finally, it was possible to derive empirical models explaining silver concentration in soil solution at 24, 48 and 72 hours after addition of AgNP to soils. In all cases, silver in solution was related to Fe concentration in soil solution.

Índice

1	Introdução	1
1.1	Métodos de síntese de nanopartículas.....	2
1.2	Métodos de caracterização de nanopartículas.....	4
1.2.1	Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)	5
1.2.2	Microscopia Eletrônica de Varrimento (SEM)	6
1.2.3	Microscopia de Força Atômica (AFM)	7
1.2.4	Espectroscopia de absorção de UV/VIS.....	9
1.2.5	Difração de Raio X (XRD)	10
1.2.6	Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	11
1.2.7	Espectroscopia de Massa com Fonte Indutiva de Plasma (ICP-MS).....	11
1.2.8	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	13
1.3	Principais propriedades das nanopartículas de prata	14
1.4	Aplicações das nanopartículas de prata	15
1.5	Presença de nanopartículas de prata em lamas de depuração e nos solos	16
1.6	Estudo do comportamento das nanopartículas de prata nos solos	18
2	Objetivos do trabalho.....	21
3	Materiais e métodos	22
3.1	Síntese das nanopartículas de prata.....	22
3.2	Caracterização da suspensão de nanopartículas de prata	24
3.3	Adição de nanopartículas de prata a solos e avaliação da sua transferência para a solução do solo.....	24
3.3.1	Montagem experimental.....	24
	Montagem para avaliação da influência das propriedades do solo na transferência de nanopartículas de prata - Experiência 2.....	26
3.3.2	Caracterização da solução de solo	28
3.3.3	Análise da capacidade de detecção de nanopartículas de prata na solução de solo - Experiência 1	28
3.3.4	Avaliação da influência das propriedades do solo na transferência de nanopartículas de prata - Experiência 2.....	29
3.4	Caracterização da fração sólida do solo	29
4	Resultados	30
4.1	Caracterização da suspensão de nanopartículas de prata	30
4.2	Caracterização da solução de solo.....	32

4.2.1	Análise da capacidade de detecção de nanopartículas de prata na solução de solo - Experiência 1	32
4.2.2	Avaliação da influência das propriedades do solo na transferência de nanopartículas de prata - Experiência 2.....	34
4.2.3	Caracterização da fração sólida do solo	37
5	Discussão.....	39
5.1	Síntese e caracterização da suspensão de nanopartículas de prata	39
5.2	Análise das soluções de solo.....	39
5.3	Caracterização da fração sólida do solo	48
6	Conclusões.....	49
7	Referências.....	50

Índice de figuras

Figura 1: Forças repulsivas separam as AgNP com a ajuda do boro-hidreto adsorvido	4
Figura 2: Esquema de um microscópio TEM	5
Figura 3: (a) Imagem das AgNP e (b) distribuição de tamanhos de AgNP por TEM	6
Figura 4: Sinais resultantes da interação do feixe de elétrons com a amostra numa análise SEM	7
Figura 5: Exemplo de imagens produzidas através de microscopia eletrónica de varrimento	7
Figura 6: Esquema representativo do funcionamento de um microscópio de força atómica	8
Figura 7: Esquema representativo do varrimento efetuado pela sonda numa partícula em análise	8
Figura 8: Absorvância e transmitância de uma dispersão de nanopartículas de ouro de 50 nm	9
Figura 9: Espectro de absorção de uma suspensão de nanopartículas de ouro de 2 nm.	10
Figura 10: Padrão XRD de AgNP sintetizadas com condensação de gás inerte	11
Figura 11: Esquema das zonas fundamentais de um ICP-MS (An Overview of ICP/MS, [s.d.]	12
Figura 12: Esquema do percurso da amostra num ICP (Wolf, 2005)	12
Figura 13: Espectro ICP-MS de Vanádio (51V)	13
Figura 14: Esquema do espectro de uma amostra (ThermoNicolet, 2001)	13
Figura 15: Espectro de poliestireno processado em filme, obtido por análise FTIR	14
Figura 16a): Estágios de uma suspensão de AgNP (A) Suspensão amarelo claro (B) Suspensão amarelo escuro, (C) Suspensão violeta e (D) Suspensão cinza, consoante o aumento da agregação das partículas; b) Espectro de absorção UV-VIS de uma suspensão de AgNP	22
Figura 17: Esquema representativo montagem usada para a síntese de AgNP	23
Figura 18: Esquema de um amostrador Rhizon	25
Figura 19: Disposição de alguns dos sistemas Solo + AgNP estudados	27
Figura 20: (a) Suspensão e (b) Imagem das AgNP sintetizadas obtida por TEM	30
Figura 21: Distribuição de tamanhos das AgNP sintetizadas. $D = 7 \pm 1$ nm	30
Figura 22: Potencial zeta da suspensão de nanopartículas sintetizada.	31
Figura 23: Espectro de absorção de UV/VIS da suspensão de nanopartículas com concentração de Ag de 2.7, 5.4 e 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$	32
Figura 24: Variação da concentração de AgNP ao longo do tempo no teste aos amostradores	32
Figura 25: Espectro de absorção por UV/VIS da suspensão de nanopartículas de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$	33
Figura 26: Variação de pH na solução de solo para diferentes suspensões de nanopartículas	33
Figura 27: Concentração de Ag nas soluções de solo para as suspensões de 5.4 e 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$	34
Figura 28: Espectro de absorção por UV/VIS da solução de solo de superfície para o dia 1, no solo Maia 1	35
Figura 29: Variação de pH na superfície dos sistemas solo + AgNP e no branco nos vários solos Maia 1 (a), Maia 2 (b), Maia 3 (c), Maia 5 (d), Maia 9 (e), Estarreja 11 (f), Estarreja 12 (g) e Estarreja 1B (h)	36
Figura 30: Concentração de Ag nos sistemas solo + AgNP ao longo do tempo.	37
Figura 31: Extracção ácida de prata da fração sólida dos solos, com uma solução de HNO_3 0,43 e 2 mol L^{-1}	38
Figura 32 – Relação entre concentração de Ag e de Fe em solução de solo nos dias 1 (a), 2 (b) e 3 (c) na Experiência 2.	45
Figura 33 - Relação entre concentração de Ag e o pH em solução de solo, nos dias 1 (a), 2 (b) e 3 (c) na Experiência 2.	46
Figura 34 – Relação entre pH e concentração de Ag na solução de solo nos dias 1, 2 e 3 na experiência 2.	46

1 Introdução

A nanotecnologia é uma área científica que tem vindo a crescer exponencialmente ao longo dos últimos anos. A utilização de materiais de dimensões entre 1 e 100 nanómetros tornou-se extremamente apelativa, uma vez que as propriedades dos materiais na nanoescala diferem das que apresentam a escalas superiores. Em particular, as nanopartículas exibem propriedades físicas e químicas que lhes permitem aplicações numa grande variedade de indústrias como, por exemplo, eletrónica, saúde, remediação de problemas ambientais e construção, além de desempenharem um papel cada vez mais fundamental em diversos processos químicos, como por exemplo na catálise (Pal *et al.*, 2011). Por esse motivo, cada vez mais são estudadas novas nanopartículas e métodos de síntese eficientes e industrialmente aplicáveis, que permitam obter as características pretendidas para determinados materiais ou processos.

Podem distinguir-se nanopartículas de três categorias: fulerenos, dendrímeros e pontos quânticos. Os fulerenos são partículas esféricas ocas compostas por 60 átomos de carbono, que se assemelham a bolas de futebol e que têm aplicações em componentes eletrónicos, processos energéticos e na saúde. Os dendrímeros são estruturas poliméricas de nanoescala, com especial aplicação na área da saúde, e os pontos quânticos são partículas que contêm eletrões livres, o que os torna nanocristais semicondutores, sendo a área dos semicondutores uma das suas principais aplicações (Pal *et al.*, 2011). Além desta classificação, também se consideram as nanopartículas metálicas e cerâmicas. Ambas se aplicam numa diversidade de áreas, sendo as metálicas comumente aplicadas em catálise, eletrónica, fotónica, farmácia e ambiente, enquanto as nanopartículas cerâmicas encontram aplicações na indústria aeroespacial, minas, medicina, refinaria, entre outras (Buzea *et al.*, 2007; Texas, [s.d.]).

De notar que existem nanopartículas naturais resultantes de processos geoquímicos ou biológicos como erupções vulcânicas ou processos de combustão e nanopartículas que resultam de processos de síntese e/ou industriais (“antropogénicas”) tal como mencionado por Thidell and Arnfalk (2004).

No caso particular das nanopartículas de prata (AgNP), observa-se que, devido às suas propriedades, as AgNP têm vindo a fazer parte de diversos tipos de produtos, registando-se um evolução de menos de 30 produtos com AgNP na sua composição em 2006, para mais de 1000, em Março de 2011, sendo, atualmente, um dos nanomateriais mais comuns em bens de consumo (Benoit *et al.*, 2013). Em 2011, estimou-se que a produção de AgNP rondava as 280 toneladas por ano e que esse número quadruplicaria até 2015. Dado que existem ainda poucos estudos sobre o

destino destas nanopartículas no ambiente e como é de extrema importância entender o seu impacto nos vários ecossistemas é nessas partículas que este estudo se vai focar.

1.1 Métodos de síntese de nanopartículas

São vários os métodos utilizados para sintetizar nanopartículas. De um modo geral, os métodos classificam-se segundo dois tipos de abordagem: *de cima para baixo* (métodos físicos) e *de baixo para cima* (métodos químicos e biológicos) (Eustis, 2006). As abordagens *de cima para baixo* incluem métodos de natureza física, tais como decomposição térmica, difusão, irradiação, entre outros. As abordagens *de baixo para cima* são métodos de natureza química ou biológica, como, por exemplo, os métodos de crescimento de sementes, síntese eletroquímica, redução química ou o uso de elementos biológicos para a produção de nanopartículas. Cada método exige o uso de diferentes agentes físicos, químicos ou biológicos, com vista à obtenção do tamanho e forma pretendidos (Mahendra and Duran, 2011).

De entre os métodos químicos, o mais usado para a síntese de nanopartículas metálicas é o da redução química. Este método consiste na redução de iões metálicos à sua forma elementar na forma de nanopartículas, usando agentes químicos redutores, tais como o boro-hidreto de sódio ou o citrato de sódio (Cao *et al.*, 2009; Hussain, 2011; Jana *et al.*, 2000; Ratyakshi and Chauhan, 2009; Wynn, 2012). Outros agentes redutores usados neste método são o N,N-Dimetilformaldeído (DMF) (Pastoriza-Santos and Liz-Marzán, 2000), poli(N-vinil pirrolidina) (PVP), álcool etílico (J.-S. Kim, 2007), tetra-n-tetrafluoroborato (TFATFB) e o brometo de cetiltrimetilamónio (CTAB) (Hanauer *et al.*, 2007). Os métodos de redução química apresentam inúmeras alternativas, não apenas em relação ao agente redutor usado, mas também em relação aos agentes estabilizantes e suportes reacionais. A escolha do método de síntese e dos seus agentes difere consoante as características que se pretendem para as nanopartículas, podendo, por vezes, um agente redutor também ter o papel de estabilizador na reação (Christy and Umadevi, 2012). As variações existentes incluem também abordagens mais “verdes”, métodos esses que cada vez mais se procuram otimizar, pois os métodos químicos podem introduzir contaminantes químicos nos processos (Amin *et al.*, 2012). Apesar disto, os métodos químicos são frequentemente tidos como os que permitem um melhor controlo sobre as propriedades das nanopartículas que se querem sintetizar (Khan *et al.*, 2011).

Entre os métodos de redução química para a síntese de AgNP, existem uns mais simples e outros mais complexos. Vários autores (Hussain, 2011; Solomon *et al.*, 2007; Wynn, 2012) descrevem métodos de síntese recorrendo a passos simples e que envolvem reagentes e

equipamentos facilmente acessíveis. Outros descrevem métodos de síntese que se tornam mais caros pelo uso de determinados equipamentos, aplicação de temperaturas mais elevadas ou utilização de reagentes menos acessíveis (Hsu and Wu, 2011; Piao *et al.*, 2011; Wynn, 2012). Ainda na procura de novas soluções, também surgem os métodos verdes, que apresentam vantagens para o ambiente, usando extratos de plantas, por exemplo (Kumar, 2012; Mitra *et al.*, 2012). Em alguns destes casos, existem processos que ainda necessitam de otimização a nível de condições experimentais e controlo de resultados obtidos (Khan *et al.*, 2011).

Apesar das imensas variações existentes por entre os métodos de síntese de AgNP, é possível notar uma constante: a proporção entre agente redutor e estabilizador utilizada é frequentemente 2:1. Esta proporção entre intervenientes químicos parece ser a que permite atingir os resultados mais estáveis, resultando num colóide de nanopartículas não aglomeradas e estáveis ao longo de grandes períodos de tempo (Solomon *et al.*, 2007). Solomon *et al.* (2007) refere, até, que os resultados atingidos permitem o armazenamento da suspensão de AgNP durante anos e em recipientes transparentes. Alguns métodos, ainda assim, recorrem à adição de revestimentos às nanopartículas ou polímeros por forma a prevenir a formação de aglomerados (Wynn, 2012).

Como já referido, as características das AgNP dependem dos agentes químicos utilizados na sua síntese. Em termos de tamanho, no entanto, é de notar um foco na gama de partículas entre 10 nm e os 30 nm (Hsu and Wu, 2011; Khan *et al.*, 2011; Mallikarjuna *et al.*, 2011; Piao *et al.*, 2011; Solomon *et al.*, 2007; Wynn, 2012). Segundo Piao *et al.* (2011), as partículas exibem maior estabilidade acima dos 10 nm.

A síntese de AgNP através dos métodos de redução química resulta em suspensões coloidais de cor amarela, devida às próprias partículas de prata em suspensão. No entanto, é comum observar-se aglomeração das nanopartículas, nos casos em que a suspensão não esteja devidamente estabilizada. A aglomeração de AgNP faz a suspensão passar da cor amarela a cinza, a cor mais popularmente conhecida da prata, que se deve à existência de partículas de prata de maiores dimensões que, por interagirem com a luz de forma diferente das nanopartículas, conferem a dita tonalidade à suspensão de partículas aglomeradas. A estabilidade das nanopartículas em suspensão depende da quantidade de agente estabilizante presente. Esse agente funciona como um escudo entre as nanopartículas, evitando que a atração eletrónica seja suficientemente forte para que as mesmas se juntem. A Figura 1 pretende ilustrar a ação do agente estabilizador boro-hidreto de sódio numa suspensão de AgNP (Wynn, 2012).

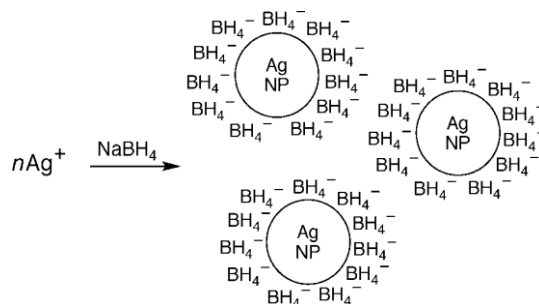


Figura 1: Forças repulsivas separam as AgNP com a ajuda do boro-hidreto adsorvido

Assim, havendo suficiente quantidade de agente estabilizador, a agregação é prevenida. De notar, no entanto, que uma grande concentração de agente estabilizador pode também provocar agregação (Hyning, *et al*, 2001; Hyning *et al*, 1998). Desta forma, é importante que, a quantidade dos reagentes usados na síntese das nanopartículas seja o mais rigorosa possível e que o procedimento experimental seja seguido, de forma a evitar a aglomeração das nanopartículas, bem como para atingir as propriedades pretendidas para as partículas.

1.2 Métodos de caracterização de nanopartículas

A caracterização de nanopartículas pode ser feita através de diversas técnicas. Essas técnicas permitem identificar as propriedades das partículas e as características da respetiva solução, sendo cruciais para a compreensão dos processos em que elas estejam envolvidas. Como tal, é importante que as mesmas sejam aqui abordadas, de forma a proporcionar um maior entendimento sobre o funcionamento de cada uma das técnicas existentes e respetiva importância.

Existem métodos de caracterização diretos que permitem obter resultados de forma imediata, como é o caso da microscopia, e outros métodos, que podem ser definidos como indiretos, que usam algum tipo de relação matemática para obter o resultado final, como é o caso da difração (Wynn, 2012). Cada método apresenta vantagens assim como limitações. A escolha do método prende-se sobretudo com questões relacionadas com o tipo de amostra, a informação que se pretende obter, economia ou tempo disponível. Por exemplo, um dado método pode facilmente detetar nanopartículas, enquanto outros permitem obter informações acerca da quantidade, distribuição de tamanhos ou de área superficial. Por esse motivo, é comum recorrer-se a vários tipos de métodos, de forma a contrabalançar as restrições existentes e poder obter os dados pretendidos e a informação mais completa possível.

Alguns métodos exigem amostras líquidas, outros em forma de aerossol (University of Essex, 2010). Outros exigem um pré-tratamento da amostra, uma quantidade específica de material a analisar ou o seguimento de um protocolo específico. Apresentam-se, de seguida, os métodos mais usuais na caracterização de nanopartículas (University of Essex, 2010).

1.2.1 Microscopia Eletrónica de Transmissão (TEM)

A análise TEM é um método importante para a caracterização direta de nanopartículas. Este método permite obter medidas quantitativas da partícula e/ou granulometria, distribuição de tamanho e morfologia.

Esta ferramenta de análise converte a passagem de um raio focado de eletrões através de uma amostra numa imagem de fácil compreensão e funciona de uma forma semelhante ao comum microscópio, como se pode ver na Figura 2, permitindo imagens de alta resolução devido ao uso de eletrões em vez de luz.

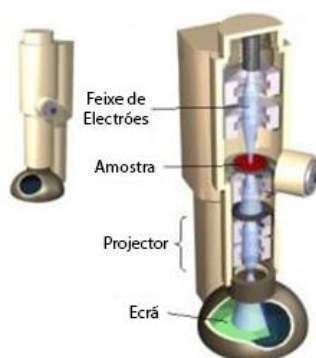


Figura 2: Esquema de um microscópio TEM

O sucesso da recolha de imagens de nanopartículas através de TEM depende do contraste relativo entre a amostra e o fundo sob o qual ela está. Para proceder à análise TEM, as amostras passam por uma fase de secagem. As nanopartículas são depositadas numa grelha de cobre revestida com uma camada fina de carbono (ou material polimérico). A amostra é colocada na grelha com um conta-gotas ocorrendo a sua distribuição aleatória pela grelha. A mesma é evaporada sob vácuo e fotografada em diversas posições, de forma a obter um conjunto representativo de imagens da amostra. Materiais com densidades eletrónicas significativamente mais elevadas que o carbono amorfo são facilmente captados, como acontece com grande parte dos metais (por exemplo, a prata, o ouro, o cobre e o alumínio), óxidos (incluindo sílica, óxido de alumínio, óxido de titânio) e partículas como nanopartículas poliméricas, nanotubos de carbono, pontos quânticos e nanopartículas magnéticas (“Transmission Electron Microscopy Analysis of

Nanoparticles,” 2012). Como a grelha de suporte é amorfa e tem uma densidade eletrónica relativamente baixa, consegue-se um substrato uniforme para a captação de imagens da amostra.

Neste tipo de análise é também importante dar especial atenção à preparação das amostras pois, esta fase, afeta a qualidade das imagens obtidas no final. Assim, é importante que as amostras passem por um processo de limpeza, de forma a eliminar partículas orgânicas não voláteis, que não se conseguem remover sob vácuo, ou a presença de espécies inorgânicas (por exemplo sais e sílica dissolvida) que se concentram durante a secagem da amostra, uma vez na grelha de suporte. No caso das amostras estarem demasiado diluídas, pode recorrer-se à sua centrifugação e decantação para concentrar a amostra. Concentrar as partículas da amostra serve essencialmente para aumentar o número de partículas nas imagens obtidas pela análise TEM.

Este método permite obter, de uma forma direta, informação acerca da forma e distribuição de tamanhos das nanopartículas, sobretudo quando estas são nanopartículas esféricas individuais (sem estarem aglomeradas). No entanto, quando as nanopartículas estão aglomeradas ou apresentam formas irregulares, a análise estatística do tamanho das partículas torna-se menos precisa. Na determinação da distribuição do tamanho de partículas a estatística resultante representa a média e desvio padrão das amostras, obtendo-se um resultado semelhante à Figura 3 (*University of Essex, 2010; “Transmission Electron Microscopy Analysis of Nanoparticles,” 2012; Reimer and Kohl, 2008*).

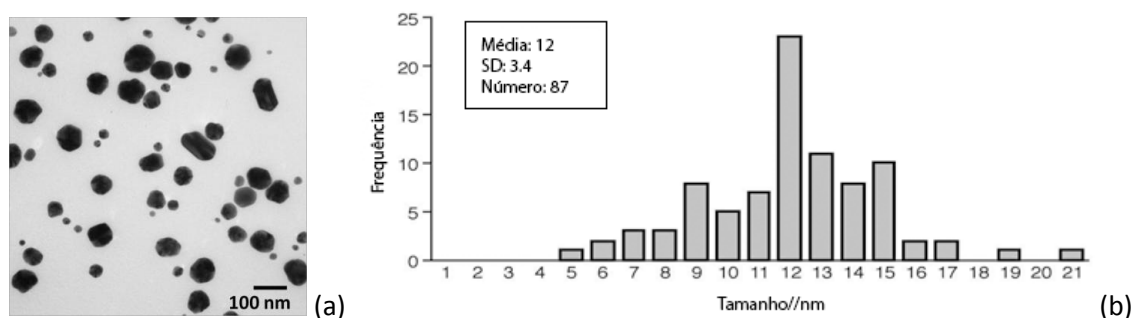


Figura 3: (a) Imagem das AgNP e (b) distribuição de tamanhos de AgNP por TEM

1.2.2 Microscopia Eletrónica de Varrimento (SEM)

A análise SEM é uma das técnicas mais versáteis existentes para examinar a morfologia de nanopartículas. O microscópio usa, à semelhança do TEM, um feixe de eletrões focado mas, em vez de passar através da amostra, abrange toda a superfície sob a qual se encontra a amostra em estudo. Essa ação produz uma série de sinais que são posteriormente convertidos em imagens, para uma mais fácil interpretação de dados.

A formação da imagem de uma análise SEM depende da receção dos sinais resultante da interação entre o feixe de eletrões e a espécie em estudo. Dessa interação resultam sinais variados, de entre os quais se podem destacar os *eletrões retroespalhados* e os *eletrões secundários (SE)*, em que os primeiros são responsáveis pela informação acerca da forma, composição do material em análise e pela atribuição de contraste à imagem, e os segundos pela visualização da textura e rugosidade na análise SEM (Wang and Zhou, 2006). A Figura 4 mostra os principais sinais envolvidos na análise SEM.

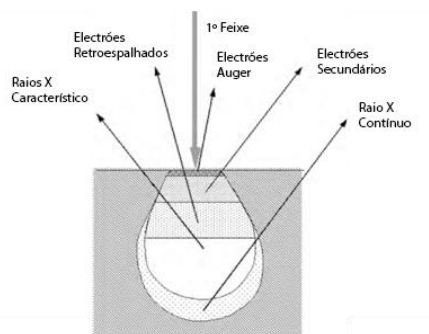


Figura 4: Sinais resultantes da interação do feixe de eletrões com a amostra numa análise SEM

A preparação de amostras para uma análise deste tipo exige um trabalho mínimo e a obtenção de resultados é normalmente rápida. Os principais requisitos deste tipo de análise são que a amostra deve ser sólida e deve caber na câmara do microscópio. Os sinais recolhidos pelos sensores do microscópio permitem produzir imagens semelhantes às apresentadas na Figura 5, a partir das quais se conseguem obter dados relativos à morfologias e composição química do material analisado, entre outros, de uma forma direta (Wang and Zhou, 2006).

