

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

DANILO MACHADO

CARACTERIZAÇÃO ELETRÔNICA E VIBRACIONAL DE ÓXIDO DE
GRAFENO COM BASES DE DNA

Uberlândia

2020

DANILO MACHADO

**CARACTERIZAÇÃO ELETRÔNICA E VIBRACIONAL DE ÓXIDO DE
GRAFENO COM BASES DE DNA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia para obtenção do título de Mestre em Física pelo Programa de Pós-graduação em Física.

Orientador: Profa. Dra. Raigna A. Silva

Uberlândia

2020

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

M149 Machado, Danilo, 1990-
2020 Caracterização eletrônica e vibracional de óxido de grafeno com bases de DNA [recurso eletrônico] / Danilo Machado. - 2020.

Orientadora: Raigna Augusta da Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pós-graduação em Física.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2020.292>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Física. I. Silva, Raigna Augusta da,1970-, (Orient.). II.
Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Física. III.
Título.

CDU: 53



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA



DANILO MACHADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Física, do Instituto de Física, da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Física.

Uberlândia, 20 de fevereiro de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Raigna Augusta da Silva
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Profª. Dra. Viviane Pilla
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Profª Dra. Clascídia Aparecida Furtado
Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear – CDTN/BH

Dedico este trabalho à minha família

Agradecimentos

À minha família, com a qual sempre pude contar com todo apoio e carinho ao longo desta jornada acadêmica. Em especial, agradeço aos meus pais, Vânia e Luis, e à minha madrinha Thaís, mas a gratidão e admiração se estende a cada tio, tia, primo, avô e avó, sem exceção, os quais sempre me inspiraram por serem pessoas extremamente batalhadoras.

Ao Grupo de Espectroscopia de Materiais (GEM), onde trabalhei e tive oportunidade de conviver com pessoas divertidas e extremamente competentes, de modo que em meio a boas risadas pude aprender muito. Aos professores Erick, Marletta e ao Roberto, que sempre se dispuseram a tirar dúvidas e discutir ideias que contribuíram muito com o trabalho. Aos alunos de graduação e pós do grupo Zanatta, Francisco, Júlio, Dalkiranis, Silésia, Pedro, Fernando e Jackson pelo apoio pelas conversas diárias. E claro, à professora Raigna pela orientação, apoio e conselhos que, sem dúvidas, contribuíram muito para minha formação e carreira como pesquisador.

Agradeço às agências de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Nanomateriais de Carbono (INCT NANOCARBONO). Agradeço também à professora Clascídia A. Furtado, do Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear (CDTN), pela colaboração fornecendo a amostra de óxido de grafeno estudada.

Resumo

Machado, Danilo. **Caracterização Eletrônica e Vibracional de Óxido de Grafeno com Bases de DNA.** 2020. 84 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

As propriedades físicas únicas apresentadas por alguns materiais, quando reduzidos à escala nanométrica, chama atenção de pesquisadores há décadas. Desde sua descoberta, o grafeno emergiu como forte candidato a aplicações em diversas áreas e de forma extremamente interdisciplinar, o que se deve às suas propriedades de transporte eletrônico, resistência térmica e mecânica. A capacidade de adsorver moléculas biológicas em sua superfície fez do grafeno e de alguns de seus derivados, como o óxido de grafeno (GO) e óxido de grafeno reduzido (rGO), materiais promissores para aplicações em sistemas de gene *delivery*, *drug delivery* e agente anti-bacterial. Do lado biológico, tem-se a importância da molécula de DNA e suas aplicações em tratamento de doenças genéticas. Por meio das técnicas de Absorção Óptica e de Espectroscopia Raman, foram estudadas as quatro bases que compõem o DNA, sendo elas a Adenina, Guanina, Citosina e Timina, as quais, entre elas, são divididas em dois grupos, sendo as duas primeiras do tipo Purina, e as últimas, do tipo Pirimidina. Foi estudado também uma amostra de GO, a partir da qual foram feitos compósitos com cada uma das quatro bases. A partir da caracterização das amostras individuais, foram analisadas suas interações nos compósitos. Pelos espectros Raman, foi possível identificar os modos vibracionais característicos de cada material e, a partir destes resultados, foram identificadas nos espectros Raman dos compósitos as regiões onde o GO causa modificações no espectro de cada base. A correlação destes resultados com as modificações nos espectros de AO sugerem que a interação de GO com as bases pirimidinas se dá por grupos laterais dos anéis, como a ligação C2=O, sendo ainda de forma eletrostática. Já nas purinas, os resultados sugerem uma interação do tipo π -stacking na região C5=C6, onde possivelmente há transferência de cargas entre o GO e as bases.

Palavras-chaves: Grafeno. DNA. Raman. Espectroscopia.

Abstract

Machado, Danilo. **Electronic and Vibrational Characterization of Graphene Oxide and DNA Bases.** 2020. 84 p. Dissertation (Master) – Physics Institute, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, 2020.

The unique physical properties presented by some materials, when reduced to nanoscale, have drawn the attention of researchers for decades. Since its discovery, graphene has emerged as a strong candidate for applications in several areas and in an extremely interdisciplinary way, which is due to its properties of electronic transport, thermal and mechanical resistance. The ability to adsorb biological molecules on its surface has made graphene and some of its derivatives, such as graphene oxide (GO) and reduced graphene oxide (rGO), promising materials for applications in delivery gene systems, drug delivery and anti-bacterial agent. On the biological side, we have the importance of the DNA molecule and its applications in the treatment of genetic diseases. Applying the techniques Optical Absorption and Raman Spectroscopy, the four DNA bases were studied, which are divided in two groups: Purines (Adenine and Guanine) and Pyrimidines (Cytosine and Thymine). A GO sample was also studied, from which composites were made with each of the four bases. From the characterization of the individual samples, their interactions in the composites were analyzed. By Raman spectra, it was possible to identify the vibrational modes characteristic of each material and the regions where the GO modify the spectrum of each base when they form a composite. The correlation of these results with the modifications in the AO spectra suggests that the interaction of GO with the pyrimidine bases are electrostatic and occurs through lateral groups of the rings, such as the C2 = O bond. In the case of purines, the results suggest π -stacking interaction in the C5 = C6 region, where there is possibly charge transfer between GO and the bases.

Keywords: graphene. DNA. Raman. Spectroscopy.

Lista de figuras

Figura 1 – Desoxirribonucleotídeos 5'-monofosfatos (dNMP). Em a) Desoxiadeno-sina (dAMP), b) Desoxiguanosina (dGMP), c) Desoxicitidina (dCMP) e d) Desoxitimidina (dTDP). Em (a), estão indicados o açúcar e o fosfato, que se repetem nos outros nucleotídeos, e a base. A seta vermelha indica a ausência do grupo hidroxila ligada ao carbono 2	22
Figura 2 – Estrutura de dupla hélice do DNA	24
Figura 3 – Representação das formas de sobreposição dos orbitais atômicos e os respectivos orbitais moleculares formados. Sobreposição de orbitais <i>s</i> (a), de orbitais <i>s</i> e <i>p</i> (b) e de orbitais <i>p</i> com eixo de simetria colinear (c). Em (d) a sobreposição lateral de orbitais <i>p</i>	24
Figura 4 – Representação dos orbitais σ e π na rede do grafeno	25
Figura 5 – Representação da estrutura do óxido de grafeno	26
Figura 6 – Representação de uma onda eletromagnética linearmente polarizada se propagando ao longo do eixo <i>z</i>	30
Figura 7 – Diagrama de Perrin-Jablonski	32
Figura 8 – Representação de uma molécula diatômica unidimensional. Os deslocamentos de cada átomo são denotados pelas letras <i>u</i> e <i>v</i>	35
Figura 9 – Relação de dispersão de fôtons para uma rede diatômica linear	38
Figura 10 – Comparação entre o espectro da luz incidente (a) e da luz espalhada pela amostra (b). A fim de comparação, o eixo horizontal apresenta duas escalas, sendo uma relativa o número de onda (cm^{-1}) e outra, ao comprimento de onda (nm)	41
Figura 11 – Representação de uma amostra para dedução da Lei de Beer-Lambert-Bouger	44
Figura 12 – Substrato utilizado para medidas Raman	47
Figura 13 – Espectro de AO da solução aquosa de GO e seu ajuste. Na legenda, o comprimento de onda relativo ao centro de cada uma das gaussianas do ajuste	48

Figura 14 – Espectro Raman da solução aquosa de GO e o ajuste feito com 5 lorentzianas. Em destaque na imagem, as atribuições de cada uma das bandas e na legenda, a frequência Raman correspondente à posição de cada uma. O espectro inset compara o espectro Raman da mesma solução de GO que foi ajustada com uma solução aquosa contendo nano flocos de grafeno (NFG)	50
Figura 15 – Espectros de AO das bases de DNA	51
Figura 16 – Espectros de espalhamento Raman das 4 bases de DNA com laser de 325 nm	53
Figura 17 – Ajuste Gaussiano dos espectros de AO para a Adenina (a) e para o compósito Adenina + GO (b)	55
Figura 18 – Ajuste Gaussiano dos espectros de AO para a Guanina (a) e para o compósito Guanina + GO (b)	56
Figura 19 – Ajuste Gaussiano dos espectros de AO para a Citosina (a) e para o compósito Citosina + GO (b)	57
Figura 20 – Ajuste Gaussiano dos espectros de AO para a Timina (a) e para o compósito Timina + GO (b)	58
Figura 21 – Espectros de absorção de cada uma das bases com seus respectivos compósitos	59
Figura 22 – Espectros Raman dos compósitos de Adenina e GO comparados ao espectro da base pura	61
Figura 23 – Espectros Raman do compósito de Adenina e GO na proporção 1:10 comparado ao espectro da base pura	62
Figura 24 – Espectros Raman do compósito de Guanina e GO na proporção 1:10 comparado ao espectro da base pura	63
Figura 25 – Espectros Raman do compósito de Citosina e GO na proporção 1:10 comparado ao espectro da base pura	64
Figura 26 – Espectros Raman do compósito de Timina e GO na proporção 1:10 comparado ao espectro da base pura	65
Figura 27 – Espectros Raman dos compósitos de Guanina e GO comparados ao espectro da base pura	72
Figura 28 – Espectros Raman dos compósitos de Citosina e GO comparados ao espectro da base pura	72

Figura 29 – Espectros Raman dos compósitos de Timina e GO comparados ao espectro da base pura	73
Figura 30 – Ajuste do espectro Raman da Adenina	74
Figura 31 – Ajuste do espectro Raman da Guanina	76
Figura 32 – Ajuste do espectro Raman da Citosina	78
Figura 33 – Ajuste do espectro Raman da Timina	79
Figura 34 – Ajuste do espectro Raman da Adenina + GO 1:1	81
Figura 35 – Ajuste do espectro Raman da Adenina + GO 1:10	81
Figura 36 – Ajuste do espectro Raman da Adenina + GO 5:1	82
Figura 37 – Ajuste do espectro Raman da Guanina + GO 1:10	82
Figura 38 – Ajuste do espectro Raman da Citosina + GO 1:10	83
Figura 39 – Ajuste do espectro Raman da Timina + GO 1:1	83
Figura 40 – Ajuste do espectro Raman da Timina + GO 1:10	84
Figura 41 – Ajuste do espectro Raman da Timina + GO 5:1	84