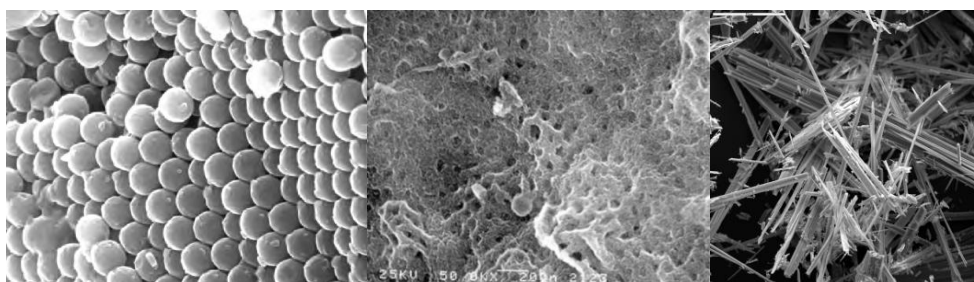


Figura 5: Exemplo de imagens produzidas através de microscopia eletrónica de varrimento

1.2.3 Microscopia de Força Atómica (AFM)

A AFM é outro método usado para determinar o tamanho das nanopartículas e algumas das suas características. Este método tem por base o uso de uma sonda que percorre a superfície das partículas, recolhendo, assim, informação. A sonda interage com a superfície da partícula

devido às forças elétricas, permitindo a formação de uma imagem do contorno da partícula. Esta técnica permite gerar imagens de nível atômico, ou seja, de alta resolução, sendo possível distinguir átomos próximos. A sonda envolvida no processo é feita de uma vara de silicone ou nitreto de silicone e possui uma ponta ultrafina (100-200 μm de comprimento e 20-60 nm de raio de curvatura) (University of Essex, 2010). A movimentação progressiva deste aparato, para trás e para a frente, sob a superfície da amostra é o que permite gerar uma imagem topográfica da amostra. Um esquema do sistema pode ser visualizado na Figura 6.

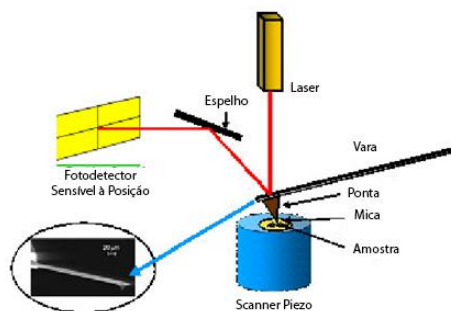


Figura 6: Esquema representativo do funcionamento de um microscópio de força atômica

As interações entre amostra e sonda são devidas a diferentes tipos de forças. As forças de Van der Waals são, de uma forma mais comum, associadas à Microscopia de Força Atômica. À medida que a sonda percorre a superfície da amostra, as forças de Van der Waals entre a superfície e a amostra geram sinais elétricos repulsivos, conduzindo, então à formação da imagem topográfica. De uma forma mais esquematizada, o percurso da sonda sob a superfície da partícula pode ser traduzido pela Figura 7.

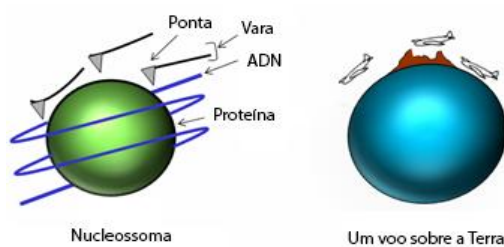


Figura 7: Esquema representativo do varrimento efetuado pela sonda numa partícula em análise

O método AFM, ao contrário das imagens geradas por TEM, não induz alterações no meio, ao que se associa uma imagem mais fiável. Este método não exige a utilização de vácuo ou um tratamento especial para a preparação de amostras, podendo as amostras ser analisadas em estado líquido, o que contribui para a obtenção de melhores resultados. É um método mais rápido e mais económico que o TEM e o SEM (Chatterjee *et al*, 2010; Gloystein and Vilalta-Clemente, 2008; University of Essex, 2010; Meyer, 1992).

1.2.4 Espectroscopia de absorção de UV/VIS

A espectroscopia de absorção de UV/VIS é uma técnica usada para quantificar a luz que é absorvida e dispersa por uma amostra. A amostra é colocada entre a fonte luminosa e o detetor, sendo a intensidade do feixe de luz é medida antes e depois de passar pela amostra. O espectro resultante da soma da luz absorvida e da luz dispersa pela amostra e os seus dados são tipicamente representados numa curva que varia em função do comprimento de onda (Caro *et al.*, 2010). Para garantir que as características espectrais da fase dispersa não influenciam o espectro da amostra, é estabelecida uma linha de base, que corresponde ao espectro do solvente.

As nanopartículas têm propriedades óticas sensíveis ao tamanho, forma, concentração, estado de aglomeração e índice de refração junto da sua superfície, o que faz com que a espectroscopia UV/VIS seja uma ferramenta valorizada para a identificação, caracterização e estudo deste tipo de materiais. Nanopartículas metálicas, como as de prata, interagem fortemente a comprimentos de onda específicos. As lâmpadas usadas neste tipo de equipamento são tipicamente de Deutério e Tungsténio e os espectros são normalmente obtidos a partir de células de 1 mL.

A análise de uma amostra através da espectroscopia de UV/VIS resulta, tipicamente, em dois tipos de gráficos: absorvância e/ou transmitância. A transmitância (T), é definida como a fração de fótons que atravessa a amostra sobre o número de fótons incidentes, ou seja, $T=I/I_0$. Sendo estes os fótons medidos numa análise de UV/VIS, a absorvância é obtida através de uma relação simples com a transmitância, $A=-\log_{10}(T)$, o que resulta, no final, nos gráficos exemplificadores na Figura 8.

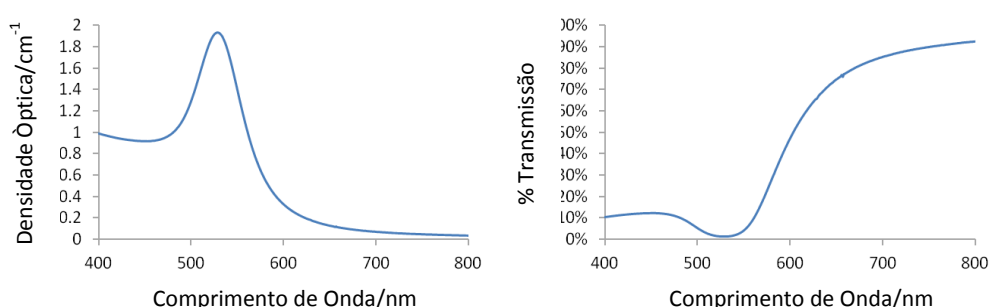


Figura 8: Absorvância e transmitância de uma dispersão de nanopartículas de ouro de 50 nm

A percentagem relativa de dispersão ou absorvância do espectro de extinção medido depende do tamanho, forma, composição e estado de agregação da amostra. A amostra pode absorver luz, dispersá-la ou ambas as coisas. A dispersão de luz por partículas de ouro de 2 nm é

negligenciável. Como mostrado na Figura 9, o espectro ótico de nanopartículas resulta quase inteiramente da absorção de fótons pelo metal.

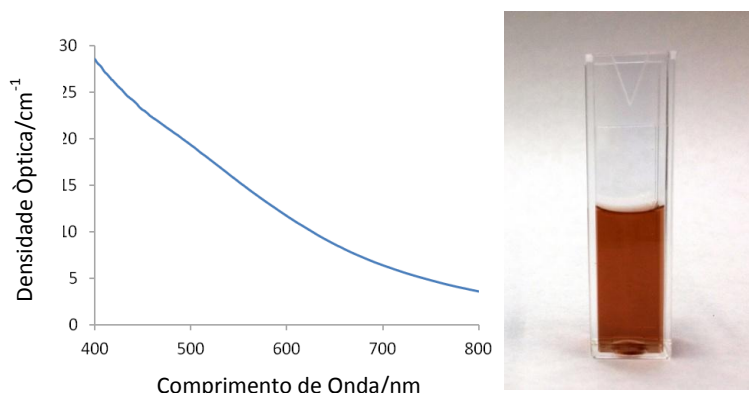


Figura 9: Espectro de absorção de uma suspensão de nanopartículas de ouro de 2 nm.

1.2.5 Difração de Raio X (XRD)

A difração de raio X baseia-se na interação desses raios com materiais cristalinos. Como cerca de 95% dos materiais sólidos podem ser descritos como cristalinos, este método aplica-se de uma forma bastante abrangente. A interação existente entre os raios X e a matéria resulta num padrão de difração que permite obter informações acerca do material analisado (Scintag, Inc, 1999). A análise consiste em fazer incidir um raio sobre o material e, através da dispersão que ele sofre durante o seu percurso por entre os átomos, recolher a informação que permite identificar e caracterizar a substância em estudo. Como cada substância tem uma disposição diferente de átomos, o padrão de difração é diferente para cada uma delas, o que resulta numa espécie de impressão digital única e permite a identificação de compostos. Assim, ao obter-se o padrão de difração de uma substância, observam-se picos de difração, sendo cada pico correspondente a um determinado tipo de elemento. Na Figura 10, por exemplo, podem identificar-se AgNP sintetizadas através do seu padrão de difração característico. O pico mais alto corresponde a um elemento em maior quantidade, neste caso, a prata, enquanto outros picos correspondem a outros elementos presentes no material analisado.

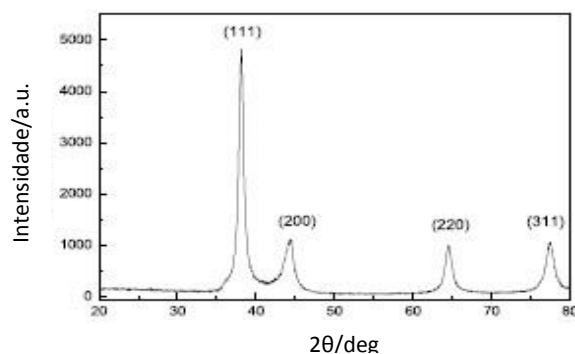


Figura 10: Padrão XRD de AgNP sintetizadas com condensação de gás inerte

Além de se poderem identificar elementos com o XRD, também é possível, por exemplo, obter dados acerca da percentagem de material amorfo e cristalino da amostra (comumente definida como cristalinidade) (Scintag, Inc, 1999).

1.2.6 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

O método DLS permite medir o nível de agregação de nanopartículas, como é o caso das AgNP. Em solução, as partículas seguem um movimento Browniano, resultante dos seus movimentos e colisões contínuas entre elas. Com base no modelo Browniano, as partículas mais pequenas são as que se movem mais depressa. Fazendo incidir um laser na suspensão de AgNP, este irá dispersar. A intensidade com que o raio sofre dispersão é dependente do movimento das partículas em estudo e, portanto, é possível obter uma relação matemática para o cálculo do tamanho das partículas presentes. Essa relação matemática é a equação de Stokes-Einstein (University of Essex, 2010):

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$$

Onde, D é a constante de difusão, k_B é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta, η é a viscosidade do solvente e r é o raio da partícula (University of Essex, 2010).

1.2.7 Espectroscopia de Massa com Fonte Indutiva de Plasma (ICP-MS)

Este método é utilizado para determinar elementos químicos em soluções líquidas e, devido à capacidade que tem em analisar em simultâneo diversos elementos, é uma técnica aplicada em diversos laboratórios, entre os quais, laboratórios de análise geoquímica, ambiental e clínica. No caso das nanopartículas metálicas como as AgNPs este método pode ser utilizado para determinar a concentração total de prata em solução, sendo que será necessário um processo

químico prévio de digestão ácida das nanopartículas, de forma a que a prata fique na forma de iões em solução. Apesar de este tipo de análise ser possível através de outros métodos, o ICP-MS apresenta claras vantagens em relação aos outros, nomeadamente nos limites de deteção, rapidez de análise, capacidade isotópica e multi-elementar (ThermoFisher, n.d.; Wolf, 2005).

A instrumentação que está por detrás desta técnica de análise é composta por cinco componentes fundamentais: ionização, amostragem, focagem, filtração e deteção, como representado pela Figura 11

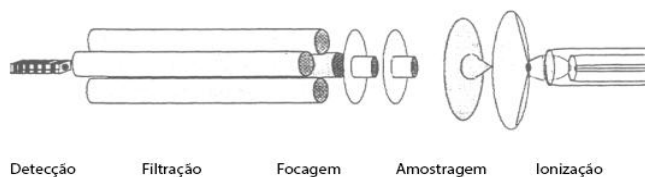


Figura 11: Esquema das zonas fundamentais de um ICP-MS (An Overview of ICP/MS, [s.d.]

O método baseia-se no uso de um plasma de alta temperatura para gerar iões de carga positiva. A amostra é bombeada para dentro do sistema, onde é transformada em aerossol. O aerossol é então enviado para a base do plasma (geralmente de Árgon). Ao percorrer o equipamento, o aerossol passa por diversas zonas de aquecimento, sofrendo secagem, vaporização, atomização e, finalmente, ionização. Durante esse tempo, o aerossol líquido inicial transforma-se em partículas sólidas e, por fim, num gás (Figura 12).

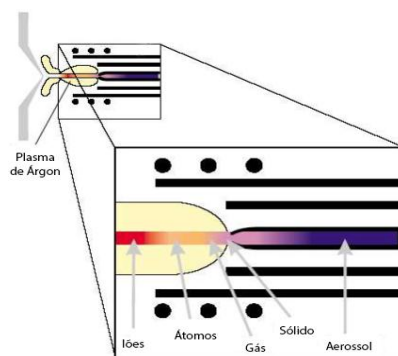


Figura 12: Esquema do percurso da amostra num ICP (Wolf, 2005)

Depois da ionização da amostra, um raio de iões chega ao espectrómetro de massa acoplado e é enviado para a zona de deteção. Os iões são agrupados por rácio de massa/carga, que permite uma filtragem sequencial dos elementos presentes, e são passados pelo detetor separadamente, obtendo-se dados relativos à composição da amostra. A Figura 13 exemplifica o tipo de gráfico obtido.

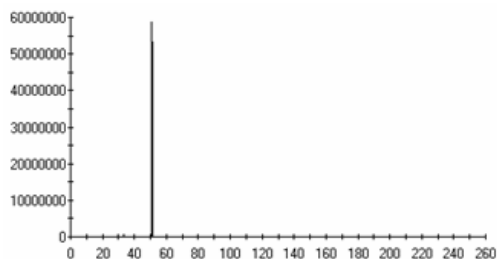


Figura 13: Espectro ICP-MS de Vanádio (51V)

1.2.8 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Este é um método que usa radiação infravermelha para efetuar a análise. Esta técnica consiste em fazer passar radiação infravermelha por uma amostra, a qual, é parcialmente absorvida pela amostra, enquanto o resto passa por ela, ou seja, é transmitida. Este processo resulta num espectro que representa a absorção e transmissão molecular. O processo é ilustrado na Figura 14.

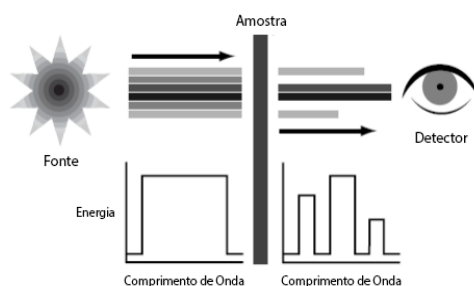


Figura 14: Esquema do espectro de uma amostra (ThermoNicolet, 2001)

Esse espectro funciona como uma impressão digital da amostra, sendo único em cada estrutura molecular. Os resultados permitem, portanto, identificar os compostos presentes numa determinada amostra de uma forma bastante simples. O método FTIR é, portanto, vantajoso em variados tipos de análise e é, por isso, bastante popular. A Figura 15 ilustra a forma como os resultados são obtidos: os vários picos do espectro identificam o tipo de material e a quantidade do material é determinada pela altura do pico.

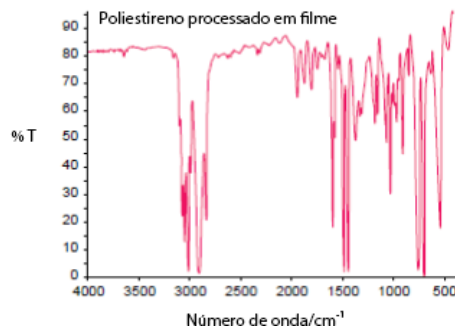


Figura 15: Espectro de poliestireno processado em filme, obtido por análise FTIR

O método FTIR apresenta vantagens como a rapidez de análise, a sensibilidade, a simplicidade e a calibração interna.

1.3 Principais propriedades das nanopartículas de prata

As AgNP exibem diversas propriedades de interesse científico e industrial que fazem com que sejam das nanopartículas mais promissoras em termos de utilizações futuras (Yu *et al.*, 2013). As suas propriedades químicas e biológicas tornam-nas apelativas para indústrias de bens de consumo, tecnologia alimentar, têxteis e saúde. As suas propriedades óticas e físicas também são de grande potencial especialmente para aplicações médicas (El-Badawy *et al.*, 2010). As AgNP são conhecidas por terem propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, anti-inflamatórias, propriedades de ressonância plasmônica de superfície, fluorescência, de promoção de biossíntese, entre outras, que fazem com que sejam aplicadas numa grande diversidade de produtos e tecnologias. As propriedades antibacterianas da AgNP, por exemplo, fazem dela um agente eficaz contra uma larga gama de bactérias Gram (Burrell *et al.*, 1999; Wijnhoven *et al.*, 2009; Yin *et al.*, 1999), incluindo espécies resistentes a antibióticos (Percival *et al.*, 2007; Wright *et al.*, 1998). Algumas destas bactérias são responsáveis, por exemplo, por infeções resultantes de tratamento hospitalar e pela Salmonela (El-Badawy *et al.*, 2010). Esta propriedade das AgNP também as tornam num fator de reforço de vários antibióticos (Shahverdi *et al.*). A penicilina G, por exemplo, vê a sua atividade antibacteriana aumentada na presença de AgNP (Wijnhoven *et al.*, 2009). As AgNP com maior razão área superficial por volume apresentam melhor atividade antibacteriana, mesmo a baixas concentrações (El-Badawy *et al.*, 2010). As AgNP têm aplicação potencial em pequenos sensores e na deteção biomolecular ultra-sensível (Moore and Goettmann, 2006). Esta, assim como outras propriedades, é afetada pelo tamanho e forma das nanopartículas em uso, sendo ainda necessários estudos para melhor entender os efeitos que essas características têm nas propriedades óticas das AgNP. Partículas de tamanhos diferentes

podem, através da mesma propriedade, produzir efeitos diferentes e, conseqüentemente, terem outras aplicações. Nanoestruturas metálicas, entre os 30 e 80 nm, alteram a intensidade de emissão e a foto-estabilidade dos fluoróforos, o que permite aplicações em ensaios de imunidade e detecção de RNA/DNA (Aslan *et al.*, 2005). Apesar das suas propriedades antibacterianas, a biossíntese de AgNP usando bactérias e fungos é possível (Klaus *et al.*, 1999), o que levanta questões acerca da resistência dos fungos e bactérias usados nestas sínteses e sobre a potencial ameaça que isso representa em termos clínicos.

1.4 Aplicações das nanopartículas de prata

As propriedades das AgNP abrem espaço para aplicações e tecnologias inovadoras em imensos campos. A sua aplicação na melhoria de processos analíticos, como a espectroscopia de Raman ou sensores variados, permite a detecção de compostos como DNA/RNA (Jacob *et al.*, 2007), herbicidas (Dubas and Pimpan, 2008) e glucose (Mishra *et al.*, 2007), assim como a caracterização de peptídeos (Hua *et al.*, 2007) e do transporte de células através de membranas (Kyriacou *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2004). A melhoria desses processos permite, também, técnicas de imagem mais avançadas para o estudo de cancros (Oldenburg *et al.*, 2002; Wiley *et al.*, 2007) e caracterização da ligação de nanopartículas a fungos (Weinkauff and Brehm-Stecher, 2009). As AgNP permitem melhorias em diagnósticos e tratamentos clínicos, contribuindo, por exemplo, na detecção da doença de Alzheimer (Pastoriza-Santos and Liz-Marzan, 2008), no tratamento de cancro (Asharani *et al.*, 2009) e do vírus HIV-1 (Elechiguerra *et al.*, 2005), nos já referidos testes de imunidade, na prevenção de infeções, no tratamento de feridas e doenças, assim como em medicamentos, no revestimento de dispositivos e ferramentas médicas, usadas em cirurgias, anestésias, cardiologia e urologia, por exemplo (Knetsch and Koole, 2011; Wijnhoven *et al.*, 2009). A condutividade térmica e elétrica, juntamente com as suas propriedades óticas fazem das AgNP um material com uma variedade de aplicações na eletrónica. Parte do processo de soldadura de circuitos (Dirienzo, 2006), usadas na criação de dispositivos nanoeletrónicos (Li *et al.*, 2005; J. S. Kim *et al.*, 2007), aplicadas na preparação de guias de ondas em dispositivos elétricos (Roldán *et al.*, 2007), tintas para placas de circuito impressas, optoelectrónica, dispositivos de armazenamento de dados (Tolaymat *et al.*, 2010), as AgNP têm também ganho um papel de destaque neste tipo de indústria, sendo estes apenas exemplos dos muitos tipos de aplicação das AgNP nesta área. A indústria do papel também não ficou indiferente às propriedades promissoras destas nanopartículas, tendo-se já criado um tipo de papel que evita a propagação de bactérias e que se prevê ter uso em ambiente hospitalar (Dirienzo, 2006). Tecnologias para o tratamento de

águas também utilizam AgNP devido às suas propriedades antibacterianas, assim como a indústria automóvel, que as aplica em volantes, cabos e revestimentos interiores (Blaser *et al.*, 2008), para minimizar a acumulação e proliferação de bactérias. Aplicações na indústria da madeira também se verificam. A preservação da madeira é importante nessa indústria e, como tal, produtos com AgNP são usados para melhorar a resistência ao bolor e ao mofo (El-Badawy *et al.*, 2010). A higienização de espaços e superfícies também tem usado produtos com AgNP. Em Hong Kong, por exemplo, um aerossol com AgNP e revestimento de dióxido de titânio tem sido usado em estações de comboio, carruagens, centro comerciais, escritórios e espaços recreativos como parte do processo de limpeza (Senjen, 2007). As propriedades antibacterianas e antifúngicas da AgNP também não passaram despercebidas à indústria de bens de consumo. É comum o seu uso em produtos como sprays desinfetantes, meias, almofadas, chinelos, máscaras faciais, lenços humedecidos, detergentes, sabonetes, champôs, pastas dentífricas, filtros de ar, revestimentos para frigoríficos, aspiradores, máquinas de lavar, telemóveis, recipientes para comida e, até, em preservativos líquidos. A Samsung, por exemplo, desenvolveu uma máquina de lavar a roupa que, em vez de usar água quente para desinfetar os tecidos, tem um sistema de produção de AgNP, libertando-as na água de lavagem e oferecendo, assim um sistema de desinfeção alternativo (Dirienzo, 2006). A AgNP pode ainda ser encontrada em produtos de higiene feminina, limpadores de pele e amaciadores de roupa (Luoma, 2008). Sprays desinfetantes são usados para a desodorização de superfícies em cozinhas, casas-de-banho e roupas de bebé. Cosméticos, loções, cremes, brinquedos, tintas antimicrobianas, solas de sapato, vassouras, loiça, são mais alguns produtos em que se vêem aplicadas as AgNP. Com isto, é perceptível que as AgNP têm uma forte presença em têxteis e tecidos, verificando-se o seu uso em materiais diversos como as já referidas meias, em equipamento desportivo, roupa interior, de cama ou, ainda, colchões (Luoma, 2008; Tolaymat *et al.*, 2010). Também se verifica a sua presença na esterilização de materiais, têxteis de âmbito médico, dispositivos contraceptivos, implantes e próteses (Tolaymat *et al.*, 2010), assim como na produção de dentes artificiais e lentes de contacto (Senjen, 2007; Wijnhoven *et al.*, 2009). Já foi, inclusivamente, recomendado como suplemento à dieta, como forma de fortalecer o sistema imunitário (El-Badawy *et al.*, 2010).

1.5 Presença de nanopartículas de prata em lamas de depuração e nos solos

Os produtos contendo AgNP podem ser sujeitos a processos como transporte e lavagem (efluentes industriais, lavagem de roupa e higiene pessoal, por exemplo), que acabam por permitir a dispersão das partículas no ambiente e aumentam a exposição humana e dos

ecossistemas à AgNP. A AgNP é solúvel em água (Potera, 2010) e, de fato, até já foi verificado que a simples lavagem de meias e de fachadas exteriores conduz à libertação de AgNP na água em grandes percentagens assim como iões prata em solução (Yu *et al.*, 2013). Testes efetuados revelaram a facilidade com que AgNP e iões de prata se libertam dos produtos sob diversas condições e aumentaram a preocupação quanto ao potencial risco que tal representa para a saúde humana e o ambiente (Yu *et al.*, 2013). Sendo o processo de lavagem comum, tanto industrial como domesticamente, pensa-se que essa seja a fonte mais importante de contaminação dos solos e águas por AgNP. Estudos recentes revelaram que as nanopartículas libertadas se infiltram em estuários, sedimentos, areias e biofilmes (Cleveland *et al.*, 2012). Outros estudos revelam que a maior parte dos produtos que contêm AgNP libertam-nas para os sistemas de águas residuais (Blaser *et al.*, 2008; Kaegi *et al.*, 2011; Mueller and Nowack, 2008). Estudos sobre o comportamento da AgNP em estações de tratamento começam a ser mais frequentes, permitindo um entendimento mais profundo do destino e impacto que tais partículas têm nesse meio. Por exemplo, já foi demonstrado que, apesar das nanopartículas alcançarem estações de tratamento de águas, uma parte significativa também fica retida nas lamas, lamas essas que poderão ser aplicadas em solos como fertilizantes (Lytle, 1984; Shafer *et al.*, 1998). Na Alemanha, por exemplo, 30% das lamas resultantes das estações de tratamento de águas são aplicadas na agricultura. Em Portugal, Espanha, França e Grã-Bretanha, a maioria dessas lamas é utilizada para fins agrícolas (Schlich *et al.*, 2013). Estudos recentes indicam que grande parte da prata presente nas lamas se apresenta na forma de precipitados de Ag_2S , mas que, no entanto, a forma como elas se apresentam depende muito dos processos de tratamento que as águas sofreram e das características das AgNP presentes (Kaegi *et al.*, 2011). De notar, também, que o processo oxidativo de dissolução das AgNP e a correspondente taxa de libertação de Ag^+ no meio em que se encontram é de extrema importância para se entender o que acontece realmente aquando da sua presença em lamas de depuração. Desta forma, a oxidação das AgNP e a taxa de dissolução de Ag^+ também tem sido alvo de estudos (Liu and Hurt, 2010). Os estudos efetuados até agora indicam que quando são aplicadas lamas de depuração em solos a prata presente poderá ocorrer na forma de nanopartículas e/ ou em formas diversas entre as quais AgS (maioritariamente), AgCl, AgNO_3 , Ag^+ , entre outras, sendo que a presença de sulfetos inorgânicos ou ligantes orgânicos com grupos tiol nas lamas incita uma maior transformação da AgNP.

1.6 Estudo do comportamento das nanopartículas de prata nos solos

Uma das alterações que pode ocorrer aquando da adição de AgNP em solos é a agregação uma vez que as AgNP, num meio com força iónica elevada, tendem a agregar-se. De forma geral, tem-se observado que quanto maior a força iónica do solo e menor a matéria orgânica presente, maior a agregação de AgNP aos solos (Bae *et al.*, 2013). Além disso, também se verifica que uma maior força iónica favorece a instabilidade das AgNP e promove uma maior adsorção de partículas ao solo, enquanto uma maior presença de matéria orgânica dissolvida reduz essa mesma adsorção.

Outra alteração que as AgNP podem sofrer é a dissociação provocada por influência das propriedades do meio em que se encontram. Por processos de dissociação, as AgNP originam iões de prata (Ag^+), que podem manter-se nesse estado ou formar outros compostos de prata. Alguns dos compostos mais frequentemente encontrados nos solos incluem Ag_2S , AgI, AgBr, AgCl, AgNO_3 , Ag_2SO (Lindsay, 2001). Ao serem aplicadas ao solo, foi observado que a presença de matéria orgânica natural pode desacelerar a dissociação das partículas, concluindo-se que este atraso pode permitir a incorporação da AgNP na ^{matriz} sólida do solo ao invés de se verificar uma dissociação rápida e sua transferência para a solução do solo o que ocorre maioritariamente na forma de iões de prata (Kaegi *et al.*, 2011). O pH, a força iónica e a presença de outros iões dissolvidos na solução do solo são também conhecidos por influenciar o comportamento das AgNP nos solos (Cornelis *et al.*, 2012). Por exemplo, é de notar que há uma maior presença de iões de prata em solos mais ácidos. E solos com potencial mais negativo são esperados ajudar na mobilidade das AgNP dado que existe uma barreira à retenção das AgNP no solo (Anjum *et al.*, 2013; Tolaymat *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2013). As informações acerca da mobilidade de AgNP em solos naturais e os efeitos das propriedades dos solos no transporte das nanopartículas ainda são um pouco dispersas (Cornelis *et al.*, 2012) e, como tal, ainda é difícil fazer previsões acerca do que acontece na realidade.

Estudos recentes indicam que, nos solos, os iões Ag^+ se ligam preferencialmente a ácidos húmicos e fúlvicos da matéria orgânica (Jacobson *et al.*, 2005). Dessa forma, a prata presente nos solos deverá estar ligada a partículas coloidais de tamanhos compreendidos entre os 10 e 200 nm ou adsorvida na fração sólida do solo (Coutris *et al.*, 2012). Cornelis *et al.* (2012), por exemplo, realizou estudos que determinaram um coeficiente de partição médio (indicador da tendência de um elemento em dissolver-se numa de duas fases), K_d , de 1791 L kg^{-1} para partículas de prata dissolvidas. Este resultado permite induzir que grande parte da prata fica retida pelo solo (Cornelis *et al.*, 2012). No entanto, como ainda não existe um número significativo de estudos

acerca do impacto ambiental das AgNP, também ainda não são conhecidos resultados específicos acerca da fração de íons de prata resultantes das AgNP. Por esse motivo, torna-se difícil extrapolar e entender o destino e potencial transformação que as AgNP têm depois de adicionadas aos solos (Benoit *et al.*, 2013).

Já no âmbito da cinética de liberação de íons de prata das AgNP, foi estudada a influência de fatores como o pH (Elzey *et al.*, 2010), temperatura, matéria orgânica natural (Liu and Hurt, 2010), concentração de eletrólitos, força iônica, estado de oxidação da prata (Li *et al.*, 2010), revestimento (Song *et al.*, 2011; Zook *et al.*, 2012) e tamanho (Sotiriou *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2011) das partículas. Em termos de retenção, os estudos revelam que as argilas, por exemplo, levam a que as AgNP sejam retidas nos solos, devido ao processo de agregação (Anjum *et al.*, 2013; Cornelis *et al.*, 2012). No entanto, em diferentes tipos de solo podem ser outros os agentes que promovem a retenção das AgNP. Por exemplo, para AgNP revestidas com citrato, um solo de carga mais negativa tem tendência em facilitar a mobilidade da AgNP, enquanto um solo de carga positiva a torna mais difícil, havendo, por consequência, mais retenção (Tolaymat *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2013). A capacidade de adsorção das AgNP nos solos tem sido reportada por diversas vezes (Jacobson *et al.*, 2005; Oromieh, 2011; VandeVoort *et al.*, 2012). Também se verificou que solos com maior pH e capacidade de troca de cátions aumentam a tendência de adsorção de Ag ao solo, devido à maior quantidade de zonas negativamente carregadas e de trocas catiónicas (Oromieh, 2011). Além disso, também é conhecida a influência de solos mais finos na questão da adsorção de partículas de prata, sendo a maior área superficial que lhes é característica fator facilitador da retenção (Jacobson *et al.*, 2005). A matéria orgânica também influencia a sorção de materiais, bem como a mobilidade de partículas de prata nos solos (Jones and Peterson, 1986). Solos com uma grande quantidade de matéria orgânica têm tendência a sorver maior quantidade de prata do que solos com maior quantidade de componentes minerais. Segundo Tian *et al.*, 2010, Lin *et al.*, 2012 e Thio *et al.*, 2012, os ácidos húmicos e surfatantes encontrados na matéria orgânica da solução do solo são alguns dos agentes que fazem aumentar a mobilidade da AgNP nos solos (Lin *et al.*, 2012; Thio *et al.*, 2011; Tian *et al.*, 2010).

A presente escassez de estudos acerca do comportamento químico de AgNP no solo resulta sobretudo da inexistência de um método standardizado para proceder a esta análise (Taghavy *et al.*, 2013). Num dos poucos estudos disponíveis acerca da interação AgNP-solo, por exemplo, (Benoit *et al.*, 2013) utilizaram-se amostras de alguns solos que se caracterizaram, secaram, e às quais se juntou uma solução de AgNP ou de nitrato de prata. Dessas amostras, depois de submetidas a um período de agitação, foram recolhidas alíquotas das soluções de solo,

ao longo do tempo, para serem analisadas posteriormente. Neste estudo, destacou-se que o pH e a quantidade de matéria orgânica do solo influenciam a liberação de AgNP, apesar de ser ainda pouco claro a forma como isso acontece. As AgNP também mostram ser facilmente dissolvidas em condições normais de solo (Benoit *et al.*, 2013).

Para concluir, ainda não se sabe qual a forma da prata mais comum no solo, se as nanopartículas, os íons ou os seus compostos ou complexos. De notar que as alterações de tamanho, forma e a reatividade das AgNP são fatores que influenciam o seu grau de toxicidade e devem, por isso, ser cuidadosamente estudados (Benoit *et al.*, 2013).

A maior parte da literatura científica sobre os efeitos das AgNP na saúde e no ambiente tem sido publicada nos últimos 10 anos e tem revelado efeitos prejudiciais a níveis celulares e em organismos aquáticos (Benoit *et al.*, 2013). No entanto, ainda são desconhecidos os mecanismos que conduzem a esses efeitos, assim como também é desconhecida a contribuição relativa dos íons de prata (Ag^+) resultantes da dissolução das AgNP para essa toxicidade ou, ainda, o que acontece quando as AgNP se incorporam nos solos. Em relação aos solos, os estudos feitos debruçam-se sobre o efeito das AgNP em minhocas, onde se verifica, por exemplo, uma diminuição da reprodução destes organismos (Benoit *et al.*, 2013). No entanto, os resultados também demonstram que os efeitos das nanopartículas variam com o tipo de solo em análise. Visto que os mecanismos de decomposição são ainda pouco claros, é cada vez mais importante debruçar-se sobre esta temática de forma a atingir um melhor e maior entendimento acerca da forma como as AgNP interagem com o meio envolvente e os efeitos que provocam, de forma a minimizarmos os seus riscos (Benoit *et al.*, 2013; Stensberg *et al.*, 2012). Além disto, os métodos de análise toxicológica existentes ainda não permitem um conhecimento muito aprofundado sobre os efeitos das AgNP, nomeadamente, as de prata, para muitos organismos pois, na sua maioria, foram desenvolvidos para avaliar efeitos de elementos e compostos químicos e não de nanopartículas (Benoit *et al.*, 2013). Além disto, a utilização de lamas contaminadas com AgNP na agricultura deixa antever a possibilidade das AgNP contaminarem plantas e vegetais utilizadas na alimentação animal e humana pelo que será necessário, no futuro, estudar possíveis efeitos na saúde animal e humana.

2 Objetivos do trabalho

Este trabalho pretende fazer uma caracterização de nanopartículas de prata (AgNP) coloidais dispersas em solos. Esta caracterização foi dividida em dois objetivos principais:

1. Avaliar a capacidade de deteção de nanopartículas de prata na solução do solo após a adição aos solos de diferentes concentrações de prata

As questões a que se pretendeu dar resposta foram: “A partir de que concentração de prata adicionada ao solo se consegue detetar AgNP na solução de solo?” ou “A diminuição ou o aumento da concentração de prata numa suspensão de AgNP adicionada a um solo altera a capacidade de deteção de AgNP na solução de solo?”.

2. Identificar a influência que as propriedades dos solos têm na transferência solo-solução de nanopartículas de prata

Este trabalho pretendeu encontrar respostas a questões como: “Será que o pH do solo influencia a transferência de AgNP entre o solo e a solução do solo? E a composição do solo? Quais os fatores que podem afetar o destino das AgNP nos solos?”

3 Materiais e métodos

Seguidamente apresentam-se as metodologias de síntese e caracterização das nanopartículas de prata (AgNP), a montagem experimental para recolha de amostras de solução de solo com e sem adição de nanopartículas, bem como as metodologias de análise das soluções de solo e de caracterização da fração sólida dos solos.

3.1 Síntese das nanopartículas de prata

Foi considerado importante escolher um método para o qual já existissem estudos disponíveis, para que os resultados obtidos neste trabalho fossem comparáveis aos existentes na bibliografia. A escolha recaiu em métodos com os quais se pudessem obter AgNP de dimensões próximas dos 10 nm, pois estas são utilizadas mais frequentemente (Benoit *et al.*, 2013). De seguida, tiveram-se em conta aspetos técnicos e económicos dos métodos possíveis, em particular o tipo de equipamento necessário para realizar a síntese; a extensão e dificuldade do procedimento; o tempo esperado para que a síntese ocorresse; o tipo de reagentes envolvidos na síntese e a sua disponibilidade no laboratório.

O método escolhido foi o descrito por Solomon *et al.* (2007). Este método requer equipamento e reagentes de fácil acesso e permite a obtenção das nanopartículas de prata em pouco tempo. As partículas obtidas por este método são estáveis e apresentam-se sob a forma de suspensão (ver Figura 16a), sendo a sua curva de UV/VIS característica representada na Figura 16b.

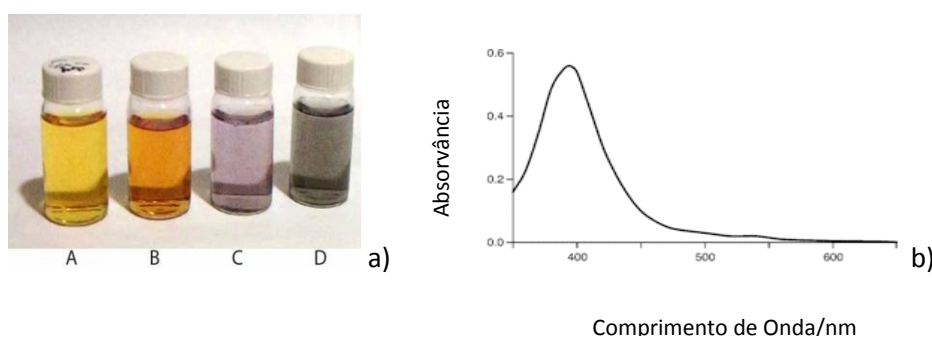
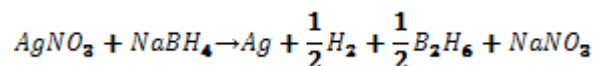


Figura 16a): Estágios de uma suspensão de AgNP (A) Suspensão amarelo claro (B) Suspensão amarelo escuro, (C) Suspensão violeta e (D) Suspensão cinza, consoante o aumento da agregação das partículas; b) Espectro de absorção UV-VIS de uma suspensão de AgNP

Quando se utiliza este método de síntese, podemos considerar que o potencial zeta e o PWHM (largura de pico a metade do máximo; * $PWHM = (\lambda_{1/2max} - \lambda_{max}) * 2$) associados às

AgNP, apresentam valores que são geralmente -43 mV e 50-70nm, respetivamente (Solomon *et al.*, 2007).

O método descrito por Solomon *et al.* (2007) baseia-se na redução do nitrato de prata (AgNO₃) através de boro-hidreto de sódio (NaBH₄), reação traduzida pela equação química seguinte:



O processo de síntese iniciou-se com a preparação das soluções de NaBH₄ e de AgNO₃, tendo-se obtido soluções 1,0 mmol L⁻¹ de AgNO₃ e 2,0 mmol L⁻¹ de NaBH₄. Ambas as soluções foram preparadas com alguma antecedência, de forma a poderem arrefecer antes de serem usadas, pois a adição deve ser feita a baixa temperatura (< 4°C). Numa montagem experimental tal como a descrita na Figura 17, colocou-se a solução de NaBH₄ num erlenmeyer e o erlenmeyer foi colocado dentro de uma tina e envolvida em gelo, de forma a manter a temperatura a < 4°C. A tina foi colocada sobre uma placa de agitação. Para promover uma agitação vigorosa durante a adição das soluções, foi colocado um agitador magnético no erlenmeyer, o que contribuiu para acelerar a cinética da reação e uniformizar a temperatura do sistema, evitando choques térmicos.

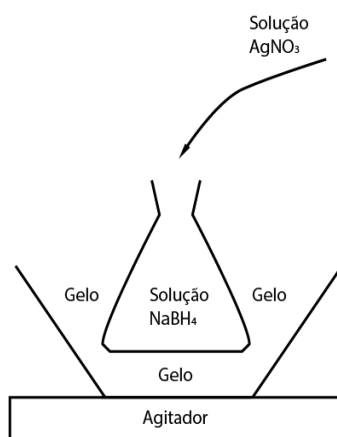


Figura 17: Esquema representativo da montagem usada para a síntese de AgNP

A adição de AgNO₃ fez-se lentamente, para que a reação ocorresse de forma homogénea ao longo do tempo. A agitação foi mantida até se finalizar a adição de AgNO₃. Retirou-se o erlenmeyer da tina e tapou-se o recipiente com película, deixando a solução repousar durante 24 horas para verificar se não ocorria mudança de cor da suspensão de AgNP de amarelo para cinzento (o que indicaria agregação). Passadas 24 horas, não tendo ocorrido mudança da cor da suspensão procedeu-se à sua caracterização.

Foram sintetizados 130 mL de suspensão de nanopartículas, sendo a concentração de Ag esperada com esta metodologia de síntese $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$.

3.2 Caracterização da suspensão de nanopartículas de prata

Para caracterizar as AgNP obtidas fez-se a análise de UV/VIS, potencial zeta e TEM.

Os espectros de absorção de UV-VIS da suspensão de AgNPs foram registados num espectrofotómetro Jasco V-560 UV/VIS (300-700 nm), usando cuvetes de quartzo e a água ultrapura como referência.

A análise do tamanho de partículas e medição do potencial Zeta das soluções foi realizado usando um ZetaSizer Nano ZS modelo Zen3500 da Malvern. De forma a conseguir um valor médio de potencial zeta, repetiu-se a medição cinco vezes lavando-se a célula com água destilada antes de nova leitura.

A análise de TEM foi feita usando o microscópio da marca Hitachi H-9000 a operar a 300 kV. A preparação das amostras para TEM, consistiu na colocação de uma alíquota da suspensão diluída em água milli-Q sobre uma grelha de cobre, revestida com um filme de carbono e deixando secar o solvente à temperatura ambiente antes da análise. A medição dos tamanhos de nanopartículas foi efetuada a partir das imagens de TEM utilizando o software "Image J". Para esta medição foi avaliado o tamanho de pelo menos 100 nanopartículas.

3.3 Adição de nanopartículas de prata a solos e avaliação da sua transferência para a solução do solo

3.3.1 Montagem experimental

Montagem para análise da capacidade de deteção de nanopartículas de prata na solução de solo - Experiência 1

Dado que não existem muitos estudos prévios em que seja realizado este tipo de trabalho foi definida uma metodologia que permitisse a recolha de amostras de solução de solo e permitisse avaliar qual a concentração inicial de prata a ser adicionada ao solo que permite a sua deteção nas amostras de solução de solo. Assim, o estudo realizou-se da forma a seguir descrita.

Para a Experiência 1, montaram-se sistemas para um solo de Estarreja recolhido e caracterizado no âmbito de um estudo anterior (Rodrigues *et al.*, 2010). Cada sistema era composto por 2 vasos. Em cada vaso foram colocados 500 g de solo, sendo um deles humidificado com 135 mL água destilada (vaso denominado como branco) e o outro com 135 mL da suspensão de AgNP obtida durante a síntese. Este volume foi escolhido de forma a manter cada sistema a

cerca de 70% da capacidade de retenção de água do solo e que tinha sido previamente avaliada em cerca de 0.37 L kg^{-1} .

De notar que na Experiência 1, além de se testar a adição ao solo da suspensão de AgNP obtida após síntese, foram igualmente testadas a adição da suspensão original diluída 5 vezes e a adição da suspensão original diluída 10 vezes. A montagem experimental foi a mesma acima descrita, variando apenas as suspensões de AgNPs a ser adicionadas ao solo. Assim sendo, a variável principal desta experiência foi a concentração de prata inicial adicionada ao solo.

Aquando da montagem dos vasos, foram colocadas dois amostradores em cada vaso (superfície e fundo) com o objetivo de recolher as soluções de solo. Os amostradores usados ao longo do estudo foram amostradores Rhizon. Este equipamento é composto por um tubo hidrofílico de 10 cm de material polimérico poroso, ligado a um tubo de PVC de 10 cm e um conector macho (Figura 18). Dentro do tubo, encontra-se um fio de aço inoxidável de 15 cm, que permite dar estabilidade ao amostrador. Para recolher a amostra de solução do solo, ligou-se o conector macho a uma agulha que por sua vez foi introduzida um tubo em vácuo. O volume de solução de solo recolhido por cada amostrador é de cerca de 10 mL.

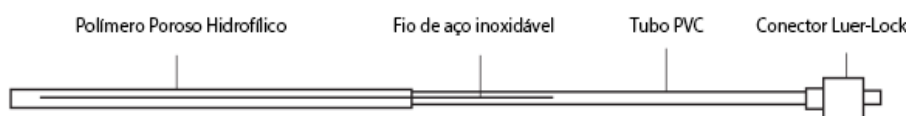


Figura 18: Esquema de um amostrador Rhizon

Os amostradores foram colocados horizontalmente no interior dos vasos, para diminuir as resistências ao fluxo. Dado que se colocaram dois amostradores em cada vaso, dispuseram-se os mesmos em direções opostas, de forma a evitar qualquer interação entre amostradores na recolha. Na Experiência 1, a recolha de soluções de solo foi feita nos dias 1, 2, 3, 7 e 15. Após cada recolha, foram adicionados 20 mL de água destilada em cada vaso, de forma a repor a humidade inicial do sistema.

Teste aos amostradores de solução do solo

De forma a verificar se existe retenção das AgNP nos amostradores utilizados, foi feito um teste aos amostradores. Para efetuar esta análise, usaram-se três erlenmeyers com uma suspensão de AgNP sintetizada. Foi colocado um amostrador em cada erlenmeyer e recolhidas amostras de cada um ao fim de 1, 2, 3 e 4 dias. Posteriormente, de forma a poder comparar se a quantidade de AgNP presente na suspensão era igual à quantidade de AgNP recolhida, analisou-se a concentração de prata na solução recolhida. A concentração de prata foi analisada por ICP-MS

após digestão ácida. Comparando os resultados obtidos com os da suspensão de AgNP inicial foi então possível determinar se existe influência dos amostradores na recolha das soluções de solo.