Lista de quadros

Quadro 1	– Valores dos comprimentos de onda referentes às bandas de absorção das bases. Na coluna λ_{exp} , as bandas obtidas por meio do ajuste Gaussiano dos espectros. Na coluna λ_{ref} , os valores encontrados na literatura	52
Quadro 2	– Tabela de atribuições das bandas de AO e modos vibracionais. Na quarta coluna, as letras se referem aos átomos e os números, às respectivas posições segundo a figura 1	54
Quadro 3	– Valores das posições e da largura à meia altura das Gaussianas utilizadas no ajuste da Adenina e seu compósito; a diferença entre os parâmetros da base pura e do compósito são apresentados na última coluna, onde valores positivos indicam deslocamento para maior energia/estreitamento de banda e negativos deslocamento para menor energia/alargamento de banda	56
Quadro 4	– Valores das posições e da largura à meia altura das Gaussianas utilizadas no ajuste da Guanina e seu compósito; a diferença entre os parâmetros da base pura e do compósito são apresentados na última coluna, onde valores positivos indicam deslocamento para maior energia/estreitamento de banda e negativos deslocamento para menor energia/alargamento de banda	56
Quadro 5	– Valores das posições e da largura à meia altura das Gaussianas utilizadas no ajuste da Citosina e seu compósito; a diferença entre os parâmetros da base pura e do compósito são apresentados na última coluna, onde valores positivos indicam deslocamento para maior energia/estreitamento de banda e negativos deslocamento para menor energia/alargamento de banda	58
Quadro 6	– Valores das posições e da largura à meia altura das Gaussianas utilizadas no ajuste da Timina e seu compósito; a diferença entre os parâmetros da base pura e do compósito são apresentados na última coluna, onde valores positivos indicam deslocamento para maior energia/estreitamento de banda e negativos deslocamento para menor energia/alargamento de banda	58

Quadro 7 – Valores de intensidades relativas para os valores máximos do coeficiente de absorção molar, ϵ , para cada base e seu compósito	60
Quadro 8 – Atribuições de modos normais de vibração para Adenina	74
Quadro 9 – Atribuições de modos normais de vibração para Adenina - Continuação	75
Quadro 10 – Atribuições de modos normais de vibração para Guanina	76
Quadro 11 – Atribuições de modos normais de vibração para Guanina - Continuação	77
Quadro 12 – Atribuições de modos normais de vibração para Citosina	78
Quadro 13 – Atribuições de modos normais de vibração para Citosina - Continuação	79
Quadro 14 – Atribuições de modos normais de vibração para Timina	79
Quadro 15 – Atribuições de modos normais de vibração para Timina - Continuação	80

Lista de abreviaturas e siglas

AO	Absorção Óptica
C	Carbono
CDTN	Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear
cm	Centímetro
cos	Cosseno
dAMP	Desoxiadenosina monofosfato
dATP	Desoxiadenosina trifosfato
dCMP	Desoxicitidina monofosfato
dCTP	Desoxicitidina trifosfato
dGMP	Desoxiguanosina monofosfato
dGTP	Desoxiguanosina trifosfato
DNA	Deoxyribonucleic Acid
dNTP	Desoxiribonucleotídeo trifosfato
dTMP	Desoxitimidina monofosfato
dTTP	Desoxitimidina trifosfato
GO	Graphene Oxide
H	Hidrogênio
IC	Internal Conversion
ISC	Intersystem Crossing
LA	Longitudinal Acústico
LO	Longitudinal Óptico
μL	Microlitro

mM	Milimolar
mg	Miligrama
nm	Nanômetro
N	Nitrogênio
O	Oxigênio
UV	Ultravioleta
RV	Relaxamento Vibracional
sen	Seno

Lista de símbolos

σ	Orbital molecular ligante
π	Orbital molecular ligante
σ^*	Orbital molecular anti-ligante
π^*	Orbital molecular anti-ligante
s	Orbital atômico
p	Orbital atômico
p_x	Componente x do orbital atômico p
p_y	Componente y do orbital atômico p
p_z	Componente z do orbital atômico p
sp^2	Hibridização de orbitais s e p
S_0	Estado fundamental singlet
S_1	Primeiro estado excitado singlet
S_2	Segundo estado excitado singlet
S	Número quântico de Spin
T_1	Primeiro estado excitado triplete
T_2	Segundo estado excitado triplete
M	Multiplicidade de Spin
∇	Operador nabla
\mathbf{E}	Vetor campo elétrico
\mathbf{B}	Vetor campo magnético
ρ_E	Densidade de Cargas
ϵ_0	Permissividade elétrica no vácuo

μ_0	Permeabilidade magnética no vácuo
\mathbf{J}_E	Vetor corrente de deslocamento
t	Tempo
\mathbf{k}	Vetor de onda
\mathbf{r}	Vetor posição
ω	Frequência angular
ν	Frequência
$\bar{\nu}$	Número de onda
\hbar	Constante de Planck dividida por 2π
h	Constante de Planck
ρ_E	Densidade de Estados
m	Massa
\mathbf{P}	Vetor momento de dipolo elétrico
α	Polarizabilidade
q	Coordenada normal
dL	Elemento infinitesimal de espessura
I_0	Intensidade de luz inicial
C	Concentração
I	Intensidade de luz transmitida
λ	Comprimento de Onda
K	Constante de Boltzmann
T	Temperatura
W	Probabilidade de transição por unidade de tempo

H	Hamiltoniano
Ψ_n	Autofunção
E_n	Autoenergia
\wp	Momento de dipolo de transição
ω_{mn}	Frequência de Bohr

Sumário

1	Introdução	20
2	Fundamentação Teórica	22
2.1	<i>DNA e as Bases Nitrogenadas</i>	22
2.2	<i>Grafeno</i>	25
2.2.1	<i>Estrutura Atômica e Eletrônica</i>	25
2.3	<i>Espectroscopia Óptica</i>	27
2.3.1	<i>Radiação Eletromagnética</i>	27
2.3.2	<i>Transições Eletrônicas</i>	30
2.3.3	<i>Regra de Ouro de Fermi</i>	32
2.3.4	<i>Dispersão de Fônons</i>	35
2.3.5	<i>Efeito Raman: Modelo Clássico</i>	39
2.3.6	<i>Efeito Raman: Modelo Quântico</i>	41
3	Materiais e Métodos	43
3.1	<i>Materiais</i>	43
3.1.1	<i>Óxido de Grafeno (GO)</i>	43
3.1.2	<i>Bases de DNA</i>	43
3.1.3	<i>Compósitos</i>	44
3.2	<i>Absorção Óptica (AO)</i>	44
3.3	<i>Micro-Raman</i>	46
4	Resultados e Discussões	48
4.1	<i>Solução de GO</i>	48
4.2	<i>Bases de DNA</i>	50
4.3	<i>Compósitos</i>	55
5	Conclusões	66
	Referências¹	68

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

Anexo A – Espectros Raman - Comparaçao entre as diferentes concentrações de GO para cada base	72
Anexo B – Espectros Raman - Ajustes das bases puras	74
Anexo C – Espectros Raman - Ajuste dos compósitos	81

1 Introdução

O estudo de materiais em escala nanométrica tem como objetivo controlar com precisão a morfologia das substâncias, ou partículas, para produzir materiais nanoestruturados. A motivação é clara, uma vez que nesta escala de tamanho, os materiais podem apresentar propriedades únicas, o que abre portas para diversas aplicações de maneira extremamente interdisciplinar. A busca por dispositivos eletrônicos mais eficientes do ponto de vista energético, estruturalmente mais resistentes e economicamente mais viáveis, bem como melhorias em tratamentos de doenças são alguns dos aspectos que movimentam a nanociência.

O grafeno é um material de carbono, no qual seus átomos se ligam por hibridização sp^2 e se organizam espacialmente formando uma rede do tipo *honeycomb*. É obtido na forma de folhas com espessura da ordem de grandeza da dimensão de um átomo e apresenta propriedades únicas de transporte eletrônico, resistência mecânica, térmica e, ainda, devido à sua estrutura, se mostra um forte candidato a aplicações envolvendo moléculas biológicas. Devido à hibridização sp^2 , alguns estudos teóricos e práticos sugerem que moléculas aromáticas, como é o caso de algumas drogas e moléculas biológicas, podem ser adsorvidas na superfície do grafeno (YANG *et al.*, 2008)(HU *et al.*, 2016) por meio de interações do tipo $\pi - \pi$ *stacking*, mas também há estudos que afirmam que interações do tipo ligação de hidrogênio e van der Waals seriam suficientes para ocorrer adsorção. (TANG *et al.*, 2010)(LEI *et al.*, 2011) No contexto de aplicações biológicas, sendo muitas delas focadas em atuações dentro do corpo humano, é evidente a importância de estudar a biocompatibilidade de qualquer material antes de, sequer, cogitá-lo para tal aplicação. O grafeno e seus derivados vêm sendo estudados em relação à toxicidade e citotoxicidade tanto em relação ao próprio corpo, quanto em relação a células de micro-organismos que possam causar algum problema à saúde. Alguns resultados divergem à respeito da biocompatibilidade, (GONÇALVES; MARQUES; VILA, 2016) mas também revelam que a dosagem, forma, superfície química, rota de exposição e pureza de nanomateriais de carbono têm papel importante sobre a toxicidade. Quando expostos a células neuronais, o grafeno puro se mostra menos tóxico que nanotubos de carbono, o que sugere influência da forma, considerando que a estrutura química é a mesma. (ZHANG *et al.*, 2014) Em relação à citotoxicidade contra bactérias, o óxido de grafeno, ou GO (do inglês *graphene*

oxide), apresentou maior eficiência que o óxido de grafeno reduzido, rGO (*reduced graphene oxide*), o grafite, Gt, e o óxido de grafite, GtO (*graphite oxide*), ao interagirem com a bactéria *Escherichia coli* em condições similares. (LIU *et al.*, 2011)(NANDA; YI; KIM, 2016) Sobre todos os derivados de grafeno, inclusive, o GO tem sido o mais amplamente investigado como agente anti-microbrial. (GONÇALVES; MARQUES; VILA, 2016) Além da estrutura sp^2 característica de materiais grafíticos, o GO apresenta grupos funcionais como carbonila, hidroxila, epoxi e carboxila, os quais garantem algumas propriedades vantajosas em algumas aplicações. A combinação de propriedades do grafeno com estas providas por estes grupos funcionais, garante ao GO a capacidade de ser hidrofílico e hidrofóbico, de modo que pode ser dispersado em solução aquosa e ainda adsorver outras moléculas.

Utilizando técnicas de espectroscopia óptica, este trabalho visa estudar amostras de óxido de grafeno e bases de DNA separadamente, a fim de analisar suas estruturas eletrônicas e estruturais. Em seguida, o estudo se estende a compósitos formados a partir da mistura de cada base e do GO, com o objetivo de caracterizar possíveis interações entre os materiais. As técnicas utilizadas foram Absorção Óptica (AO) e Espectroscopia Raman. A primeira permite inferir características da estrutura eletrônica dos materiais pela análise da luz que é absorvida por este, uma vez que este processo está relacionado às transições eletrônicas. (VALEUR, 2001) Já a Espectroscopia Raman é um técnica de espalhamento inelástico de luz e fornece uma impressão digital do material, tendo em vista que a luz espalhada está associada a modos vibracionais e, consequentemente, à estrutura morfológica. (SALA, 1996)

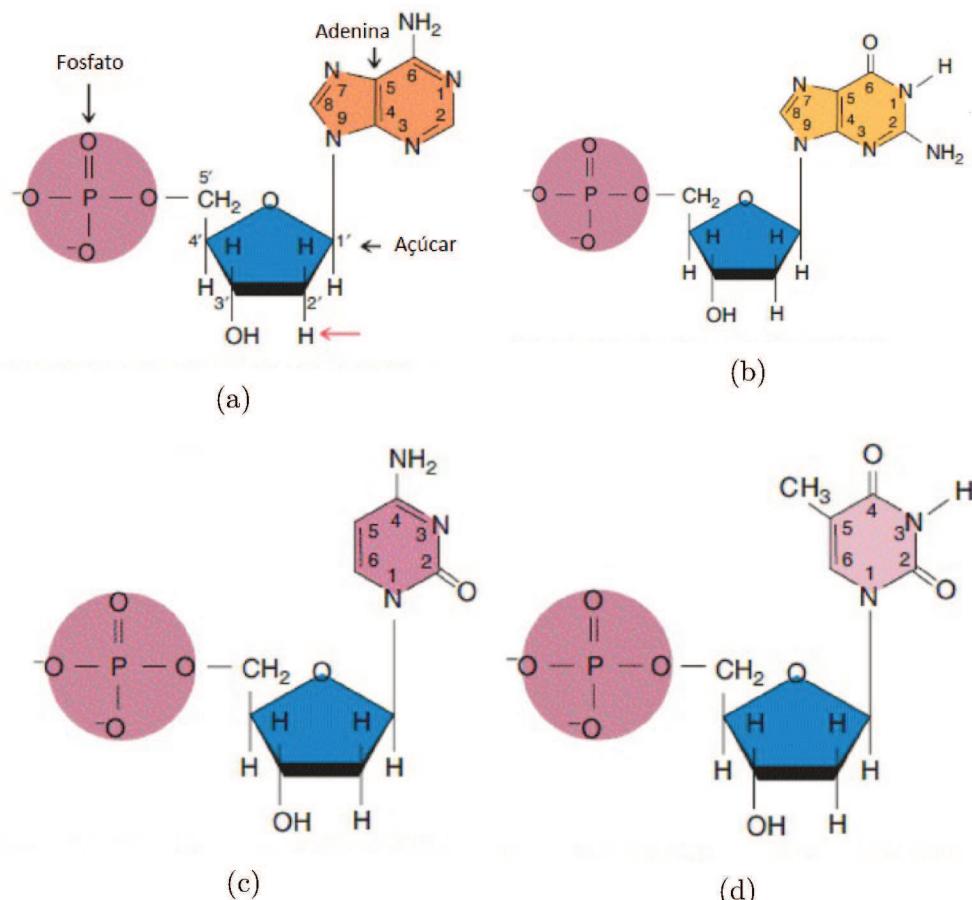
Este trabalho está dividido em 5 capítulos. No capítulo 2 são apresentadas as fundamentações teóricas acerca dos materiais e das técnicas de caracterização que foram utilizadas. Em seguida, no capítulo 3, são descritos os procedimentos experimentais, desde a manutenção e preparação das amostras, até a execução dos experimentos, descrevendo também os equipamentos e seu funcionamento. No capítulo 4 os resultados obtidos para a solução de grafeno oxidado, bases de DNA e seus compósitos são apresentados e discutidos. Para cada amostra, são discutidos os espectros de absorção óptica e de espalhamento Raman, correlacionando-os em seguida. Por fim, no capítulo 5, as conclusões e considerações finais são feitas.

2 Fundamentação Teórica

2.1 DNA e as Bases Nitrogenadas

O DNA tem sua estrutura composta por grupos denominados nucleotídeos, os quais, por sua vez, são formados a partir de três partes, sendo elas um fosfato, um açúcar e uma das 4 bases: Adenina, Guanina, Citosina ou Timina. Tanto o fosfato quanto o açúcar aparecem sob a mesma forma nos quatro nucleotídeos possíveis, de forma que a diferença entre eles se deve essencialmente à base que o compõe. Entre elas, as bases podem ser divididas em dois grupos a partir de sua estrutura. São eles o grupo das purinas, ao qual pertencem a Adenina e a Guanina (figuras 1a e 1b), apresentando uma estrutura de anel duplo, e o grupo dos pirimidinas, ao qual pertencem Citosina e Timina (figuras 1c e 1d), apresentando um anel único. (GRIFFITHS, 2016)

Figura 1 – Desoxirribonucleotídeos 5'-monofosfatos (dNMP). Em a) Desoxiadenosina (dAMP), b) Desoxiguanosina (dGMP), c) Desoxicitidina (dCMP) e d) Desoxitimidina (dTMP). Em (a), estão indicados o açúcar e o fosfato, que se repetem nos outros nucleotídeos, e a base. A seta vermelha indica a ausência do grupo hidroxila ligada ao carbono 2



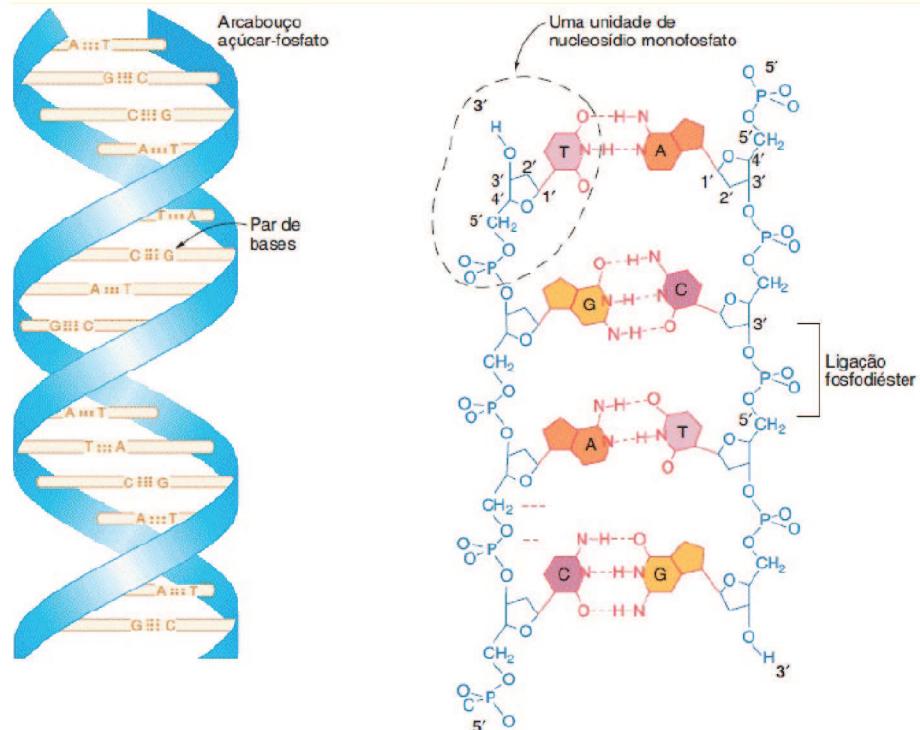
Fonte: (GRIFFITHS, 2016)

O açúcar (anéis azuis na figura 1) é composto por um oxigênio e cinco carbonos, os quais são numerados de 1 a 5 contando a partir do ponto onde a base está ligada. Estes números são atribuídos para que, na nomenclatura, sirvam para identificar em qual ponto o grupo fosfato se liga ao açúcar, por exemplo. A depender da presença, ou não, de uma hidroxila (OH) ligada ao carbono 2 do açúcar, este é chamado de ribose, ou desoxirribose, respectivamente. Assim, se um nucleotídeo é chamado de 2'-desoxiadenosina 5'-monofosfato, sabemos que o grupo fosfato está ligado ao carbono de número 5 no açúcar e que não há hidroxila no carbono 2. Além disso, o prefixo mono que acompanha a palavra fosfato indica ainda a presença de um único grupo deste tipo no nucleotídeo.

A forma como estes nucleotídeos se organizam para compor a estrutura do DNA foi proposta por Watson e Crick em um artigo em 1953. O que se sabia até então, era que o DNA tinha composição química consideravelmente simples, como descrito aqui anteriormente, e haviam indícios, a partir de experimentos de difração de raios X feitos por Rosalind Franklin, de que sua estrutura era longa, fina e apresentava duas partes semelhantes, que são paralelas entre si. Ao cruzar todos estes dados, Watson e Crick propuseram em um artigo que a estrutura tridimensional do DNA é composta por duas cadeias de nucleotídeos, uma ao lado da outra, torcidas no formato de uma dupla-hélice. Os dois filamentos de nucleotídeos são mantidos unidos por ligações de hidrogênio entre pares de bases, sendo estes Adenina com Timina e Guanina com Citosina. O arcabouço de cada filamento é formado por unidades de fosfato e açúcar desoxirribose alternadas, que estão conectadas por ligações fosfodiéster. Uma ligação fosfodiéster conecta o átomo de carbono 5' de uma desoxirribose ao átomo de carbono 3' da desoxirribose adjacente. A figura 2 apresenta a estrutura de dupla-hélice e um esquema mais detalhado de como as partes de cada nucleotídeo se organizam para compor a estrutura do DNA.

Em relação à sua estrutura molecular, as bases têm seus anéis constituídos basicamente por Carbono (C), Hidrogênio (H) e heteroátomos, tais como Oxigênio (O) e Nitrogênio (N). A forma como estes átomos se ligam para formar a molécula dá origem aos orbitais moleculares envolvidos nos processos de transição eletrônica com energias correspondentes à região do ultra violeta (UV) no espectro eletromagnético.

Figura 2 – Estrutura de dupla hélice do DNA

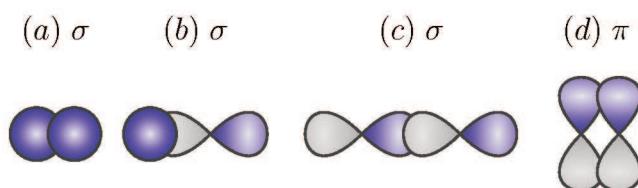


Fonte: (GRIFFITHS, 2016)

Dependendo do orbital atômico envolvido na ligação entre os átomos que compõe a molécula, o orbital molecular pode ser do tipo:

- σ : Quando formado a partir de dois orbitais atômicos tipo s , de um s e um p , ou ainda de dois orbitais p que possuem eixos de simetria colineares (Figura 3 (a), (b) e (c), respectivamente);
- π : Quando formado a partir da sobreposição lateral de orbitais p (Figura 3 (d));

Figura 3 – Representação das formas de sobreposição dos orbitais atômicos e os respectivos orbitais moleculares formados. Sobreposição de orbitais s (a), de orbitais s e p (b) e de orbitais p com eixo de simetria colinear (c). Em (d) a sobreposição lateral de orbitais p



Há, ainda, um tipo de orbital molecular chamado de n , o qual está relacionado aos elétrons não envolvidos nas ligações e que, em geral, estão localizados em heteroátomos.

- Desoxirribonucleotídeo trifosfato (dNTP)

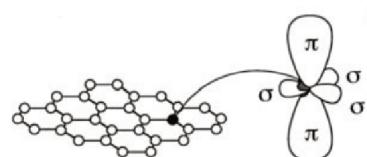
Os dNTP's nada mais são que as mesmas moléculas dNMP's discutidas na seção anterior, porém com três grupos fosfatos, ao invés de um. São utilizados nesta forma para processos de síntese de DNA e as amostras utilizadas para estudo foram adquiridas nesta forma.

2.2 Grafeno

2.2.1 Estrutura Atômica e Eletrônica

O grafeno, assim como vários outros materiais de carbono, tem como uma das características de sua estrutura atômica e eletrônica a hibridização sp^2 , a qual é responsável por conferir ao grafeno as suas propriedades físicas interessantes. O termo hibridização, por sua vez, significa combinação e, neste caso, trata-se de uma combinação dos orbitais $2s$ e $2p$. O carbono possui 6 elétrons, com sua distribuição eletrônica sendo da forma: $1s^22s^22p^2$. Logo, são 2 elétrons ocupando o orbital $1s$ e 4 elétrons de valência nos orbitais $2s$ e $2p$, sendo um em $2s$ e os outros três distribuídos entre p_x , p_y e p_z . Na configuração sp^2 , os orbitais $2s$, p_x e p_y , que também são chamados de σ , se combinam para formar três ligações covalentes, 120° uma da outra no plano xy . Cada átomo de carbono tem três vizinhos, formando uma rede hexagonal (*honeycomb*). Essas ligações sp^2 no plano são as ligações mais fortes na natureza, comparáveis às ligações sp^3 no diamante. E assim como nas bases de DNA, a combinação desses orbitais atômicos na rede formam os orbitais moleculares σ e π . Os orbitais p_z , os quais são perpendiculares à rede hexagonal, se sobrepõem lateralmente dando origem a estados delocalizados e formando, coletivamente, as bandas de valência e condução. A figura 4 mostra como estes orbitais se dispõem na rede.