Para efetuar a análise por ICP-MS, foi necessário fazer uma digestão ácida da amostra. A digestão ácida foi feita usando bombas de Teflon a pressão constante. Assim, das amostras obtidas na extração, pipetaram-se 2 mL para cada bomba. Para cada uma das digestões recorreu-se a um "Branco Microondas", na qual se pipetaram 2 mL de água ultrapura. Seguidamente, em cada bomba de Teflon foram adicionados 0,5 mL de HNO₃ 67% e 1,5 mL de HCl 37%. Após a adição dos ácidos, as bombas de Teflon foram devidamente fechadas e colocadas num suporte próprio. Foi então escolhido o programa de digestão de amostras que consistiu em aquecimento até aos 160°C durante 15 minutos, seguido de mais 5 minutos à temperatura de 160°C e 15 minutos de arrefecimento. Posteriormente, foi transferida a solução digerida para tubos de 30 mL. As bombas de Teflon com o digerido foram passadas por água ultrapura a fim de recolher todo o digerido.

Após a digestão, as bombas de Teflon foram lavadas com detergente, passadas por água da torneira e deixadas a secar. Após a sua secagem, colocaram-se cerca de 20 a 30 mL de uma solução de água-régia 40% em cada uma bombas, levando-as novamente ao micro-ondas para se proceder à restante lavagem. Finalmente, as bombas de Teflon foram passadas duas a três vezes por água ultrapura e deixadas a secar, estando assim prontas para uma nova digestão.

Para efetuar a análise por ICP-MS, o equipamento usado foi um ICP-MS Thermo X-Series com um nebulizador Burgener (1mL/min) e cones de níquel, que se encontra no Laboratório Central de Análises (LCA) da Universidade de Aveiro. Este procedimento permitiu obter informações acerca da concentração de prata em solução.

Montagem para avaliação da influência das propriedades do solo na transferência de nanopartículas de prata - Experiência 2

Para a Experiência 2, seguiu-se o mesmo método de montagem dos vasos, mas desta vez foram utilizados oito solos disponibilizados pelo Departamento de Química da Universidade de Aveiro, recolhidos junto a zonas industriais (Estarreja) e urbanas (Maia). Foram escolhidos solos com valores de pH e carbono orgânico variáveis (COrg) (pH 4,3 – 7,2; COrg= 0,93 a 6,4) (Tabela 1). Com estes solos, pretende-se então compreender a influência que o pH e que a percentagem de COrg dos solos têm no comportamento das AgNP.

Os solos utilizados na Experiência 2 apresentam as seguintes denominações e características:

Tabela 1 – Caracterização dos solos usados (Rodrigues *et al.*, 2010)

Solo		Características								
Tipo	Nome	pH	COrg (%)	Argila (%)	Óxidos		Al (%)	Fe (%)	S (%)	Ag (mg Kg ⁻¹)
					Al (mmolKg ⁻¹)	Fe (mmolKg ⁻¹)				
Urbano	Maia 1	5,1	0,93	2,3	37,0	28,0	2,2	2,6	<0,05	0,1
	Maia 2	5,2	2,1	1,9	113	53,4	2,5	2,7	<0,05	0,2
	Maia 3	5,2	4,2	2,6	161	61,8	2,1	1,7	0,1	0,2
	Maia 5	7,2	0,9	1,9	66,9	25,2	1,6	1,6	0,1	0,2
	Maia 9	4,3	1,7	2,5	71,7	28,0	2,6	3,0	<0,05	<0,1
Industrial	Local 11	4,6	1,3	3,9	53,0	37,3	1,4	1,6	0,1	0,3
	Local 12	5,4	1,4	4,1	27,9	32,5	1,5	1,7	0,1	0,1
	Local 1B	5,5	6,4	5,0	281	22,0	2,0	3,2	0,2	1

Na Experiência 2, a recolha das soluções de solo foi feita às 24, 48, 72 horas, uma semana depois da primeira recolha e, depois, de semana a semana até estabilização do pH da solução do solo (até um máximo 49 dias). Após cada recolha, foram adicionados 20 mL de água destilada em cada vaso, de forma a repor a humidade inicial do sistema.

De notar que na Experiência 2 foi apenas adicionada a suspensão de AgNP ao solo, sem qualquer tipo de diluição. Neste caso, a variável principal da experiência foi o tipo de solo utilizado.

Os vários vasos foram colocados numa zona exterior, ao abrigo do sol e da chuva, sendo cada um deles coberto com uma capa plástica, de forma a evitar o máximo de interferências do ambiente exterior. A Figura 19 apresenta os vários vasos e amostradores dispostos no local.



Figura 19: Disposição de alguns dos sistemas Solo + AgNP estudados

3.3.2 Caracterização da solução de solo

O estudo do sistema *Solo + AgNP* requereu diversos tipos de análise quer no caso da Experiência 1 quer no caso da Experiência 2. Foi efetuada a análise das soluções de solo conforme se descreve em seguida.

3.3.3 Análise da capacidade de deteção de nanopartículas de prata na solução de solo - Experiência 1

As análises às soluções de solo recolhidas dos sistemas Solo + AgNP foram realizadas através de vários métodos de caracterização. Essas análises pretenderam identificar a existência de AgNP nas amostras de solução do solo e identificar possíveis alterações em relação à suspensão inicial adicionada. Nesta experiência, testou-se um solo de Estarreja, do qual foram recolhidas amostras de solução de solo nos dias 1, 2, 3, 7 e 15. De recordar que foi feita uma caracterização preliminar às partículas sintetizadas de forma a se poderem comparar as que foram recolhidas nesta fase do estudo com as iniciais.

As análises efetuadas às amostras de solução do solo incluíram a medição do pH das soluções de solo. Para tal, usou-se um medidor de pH com eletrodo de vidro (modelo WTW, Sentix 41) calibrado com soluções tampão de pH 4 e pH 7. A leitura dos valores de pH foi efetuada após estabilização (foi considerada estável quando a variação foi inferior a 0,02 num período superior a 5 segundos).

A presença de AgNP nas amostras de solução de solo foi detetada utilizando um equipamento de análise por UV/VIS. A metodologia foi idêntica à seguida para caracterização inicial da suspensão de AgNPs com a diferença que uma cuvete de quartzo foi preenchida com amostra de solução de solo sem adição de nanopartículas (branco), enquanto as células a analisar foram preenchidas com a respetivas amostras de solução de solo com nanopartículas.

Finalmente efetuou-se a digestão ácida de todas as amostras de solução de solo no Laboratório Central de Análises (LCA) da Universidade de Aveiro, à qual se seguiu a análise por ICP-MS. A digestão ácida e a análise ICP-MS seguem um procedimento idêntico ao referido anteriormente, para o teste dos amostradores. Com isto, foi possível obter informações acerca da concentração de prata em solução. Foram igualmente analisados outros elementos incluindo o ferro, o manganês e o alumínio, que também estão presentes na solução de solo e que poderão dar indicações úteis para explicação dos resultados obtidos.

Os dados recolhidos após a aplicação das diferentes técnicas de caracterização de amostras de solução do solo permitiram identificar a presença de AgNP assim como determinar a

concentração prata em solução e identificar a que nível de concentração inicial de prata seria possível observar AgNP na solução de solo.

3.3.4 Avaliação da influência das propriedades do solo na transferência de nanopartículas de prata - Experiência 2

Para esta experiência, também foram feitas análises às soluções de solo seguindo os mesmos métodos de caracterização da Experiência 1. Nesta experiência, recolheram-se amostras de solução de solo até um máximo 49 dias. As análises efetuadas permitiram obter dados acerca do pH das soluções de solo e da presença e respetiva concentração de AgNP nas mesmas.

3.4 **Caracterização da fração sólida do solo**

Procedeu-se a uma análise da fração sólida dos solos das experiências 1 e 2, para identificar se tinha ocorrido retenção de AgNP e avaliar a reatividade da prata nos mesmos (Rodrigues *et al.*, 2010). Para proceder à análise dos solos, foi necessário retirar os solos dos vasos, secá-los à temperatura ambiente até peso constante e homogeneizá-los. Depois disso, foi efetuada a análise da prata após extração química dos solos. A extração fez-se adicionando 50 mL de duas soluções de ácido nítrico 0,43 mol L⁻¹ e 2 mol L⁻¹ a amostras de 5.00 g de cada solo, colocadas em frascos de plástico de 100 mL. Juntamente com os frascos que continham solo e solução de HNO₃, também se prepararam dois brancos, ou seja, cujo conteúdo era apenas HNO₃, de forma a verificar a ocorrência de contaminação dos frascos (Rodrigues *et al.*, 2010). Esta extração permite dissolver complexos de Ag ou partículas de Ag associadas a óxidos de Fe/Al/Mn e assim identificar a quantidade de Ag retida na matéria orgânica amorfa do solo (Rodrigues *et al.*, 2010). Uma vez preparados os frascos, colocaram-se num equipamento de agitação, no qual permaneceram durante duas horas para homogeneizar as misturas. Depois do período de agitação, as amostras foram filtradas em vácuo através de filtros de 0,45 µm, extraíndo, assim a concentração de Ag reativa nos vários solos. Posteriormente, estas novas amostras foram então sujeitas a digestão ácida no LCA e análise ICP-MS para determinar a concentração de prata, seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente.

4 Resultados

A caracterização das AgNP foi efetuada antes da sua adição ao solo, e depois da sua passagem pelo solo, ou seja, uma vez recolhidas as solução de solo. Com estas duas fases de caracterização, pretendeu-se averiguar potenciais diferenças proporcionadas pela interação das AgNP com as diversas partículas presentes no solo e perceber a influência da percentagem de matéria orgânica e do pH dos solos nessas alterações. Apresentam-se em seguida os resultados obtidos.

4.1 Caracterização da suspensão de nanopartículas de prata

Análise por TEM

A Figura 20(b) apresenta a imagem das AgNPs através da análise da suspensão (Figura 20(a)).

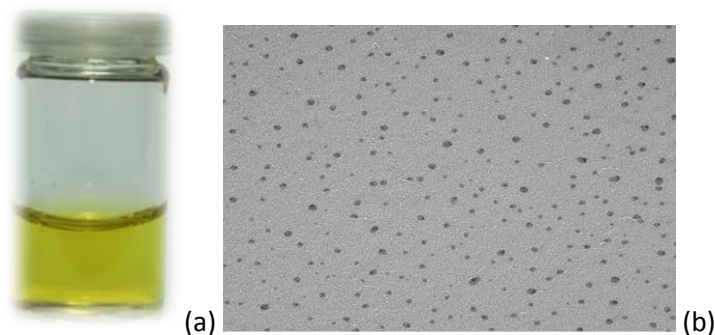


Figura 20: (a) Suspensão e (b) Imagem das AgNP sintetizadas obtida por TEM

Na Figura 21, pode ver-se a distribuição de tamanhos das partículas sintetizadas. Nesta síntese, as nanopartículas apresentaram um diâmetro médio de 7 ± 1 nm.

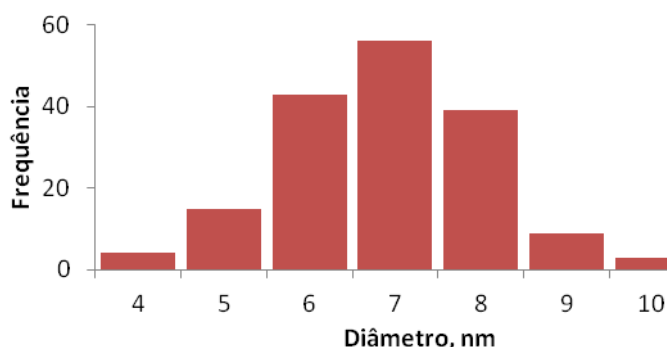


Figura 21: Distribuição de tamanhos das AgNP sintetizadas. $\bar{D} = 7 \pm 1$ nm

Análise do Potencial Zeta

A Figura 22 apresenta os resultados das leituras de potencial zeta na suspensão de AgNP sintetizadas. Os valores lidos foram praticamente constantes e resultaram num valor médio de potencial zeta de -33,74mV, valor próximo do esperado (-43mV) (Solomon *et al.*, 2007).

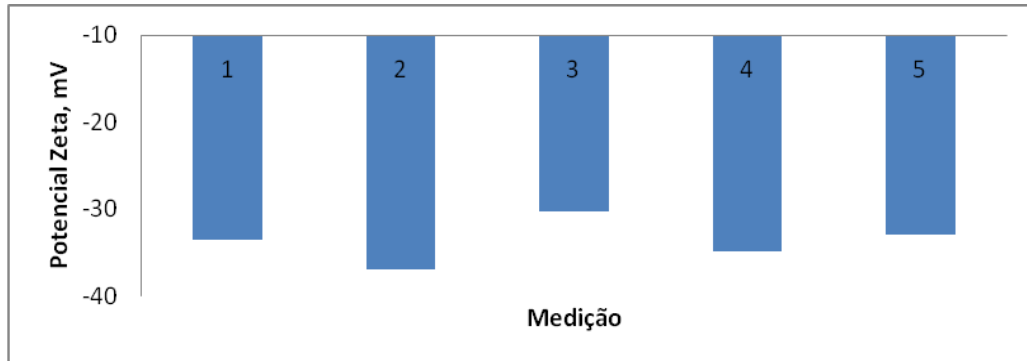


Figura 22: Potencial zeta da suspensão de nanopartículas sintetizada.

Análise por ICP-MS após digestão ácida

A concentração de prata medida na suspensão de AgNP sintetizada foi de $27 \mu\text{g L}^{-1}$ (valor médio, $n=3$). A concentração de prata medida na suspensão de AgNP diluídas 5 vezes e 10 vezes foi, respectivamente, de $5,4$ e $2,7 \mu\text{g L}^{-1}$.

Análise por UV/VIS

A Figura 23 apresenta o gráfico de absorvância obtido através da análise por UV/VIS às suspensões de nanopartículas sintetizadas ($2,7$, $5,4$ e $27 \mu\text{g mL}^{-1}$). No gráfico, pode ver-se um pico de absorvância bem nítido perto dos 400 nm , para a concentração de $27 \mu\text{g mL}^{-1}$. Este valor indica a presença de AgNP em suspensão (Solomon *et al.*, 2007). O pico também é observado nas restantes concentrações, mas com uma intensidade mais baixa para concentrações mais baixas. Desta forma, foi possível identificar a presença de AgNP na suspensão inicial para todas estas concentrações.

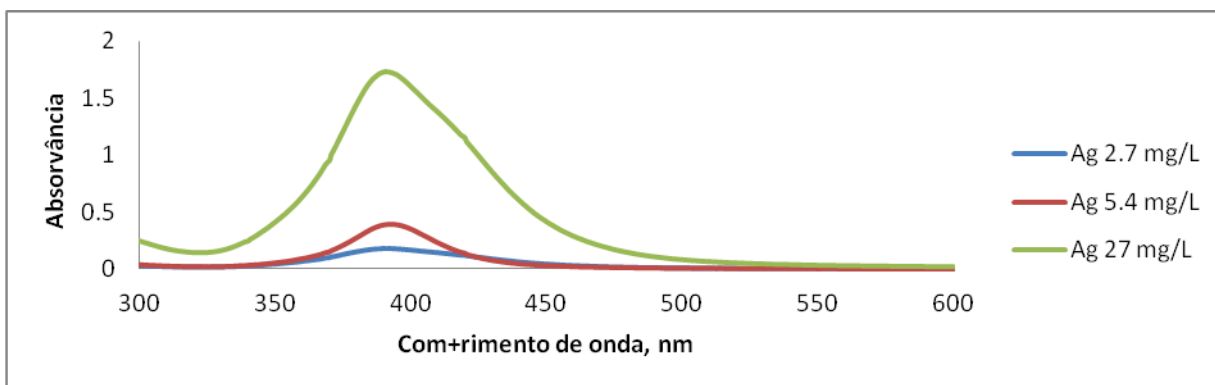


Figura 23: Espectro de absorção de UV/VIS da suspensão de nanopartículas com concentração de Ag de 2.7, 5.4 e 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Teste aos amostradores de solução de solo

A Figura 24 mostra uma concentração praticamente constante, ao longo do tempo, sendo que ronda, nas três réplicas, valores sempre próximos da concentração inicial de prata na suspensão testada nos amostradores (cerca de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Daqui se conclui que não há retenção de AgNP nos amostradores.

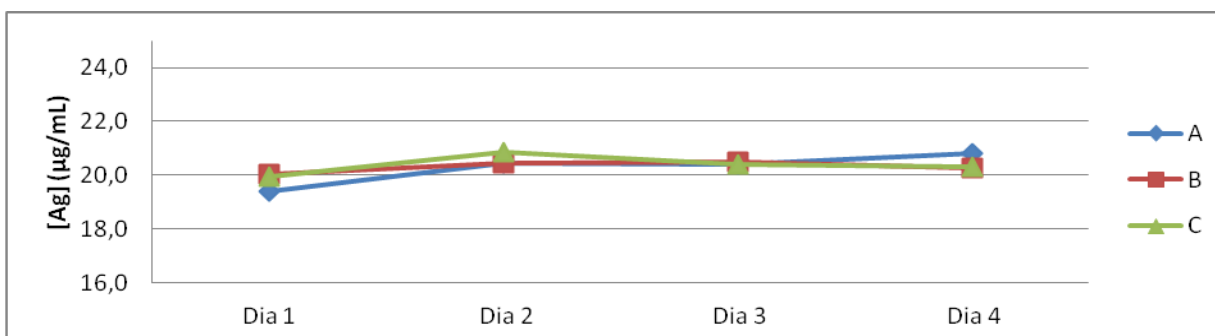


Figura 24: Variação da concentração de Ag ao longo do tempo, no teste aos amostradores

4.2 Caracterização da solução de solo

4.2.1 Análise da capacidade de detecção de nanopartículas de prata na solução de solo - Experiência 1

Na Figura 25, mostra-se o espectro de absorção de UV/VIS obtido no dia 1, com a suspensão mais concentrada de AgNP. É visível que nesta concentração se consegue identificar AgNP na solução de solo, dado que existe um pico de absorção nos 400 nm, que corresponde à presença de AgNP.

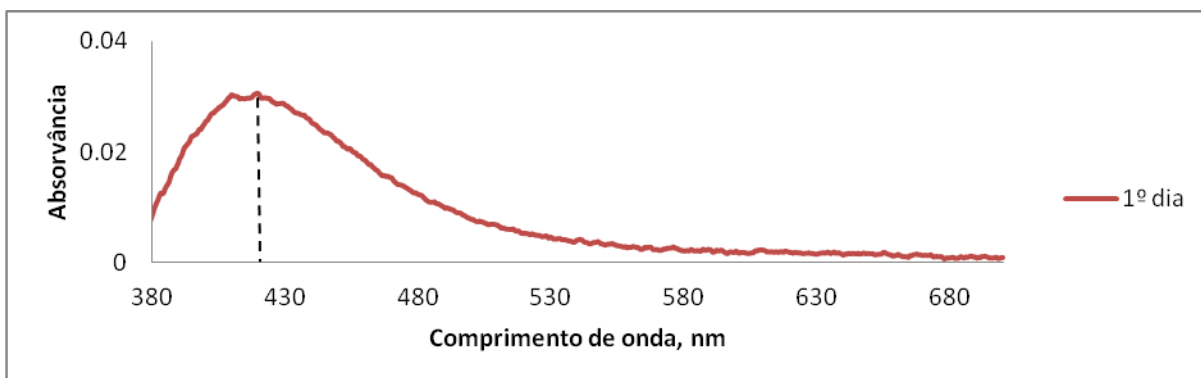


Figura 25: Espectro de absorção por UV/VIS da suspensão de nanopartículas de 27 µg mL⁻¹

Nos testes com concentrações inferiores não foram detetadas AgNP na solução de solo.

Medição de pH

A Figura 26 mostra a variação de pH nas soluções de solo recolhidas nos sistemas *solo + AgNP*, nos vasos em que foram adicionadas as suspensões de AgNP 2.7, 5.4 e 27 µg mL⁻¹, e no branco, no qual apenas foi adicionada água destilada. A Figura 26 mostra que o pH aumenta, nos primeiros dias, tanto na presença de AgNP como na sua ausência, independentemente da concentração de AgNP. Observa-se, também, que a variação das medidas de pH foi semelhante nos vários vasos, dado que o aumento e diminuição de pH se dão nos mesmos intervalos de tempo. Os valores de pH das amostras com AgNP não variam claramente em relação ao branco e tendem para um valor semelhante ao fim da experiência. Verifica-se, também, que as amostras da zona de superfície do vaso apresentam um pH mais alto do que as zonas de fundo do vaso.

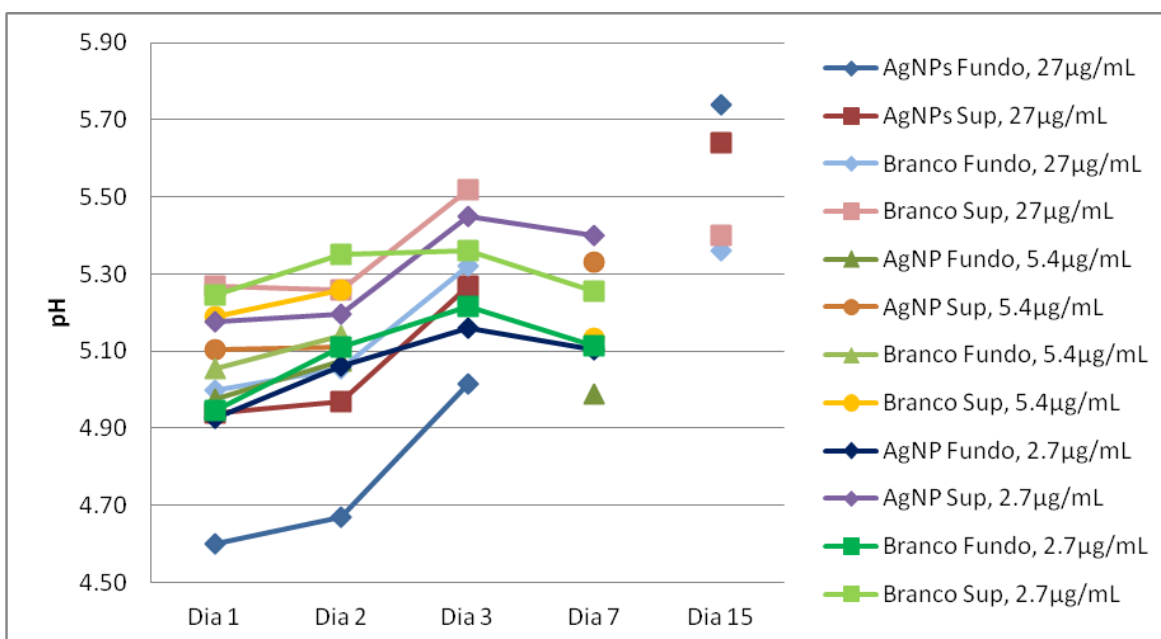


Figura 26: Variação de pH na solução de solo para diferentes suspensões de nanopartículas

Concentração de prata em solução

A Figura 27 apresenta a variação da concentração de Ag nas soluções de solo recolhidas nos sistemas *solo + AgNP*, no teste com suspensão de 5.4 e 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Pode ver-se que a concentração de Ag no sistema *solo + AgNP* desce nos primeiros dias, estabilizando num valor próximo de zero a partir de dia 3. Neste sistema, é claro que a Ag na solução de solo é mais abundante na zona de superfície do vaso do que na zona de fundo do vaso. Nos vasos onde se adicionou uma concentração inicial de Ag de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a concentração de Ag em solução foi inferior ao limite de deteção ($< 0,015 \mu\text{g mL}^{-1}$).