Figura 4 – Representação dos orbitais σ e π na rede do grafeno

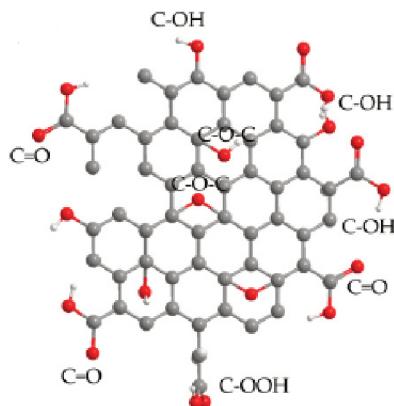


Fonte: (CHARLIER *et al.*, 2007)

Os estados eletrônicos delocalizados na monocamada de grafeno são altamente incomuns, porque eles se comportam como férmons de Dirac relativísticos, ou seja, exibem uma relação de momento-energia sem massa (como um fóton), e são responsáveis por propriedades únicas de transporte a valores suficientemente pequenos de energia e momento. E além destas duas propriedades, um outro aspecto muito importante dos carbonos sp^2 é a simplicidade do sistema, formado por apenas um tipo de átomo numa estrutura periódica hexagonal. Portanto, diferentemente de vários materiais, os de carbono sp^2 nos permitem acessar facilmente suas propriedades especiais usando abordagens tanto experimentais quanto teóricas. (JORIO *et al.*, 2011)

O óxido de grafeno, como um dos derivados de grafeno, apresenta em sua estrutura atômica as mesmas características descritas aqui para o grafeno puro. A diferença consiste na presença de alguns grupos funcionais oxigenados que são consequência da rota de síntese utilizada para sua obtenção. Na figura 5 pode-se visualizar esta estrutura.

Figura 5 – Representação da estrutura do óxido de grafeno



Fonte: (SUVARNAPHAET; PECHPRASARN, 2017)

Os tipos e a quantidade destes grupos oxigenados podem variar e, a depender dos objetivos do estudo, estes parâmetros podem ser controlados durante o processo de síntese do material. Os grupos mais comuns são: hidroxilas (OH) e epoxi, localizados mais nas bordas das folhas de GO, e carboxilas ($-\text{COOH}$) e carbonilas ($-\text{CO}-$), sendo estes localizados no plano basal das folhas. (DREYER *et al.*, 2010) Estes grupos são responsáveis por propriedades que, aliadas àquelas dos carbonos sp^2 do grafeno puro, são responsáveis por fazer do GO um material extremamente promissor para aplicações envolvendo moléculas orgânicas, inorgânicas e biomoléculas. Dos carbonos sp^2 tem-se uma plataforma para interações do tipo $\pi - \pi$, o que permite adsorção destas moléculas, enquanto que dos

grupos oxigenados tem-se o caráter hidrofílico, o que permite sua dispersão em meio aquoso e ainda interações como ligações de hidrogênio, por exemplo.

2.3 Espectroscopia Óptica

A espectroscopia é o ramo da ciência que estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria com a finalidade de extrair informações sobre uma série de propriedades microscópicas desta. Pode ser adaptada de acordo com o objetivo para se obter informações acerca da estrutura eletrônica, vibracional e rotacional, por exemplo. A fim de descrever esta interação, nas próximas seções serão discutidas algumas propriedades da radiação eletromagnética e dos fenômenos de absorção e espalhamento de radiação.

2.3.1 Radiação Eletromagnética

Ao estudar fenômenos eletromagnéticos, James Clerk Maxwell, em seu artigo de 1865, apresentou equações que expressam as propriedades de campos eletromagnéticos. A partir disto, mostrou que tais propriedades são suficientes para explicar a propagação da luz. (MAXWELL, 1865) As equações de Maxwell para os campos elétrico e magnético são apresentadas a seguir. A partir delas, é possível derivar equações de onda para estes campos.

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = \frac{\rho_E}{\epsilon_0} \quad (2.3.1)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0 \quad (2.3.2)$$

$$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} \quad (2.3.3)$$

$$\nabla \times \mathbf{B} = \mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} + \mu_0 \mathbf{J}_E \quad (2.3.4)$$

No vácuo, sem cargas e correntes, as equações anteriores assumem as formas:

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = 0 \quad (2.3.5)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0 \quad (2.3.6)$$

$$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} \quad (2.3.7)$$

$$\nabla \times \mathbf{B} = \mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} \quad (2.3.8)$$

onde, para derivar a equações de onda, são necessárias algumas manipulações. Antes, vale chamar atenção para o fato de que, a menos de um sinal e do fator $\mu_0 \epsilon_0$, estas equações são simétricas em \mathbf{E} e \mathbf{B} . A primeira manipulação consiste em eliminar um dos campos para que cheguemos em uma equação que envolve apenas um deles. Vamos, então, eliminar o campo magnético para obter primeiramente a equação de onda para o campo elétrico. Aplicando o rotacional em 2.3.7:

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) = -\nabla \times \frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} \quad (2.3.9)$$

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) = -\frac{\partial \nabla \times \mathbf{B}}{\partial t} \quad (2.3.10)$$

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) = -\frac{\partial}{\partial t} \left(\mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} \right) \quad (2.3.11)$$

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) = -\mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial t^2} \quad (2.3.12)$$

onde usamos a equação 2.3.8 na 2.3.11 para eliminar o campo magnético. No lado esquerdo da equação 2.3.12 devemos, agora, usar uma propriedade de produto vetorial que nos permite escrever de forma generalizada que $\mathbf{A} \times (\mathbf{B} \times \mathbf{C}) = \mathbf{B}(\mathbf{A} \cdot \mathbf{C}) - \mathbf{C}(\mathbf{A} \cdot \mathbf{B})$, onde \mathbf{A} e \mathbf{B} são ∇ e \mathbf{C} é \mathbf{E} . Desta maneira, o lado esquerdo da equação 2.3.12 fica:

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) = \nabla (\nabla \cdot \mathbf{E}) - (\nabla \cdot \nabla) \mathbf{E} = 0 - \nabla^2 \mathbf{E} \quad (2.3.13)$$

onde o zero surge por implicação direta da Lei de Gauss, equação 2.3.5. E finalmente, voltando para a equação 2.3.12, temos então a equação de onda para o campo elétrico:

$$\nabla^2 \mathbf{E} = \mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial t^2} \quad (2.3.14)$$

Procedendo de maneira análoga e resolvendo para o campo magnético, obtem-se a sua respectiva equação de onda, a qual é dada por:

$$\nabla^2 \mathbf{B} = \mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial^2 \mathbf{B}}{\partial t^2} \quad (2.3.15)$$

Resolvendo as equações 2.3.14 e 2.3.15 encontram-se as formas dos campos elétrico e magnético que as satisfazem, sendo estas:

$$\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 e^{i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{r} - \omega t)} \quad (2.3.16)$$

$$\mathbf{B} = \mathbf{B}_0 e^{i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{r} - \omega t)} \quad (2.3.17)$$

No entanto, uma análise das equações de Maxwell revela alguns vínculos aos quais estes campos estão associados. Usando a equação para o campo elétrico, 2.3.16, ao olharmos para a Lei de Gauss, equação 2.3.5, temos que:

$$\begin{aligned} \nabla \cdot \mathbf{E} = 0 &\implies \frac{\partial E_x}{\partial x} + \frac{\partial E_y}{\partial y} + \frac{\partial E_z}{\partial z} \\ &\implies ik_x E_x + ik_y E_y + ik_z E_z = 0 \\ &\implies \mathbf{k} \cdot \mathbf{E} = 0 \end{aligned} \quad (2.3.18)$$

Este resultado é extremamente importante, pois nos diz que o campo elétrico é sempre perpendicular ao vetor de onda \mathbf{k} . De maneira análoga, usando a 2.3.17, ao voltarmos à equação 2.3.6, o mesmo resultado é obtido para o campo magnético:

$$\mathbf{k} \cdot \mathbf{B} = 0 \quad (2.3.19)$$

Temos, portanto, que os campos elétrico e magnético são perpendiculares ao vetor de onda \mathbf{k} , o qual por sua vez aponta na direção de propagação da onda eletromagnética. E olhando agora para a equação 2.3.7, temos:

$$\begin{aligned} \nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} &\implies \left(\frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y}, \frac{\partial}{\partial z} \right) \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} \\ &\implies (ik_x, ik_y, ik_z) \times \mathbf{E} = -(-i\omega) \mathbf{B} \\ &\implies \mathbf{k} \times \mathbf{E} = \omega \mathbf{B} \end{aligned} \quad (2.3.20)$$

Assim, como consequência das propriedades do produto vetorial, este resultado nos diz que os campos elétrico e magnético não só são perpendiculares ao vetor de onda, como

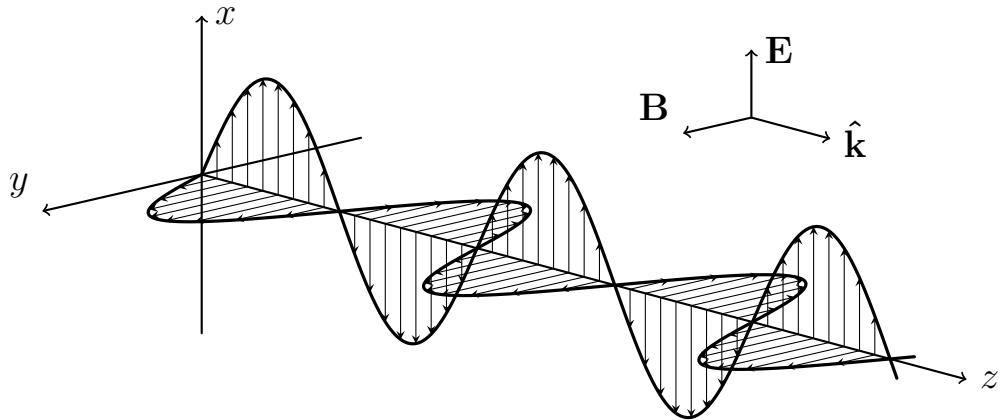
também são perpendiculares entre si. Resolvendo as equações de onda obtemos, finalmente, as formas para os campos elétrico e magnético que compõe a radiação eletromagnética. Supondo uma onda eletromagnética se propagando na direção do eixo z , os campos, já tomadas as partes reais, são dados por:

$$\mathbf{E} = E_0 \cos(kz - \omega t + \phi) \hat{x} \quad (2.3.21)$$

$$\mathbf{B} = \frac{E_0}{c} \cos(kz - \omega t + \phi) \hat{y} \quad (2.3.22)$$

onde ϕ é uma fase que aparece ao tomarmos a parte real. Um esboço da representação de uma possível onda eletromagnética é ilustrado na figura 6.

Figura 6 – Representação de uma onda eletromagnética linearmente polarizada se propagando ao longo do eixo z



2.3.2 Transições Eletrônicas

Um processo de transição eletrônica consiste na promoção de um elétron de um orbital de uma molécula no estado fundamental para um estado desocupado pela absorção de um fóton. Nesta configuração, é dito que a molécula está no estado excitado. (VALEUR, 2001)

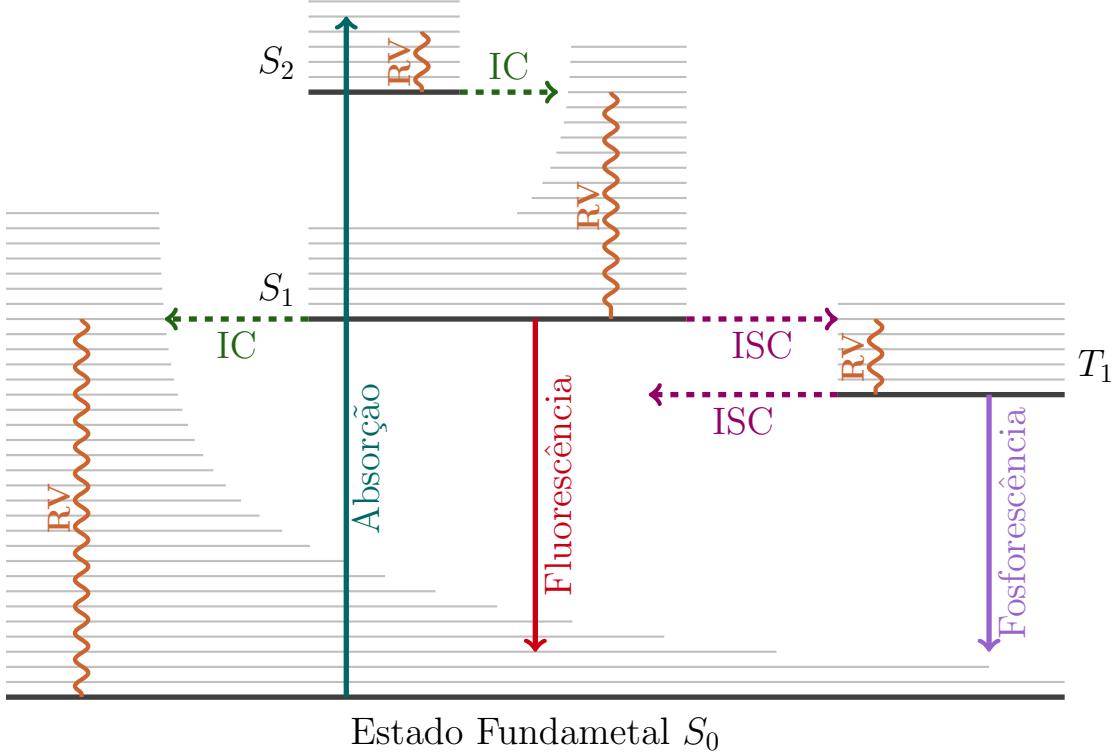
Os orbitais π e σ são chamados de orbitais ligantes e, para cada um, existe o anti-ligante correspondente, sendo eles o π^* e o σ^* , respectivamente. Uma transição de elétrons do orbital n para um destes orbitais antiligantes é possível e é denotada por $n \rightarrow \pi^*$, por exemplo. Em ordem crescente de energia necessária para excitação do elétron, as possíveis transições eletrônicas seguem a seguinte ordem:

$$n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \pi^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$$