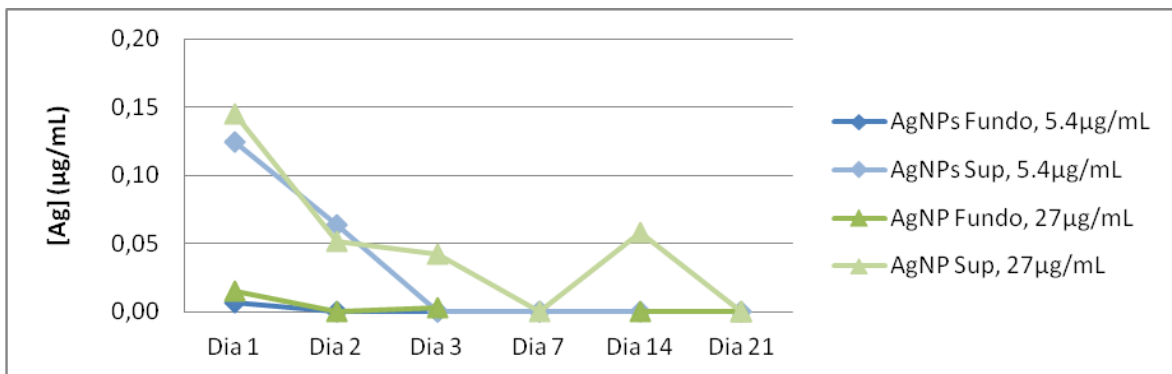


Figura 27: Concentração de Ag nas soluções de solo para as suspensões de 5.4 e 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$

4.2.2 Avaliação da influência das propriedades do solo na transferência de nanopartículas de prata - Experiência 2

Seguidamente, apresentam-se os resultados da análise por UV/VIS, medição de pH e concentração de AgNP na solução de solo relativas aos vários solos em que foi adicionada uma suspensão de AgNP de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Análise por UV/VIS

Na Figura 28, pode observar-se a análise por UV/VIS da solução de solo de superfície, no dia 1, do solo Maia 1. A análise detetou a presença de AgNP pois existe um pico, apesar dos baixos valores de absorvância, perto dos 400 nm, tal como na Figura 25. Este foi o único solo no qual se observou um pico aos 400 nm, através da análise por UV/VIS.

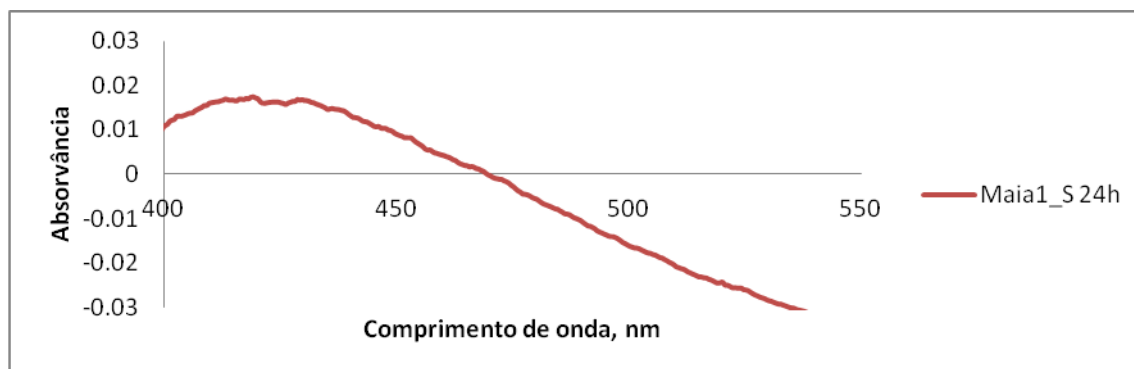
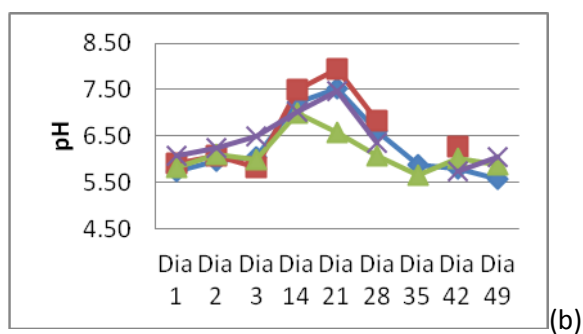
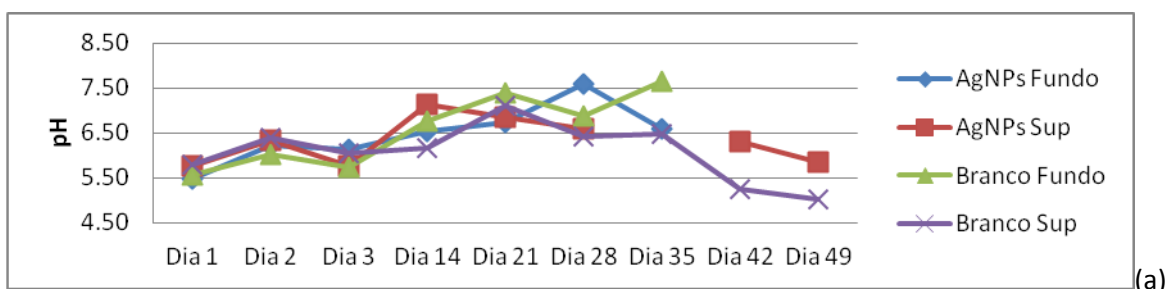


Figura 28: Espectro de absorção por UV/VIS da solução de solo de superfície para o dia 1, no solo Maia 1

Medição de pH

Na Figura 29 está representada a variação de pH nos sistemas *solo + AgNP* e branco de superfície dos vários solos estudados. A Figura 29 mostra que existe um aumento genérico de valores de pH até metade do tempo em que decorreu a experiência, os quais convergem, ao longo do tempo. Assim, o pH lido numa amostra de superfície na presença de AgNP ou não, é semelhante ao fim de algum tempo. A leitura de pH mais elevada é relativa ao solo Maia 5, que já era, segundo a Tabela 1, o solo mais alcalino. A maior parte dos solos apresenta oscilações de pH relativamente pequenas. As maiores variações de pH verificam-se no solo Estarreja 11. Neste solo, apesar de as oscilações serem simultâneas, havendo ou não AgNP, há uma maior discrepância de valores, sendo que a estabilização de pH, no final da experiência, não é tão óbvia como nos restantes solos. Neste solo, também se verifica que os máximos são atingidos mais tarde que nos restantes solos (dia 35).



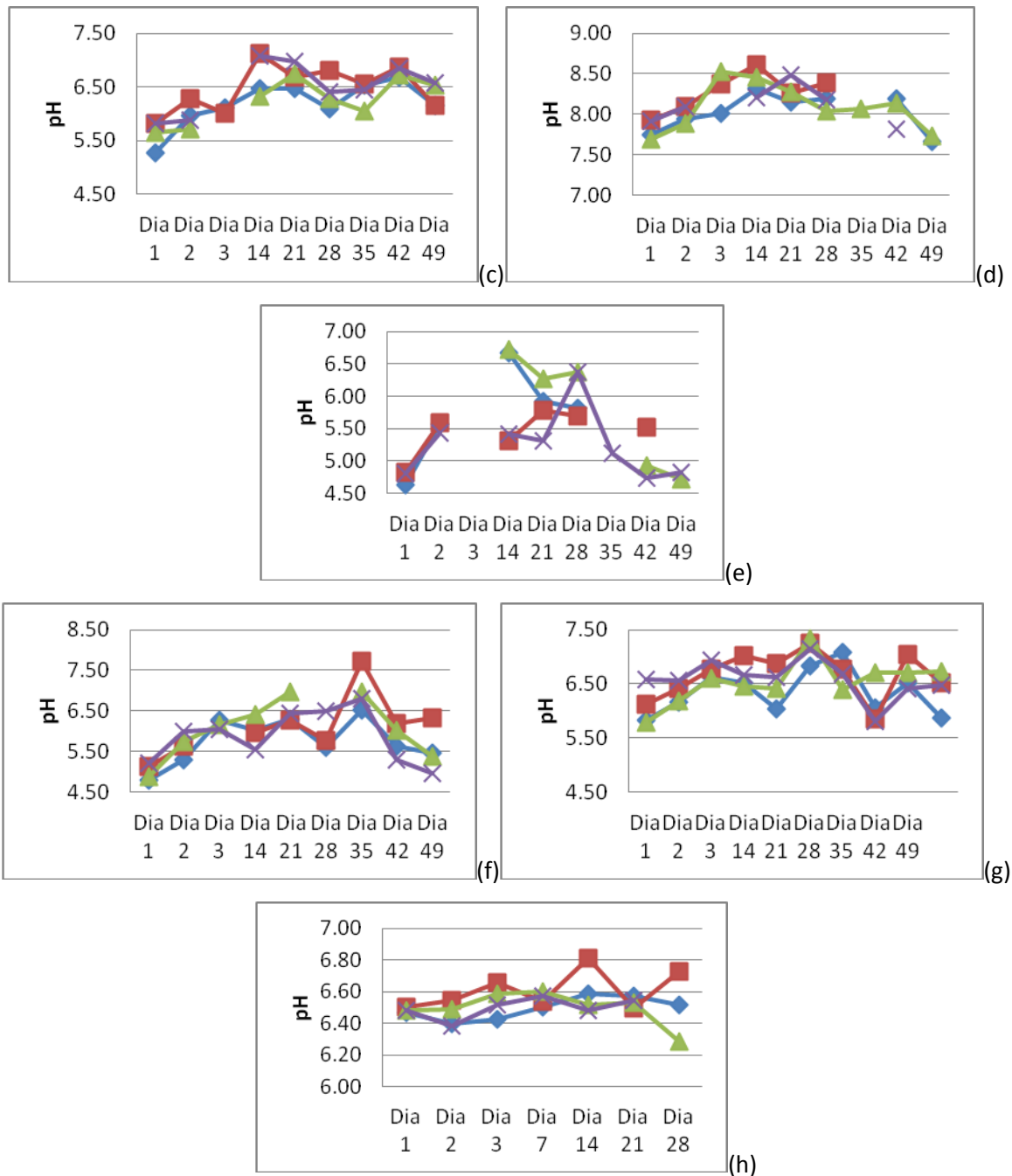


Figura 29: Variação de pH na superfície dos sistemas solo + AgNP e no branco nos vários solos Maia 1 (a), Maia 2 (b), Maia 3 (c), Maia 5 (d), Maia 9 (e), Estarreja 11 (f), Estarreja 12 (g) e Estarreja 1B (h)

Concentração de Ag em solução

Na Figura 30, apresenta-se a variação da concentração de Ag nos sistemas solo urbano (Maia) e industrial (Estarreja). A concentração de Ag na solução de solo é muito maior na amostra recolhida na superfície (Ag Sup) do que no fundo (Ag Fundo). Além disso, também se observa que a concentração de Ag decresce claramente nos primeiros três dias, sendo que a partir do dia 3, a

concentração de Ag detetada é inferior ao limite de deteção ($< 0,015 \mu\text{g mL}^{-1}$), tanto na zona de fundo como na zona de superfície. Para Maia 3, observa-se, ao contrário do geral, um aumento de concentração de Ag na zona de superfície, até dia 3. Depois de dia 3, a concentração de Ag reduz acentuadamente ($0,015 \mu\text{g mL}^{-1}$). Este gráfico apresenta valores de concentração aos quais foram subtraídos as concentrações de Ag detetadas nos solos sem adição de AgNP, de forma a apresentar valores apenas relativos à influência da suspensão de AgNP adicionada. Os resultados obtidos para os brancos são apresentados no anexo.

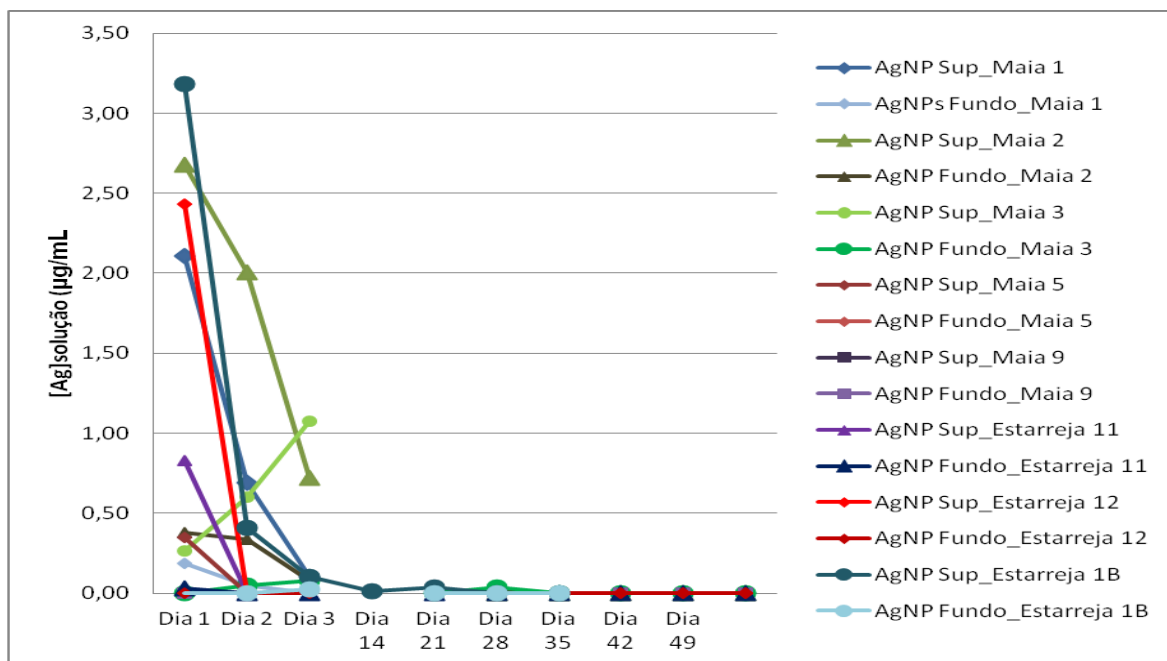


Figura 30: Concentração de Ag nos sistemas solo + AgNP ao longo do tempo.

4.2.3 Caracterização da fração sólida do solo

A Figura 31 representa os resultados obtidos na extração ácida realizada à fração sólida dos vários solos usados neste estudo. Na Figura 31 é perceptível que apenas com uma concentração de 2 mol L^{-1} de HNO_3 foi possível extrair Ag da fração sólida. As concentrações de Ag extraídas com a solução de $0,43 \text{ mol L}^{-1}$ HNO_3 foram quase sempre inferiores ao limite de deteção ($0,015 \mu\text{g mL}^{-1}$). Apesar de a concentração de 2 mol L^{-1} ter resultado melhor nesta extração, a mesma não se verificou em todos os solos. Os solos Maia 1 e Maia 5 foram aqueles em que se extraíram maiores concentrações de Ag. De notar que em Maia 2 e Estarreja 12 não se conseguiu extrair uma concentração de Ag superior ao limite de deteção.

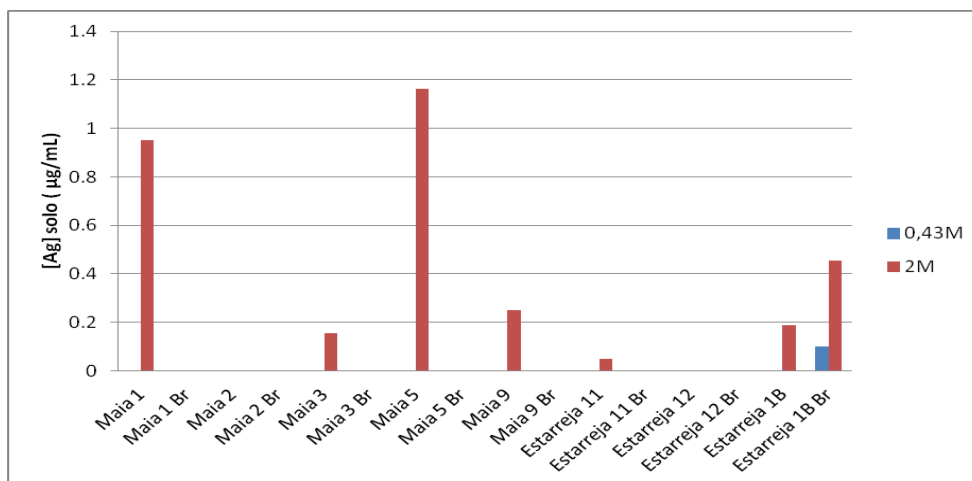


Figura 31: Extração ácida de prata da fração sólida dos solos, com uma solução de HNO₃ 0,43 e 2 mol L⁻¹

5 Discussão

5.1 Síntese e caracterização da suspensão de nanopartículas de prata

As AgNP sintetizadas resultaram em nanopartículas com as características gerais pretendidas. Apresentaram-se estáveis e de tamanho adequado ao estudo, apesar de um pouco inferior ao esperado (7 nm em vez de 10 nm). Tal poderá ter ocorrido devido a uma agitação mais rigorosa da mistura, que terá levado à formação de partículas mais pequenas. Apesar disso, as partículas ainda apresentavam um diâmetro aceitável para o estudo e foram, portanto, utilizadas. Os resultados obtidos na análise do potencial zeta também foram próximos do valor esperado (-43 mV) (Solomon *et al.*, 2007), tendo-se obtido uma média de -33,74 mV. Apesar de ser um valor próximo ao valor de potencial zeta característico da AgNP, podemos considerar que a diferença obtida se relaciona com a possível agregação de partículas na suspensão pois, havendo aglomerados de partículas, a leitura do potencial zeta torna-se mais difícil e, conseqüentemente, pode levar a discrepâncias de valores. Ainda assim, as nanopartículas sintetizadas apresentam um valor de potencial zeta bastante próximo do esperado e, como tal, pode considerar-se que a síntese resultou num produto muito semelhante ao que se pretendia. As restantes análises à AgNP sintetizada resultaram em valores esperados. O espectro de UV-VIS obtido apresenta-se como esperado, estando o comprimento de onda registado de 396 nm, muito próximo do valor característico de 400 nm e dentro do intervalo de valores esperado (400 +/- 5 nm) (Solomon *et al.*, 2007). Assim, pode dizer-se que a suspensão de AgNP usada neste trabalho apresentava características suficientemente adequadas para serem utilizadas neste tipo de estudo.

5.2 Análise das soluções de solo

Como apresentado ao longo do trabalho, depois da síntese e caracterização das AgNP, adicionaram-se as mesmas nos vários sistemas *solo + AgNP*, sendo, desses sistemas, recolhidas as soluções de solo para serem analisadas e comparadas. Assim, os resultados obtidos permitem observar diversas ocorrências, relacionadas com o pH e com a % de matéria orgânica, que são apresentadas posteriormente.

Em relação ao teste dos amostradores, foi necessário determinar a sua influência para melhor entender os resultados relativos às concentrações de AgNP nas soluções de solo. Os resultados obtidos mostram que os amostradores não influenciam a concentração de AgNP recolhida, pois os valores mantêm-se constantes ao longo da experiência e muito próximos da concentração de AgNP usada neste teste (27 $\mu\text{m mL}^{-1}$). Assim, sendo, não parece haver qualquer impacto sobre os resultados, causado pelo uso dos amostradores.

No entanto, é perceptível, pelos gráficos apresentados nos resultados, que em alguns sistemas não existem dados para determinados pontos. Isso deve-se ao fato de não se ter recolhido amostra suficiente para ser submetida a análise. Essa recolha ineficiente poderá ter origem no posicionamento do amostrador ou na falta de humidade em seu redor, dado que esses são fatores cruciais para o seu bom funcionamento. Mesmo que se tenha tido o cuidado de humidificar o sistema e de colocar os amostradores de forma correcta, pode ter acontecido que a humificação não tenha sido suficiente ou que os amostradores tenham sofrido algum deslocamento, deixando-os em condições menos boas de funcionamento e, assim, resultando numa menor recolha de amostra.

Relativamente à **Experiência 1**, na qual se pretendeu avaliar a capacidade de deteção de AgNP em solução do solo, efetuaram-se três análises principais: análise por UV/VIS, análise de pH e análise de concentração de AgNP. Na análise por UV/VIS, fez-se um teste usando as suspensões de AgNP nas várias concentrações (2.7, 5.4 e 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$, que correspondem a uma concentração de Ag no solo de 0,73, 1,5, 7,63mg Ag Kg^{-1} , respetivamente). O espectro de UV/VIS obtido para a suspensão (Figura 25) mostrou que a deteção de AgNP era mais clara para uma maior concentração, pois verificou-se um pico mais intenso nos 400 nm (valor correspondente à presença de AgNP). Como tal, usou-se essa concentração num teste em solo, para verificar se a deteção de AgNP se mantinha possível na solução de solo. Os testes em solo revelaram que as AgNP apenas eram detetadas na solução de solo usando uma concentração de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 26), no dia 1. Para concentrações mais baixas, não se detetou a presença de AgNP, levando a crer que as mesmas ficaram retidas no solo e que apenas com uma concentração mais elevada é possível recolher AgNP em solução de solo. Assim, a concentração de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foi a usada para o restante estudo.

Para as várias concentrações, foram também medidos os pHs das soluções de solo, para a suspensão de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A Figura 27 mostra que a variação de pH ao longo do tempo não parece ser influenciada pela presença de AgNP no sistema, dado que a variação de valores com ou sem AgNP é semelhante e acontece num intervalo de valores idêntico. A variação de valores de pH ao longo do tempo deverá estar relacionada com a estabilização do sistema. Com certeza que os iões existentes em solução e os restantes compostos interagem uns com os outros na solução de solo, fazendo com que haja a variação de pH visível nos gráficos, tornando difícil definir um pH de solo exato. Ao longo do tempo, os valores lidos poderão estabilizar, dado que a própria solução de solo também o deverá fazer. Apesar dos valores de pH lidos ao longo do tempo manterem valores próximos, destaca-se uma maior variação de pH durante o uso da suspensão de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$, o que

poderá indicar que o aumento de concentração de AgNP presente no solo pode levar a uma maior oscilação de pH, pois nesta experiência apenas as concentrações da suspensão de AgNP mudaram.

Relativamente à concentração de prata na solução de solo, foram apenas obtidos resultados para a adição às suspensões de AgNP de concentração 5,4 e 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Assim, optou-se por fazer a análise às soluções de solo resultantes dos testes com concentrações mais elevadas. Ambos os testes detetaram Ag em solução (Figura 28). No entanto, comparando os dados, nota-se que a concentração de Ag detetada no caso da suspensão de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$ é mais elevada do que a do caso com suspensão de 5,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O gráfico mostra que, nos primeiros dias, as concentrações de Ag detetadas são bastante semelhantes. Verifica-se, no entanto, uma maior presença de Ag na superfície, caso de 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$, pois nas restantes situações a concentração passa a ser praticamente nula a partir do dia 3. Na Figura 28 percebe-se que o solo não permite a transferência de Ag da suspensão para a solução de solo pois, comparando as concentrações de entrada (suspensão) e de saída (solução de solo) de Ag, elas diferem bastante. Em termos de percentagem, os dados revelam que apenas cerca de 2% da Ag introduzida no sistema é recuperada na solução de solo. Este valor deverá ser indicador que os restantes 98% de AgNP inseridos no sistema em estudo ficaram retidos no solo. Comparando os resultados obtidos na análise de UV/VIS (Figura 28) e nesta, verifica-se que, apesar de se detetar AgNP na solução de solo, usando a técnica de ICP-MS, a análise por UV/VIS não determinou o mesmo no dia 1 do teste com 27 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Esta diferença de resultados deve-se ao fato da análise por UV/VIS detetar AgNP, enquanto o ICP-MS analisa toda a prata em solução, incluindo iões dissolvidos da fração sólida.

Na **Experiência 2**, tinha-se por objetivo avaliar a influência das propriedades do solo na partição das AgNP no sistema solo – solução. Tal foi estudado fazendo testes com vários tipos de solo e uma suspensão de AgNP de 27 $\mu\text{g/mL}$. Da mesma forma que foi feito para a Experiência 1, também se fizeram análises por UV/VIS, análises ao pH e à concentração de Ag, para determinar a influência que o solo tem na transferência das AgNP. Como visto anteriormente, as análises de UV/VIS detetaram a presença de AgNP no solo Maia 1, mais especificamente, na amostra de solução de solo recolhida na zona de superfície no dia 1 (Figura 29). Nos restantes testes, não se verificou a presença de AgNP através da análise por UV/VIS. Este facto poderá indicar, mais uma vez, que as nanopartículas de prata ficam retidas nos solos. Pode também indicar que a concentração de prata medida na solução do solo por ICP-MS após digestão ácida se refere a prata em solução na forma iónica e não na forma de nanopartículas.

Ainda na Experiência 2, também foi medido o pH da solução de solo, ao longo do tempo. Essas medições são apresentadas no gráfico da Figura 30, onde se observam os valores de pH nas soluções de solo dos vários solos, na superfície, ao longo do tempo. Na Figura 30, a variação de pH é representada por uma subida de valores que atingem um máximo e voltam a descer até um certo valor. Esta variação é sinal de que a solução de solo não tem um pH estável, devido aos componentes nela presentes. Esses componentes, sendo eles majoritariamente íons, interagem uns com os outros ao longo do tempo e competem com os íons H^+ pelos lugares de adsorção na fração sólida do solo resultando numa variação do pH medido na solução do solo. Apesar da variação ao longo do tempo, os valores de pH tendem a convergir para um valor estável.

A análise dos resultados obtidos indica que a presença de AgNP não afeta o pH do sistema. Assim, efetuou-se uma análise ANOVA de fator único aos dados de pH, para determinar se a variação de pH observada foi efetivamente influenciada pela presença de AgNP no sistema. Na Tabela 2, encontram-se os resultados dessa análise. Como se pode ver, a análise revela que não existe diferença significativa na evolução do pH nos vários solos com e sem adição de AgNPs (brancos). Como tal, o pH do solo não deverá ser influenciado pela presença de AgNP.

Tabela 2 – Resultados da análise ANOVA – fator único, à variação de pH dos solos

Solo		Maia 1	Maia 2	Maia 3	Maia 5	Maia 9	Estarreja 11	Estarreja 12	Local 1B
Br Fundo Vs Br Superfície	Valor <i>p</i>	0,19519	0,226597	0,263864	0,857747	0,189941	0,556573	0,739538	0,971922
	F	1,8508276	1,589926	1,354976	0,033429	1,951759	0,556573	0,114003	0,001296
	F Crítico	4,60011	4,543077	4,60011	4,667193	4,844336	4,543077	4,413873	4,844336
AgNP Fundo Vs AgNP Superfície	Valor P	0,63578	0,365076	0,183694	0,074737	0,447044	0,277842	0,12707	0,050201
	F	0,2351783	0,876332	1,930903	3,808198	0,632102	1,267967	2,559039	4,737469
	F Crítico	4,667193	4,60011	4,493998	4,747225	5,117355	4,543077	4,413873	4,747225
Br Superfície Vs AgNP Superfície	Valor P	0,402356	0,602179	0,892664	0,271003	0,433642	0,461805	0,681818	0,065457
	F	0,7427287	0,285433	0,018836	1,35755	0,656298	0,570373	0,173647	4,184956
	F Crítico	4,543077	4,667193	4,543077	4,964603	4,747225	4,543077	4,413873	4,844336
Br Fundo Vs AgNP Fundo	Valor P	0,794372	0,610362	0,805074	0,641106	0,879661	0,346346	0,349069	0,94165
	F	0,0710266	0,270128	0,063097	0,226339	0,024433	0,945264	0,924368	0,005587
	F Crítico	4,747225	4,493998	4,543077	4,543077	5,317655	4,543077	4,413873	4,747225
Igualdade		Sim							

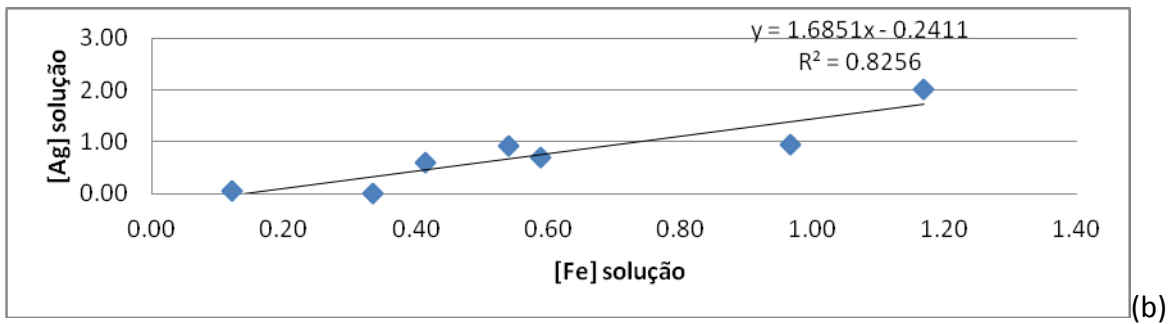
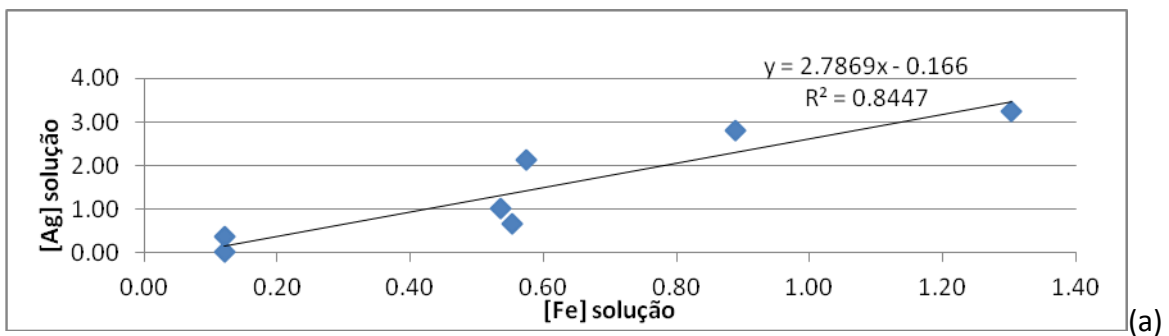
Nos gráficos de concentração de AgNP nos vários solos, denota-se que a concentração de AgNP é sempre superior na solução de solo recolhida na zona de superfície. De um modo geral, esta baixa consideravelmente até ao dia 3. O facto de se detetar mais AgNP na zona de superfície poderá ter a ver com questões de transporte das nanopartículas no meio, sendo que, havendo barreiras ao transporte, as nanopartículas não atingem rapidamente o fundo do vaso. Como tal, há mais nanopartículas na solução de solo à superfície, pois a maior parte ainda se encontra nessa zona. Na Figura 28, ainda é possível observar que em Maia 3, a concentração de AgNP aumenta nos primeiros dias, ao invés do que acontece nos restantes solos. Tendo em conta que as concentrações são relativamente baixas, tal poderá ter a ver com algum tipo de contaminação.

Finalmente, é de salientar que a partir do dia 3, não se detetam AgNP em solução o que quer possivelmente dizer, que as partículas, após alguns dias de interação com o meio, ficam fortemente retidas na fração sólida do solo. Comparando o valor de concentração lido com o que foi adicionado ao sistema tem-se que a quantidade de AgNP retida na fração sólida representa cerca de 90% do total de AgNP adicionadas ao solo. É também a partir do dia 3 que se nota um aumento considerável de pH nos solos. Analisando e comparando os vários solos, parece haver uma relação entre a quantidade de AgNP recolhida e o pH do solo. Além disto, comparando os resultados obtidos para solos com conteúdos de matéria orgânica diferente, nota-se que o aumento da mesma parece estar associado a uma diminuição de AgNP recolhidas em solução de solo. Passa-se de cerca de 10% de AgNP recolhidas nos solos Maia 1 (0,93 % carbono orgânico) e Maia 2 (2,1 % carbono orgânico), para cerca de 4% em Maia 3 (4,2 % carbono orgânico).

Foi avaliada a influência das propriedades dos solos (Tabela 1), do pH da solução do solo (Figura 29) e das concentrações de alumínio (Al), ferro (Fe) e manganês (Mn) em solução (Tabela 3) na variação das concentrações de prata em solução de forma mais detalhada. Para isso, traçaram-se gráficos da relação entre os constituintes dos solos e os constituintes das soluções de solo, para os primeiros três dias (Figura 32). Não foi obtida uma relação significativa entre a concentração de prata e nenhuma das propriedades do solo indicadas na Tabela 1. Por outro lado, os gráficos obtidos mostraram uma relação entre as AgNP e o Fe presente em solução, tal como demonstrado pela Figura 32. Nessa figura, vê-se que um aumento de Fe em solução corresponde a um aumento de AgNP em solução.

Tabela 3 – Concentrações de Al, Fe e Mn nas amostras de solução do solo

Solo		Recolha 24 horas			Recolha 48 horas			Recolha 72 horas		
Tipo	Nome	Al	Fe	Mn	Al	Fe	Mn	Al	Fe	Mn
		mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹
Urbano	Maia 1	0.86	0.57	0.54	0.78	0.59	0.64	0.61	1.6	0.66
	Maia 2	1.4	0.89	0.51	1.7	1.17	0.54	1.3	1.1	0.52
	Maia 3	1.2	0.55	0.13	1.3	0.41	0.13	3.2	1.5	0.30
	Maia 5	0.38	0.12	0.06	0.96	0.12	0.06	0.38	0.12	0.06
	Maia 9	1.3	0.12	5.9	1.3	0.33	4.7	1.2	0.12	5.7
Industrial	Local 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Local 12	1.5	0.54	0.68	1.6	0.54	0.68	1.1	0.43	0.88
	Local 1B	0.69	1.3	0.60	0.38	0.97	0.88	-	-	-



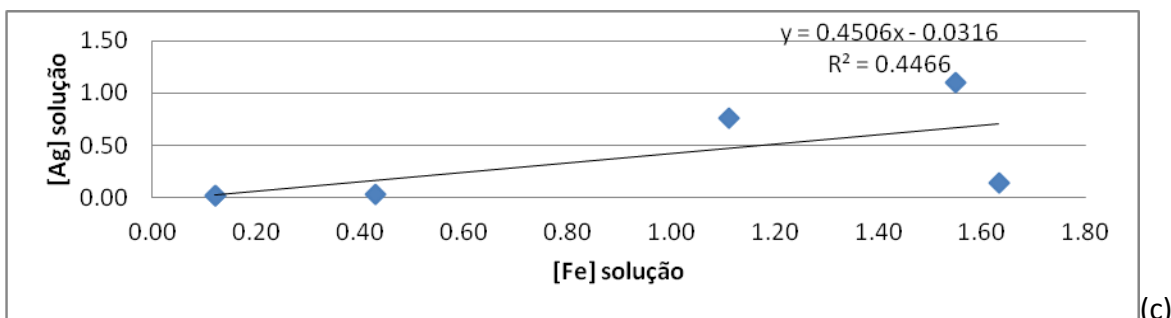
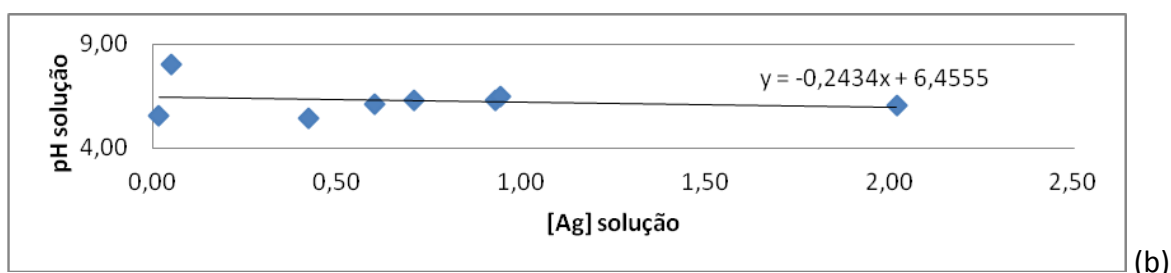
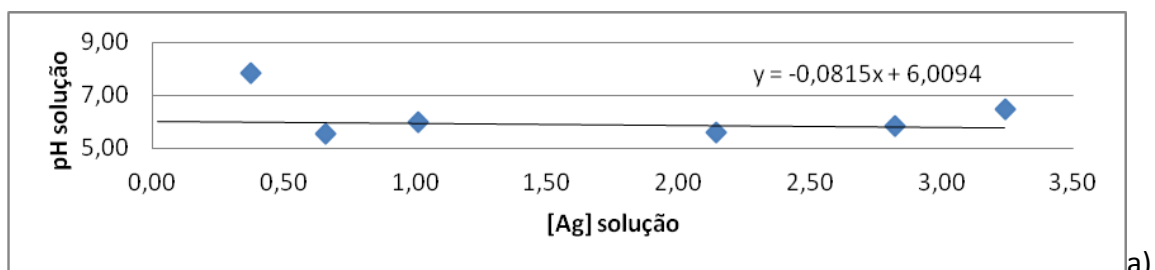


Figura 32 – Relação entre concentração de Ag e de Fe em solução de solo nos dias 1 (a), 2 (b) e 3 (c) na Experiência 2.

Em relação ao pH da solução do solo é de notar que não foi encontrada nenhuma relação significativa entre o valor de pH e a concentração de AgNPs em solução (Figura 33). Os resultados indicam no entanto que ocorre uma maior libertação de Ag para um pH da solução entre 5 e 7, nestes três dias (Figura 34). Sendo que para um pH mais ácido (pH~4) e para um pH mais alcalino (pH~8), as concentrações de AgNPs medidas em solução foram mais baixas. Poderá assim haver uma gama de pH mais propício à transferência solo-solução de AgNPs (pH 5 – 6,5).



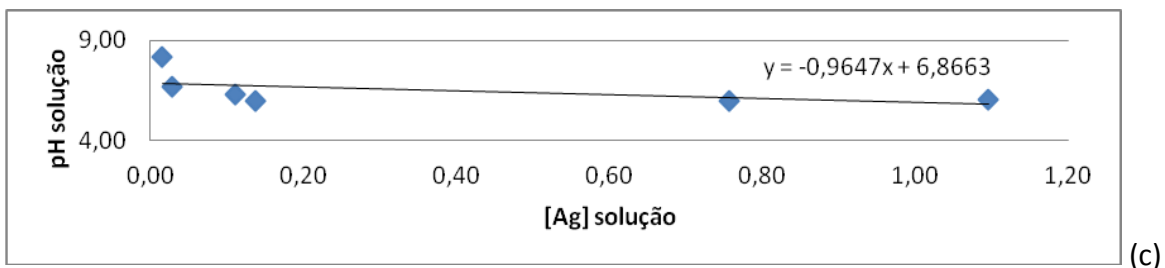


Figura 33 - Relação entre concentração de Ag e o pH em solução de solo, nos dias 1 (a), 2 (b) e 3 (c) na Experiência 2.

Apesar da constância observada entre a relação [Ag] vs pH, os mesmos dados identificam que a maior libertação de Ag ocorre num pH entre 5 e 6,5 durante os três dias (Figura 34). Tal indica que este intervalo de pH será mais propício à libertação de prata.

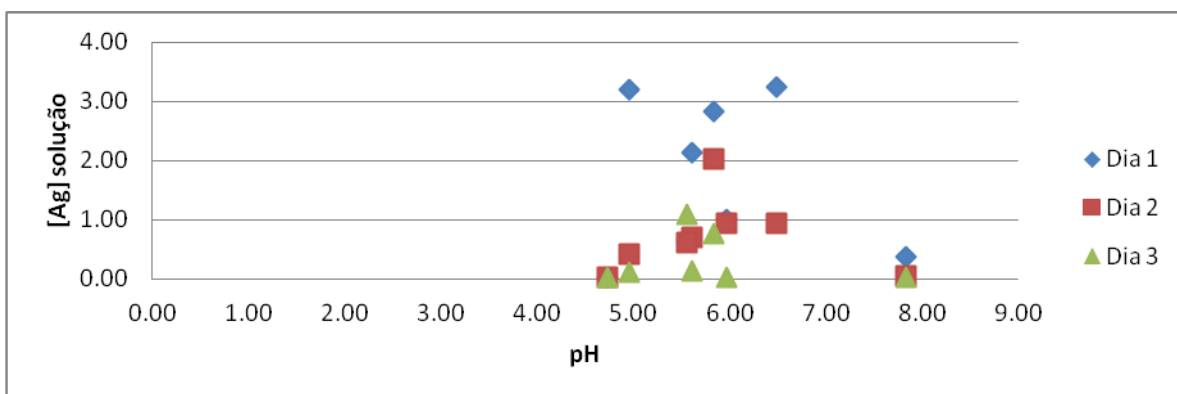


Figura 34 – Relação entre pH e concentração de Ag na solução de solo nos dias 1, 2 e 3 na experiência 2.

Estes resultados vão de encontro a estudos realizados por Elzey and Grassian (2009) e Liu and Hurt (2010), de onde se concluiu que os tipos de solo têm uma grande influência na libertação de Ag e que o pH e as argilas são duas das características que mais influenciam o processo. Neste caso, não se observa uma relação explícita com a argila, pois a percentagem da mesma nos solos usados é baixa (Tabela 1). No entanto, sendo as argilas constituídas, em parte, por óxidos metálicos, os resultados obtidos corroboram a mesma relação, pois verifica-se dependência em relação ao Fe presente no sistema.

Também foi efetuada uma análise de dados para tentar modelar os resultados obtidos e obter uma relação que permita prever a quantidade de prata libertada para a solução de solo dependendo das propriedades do solo mais evidenciadas por este estudo. Assim, recorreu-se à equação de Freundlich (Sauvé *et al.*, 2000; Rodrigues *et al.*, 2010), que descreve o processo de sorção de elementos inorgânicos aos constituintes do solo (como por exemplo, matéria orgânica e

argila) (Benoit *et al.*, 2013) e que parece adaptar-se bastante bem ao sistema solo + AgNP estudado. Esta equação traduz-se por

$$C_{\text{solução}} = K_f \times C_{\text{solução}}^n \quad (\text{eq. 1})$$

onde C_{solo} é a concentração de um metal na fração sólida, $C_{\text{solução}}$ a concentração de um metal na solução de solo, n traduz a não linearidade do sistema e K_f , uma constante. De notar que no sistema solo o valor de K_f é afetado pelas propriedades do solo e assume que ocorre competição entre os iões H^+ e os iões livres de um metal em solução pelos lugares de adsorção na fração sólida, como se descreve em seguida:

$$K_f = K \times [COrg]^a \times [Argila]^b \times [ÓxidosFerro]^c \times [H^+]^d \quad (\text{eq.2})$$

onde K é uma constante específica para cada metal.

A abordagem seguida para determinação dos coeficientes desta equação foi aquela descrita por Sauvé *et al.* (2000) e Rodrigues *et al.* (2010) e que consistiu na logaritmização (logaritmo de base 10) das eq.1 e eq.2 e aplicação de regressão linear múltipla aos resultados obtidos para determinação dos coeficientes (eq. 3).

$$\log[C_{\text{solução}}] = \text{int except} + n \times \log[C_{\text{solo}}] + (a..i) \times \log[\text{propriedades}_{\text{ solo}}] - c \times pH \quad (\text{eq.3})$$

Aplicando este modelo empírico aos dados recolhidos no estudo, obtêm-se as seguintes equações:

$$\log[Ag_{\text{solução}}] = 1.8x \log[Fe_{\text{solução}}] + 0.34xpH_{\text{solução}} - 1.5$$

$$R^2=0.91; \text{ erro padrão: } 0.28$$

Modelo 1 – Aplicação do modelo de Freundlich aos dados de Fe_{sol} e pH

$$\log[Ag_{\text{solução}}] = 2.4x \log[Fe_{\text{solução}}] - 0.74x[Mn_{\text{solução}}] + 0.10$$

$$R^2=0.92; \text{ erro padrão: } 0.25$$

Modelo 2 – Aplicação do modelo de Freundlich aos dados de Fe_{sol} e Mn

$$\log[Ag_{\text{solução}}] = 1.2x \log[Fe_{\text{solução}}] - 0.63$$

$$R^2=0.73; \text{ erro padrão: } 0.42$$

Modelo 3 – Aplicação do modelo de Freundlich aos dados de Fe_{sol}

De notar que não foi obtida nenhuma relação significativa entre as concentrações de prata em solução e os constituintes da fração sólida do solo. No entanto confirma-se a ocorrência de

uma relação significativa entre a concentração de prata e a concentração de Fe em solução. Esta relação poderá indicar que na fração sólida as nanopartículas de prata estão associadas a óxidos de Fe e que a dissolução destes óxidos com subsequente libertação de Fe para a solução está também relacionada com uma maior dissolução de prata. A possível relação entre as AgNPs e os óxidos de Fe do solo tinha também sido indicada em estudos anteriores (Cornelis *et al*, 2010; Flory, 2012). Os modelos obtidos indicam que poderá ser possível prever de uma forma aproximada, a concentração de prata em solução de solo, sabendo propriedades como a concentração de ferro em solução, o pH e, no terceiro caso, o manganês. De notar que os erros padrão são relativamente baixos mas, mais importante ainda, o R^2 é bastante elevado, no geral, o que indica que estas relações são muito relevantes

5.3 Caracterização da fração sólida do solo

Os resultados da caracterização efetuada à fração sólida do solo mostraram que existe prata retida pelo solo, no entanto também indicam que a prata retida na fração sólida não se encontra numa forma facilmente disponível. A extração do solo com uma solução HNO_3 2 mol L^{-1} permitiu uma extração $< 20\%$ relativamente à concentração total de prata adicionada ao solo. Grande parte da prata não foi, assim, extraída. Dado que, no caso do uso de 2 mol L^{-1} , se conseguiu extrair mais AgNP dos solos, é possível que o uso de uma concentração mais elevada permita recolher ainda mais AgNP do solo. Somando a quantidade de prata recolhida em solução de solo e na fração sólida do solo, tem-se um total máximo de 30% , relativamente à prata adicionada, o que indica que a maioria das partículas de prata adicionadas ao solo estão fortemente retidas na fração sólida.

6 Conclusões

Os resultados obtidos permitem concluir que o método de síntese aplicado foi bem-sucedido, uma vez que as propriedades das nanopartículas que se pretendiam sintetizar foram muito semelhantes às esperadas. As análises efetuadas para determinar o tamanho, a cor, o espectro de absorção e o potencial zeta resultaram em valores muito próximos dos esperados.

Relativamente aos objetivos do trabalho, que guiaram o seu desenvolvimento, também se podem retirar importantes conclusões. O primeiro objetivo, pretendia determinar a concentração de prata na forma de AgNP a adicionar aos solos para que fosse possível fazer este estudo e assim caracterizar o que acontece em solos. Através dos testes feitos na Experiência 1, conseguiu dar-se resposta a esse ponto. A concentração que se deveria usar para que fosse possível identificar AgNP na solução de solo deve ser no mínimo de $27 \mu\text{m mL}^{-1}$, pois foi a essa concentração que foi possível identificar AgNP em solução de solo. No entanto, uma vez que, na Experiência 2, nem todos os solos deram origem a soluções de solo em que se tenha detetado presença de AgNP, também se pode concluir que a presença de AgNPs na solução do solo não depende unicamente da concentração inicial de prata adicionada. Casos em que não se identificaram AgNP em soluções de solo foram, nomeadamente, Maia 9. Segundo os resultados de UV/VIS, apenas se identificou a presença de AgNP no solo Maia 1, às 24 horas. Conclui-se que estas diferenças estão relacionadas com a variação das propriedades do solo e/ou da solução do solo.