A promoção de um elétron de um orbital com um par de elétrons de spin opostos para um orbital de maior energia não altera, em princípio, seu spin, de forma que o número quântico de spin ($S = \sum s_i$, com $s_i = \pm \frac{1}{2}$) seja igual à zero. Assim, a multiplicidade de spin ($M = 2S + 1$) dos estados fundamental e excitado resulta, então, em 1, de modo que estes estados recebem o nome de singuleto. A transição, por sua vez, é chamada de singuleto-singuleto. O estado fundamental é denotado por S_0 e os excitados por S_1 , S_2 e assim por diante. No entanto, uma vez que tenha ocorrido uma transição singuleto-singuleto, o elétron excitado pode passar por um processo de conversão e alterar o seu spin de modo que $S = 1$ e, assim, a multiplicidade resulte em $M = 3$. Estados nesta configuração são chamados de tripletos e denotados por T_1 , T_2 . Associados à cada um destes estados eletrônicos, há os níveis vibracionais.

O digrama de Perrin-Jablonski, apresentado na figura 7, mostra as transições possíveis a partir da interação da molécula com uma radiação incidente. As linhas mais finas representam os níveis vibracionais e as linhas mais espessas os estados singuleto e tripleno. A absorção de fótons de energia apropriada pode promover elétrons para estados de maior energia, como a transição de S_0 para S_2 na figura. Uma vez neste estado, este elétron pode passar por uma conversão interna (IC) e passar para o S_1 , onde relaxa termicamente pelos níveis vibracionais (RV) até o nível mais baixo do estado S_1 . Aqui, este elétron pode decair radiativamente, emitindo luz, processo este chamado de Fluorescência, ou pode ainda sofrer uma conversão inter sistema (ISC), passando para um nível vibracional do estado tripleno onde seu spin é alterado. Em seguida, há uma relaxação até o nível vibracional mais baixo onde pode, novamente, decair emitindo fóton, mas aqui este processo é chamado de Fosforescência. Em ambos os casos de decaimento, o processo pode se dar ainda de maneira não radiativa, de modo que não há emissão de fóton, resultando apenas em relaxação térmica pelos níveis vibracionais.

Figura 7 – Diagrama de Perrin-Jablonski



2.3.3 Regra de Ouro de Fermi

A interação da radiação da matéria que implica em transições eletrônicas pode ser descrita por meio de teoria de perturbação dependente do tempo. Nesta abordagem semiclássica, o sistema é tratado segundo a mecânica quântica, mas a radiação eletromagnética segue sendo tratada classicamente, assim como foi feito na seção anterior. A probabilidade por unidade de tempo de ocorrer uma transição eletrônica é dada pela Regra de Ouro de Fermi, nome que se deve ao seu autor, Enrico Fermi. Sua derivação consiste em resolver a equação de Schrödinger dependente do tempo, onde o Hamiltoniano H do sistema é composto por um termo não perturbado H_0 e um termo perturbativo $H'(t)$, o qual possui dependência temporal. A equação de Schrödinger tem, então, a forma:

$$H\Psi = (H_0 + H'(t))\Psi = i\hbar \frac{\partial \Psi}{\partial t} \quad (2.3.23)$$

Podemos expandir as funções $\Psi(\mathbf{r}, t)$ como combinação do conjunto de autofunções do Hamiltoniano não perturbado H_0 , $\psi_n(\mathbf{r})e^{-iE_nt/\hbar}$, de modo que:

$$\Psi(\mathbf{r}, t) = \sum_n a_n(t) \psi_n(\mathbf{r}) e^{-iE_nt/\hbar}, \quad (2.3.24)$$

sendo $a_n(t)$ os coeficientes de expansão também dependentes do tempo e E_n , os autovalores de H_0 . Combinando estas duas últimas equações, obtemos a relação:

$$i\hbar \sum_n \frac{da_n(t)}{dt} \psi_n(\mathbf{r}) e^{-iE_nt/\hbar} = \sum_n a_n(t) H' \psi_n(\mathbf{r}) e^{-iE_nt/\hbar} \quad (2.3.25)$$

Multiplicando ambos os lados por $\psi_m^*(\mathbf{r}) e^{iE_mt/\hbar}$ e integrando em todo o espaço,

$$\frac{da_m(t)}{dt} = \frac{1}{i\hbar} \sum_n a_n(t) H'_{mn}(t) e^{i(\omega_{mn} - \omega)t}, \quad (2.3.26)$$

onde $\omega_{mn} = (E_m - E_n)/\hbar$ e o termo H'_{mn} é o elemento de matriz dado por:

$$H'_{mn} = \langle \psi_m | H'(t) | \psi_n \rangle = \int \psi_m^* H'(t) \psi_n d\tau \quad (2.3.27)$$

Usando teoria da perturbação, vamos considerar que o Hamiltoniano perturbativo H' é muito pequeno comparado àquele do sistema não perturbado ($H' \ll H_0$), de modo que os coeficientes dados em função do elemento de matriz H'_{mn} possam ser expandidos em série de Taylor:

$$a_m = a_m^{(0)} + a_m^{(1)} + a_m^{(2)} + \dots = \sum_{i=0}^{\infty} a_m^{(i)}, \quad (2.3.28)$$

onde o sobrescrito em cada termo se refere à ordem de cada termo em teoria da perturbação. O termo de ordem zero é constante, mas as correções dadas pelos termos de ordem superior têm seus valores alterados pelo termo perturbativo, de onde podemos verificar que na ausência de perturbação, o sistema se mantém no estado estacionário. Sem perturbação, portanto, o termo de ordem zero é não nulo apenas para o estado inicial n , o que implica em $a_m^0 = \delta_{mn}$, onde δ é o delta de Kronecker. A correção de primeira ordem resulta, então, em:

$$\frac{da_m(t)}{dt} = \frac{1}{i\hbar} \sum_n a_n^0 \langle \psi_m | H'(t) | \psi_n \rangle e^{i(\omega_{mn} - \omega)t} \quad (2.3.29)$$

O próximo passo consiste em determinar o coeficiente $a_m(t)$. Considerando que a perturbação do sistema começa em $t=0$ e vai até um certo tempo t , a integração da equação anterior resulta em:

$$a_m^{(1)}(t) = \frac{1}{i\hbar} \int H'_{mn} e^{i(\omega_{mn}-\omega)t} dt = \frac{1}{i\hbar} \left(H'_{mn} \frac{e^{i(\omega_{mn}-\omega)t} - 1}{\omega_{mn} - \omega} \right) \quad (2.3.30)$$

A probabilidade do sistema sofrer uma transição do estado n para o estado m é dada pelo módulo quadrado deste coeficiente que, após algumas manipulações, resulta em:

$$|a_m^{(1)}(t)|^2 = \frac{4|H'_{mn}|^2}{\hbar^2} \frac{\operatorname{sen}^2 \left[\frac{1}{2}(\omega_{mn} - \omega)t \right]}{(\omega_{mn} - \omega)^2}, \quad (2.3.31)$$

onde ω é a frequência da radiação incidente e ω_{mn} é a frequência ressonante para a transição. No entanto, até aqui, esta frequência foi tratada como bem definida, o que na prática não se verifica, visto que há incertezas e variações estatísticas nos valores de ω_{mn} . A dependência temporal explícita está contida no termo oscilatório $[\operatorname{sen}^2(\omega_{mn} - \omega)t]/(\omega_{mn} - \omega)^2$, o qual tem seu valor máximo quando $\omega_{mn} - \omega \cong 0$.

$$W_m = \frac{4}{\hbar^2 t} \int |H'_{mn}|^2 \frac{\operatorname{sen}^2 \left[\frac{1}{2}(\omega_{mn} - \omega)t \right]}{(\omega_{mn} - \omega)^2} \rho(E_m) dE_m \quad (2.3.32)$$

Por hipótese, a variação de energia em torno de E_m é pequena e a densidade de estados final não varia muito, ao contrário da função seno que varia rapidamente. Fazendo a mudança de variável $dE = \hbar d\omega$, temos:

$$W_m = \frac{4|H'_{mn}|^2 \rho(E_m)}{\hbar^2 t} \int \frac{\operatorname{sen}^2 \left(\frac{1}{2}(\omega_{mn} - \omega)t \right)}{(\omega_{mn} - \omega)^2} d\omega, \quad (2.3.33)$$

cujo resultado é:

$$W_m \cong \frac{2\pi}{\hbar} |H'_{mn}|^2 \rho(E_m) \quad (2.3.34)$$

Esta é a expressão para a Regra de Ouro de Fermi, a qual é usada para calcular probabilidades de transição por unidade de tempo. Quando aplicada para efeitos de absorção de radiação eletromagnética, esta expressão passa a ser dada por:

$$P_{n \leftrightarrow m}(t) = \left(\frac{|\psi| E_0}{\hbar} \right)^2 \frac{\operatorname{sen}^2 \left(\frac{1}{2}(\omega_{mn} - \omega)t \right)}{(\omega_{mn} - \omega)^2}, \quad (2.3.35)$$

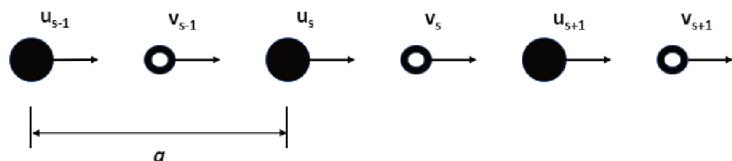
onde E_0 é a amplitude do campo elétrico da radiação incidente e \wp é o chamado momento de dipolo de transição, dado por $\wp = e\langle\psi_m|\mathbf{r}|\psi_n\rangle$, onde e é a carga do elétron. O momento de dipolo de transição é um parâmetro importante para as propriedades ópticas de um material. Sendo um vetor, sua direção e, também, magnitude, caracterizam a transição quanto à polarização e quantidade de luz absorvida, respectivamente.

2.3.4 Dispersão de Fônon

Um fônon é um quantum de energia vibracional atômica e, assim como os elétrons, dependem da estrutura da rede cristalina. Calcular a dispersão de fônon analiticamente para sistemas a fim de reproduzir resultados que podem ser obtidos experimentalmente é uma tarefa complicada, considerando que o número de graus de liberdade para um conjunto de átomos é dado por $3N$, onde N é o número de átomos. No entanto, destes $3N$ graus de liberdade, em três dimensões temos que 3 são translacionais (um para cada direção x , y e z) e 3 são rotacionais. No caso de uma molécula linear, temos apenas 2 graus de liberdade rotacionais, visto que a rotação em torno do eixo da molécula não conta. Assim, para os modos vibracionais de uma molécula linear, temos $3N - 5$ graus de liberdade, enquanto que para uma molécula não linear, temos $3N - 6$.

Para discutirmos este fenômeno, vamos considerar, então, um caso mais simples, onde temos uma rede linear composta por dois átomos diferentes com massas m_1 e m_2 , onde a distância entre átomos iguais é a , como mostra a figura 8.

Figura 8 – Representação de uma molécula diatômica unidimensional. Os deslocamentos de cada átomo são denotados pelas letras u e v



Considerando que cada átomo interage apenas com seu primeiro vizinho, temos que resolver as seguintes equações de movimento, sendo uma para cada átomo:

$$m_1 \frac{d^2 u_s}{dt^2} = C(v_s + v_{s-1} - 2u_s) \quad (2.3.36)$$

$$m_2 \frac{d^2 v_s}{dt^2} = C(u_{s+1} + u_s - 2v_s) \quad (2.3.37)$$

onde C é a constante de força entre os átomos.

As equações 2.3.36 e 2.3.37 têm a forma da Lei de Hooke e as formas de suas soluções são bem conhecidas, sendo estas:

$$u_s = ue^{iksa}e^{-i\omega t} \quad (2.3.38)$$

$$v_s = ve^{iksa}e^{-i\omega t} \quad (2.3.39)$$

Substituindo a 2.3.38 e a 2.3.39 nas equações diferenciais 2.3.36 e 2.3.37, chegamos às relações:

$$-\omega^2 um_1 = Cv(1 + e^{-ika}) - 2Cu \quad (2.3.40)$$

$$-\omega^2 vm_2 = Cu(1 + e^{ika}) - 2Cv \quad (2.3.41)$$

Fatorando alguns termos e rearranjando ambas as equações, temos:

$$(2C - \omega^2 m_1)u - Cv(1 + e^{-ika}) = 0 \quad (2.3.42)$$

$$(2C - \omega^2 m_2)v - Cu(1 + e^{ika}) = 0 \quad (2.3.43)$$

Escrevendo estas na forma matricial:

$$\begin{pmatrix} 2C - \omega^2 m_1 & -C(1 + e^{-ika}) \\ -C(1 + e^{ika}) & 2C - \omega^2 m_2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} u \\ v \end{pmatrix} = 0 \quad (2.3.44)$$

A solução deste sistema, excluindo a solução trivial, leva à seguinte equação de segundo grau:

$$\omega^2 = \frac{2C(m_1 + m_2) \pm \sqrt{4C^2(m_1 + m_2)^2 - 8C^2m_1m_2(1 - \cos(ka))}}{2m_1m_2} \quad (2.3.45)$$

A partir da 2.3.45, podemos agora analisar dois casos limites para visualizar a relação de dispersão pela dependência de ω com k . Vamos considerar primeiramente que $ka \ll 1$.

- $ka \ll 1$

Com esta aproximação, podemos expandir em série de Taylor o termo $\cos(ka)$ de modo que:

$$\cos(ka) \approx 1 - \frac{k^2 a^2}{2} + \dots \quad (2.3.46)$$

Fatorando alguns termos quadráticos na 2.3.45, temos:

$$\omega^2 = \frac{C}{m_1 m_2} [(m_1 + m_2) \pm \sqrt{m_1^2 + m_2^2 + 2m_1 m_2 - 2m_1 m_2 + 2m_1 m_2 (\cos(ka))}] \quad (2.3.47)$$

Agora, substituindo a expansão acima, resulta:

$$\omega^2 = \frac{C}{m_1 m_2} [(m_1 + m_2) \pm \sqrt{m_1^2 + m_2^2 + 2m_1 m_2 (1 - \frac{k^2 a^2}{2})}] \quad (2.3.48)$$

Novamente, rearranjando termos quadráticos e simplificando, obtemos:

$$\omega^2 = \frac{C}{m_1 m_2} [m_1 + m_2 \pm (m_1 + m_2) \sqrt{1 - \frac{m_1 m_2 k^2 a^2}{(m_1 + m_2)^2}}] \quad (2.3.49)$$

Considerando novamente a aproximação $ka \ll 1$, o termo dentro da raiz pode ser expandido sob a forma:

$$(1 - x)^n \approx 1 - nx + \dots \quad (2.3.50)$$

com

$$x = \frac{m_1 m_2 k^2 a^2}{(m_1 + m_2)^2} \quad (2.3.51)$$

E assim, ficamos com:

$$\omega^2 = \frac{C}{m_1 m_2} [m_1 + m_2 \pm (m_1 + m_2) \left(1 - \frac{m_1 m_2 k^2 a^2}{2(m_1 + m_2)^2}\right)] \quad (2.3.52)$$

De onde tiramos as relações:

$$\omega_+^2 = \frac{2C(m_1 + m_2)}{m_1 m_2} \quad (2.3.53)$$

$$\omega_-^2 = \frac{Ck^2 a^2}{2(m_1 + m_2)} \quad (2.3.54)$$

- Borda da 1^a Zona de Brillouin: $k = \pm \frac{\pi}{a}$

Voltando na 2.3.47 e considerando este novo limite, o que resulta em $\cos(ka) = -1$, temos que:

$$\omega^2 = \frac{C}{m_1 m_2} [(m_1 + m_2) \pm (m_1 - m_2)] \quad (2.3.55)$$

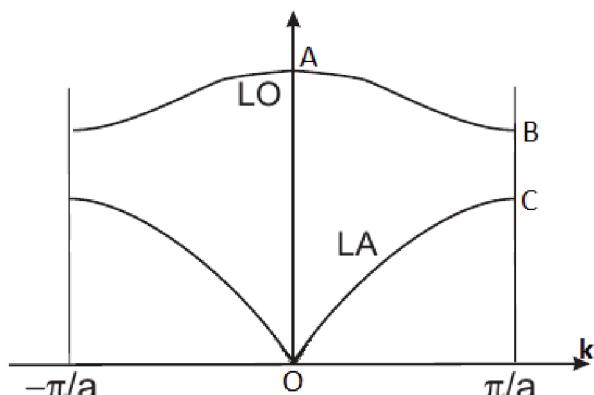
Resolvendo esta última equação para ω^2 , obtemos as duas soluções possíveis:

$$\omega_+^2 = \frac{2C}{m_1} \quad (2.3.56)$$

$$\omega_-^2 = \frac{2C}{m_2} \quad (2.3.57)$$

A figura 9 apresenta a relação de dispersão de fônon para uma rede diatômica linear. Como esperado para uma rede deste tipo, dois ramos são observados, sendo eles o longitudinal óptico (LO) e o longitudinal acústico (LA). O número de ramos na relação de dispersão está relacionado ao número de graus de liberdade da molécula, de modo que em três dimensões e com p átomos na base, por exemplo, teríamos $3p$ ramos, dos quais 3 seriam acústicos e $3p - 3$, ópticos. Já a denominação longitudinal se deve ao fato de que o deslocamento dos átomos na rede é paralelo à direção de propagação da onda. Se fosse perpendicular, teríamos ondas transversais. Quando $k \approx 0$ na figura 9, o ponto A representa o valor da relação 2.3.53, a qual está associada ao movimento dos átomos da base em sentidos opostos entre si, o que caracteriza um movimento vibracional. Já o ponto O, representa a relação 2.3.54 e, por sua vez, está associado ao movimento dos átomos no mesmo sentido. No limite da 1^a zona de Brillouin, os pontos B e C estão relacionados às relações 2.3.57 e 2.3.56, respectivamente.

Figura 9 – Relação de dispersão de fônon para uma rede diatômica linear



Fonte: Adaptada de (JORIO *et al.*, 2011)

2.3.5 Efeito Raman: Modelo Clássico

A interação do campo elétrico da radiação incidente com um determinado material pode induzir um momento de dipolo oscilante. Classicamente, o momento de dipolo é escrito como:

$$\mathbf{P} = \alpha \mathbf{E} \quad (2.3.58)$$

onde \mathbf{P} é o vetor momento de dipolo, α é a polarizabilidade da molécula e \mathbf{E} é o vetor campo elétrico da radiação incidente. Vamos assumir que a coordenada interna do sistema e este campo elétrico têm a forma:

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu_v t) \quad (2.3.59)$$

$$\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (2.3.60)$$

onde ν_v e ν_0 são, respectivamente, as frequências com que um ponto do sistema descrito pela coordenada q e o vetor campo elétrico incidente oscilam. Como estamos interessados nas pequenas oscilações e, consequentemente, nas pequenas variações do momento de dipolo induzido, podemos expandir a polarizabilidade em série de Taylor:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 q + \dots \quad (2.3.61)$$

Substituindo todas estas expressões dentro da equação 2.3.58, obtemos:

$$\mathbf{P} = \alpha_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0) + \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 q_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_v t) \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (2.3.62)$$

Aqui, usando uma propriedade trigonométrica para transformar produto em soma,

$$\cos(a)\cos(b) = \frac{1}{2}[\cos(a+b) + \cos(a-b)] \quad (2.3.63)$$

Podemos reescrever 2.3.62 como

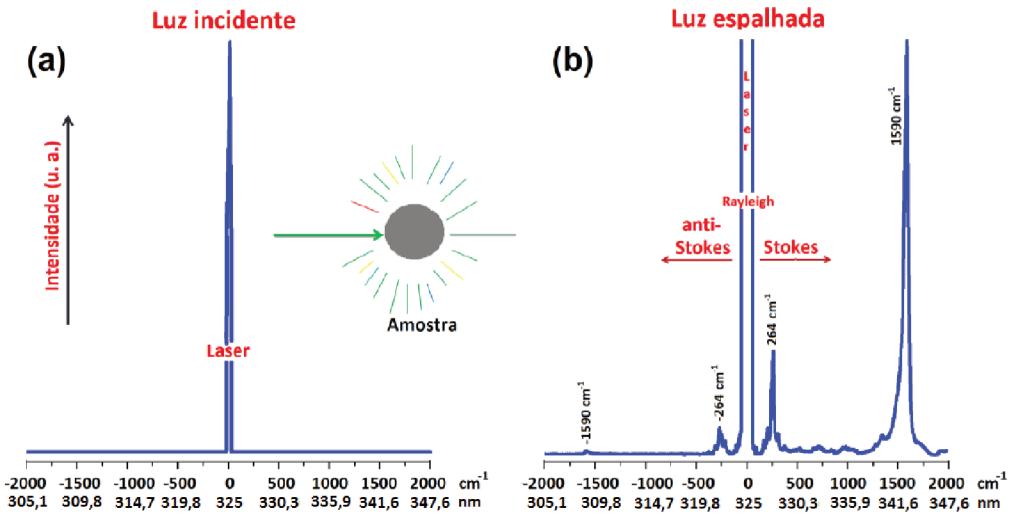
$$\mathbf{P} = \underbrace{\alpha_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0)}_{\text{Espalhamento Rayleigh}} + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 q_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_v t) \underbrace{[\cos 2\pi t(\nu_0 + \nu_v)]}_{\text{Anti-Stokes}} + \underbrace{[\cos 2\pi t(\nu_0 - \nu_v)]}_{\text{Stokes}} \quad (2.3.64)$$

de modo que os termos possam ser separados e associados aos possíveis espalhamentos. O primeiro deles, como mostra a equação 2.3.64, contém apenas termos associados à radiação

incidente, sendo referente, então, ao espalhamento Rayleigh, onde a interação é do tipo elástica e não altera a forma inicial do momento de dipolo. Os últimos dois termos, por outro lado, mostram que uma variação para maiores e menores frequências também ocorre, desde que haja variação da polarizabilidade da molécula com o pequeno deslocamento da coordenada q em torno da posição de equilíbrio. O termo cuja frequência aumenta em relação àquela da radiação incidente está associado ao espalhamento Anti-Stokes, no qual o fóton incidente aniquila um fônon da rede e é espalhado com frequência, ou energia, maior. Já o último termo se refere ao espalhamento Stokes e, ao contrário do anterior, consiste na criação de um fônon a partir da interação com o fóton, de modo que este fóton espalhado possui frequência, ou energia, menor. Mas embora este formalismo clássico seja interessante para entendermos os efeitos de espalhamento, considerando sua simplicidade, ele nada nos diz a respeito da intensidade da radiação espalhada. O que se tem, até então, é que classicamente tanto as linhas Stokes quanto as Anti-Stokes têm a mesma intensidade, o que experimentalmente não é verdade. A primeira, inclusive, é mais intensa, mas para tal correção é necessário recorrer ao formalismo quântico.