De notar que se conclui dos resultados que a presença de AgNPs no solo não afeta significativamente o pH da solução. No entanto, parece existir um pH ótimo (pH 5 – 6,5), no qual se observa uma maior libertação de AgNP para a solução de solo. Além disso, verificou-se que o aumento da concentração de Fe na solução do solo influencia significativamente a concentração de Ag em solução, uma vez que os solos que apresentaram maior concentração de Fe em solução foram também aqueles que apresentaram maior concentração de Ag em solução. Foi assim possível construir modelos empíricos que explicam a concentração de Ag em solução às 24, 48 e 72 horas, em função do Fe em solução.

Em termos de retenção de AgNP pelos solos, é claro, pelos resultados, que grande parte das AgNP ficou retida na fração sólida, a soma da percentagem recolhida na solução de solo e da percentagem obtida após extracção ácida nunca ultrapassa os 30% da prata total adicionada.

7 Referências

- Amin, M., Anwar, F., Janjua, M. R. S. A., Iqbal, M. A., and Rashid, U. (2012). Green Synthesis of Silver Nanoparticles through Reduction with Solanum xanthocarpum L. Berry Extract: Characterization, Antimicrobial and Urease Inhibitory Activities against Helicobacter pylori. *International journal of molecular sciences*, 13(8), 9923–9941.
- Anjum, N. a., Gill, S. S., Duarte, A. C., Pereira, E., and Ahmad, I. (2013). Silver nanoparticles in soil–plant systems. *Journal of Nanoparticle Research*, 15(9), 1-26.
- Asharani, P. V, Hande, M. P., and Valiyaveetil, S. (2009). Anti-proliferative activity of silver nanoparticles. *BMC cell biology*, 10, 1-65.
- Ashok Kumar, D. (2012). Rapid and green synthesis of silver nanoparticles using the leaf extracts of Parthenium Hysterophorus: A novel biological approach. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(2), 169–173.
- Aslan, K., Gryczynski, I., Malicka, J., Matveeva, E., Lakowicz, J. R., and Geddes, C. D. (2005). Metal-enhanced fluorescence: an emerging tool in biotechnology. *Current opinion in biotechnology*, 16(1), 55–62.
- Bae, S., Hwang, Y. S., Lee, Y.-J., and Lee, S.-K. (2013). Effects of water chemistry on aggregation and soil adsorption of silver nanoparticles. *Environmental health and toxicology*, 28. 1-7.
- Benoit, R., Wilkinson, K. J., and Sauvé, S. (2013). Partitioning of silver and chemical speciation of free Ag in soils amended with nanoparticles. *Chemistry Central journal*, 7(1), 1-75.
- Blaser, S. A., Scheringer, M., MacLeod, M., and Hungerbühler, K. (2008). Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: Contribution of nano-functionalized plastics and textiles. *Science of The Total Environment*, 390(2–3), 396–409.
- Brayner, R. (2008). The toxicological impact of nanoparticles Nanotechnology is a relatively new and vast field . The increased. *Nanotoday*, 3(1), 48–55.
- Burrell, R., Wright, J. B., Heggors, J. P., and Davis, G. J. (1999). Efficacy of silver-coated dressings as bacterial barriers in a rodent burn sepsis model . *Wounds*, 11(4), 64-71 .
- Buzea, C., Pacheco, I. I., and Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17–71. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20419892>
- Cao, J., Hu, X., and Jiang, D. (2009). Synthesis of Gold Nanoparticle Using Halloysites. *e-Journal of Surface Science and Nanotechnology*, 7(August), 813–815.
- Caro, C., Castillo, P. M., Klippstein, R., Pozo, D., and Zaderenko, A. P. (2010). Silver nanoparticles : sensing and imaging applications. *InTech*, 201–225. Retrieved from <http://www.intechopen.com/books/silver-nanoparticles/silver-nanoparticles-sensing-and-imaging-applications>
- Chatterjee, S., Gadad, S. S., and Kundu, T. K. (2010). Atomic Force Microscopy - A Tool to Unveil the Mystery of Biological Systems, *Ressonance*, 1, 622–642.
- Christy, a J., and Umadevi, M. (2012). Synthesis and characterization of monodispersed silver nanoparticles. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 3(3), 1-4.

Cleveland, D., Long, S. E., Pennington, P. L., Cooper, E., Fulton, M. H., Scott, G. I., Wood, L. (2012). Pilot estuarine mesocosm study on the environmental fate of Silver nanomaterials leached from consumer products. *Science of The Total Environment*, 421–422(0), 267–272.

Cornelis, G., DooletteMadeleine Thomas, C., McLaughlin, M. J., Kirby, J. K., Beak, D. G., and Chittleborough, D. (2012, May). Retention and Dissolution of Engineered Silver Nanoparticles in Natural Soils. Retrieved from <https://dl.sciencesocieties.org/publications/sssaj/abstracts/76/3/891>

Cornelis, G., Kirby, J. K., Beak, D., Chittleborough, D., and McLaughlin, M. J. (2010). A method for determination of retention of silver and cerium oxide manufactured nanoparticles in soils. *Environmental Chemistry*, 7(3), 298.

Coutris, C., Joner, E. J., and Oughton, D. H. (2012). Aging and soil organic matter content affect the fate of silver nanoparticles in soil. *Science of The Total Environment*, 420(0), 327–333.

Dirienzo, M. (2006). New Applications for Silver. Montreux, *The LBMA Precious Metals Conference*, 85-90.

Dubas, S. T., and Pimpan, V. (2008). Humic acid assisted synthesis of silver nanoparticles and its application to herbicide detection. *Mater Lett*, 62(17-18), 3.

El-Badawy, A., Feldhake, D., and Venkatapathy, R. (2010). State of the Science Literature Review: Everything Nanosilver and More, *Scientific, Technical, Research, Engineering and Modeling Support Final Report State*, 221pp.

Elechiguerra, J. L., Burt, J. L., Morones, J. R., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H. H., and Yacaman, M. J. (2005). Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Journal of nanobiotechnology*, 3, 1-6.

Elzey, S., and Grassian, V. H. (2009). Agglomeration, isolation and dissolution of commercially manufactured silver nanoparticles in aqueous environments. *Journal of Nanoparticle Research*, 12(5), 1945–1958.

Eustis, S. (2006). Gold and silver nanoparticles: characterization of their interesting properties and the mechanism of their photochemical formation. *Doctoral Dissertation*, 290pp.

Flory, J. R. (2012). Influence of the pH on the transport of silver nanoparticles, *Doctoral Thesis*, 55pp

Gloystein, K., and Vilalta-Clemente, A. (2008). Principles of Atomic Force Microscopy (AFM). *Physics of Advanced Materials Winter School*, 10pp.

Hanauer, M., Pierrat, S., Zins, I., Lotz, A., and Sönnichsen, C. (2007). Separation of Nanoparticles by Gel Electrophoresis According to Size and Shape. *Nano Letters*, 7(9), 2881–2885.

Hsu, S. L., and Wu, R. (2011). Preparation of Silver Nanoparticle with Different Particle Sizes for Low-Temperature Sintering. *IACSIT Press*, 2(13), 55–58.

Hua, L., Chen, J., Ge, L., and Tan, S. N. (2007). Silver nanoparticles as matrix for laser desorption/ionization mass spectrometry of peptides. *Journal of Nanoparticle Research*, 9(6), 1133–1138.

Hussain, J. I. (2011). Silver nanoparticles: preparation, characterization, and kinetics. *Advanced Materials Letters*, 2(3), 188–194.

Jacob, J. A., Mahal, H. S., Biswas, N., Mukherjee, T., and Kapoor, S. (2007). Role of Phenol Derivatives in the Formation of Silver Nanoparticles. *Langmuir*, 24(2), 528–533.

- Jacobson, A. R., McBride, M. B., Baveye, P., and Steenhuis, T. S. (2005). Environmental factors determining the trace-level sorption of silver and thallium to soils. *The Science of the total environment*, 345(1-3), 191–205.
- Jana, N. R., Wang, Z. L., and Sau, T. K. (2000). Seed-mediated growth method to prepare cubic copper nanoparticles. *Current Science*, 79(9), 1367–1370.
- Jones, K. C., and Peterson, P. J. (1986). The influence of humic and fulvic acids on silver uptake by perennial ryegrass, and its relevance to the cycling of silver in soils. *Plant and Soil*, 95(1), 3–8.
- Kaegi, R., Voegelin, A., Sinnet, B., Zuleeg, S., Hagendorfer, H., Burkhardt, M., and Siegrist, H. (2011). Behavior of metallic silver nanoparticles in a pilot wastewater treatment plant. *Environmental science and technology*, 45(9), 3902–3908.
- Khan, Z., Al-Thabaiti, S. A., Obaid, A. Y., and Al-Youbi, a O. (2011). Preparation and characterization of silver nanoparticles by chemical reduction method. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 82(2), 513–7.
- Kildeby, N. L., Andersen, O. Z., Røge, R. E., Larsen, T., Petersen, R., and Riis, J. F. (2006). *Silver Nanoparticles*.
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J.-H., Park, S. J., Lee, H. J., ... Cho, M.-H. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*, 3(1), 95–101.
- Kim, J.-S. (2007). Antibacterial activity of Ag⁺ ion-containing silver nanoparticles prepared using the alcohol reduction method. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 13(4), 718–722.
- Klaus, T., Joerger, R., Olsson, E., and Granqvist, C.-G. (1999). Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated, 96(24), 13611–13614.
- Knetsch, M. L. W., and Koole, L. H. (2011). New Strategies in the Development of Antimicrobial Coatings: The Example of Increasing Usage of Silver and Silver Nanoparticles. *Polymers*, 3(4), 340–366.
- Kyriacou, S. V, Brownlow, W. J., and Xu, X.-H. N. (2003). Using Nanoparticle Optics Assay for Direct Observation of the Function of Antimicrobial Agents in Single Live Bacterial Cells†. *Biochemistry*, 43(1), 140–147.
- Li, X., Lenhart, J. J., and Walker, H. W. (2010). Dissolution-Accompanied Aggregation Kinetics of Silver Nanoparticles. *Langmuir*, 26(22), 16690–16698.
- Li, Y., Wu, Y., and Ong, B. S. (2005). Facile synthesis of silver nanoparticles useful for fabrication of high-conductivity elements for printed electronics. *Journal of the American Chemical Society*, 127(10), 3266–3267.
- Lin, S., Cheng, Y., Liu, J., and Wiesner, M. R. (2012). Polymeric Coatings on Silver Nanoparticles Hinder Autoaggregation but Enhance Attachment to Uncoated Surfaces. *Langmuir*, 28(9), 4178–4186.
- Lindsay, W. L. (2001). *Chemical Equilibria in Soils*. Blackburn Press. Retrieved from <http://books.google.pt/books?id=bktiAAAACAAJ>, 450.
- Liu, J., and Hurt, R. H. (2010). Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids. *Environmental science and technology*, 44(6), 2169–75.
- Luoma, S. N. (2008). Silver Nanotechnologies and the Environment: Old Problems or New Challenges? *Project on Emerging Nanotechnologies*, 72pp.

- Lytle, P. E. (1984). Fate and speciation of silver in publicly owned treatment works. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 3(1), 21–30.
- Mahendra, R., and Duran, N. (2011). *Metal Nanoparticles in Microbiology* (pp. 2–4). Springer.
- Mallikarjuna, K., Narasimha, G., Dillip, G. R., Praveen, B., Shreedhar, B., Sree Lakshmi, C., Raju, D. P. (2011). Green synthesis of silver nanoparticles using ocimum leaf extract and their characterization. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 6(1), 181–186.
- Meyer, E. (1992). Atomic force microscopy. *Progress in Surface Science*, 41(1), 3–49.
- Mishra, Y. K., Mohapatra, S., Kabiraj, D., Mohanta, B., Lalla, N. P., Pivin, J. C., and Avasthi, D. K. (2007). Synthesis and characterization of Ag nanoparticles in silica matrix by atom beam sputtering. *Scripta Materialia*, 56(7), 629–632.
- Mitra, B., Vishnudas, D., Sant, S. B., and Annamalai, A. (2012). Green-synthesis and characterization of Silver Nanoparticles by aqueous Leaf extracts of *Cardiospermum helicacabum* leaves. *Drug Invention Today*, 4(2), 340–344.
- Moores, A., and Goettmann, F. (2006). The plasmon band in noble metal nanoparticles: an introduction to theory and applications. *New Journal of Chemistry*, 30(8), 1121-1132.
- Mueller, N. C., and Nowack, B. (2008). Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environmental science and technology*, 42(12), 4447–53. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18605569>
- Oldenburg, S. J., Genick, C. C., Clark, K. A., and Schultz, D. A. (2002). Base pair mismatch recognition using plasmon resonant particle labels. *Analytical Biochemistry*, 309(1), 109–116.
- Oromieh, A. G. (2011). Evaluating solubility, aggregation and sorption of nanosilver particles and silver ions in soils. *Thesis*, Swedish University of Agricultural Sciences, 20pp.
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P., and Manavalan, R. (2011). Nanoparticle : An overview of preparation and characterization. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01(06), 228–234.
- Pastoriza-Santos, I., and Liz-Marzan, L. M. (2008). Colloidal silver nanoplates. State of the art and future challenges. *Journal of Materials Chemistry*, 18(15), 1724–1737.
- Pastoriza-Santos, I., and Liz-Marzán, L. M. (2000). Reduction of silver nanoparticles in DMF . Formation of monolayers and stable colloids *. *Pure and Applied Chemistry*, 72, 83–90.
- Percival, S. L., Bowler, P. G., and Dolman, J. (2007). Antimicrobial activity of silver-containing dressings on wound microorganisms using an in vitro biofilm model. *International Wound Journal*, 4(2), 186–191.
- Piao, L., Lee, K. H., Min, B. K., Kim, W., Do, Y. R., and Yoon, S. (2011). A Facile Synthetic Method of Silver Nanoparticles with a Continuous Size Range from sub-10 nm to 40 nm. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(1), 117–121.
- Potera, C. (2010). Transformation of Silver Nanoparticles in Sewage Sludge. *Environmental Health Perspectives*, 118(12), 525–527.
- Ratyakshi, and Chauhan, R. P. (2009). Colloidal Synthesis of Silver Nano Particles. *Asian Journal of Chemistry*, 21(10), 113–116.

Reimer, L., and Kohl, H. (2008). *Transmission Electron Microscopy: Physics of Image Formation*, 5th ed., pp. 1–3). Springer.

Rodrigues, S. M., Henriques, B., Ferreira da Silva, E., Pereira, M. E., Duarte, a C., and Römken, P. F. a M. (2010). Evaluation of an approach for the characterization of reactive and available pools of twenty potentially toxic elements in soils: part I—the role of key soil properties in the variation of contaminants’ reactivity. *Chemosphere*, *81*(11), 1549–59.

Roduner, E. (2006). Size matters: why nanomaterials are different. *Chemical Society Reviews*, *35*(7), 583–592.

Roldán, M. V, Frattini, A., de Sanctis, O., Troiani, H., and Pellegri, N. (2007). Characterization and applications of Ag nanoparticles in waveguides. *Applied Surface Science*, *254*(1), 281–285.

Sawant, S. D. (2011). FT-IR Spectroscopy: Principle, technique and mathematics. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, *2*(1), 513–519.

Schlich, K., Klawonn, T., Terytze, K., and Hund-Rinke, K. (2013). Hazard assessment of a silver nanoparticle in soil applied via sewage sludge. *Environmental Sciences Europe*, *25*(1), 17.

Scintag, Inc (1999). Basics of X-ray Diffraction. Scintag, 27

Senjen, R. (2007). Nanosilver: A threat to soil, water and human health? *Report*, Friends of the Earth, 1-9.

Shafer, M. M., Overdier, J. T., and Armstong, D. E. (1998). Removal, partitioning, and fate of silver and other metals in wastewater treatment plants and effluent-receiving streams. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *17*(4), 630–641.

Shahverdi, A. R., Minaeian, S., Shahverdi, H. R., Jamalifar, H., and Nohi, A.-A. (2007). Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria: A novel biological approach. *Process Biochemistry*, *42*(5), 919–923.

Solomon, S. D., Mulfinger, L., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A. V., Rutkowsky, S. a., and Boritz, C. (2007). Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. *Journal of Chemical Education*, *84*(2), 322-325.

Song, J. E., Phenrat, T., Marinakos, S., Xiao, Y., Liu, J., Wiesner, M. R., Lowry, G. V. (2011). Hydrophobic interactions increase attachment of gum Arabic- and PVP-coated Ag nanoparticles to hydrophobic surfaces. *Environmental science and technology*, *45*(14), 5988–95.

Sotiriou, G. a, Meyer, A., Knijnenburg, J. T. N., Panke, S., and Pratsinis, S. E. (2012). Quantifying the origin of released Ag⁺ ions from nanosilver. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, *28*(45), 15929–36.

Stensberg, M. C., Wei, Q., McLamore, E. S., Porterfield, D. M., Wei, A., and Sepúlveda, M. S. (2012). Toxicological studies on silver nanoparticles: challenges and opportunities in assessment, monitoring and imaging. *Nanomedicine (Lond)*, *6*(5), 879–898. doi:10.2217/nnm.11.78.Toxicological

Swapp, S. (2013). Scanning Electron Microscopy (SEM). *Geochemical Instrumentation and Analysis*. Retrieved from http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/SEM.html

Taghavy, A., Mittelman, A., Wang, Y., Pennell, K. D., and Abriola, L. M. (2013). Mathematical modeling of the transport and dissolution of citrate-stabilized silver nanoparticles in porous media. *Environmental science and technology*, *47*(15), 8499–507.

Texas, U. of N. (n.d.). Nanoparticles Safety Module. Retrieved October 18, 2013, from <https://web3.unt.edu/riskman/index.php?section=onlinetrainingandgroup=nanoparticlesafetyandmodule=3>

ThermoFisher. (n.d.). From first principles: An introduction to the ICP-MS technique. ThermoFisher Scientific, 47pp.

ThermoNicolet. (2001). Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry. *Thermo Nicolet*, 8.

Thidell, Å., and Arnfalk, P. (2004). Nanoparticles : A Closer Look at the Risks to Human Health and the Environment Perceptions and Precautionary Measures of Industry and Regulatory Bodies in Europe Åsgeir Helland, 98pp.

Thio, B. J. R., Montes, M. O., Mahmoud, M. A., Lee, D.-W., Zhou, D., and Keller, A. A. (2011). Mobility of Capped Silver Nanoparticles under Environmentally Relevant Conditions. *Environmental Science and Technology*, 46(13), 6985–6991.

Thomas, R. (2001). A Beginner's Guide to ICP-MS. *Spectroscopy Online*, 16(4), 38-42.

Tian, Y., Gao, B., Silvera-Batista, C., and Ziegler, K. J. (2010). Transport of engineered nanoparticles in saturated porous media. *Journal of Nanoparticle Research*, 12(7), 2371–2380.

Tolaymat, T. M., El Badawy, A. M., Genaidy, A., Scheckel, K. G., Luxton, T. P., and Suidan, M. (2010). An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Science of The Total Environment*, 408(5), 999–1006.

Torkzaban, S., Kim, Y., Mulvihill, M., Wan, J., and Tokunaga, T. K. (2010). Transport and deposition of functionalized CdTe nanoparticles in saturated porous media. *Journal of contaminant hydrology*, 118(3-4), 208–17.

Transmission Electron Microscopy Analysis of Nanoparticles. (2012). *TEM Analysis of Nanoparticles*, NanoComposix, 7pp.

University of Essex (2010). Measurement Techniques For Nanoparticles. *University of Essex for Nanocap*, 7.

Van Hying, D. L., Klemperer, W. G., and Zukoski, C. F. (2001). Characterization of Colloidal Stability during Precipitation Reactions. *Langmuir*, 17(11), 3120–3127.

Van Hying, D. L., and Zukoski, C. F. (1998). Formation Mechanisms and Aggregation Behavior of Borohydride Reduced Silver Particles. *Langmuir*, 14(24), 7034–7046.

VandeVoort, A. R., Arai, Y., and Sparks, D. L. (2012). Environmental chemistry of silver in soils:current and historic perspective. In *Advances in Agronomy, Volume 114* (1st ed., pp. 59–50). San Diego: Elsevier Academic Press Inc.

Wang, Z. L., and Zhou, W. (2006). Scanning Microscopy for Nanotechnology - Techniques and Applications. New York, NY: Springer New York, 522pp.

Weinkauff, H., and Brehm-Stecher, B. F. (2009). Enhanced dark field microscopy for rapid artifact-free detection of nanoparticle binding to *Candida albicans* cells and hyphae. *Biotechnology Journal*, 4(6), 871–879.

- Wijnhoven, S. W. P., Peijnenburg, W. J. G. M., Herberts, C. A., Hagens, W. I., Oomen, A. G., Heugens, E. H. W., ... Geertsma, R. E. (2009). Nano-silver – a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*, 3(2), 109–138.
- Wiley, B. J., Chen, Y., McLellan, J. M., Xiong, Y., Li, Z.-Y., Ginger, D., and Xia, Y. (2007). Synthesis and Optical Properties of Silver Nanobars and Nanorice. *Nano Letters*, 7(4), 1032–1036. doi:10.1021/nl070214f
- WiseGEEK. (n.d.). What is Plasmonics? Retrieved October 19, 2013, from <http://www.wisegeek.org/what-is-plasmonics.htm>
- Wolf, R. E. (2005). What is ICP-MS? ... and more importantly, what can it do?, *Handouts*, 7pp.
- Wright, J. B., Lam, K., and Burrell, R. E. (1998, December 1). Wound management in an era of increasing bacterial antibiotic resistance: A role for topical silver treatment. *American journal of infection control*. Mosby. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196655398001138?showall=true>
- Wynn, M. (2012). The Synthesis and Characterization of Gold and Silver Nanoparticles in Formal and Informal Settings. *Project*, California Polytechnic State University, San Luis Obispo, Materials Engineering Department, 33pp.
- Xu, X.-H. N., Brownlow, W. J., Kyriacou, S. V, Wan, Q., and Viola, J. J. (2004). Real-Time Probing of Membrane Transport in Living Microbial Cells Using Single Nanoparticle Optics and Living Cell Imaging†. *Biochemistry*, 43(32), 10400–10413.
- Yin, H. Q., Langford, R., and Burrell, R. E. (1999). Comparative evaluation of the antimicrobial activity of ACTICOAT* antimicrobial barrier dressing. *The Journal of burn care and rehabilitation*, 20(3), 195–200. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheNandcpsidt=1789160>
- Yu, S., Yin, Y., and Liu, J. (2013). Silver nanoparticles in the environment. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 15(1), 78-92.
- Zhang, W., Yao, Y., Sullivan, N., and Chen, Y. (2011). Modeling the Primary Size Effects of Citrate-Coated Silver Nanoparticles on Their Ion Release Kinetics. *Environmental Science and Technology*, 45(10), 4422–4428.
- Zook, J. M., Halter, M. D., Cleveland, D., and Long, S. E. (2012). Disentangling the effects of polymer coatings on silver nanoparticle agglomeration, dissolution, and toxicity to determine mechanisms of nanotoxicity. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(10), 1-9.

ANEXOS

Neste anexo, apresentam-se gráficos complementares aos resultados apresentados no ponto 4 do trabalho.

Experiência 1

Espectros de absorção por UV/VIS

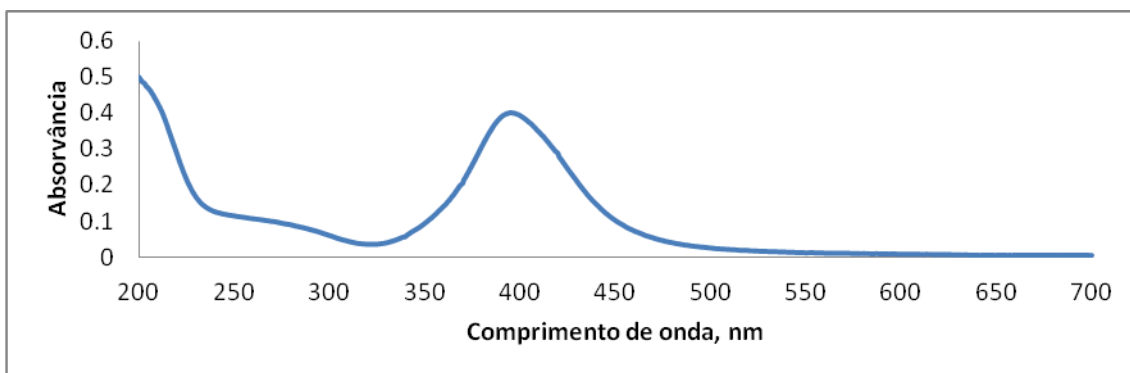


Figura 35A: Espectro de absorção por UV/VIS da suspensão de nanopartículas de 5.4 µg/mL

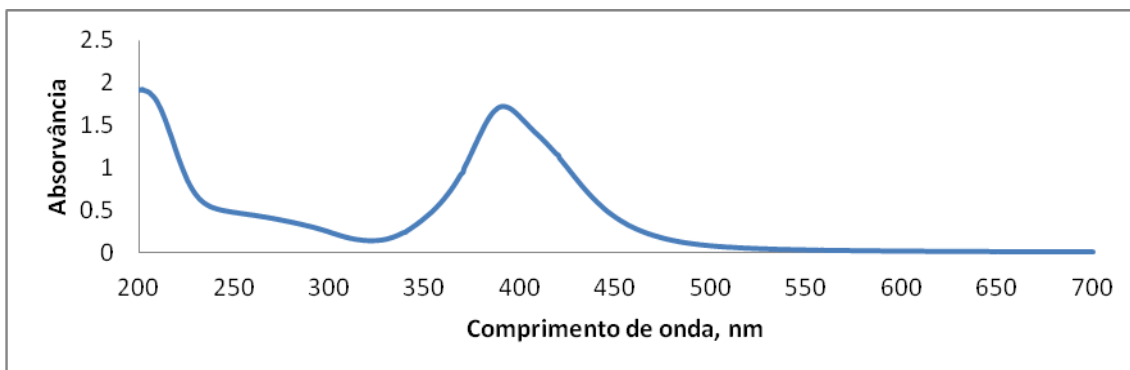


Figura 36A: Espectro de absorção por UV/VIS da suspensão de nanopartículas de 27 µg/mL

Variação da concentração de AgNP

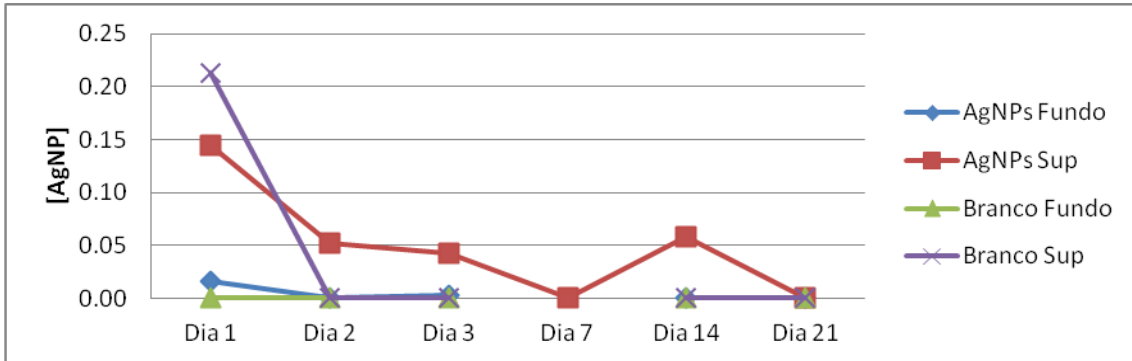


Figura 37A: Concentração de AgNP na solução de solo do teste com a suspensão de nanopartículas de 5.4 µg/mL

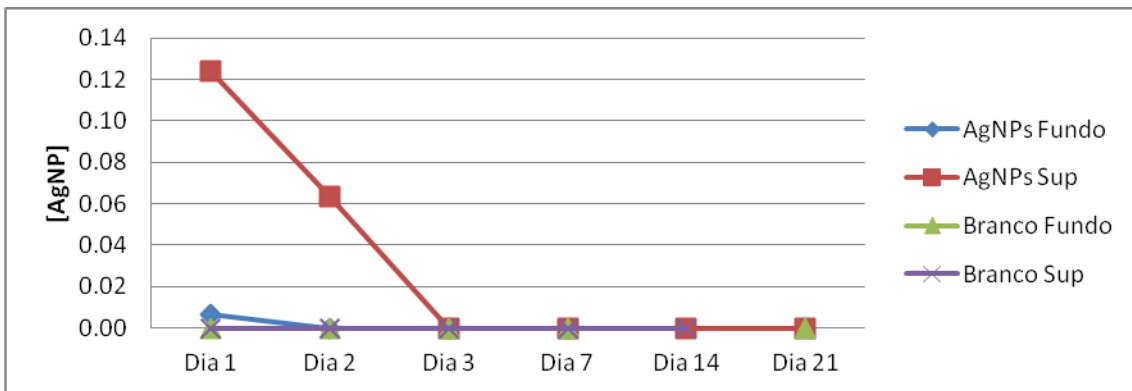


Figura 38A: Concentração de AgNP na solução de solo do teste com a suspensão de nanopartículas de 27 µg/mL

Variação de pH

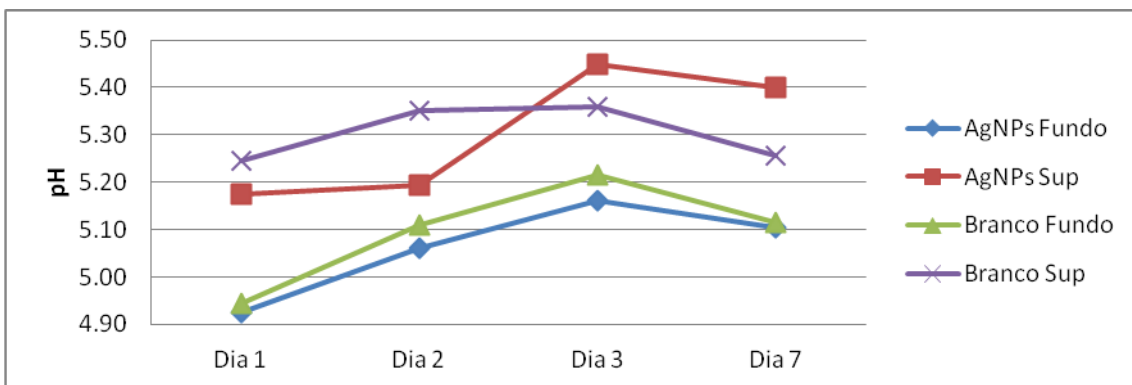


Figura 39A: pH na solução de solo do teste com a suspensão de nanopartículas de 2.7 µg/mL

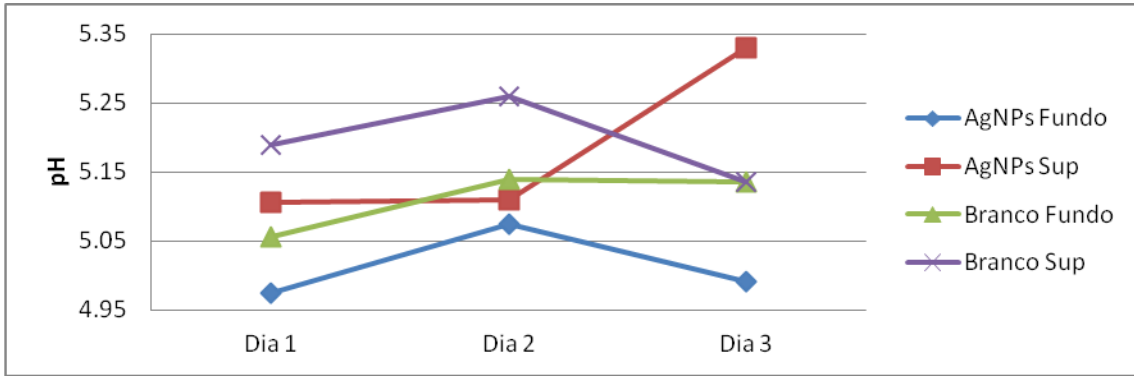


Figura 40A: pH na solução de solo do teste com a suspensão de nanopartículas de 5.4µg/mL

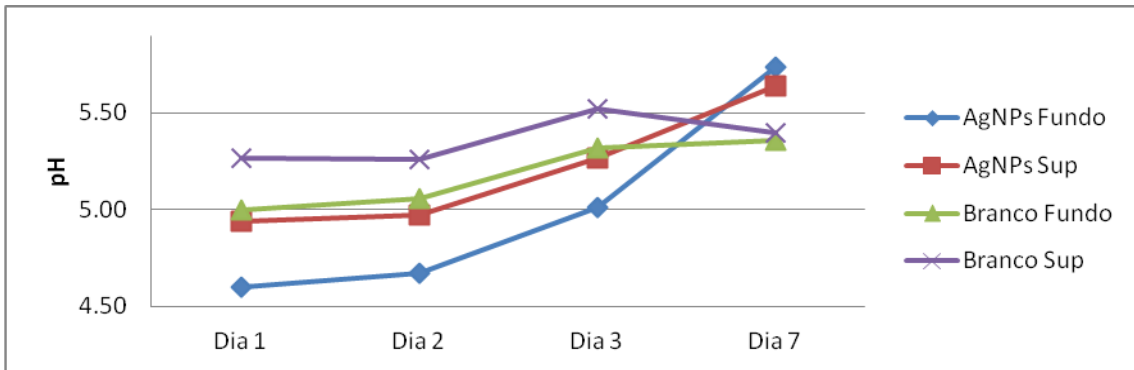


Figura 41A: pH na solução de solo do teste com a suspensão de nanopartículas de 27µg/mL

Experiência 2

Variação do pH

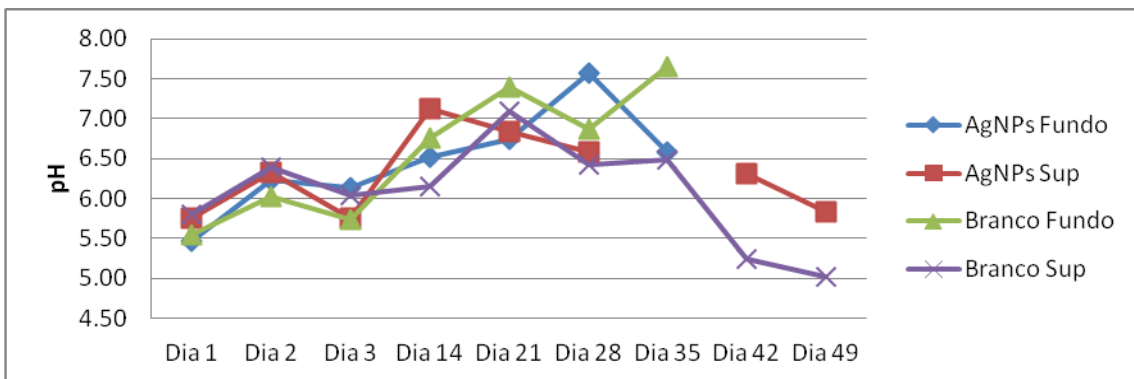


Figura 42A: pH nos sistemas solo + AgNP e branco do solo Maia 1

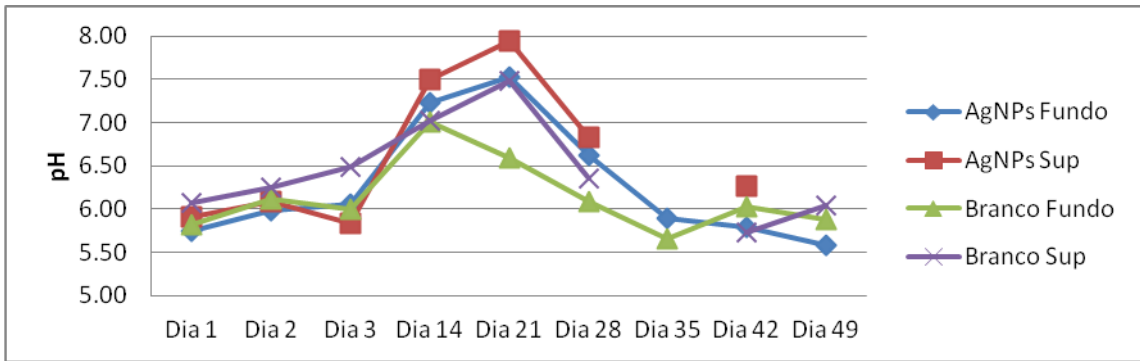


Figura 43A: pH nos sistemas solo + AgNP e branco do solo Maia 2

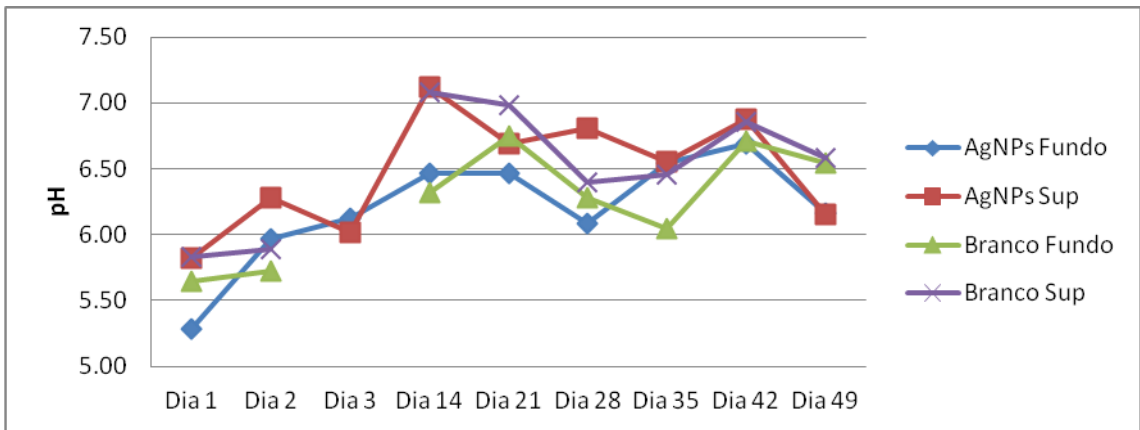


Figura 44A: pH nos sistemas solo + AgNP e branco do solo Maia 3

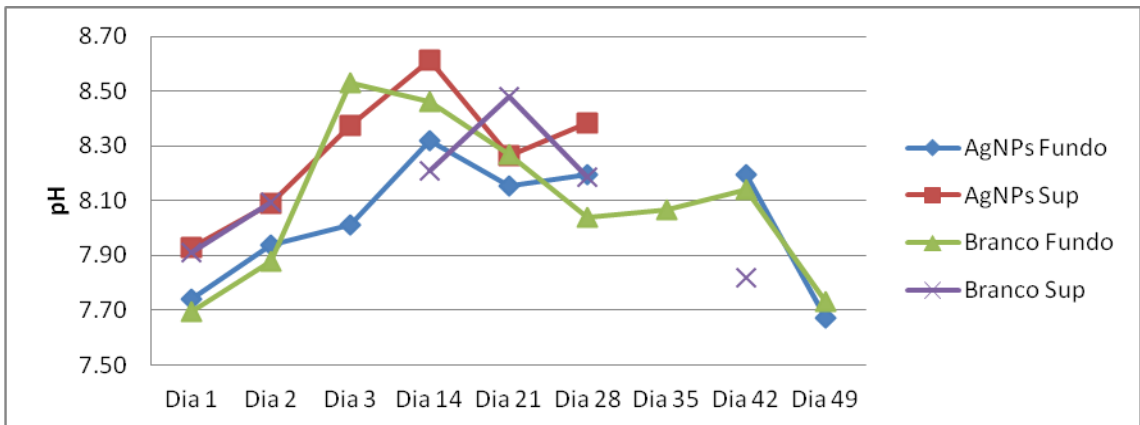


Figura 45A: pH nos sistemas solo + AgNP e branco do solo Maia 5

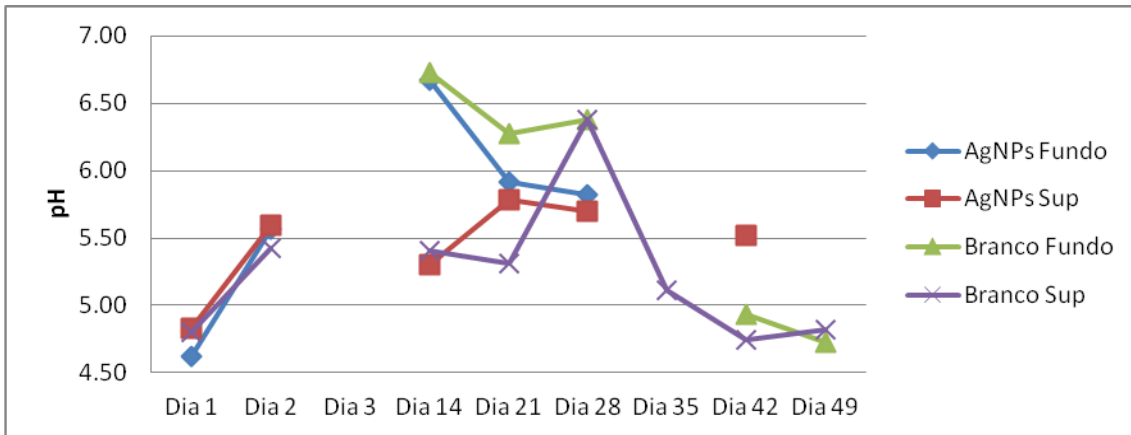


Figura 46A: pH nos sistemas solo + AgNP e branco do solo Maia 9

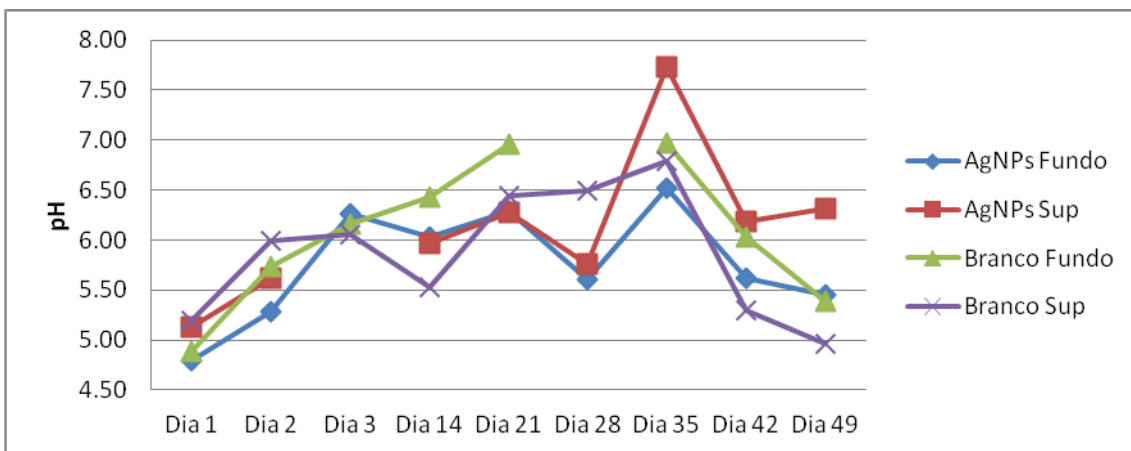


Figura 47A: pH nos sistemas solo + AgNP e branco do solo Estarreja 11

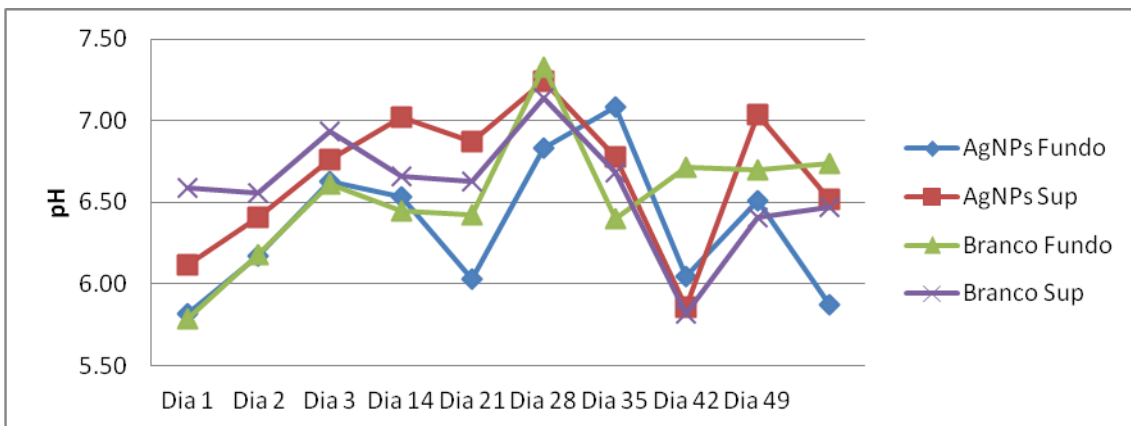


Figura 48A: pH nos sistemas solo + AgNP e branco do solo Estarreja 12

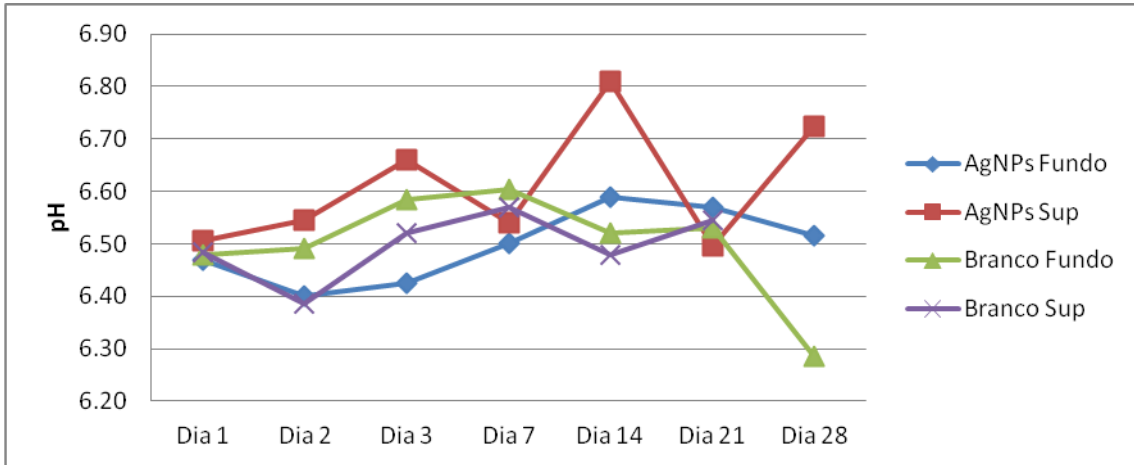


Figura 49A: pH nos sistemas solo + AgNP e branco do solo Estarreja 1B