A figura 10 mostra um exemplo de espectro de espalhamento para uma radiação incidente com comprimento de onda de 325 nm. No espectro Raman, o eixo horizontal corresponde à diferença de frequência entre a radiação espalhada e a incidente, de modo que a origem do eixo corresponde à linha do laser. A unidade utilizada para a escala do eixo horizontal é o cm^{-1} , correspondendo ao número de onda, o qual é inversamente proporcional ao comprimento de onda ($\bar{\nu}(\text{cm}^{-1}) = \frac{10^{-7}}{\lambda(\text{nm})}$). Esta unidade é conveniente devido à ordem de gradeza dos valores e por ser diretamente proporcional à energia (1 cm^{-1} corresponde a $1,24 \times 10^{-4}$ eV).

Figura 10 – Comparação entre o espectro da luz incidente (a) e da luz espalhada pela amostra (b). A fim de comparação, o eixo horizontal apresenta duas escalas, sendo uma relativa o número de onda (cm^{-1}) e outra, ao comprimento de onda (nm)



Fonte: Adaptada de (GUIMARÃES, 2011)

2.3.6 Efeito Raman: Modelo Quântico

No tratamento quântico do efeito Raman, o procedimento para descrever a interação da radiação com a matéria é análogo àquele usado para derivar a expressão para probabilidade de transição no caso de transições eletrônicas. Aqui, para o caso onde a energia da radiação incidente é muito menor que a energia necessária para ocorrer uma transição eletrônica, o processo de espalhamento é mediado por estados virtuais, além dos estados final e inicial já considerados anteriormente. Novamente, o Hamiltoniano total do sistema é tratado como sendo formado por duas partes, sendo uma delas a do sistema não perturbado, e outra sendo o termo perturbativo. No entanto, para descrever processos Raman devem ser consideradas teorias de perturbação de segunda ordem, ou superior, onde o sistema parte de um estado inicial, passa por um ou mais estados intermediários e, então, volta para o estado final.

Nesta abordagem, as componentes do tensor polarizabilidade são dadas pela expressão:

$$(\alpha_{\sigma\rho})_{if} = \sum \left[\frac{\langle f|M_\sigma|virt\rangle\langle virt|M_\rho|i\rangle}{E_{virt} - E_i - E_\lambda + i\Gamma_{virt}} + \frac{\langle f|M_\sigma|virt\rangle\langle virt|M_\rho|i\rangle}{E_{virt} - E_i + E_\lambda + i\Gamma_{virt}} \right], \quad (2.3.65)$$

onde $(\alpha_{\sigma\rho})_{if}$ é a componente $\rho\sigma$ do tensor polarizabilidade associada à transição do estado $|i\rangle$ para o estado $|f\rangle$ passando por estados intermediários $|virt\rangle$. As energias E_i , E_f e E_{virt}

são, respectivamente, os autovalores destes estados e E_λ é a energia da radiação incidente. Os termos M_σ e M_ρ são os momentos de dipolo associados à cada transição.

A intensidade Raman depende do quadrado do momento de transição e da quarta potência da frequência da radiação espalhada:

$$I_{if} = \left(\frac{16\pi^2}{9c^4} \right) I_0 \nu^4 \sum_i \sum_j |(\alpha_{\sigma\rho})_{if}|^2 \quad (2.3.66)$$

e a relação entre as intensidades Stokes, I_S , e Anti-Stokes, I_A , considerando a distribuição de Bose-Einstein dos fôons, é dada por:

$$\frac{I_A}{I_S} = \left(\frac{\nu_0 + \nu_v}{\nu_0 - \nu_v} \right)^4 e^{-\frac{E_v}{KT}}, \quad (2.3.67)$$

da qual podemos ver que a razão entre as intensidades cai rapidamente com ν_v . Além disto, uma vez que os processos Stokes e anti-Stokes envolvem a criação e aniquilação de fôons, respectivamente, a probabilidade de ocorrer um destes eventos depende da estatística dos fôons e, logo, da temperatura. Uma vez que, à temperatura ambiente, a maioria dos materiais se encontra com estados vibracionais de mais alta energia desocupados, a probabilidade de criar fôons é maior que de aniquilar.

3 Materiais e Métodos

Nesta seção serão apresentadas as amostras estudadas, bem como as técnicas e procedimentos experimentais utilizados neste trabalho.

3.1 Materiais

3.1.1 Óxido de Grafeno (GO)

O óxido de grafeno, ou GO, sigla pela qual é conhecido na literatura, do inglês *Graphene Oxide*, se trata de folhas de grafeno que são obtidas a partir da esfoliação de grafite oxidado. Este, como se sabe, é composto por milhões de folhas de grafeno em três dimensões. Para obtenção de GO, é induzida uma oxidação do grafite por meio da adição de agentes oxidantes, o que faz com que a separação entre as folhas seja aumentada pela introdução de oxigênios na estrutura. Além disto, a material se torna hidrofílico, o que significa que pode ser dispersado em água e, desta maneira, pode ser esfoliado por meio de sonicação. Este processo envolve um equipamento capaz de vibrar em frequências em torno de 20kHz (ultrassom) que, quando aplicadas na solução contendo o material, cria ondas de choque mecânico, quebrando aglomerados e induzindo sua dispersão. O resultado consiste em óxido de grafeno de folhas únicas, ou de poucas camadas.

Neste trabalho, a amostra de GO utilizada foi fornecida pela Dra. Clascídia A. Furtado, do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), originalmente na concentração de 60 ng/ μ L e pH 7,4. Segundo o fornecedor, o óxido de grafeno foi preparado a partir da oxidação de grafite natural expandido com 99,5 % em massa de pureza, o qual foi fornecido pela empresa brasileira Nacional de Grafite Ltda. Já o procedimento utilizado para obtenção foi baseado no método de Hummers (HUMMERS; OFFEMAN, 1958).

3.1.2 Bases de DNA

As bases utilizadas foram sintetizadas pela empresa Bioron GmbH. As quatro bases ficaram armazenadas em tubos do tipo *eppendorf* individuais. A concentração molar inicial de cada base era de 100 mM, em solução aquosa com sais de sódio, pH 7,5 e com volume de 200 μ L. As bases foram mantidas no congelador e eram retiradas para

execução dos experimentos cerca de uma hora antes, para que se pudesse retirar o volume necessário. Em seguida, voltavam rapidamente ao congelador. Como mencionado na seção de fundamentação teórica, as bases estão na forma de desoxirribonucleotídeo trifosfato (DNTP), mas na discussão, ao invés de tratá-las como DATP, DGTP, DCTP e DTTP, serão tratadas pelos nomes Adenina, Guanina, Citosina e Timina, respectivamente.

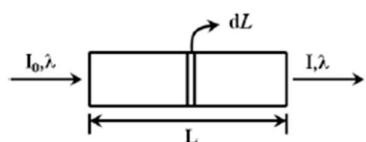
3.1.3 Compósitos

Os compósitos de bases de DNA e GO foram preparados conforme os experimentos iam sendo executados da seguinte forma: foram feitos ao todo 4 compósitos para cada base, variando a concentração entre eles em volume. As proporções de base para GO foram de 1:5 e 1:10 para as quatro bases, e escolhemos uma purina e uma pirimidina, sendo elas a adenina e a timina, para testar dois casos limites, que são as proporções de 5:1 e 1:1. Como os experimentos de espalhamento Raman dependiam da disponibilidade do técnico que opera o equipamento, nem sempre foi possível realizar todas as medidas em um mesmo dia. Sendo assim, cada compósito foi preparado apenas no dia de suas medidas. E ainda, para que a integridade das bases fosse garantida, foi feito sempre um controle por meio de medidas de absorção óptica. Feito isto, as medidas de espalhamento Raman eram tomadas em seguida.

3.2 Absorção Óptica (AO)

Para obtenção dos espectros de absorção de uma amostra são utilizados espectrofotômetros, os quais registram uma grandeza denominada absorbância. Por sua vez, esta grandeza representa a taxa de decréscimo da intensidade de fôtons que atravessam uma amostra que, pela Lei de Beer-Lambert-Bouger, está relacionada ao caminho óptico percorrido pelos fôtons, à concentração molar do material e ao coeficiente de absorção, sendo este característico do material.

Figura 11 – Representação de uma amostra para dedução da Lei de Beer-Lambert-Bouger



Considere a figura 11. Seja I_0 a intensidade de luz de comprimento de onda λ incidida na amostra; I a intensidade não absorvida; L o comprimento da amostra e dL uma fatia infinitesimal. Temos que quando a luz sai pela amostra, $I_0 > I$ devido à absorção de parte da luz.

O comprimento de onda da luz que é absorvida depende da molécula envolvida na colisão e do número de moléculas presentes na fatia infinitesimal dL . O número de moléculas em dL pode ser encontrado através da concentração molar C . Quanto mais grossa for a fatia dL , maior será o número de fótons absorvidos, já que haverão mais moléculas envolvidas no processo. Portanto, é possível escrever uma relação de proporcionalidade para a luz absorvida como:

$$-dI \propto ICdL \quad (3.2.1)$$

O sinal negativo em dI indica que a intensidade diminui à medida que atravessa a amostra. Podemos, então, adicionar uma constante de proporcionalidade ϵ no lado direito da equação, a qual é chamada de coeficiente de absorção molar. Feito isto, após reagrupar os termos, temos a seguinte relação:

$$-\frac{dI}{I} = \epsilon CdL \quad (3.2.2)$$

Desta forma, pode-se integrar ambos os lados da equação, o que nos dá:

$$-\int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = \epsilon C \int_0^L dL \quad (3.2.3)$$

Invertendo-se o intervalo de integração do lado esquerdo e resolvendo ambos os lados, temos:

$$\ln \frac{I_0}{I} = \epsilon CL \quad (3.2.4)$$

É bem comum, em medidas de absorção óptica, expressar a absorbância em função do comprimento de onda da luz incidente, o qual tem relação direta com a energia dos fótons incidentes.

A Lei de Beer-Lambert-Bouger é comumente expressa em termos do logaritmo de base 10 ao invés de logaritmo natural. Como $\ln 10 = 2,303$, dividindo o lado esquerdo da equação anterior por este valor, temos:

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon CL \quad (3.2.5)$$

Nesta forma, é definida uma quantidade chamada absorbância, a qual é dada por:

$$A = \log \frac{I_0}{I} \quad (3.2.6)$$

Logo, a Lei de Beer-Lambert-Bouger pode ser escrita em sua forma mais comum usada:

$$A = \epsilon CL \quad (3.2.7)$$

O coeficiente de absorção molar, ϵ , pode ser calculado a partir da medida de absorbância normalizada pelos valores da concentração molar e do caminho óptico, quando conhecidos. Como resultado, é obtido um espectro do coeficiente de absorção molar em função do comprimento de onda. A vantagem desta normalização vem da relação diretamente proporcional que o coeficiente de absorção molar tem com a magnitude do momento de dipolo de transição (apresentado no final da subseção 2.3.3), de modo que um decréscimo nesta magnitude implica na diminuição da intensidade de luz absorvida. Este fenômeno é chamado de hipocromia e o caso contrário, onde há um aumento na intensidade, de hiperchromia.

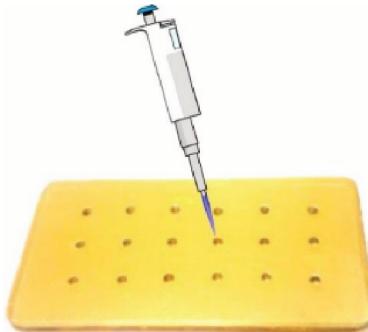
3.3 Micro-Raman

Todas as medidas de Raman deste trabalho foram tomadas utilizando um espectrômetro acoplado a um microscópio. O equipamento utilizado foi o LabRAM HR Evolution, da Horiba, que conta com 4 linhas de laser: 325, 532, 633 e 785 nm. Já o microscópio em questão é um BX41, da Olympus, que conta com três opções de objetivas: x10, x40 e x100. Para medidas no ultra-violeta, como neste caso, é utilizada a objetiva de x40 devido aos diferentes filtros que as objetivas possuem entre si. No que diz respeito ao espectrômetro, o equipamento conta com grades de difração com diferentes resoluções, sendo elas: 600 gr/mm, 1800 gr/mm e 2400 gr/mm. As grades são responsáveis por

dispersar a radiação espalhada pela amostra a fim de separá-la em intervalos, enviando ao detetor CCD (do inglês *Charge-Coupled Device*), onde o sinal espalhado é coletado. Em seguida, este é enviado ao computador, onde é processado e apresentado na forma de espectro Raman.

Para otimização do sinal, ainda, foi utilizado também um substrato especial, composto por uma lâmina de vidro com poços banhada a ouro, como ilustra a figura 12.

Figura 12 – Substrato utilizado para medidas Raman



Fonte: (SANTOS, 2017)

Os poços foram feitos com uma broca óptica e têm capacidade para pouco mais de $5 \mu\text{L}$. A ideia de otimização do sinal a partir deste substrato vem da tentativa de explorar as múltiplas reflexões internas, amplificando o sinal espalhado pelo material em análise. Além disto, uma gota de solução depositada em um substrato plano teria uma superfície côncava, o que espalharia a luz incidente e diminuiria o sinal espalhado.

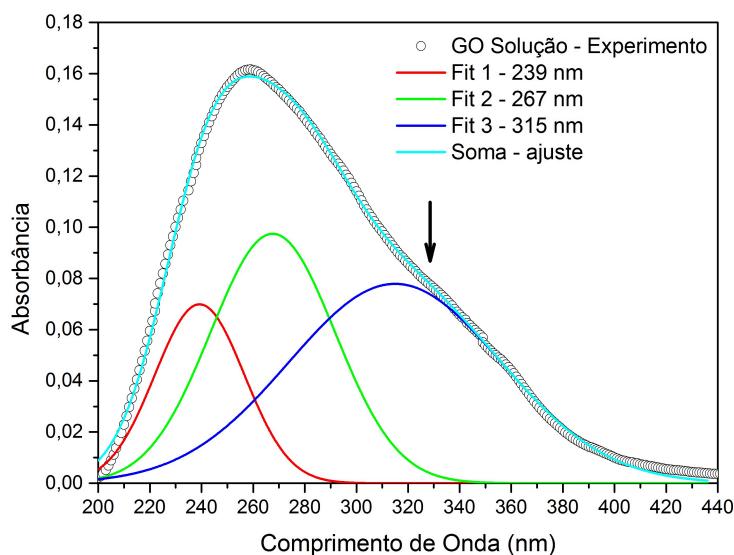
Para cada medida foram utilizados $5 \mu\text{L}$ de cada amostra em poços individuais.

4 Resultados e Discussões

4.1 Solução de GO

A figura 13 mostra o espectro de AO obtido para a solução aquosa de GO na concentração de 60 mg/L. O espectro de absorção do GO apresenta um máximo em torno de 250 nm, mas é possível notar uma assimetria da banda de absorção em relação à este ponto. Esta assimetria sugere que mais de um sistema está envolvido no processo de absorção. O procedimento de ajuste dos espectros de absorção consiste em observar estas assimetrias para inferir o número mínimo de Gaussianas necessárias para melhor descrever a curva experimental. Matematicamente, quanto mais funções, mais parâmetros estariam envolvidos e melhor o ajuste descreveria a curva experimental. No entanto, como estamos interessados nas propriedades físicas do material, é necessário que cada Gaussiana tenha, também, um significado físico.

Figura 13 – Espectro de AO da solução aquosa de GO e seu ajuste. Na legenda, o comprimento de onda relativo ao centro de cada uma das gaussianas do ajuste



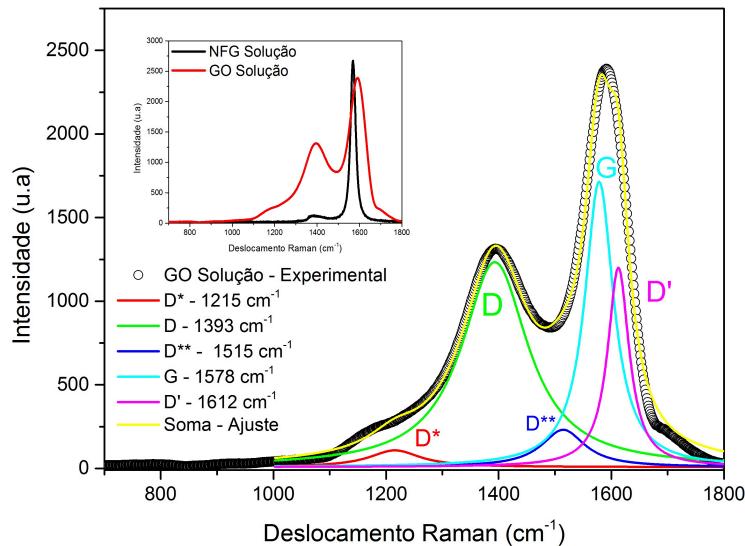
A posição de cada uma das Gaussianas no ajuste fornece informação sobre a energia da transição eletrônica. A primeira banda em 239 nm é atribuída à transição $\pi - \pi^*$ e tem sua origem em estados não localizados provenientes da hibridização sp^2 . As outras duas, em 267 nm e 315 nm, são provenientes de estados localizados, como defeitos, pares de elétrons presentes em átomos de oxigênio e água adsorvida. Logo, são transições do

tipo $n - \pi^*$.(LIANG *et al.*, 2015) Ambas as transições eram esperadas para esta amostra e a presença destas estruturas na rede pode ser verificada a partir dos resultados do espalhamento Raman a seguir.

A espectroscopia Raman é um método de medida relativamente simples, sem contato e não destrutivo, que possibilita examinar o espalhamento de luz inelástico da superfície de uma amostra à temperatura e pressão ambiente. Uma das características de espectros Raman de materiais grafíticos é o aparecimento da chamada banda G, que aparece no espectro em torno de 1580 cm^{-1} estreita e definida. Uma vez que esta banda aparece no espectro, podemos afirmar que a amostra possui uma rede de átomos de carbono com hibridização sp^2 .(PIMENTA *et al.*, 2007)

A figura 14 apresenta o espectro Raman já ajustado da solução aquosa de GO que foi utilizada para produzir os compósitos com as bases de DNA. Neste caso, o ajuste foi feito utilizando funções Lorentzianas e o procedimento é análogo àquele do espectro de absorção, onde a assimetria de uma banda sugere uma sobreposição, de modo que mais de uma Lorentziana se faz necessária para melhor ajustar a curva experimental. Novamente, é imprescindível que cada uma tenha o seu significado físico. Além da banda G, a depender do material outras bandas características são esperadas. No caso do GO, por se tratar de um material obtido a partir da esfoliação de grafite oxidado, uma série de defeitos que compõem a rede, bem como as dimensões das folhas e dos cristalitos, também têm suas bandas e influências conhecidas na literatura. Estas bandas estão destacadas no espectro e são elas a D, D*, D** e D'. Também é apresentada na figura uma comparação entre os espectros Raman da solução aquosa de GO estudada e uma solução aquosa contendo nano flocos de grafeno (NFG), da qual podemos observar a diferença entre as larguras de bandas e a influência dos defeitos e desordens.

Figura 14 – Espectro Raman da solução aquosa de GO e o ajuste feito com 5 lorentzianas. Em destaque na imagem, as atribuições de cada uma das bandas e na legenda, a frequência Raman correspondente à posição de cada uma. O espectro inseto compara o espectro Raman da mesma solução de GO que foi ajustada com uma solução aquosa contendo nano flocos de grafeno (NFG)



Espectros Raman de grafeno sem defeitos estruturais não apresentam nenhuma dessas bandas além da G. A banda D, que aparece no espectro em 1393 cm^{-1} , tem sua origem nos defeitos e na desordem da rede. As bandas D* e D**, em 1215 cm^{-1} e 1515 cm^{-1} , respectivamente, são encontradas em materiais de carbono desordenados. Alguns autores atribuem estas bandas à soma e diferença de modos de estiramento C=C e de abanamento CH de trans-poliacetileno (cadeia alternada de carbonos sp² com um hidrogênio ligado ao carbono) em diamante nanocristalino.(FERRARI; ROBERTSON, 2000) E estas duas bandas podem ser identificadas no espectro Raman de nano-grafite. A banda D', em 1612 cm^{-1} , responsável pelo alargamento da banda G, é atribuída a defeitos na rede.(KANIYOR; RAMAPRABHU, 2012)

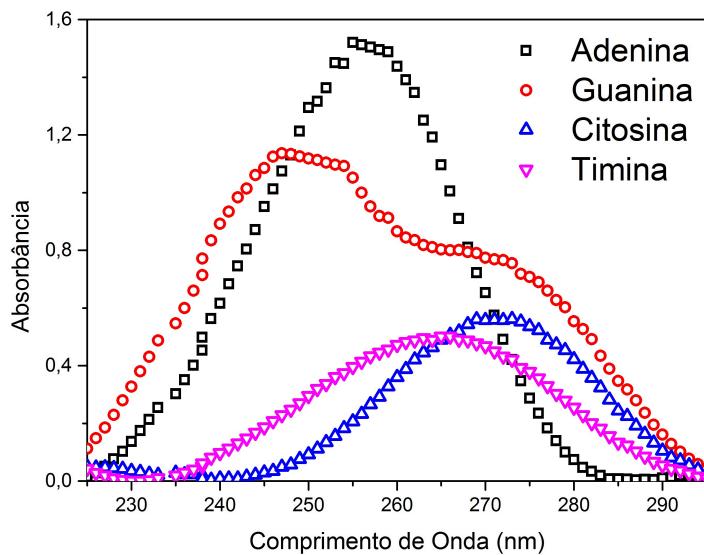
4.2 Bases de DNA

A figura 15 apresenta os espectros de absorção das quatro bases de DNA em solução aquosa, à temperatura ambiente e em pH 7,5. Para todas foi necessária uma diluição em água deionizada, a fim de que fossem excluídos outros processos ópticos que não os de absorção. Após sucessivos testes utilizando uma cubeta com caminho óptico de 0,2 cm, foi

obtido um valor ideal e as concentrações molares iniciais de 0,1 mol/L de cada base foram, então, reduzidas para $4,16 \times 10^{-4}$ mol/L.

É possível verificar que a absorção das quatro bases se concentram em uma mesma região do espectro, apresentando uma banda larga e mais intensa em torno de 260 nm, mas com alguns deslocamentos para maiores ou menores energias de seus máximos de absorção. Estes deslocamentos, inclusive, são semelhantes entre bases do mesmo tipo, já que as duas purinas estão mais à esquerda (maior energia) e as duas pirimidinas mais à direita (menor energia). Chama a atenção, ainda, o comportamento da Guanina (círculos vermelhos), que apresenta duas bandas largas, com máximos de absorbância em torno de 250 e 270 nm, o que indica que mais de um sistema pode estar envolvido no processo de absorção. A contribuição do açúcar e do fosfato aparece abaixo de 190 nm. (BLOOMFIELD; CROTHERS; TINOCO, 1973)

Figura 15 – Espectros de AO das bases de DNA



O fato é, na verdade, que todas essas bandas vêm de transições eletrônicas dos orbitais $\pi - \pi^*$ e são tratadas por diversos autores como sendo análogas à banda em 260 nm do anel benzeno. (CLARK; TINOCO, 1965) Além disto, as transições eletrônicas nas bases são classificadas como sendo no plano, ou perpendicular ao plano da base. Transições $\pi - \pi^*$ são no plano, já aquelas do tipo $n - \pi^*$ são fora do plano. Cada base tem diferentes transições $\pi - \pi^*$, com momentos de dipolo de transição com direções conhecidas. (CHOU; JOHNSON, 1993) Dentro da região de interesse, foram encontrados os seguintes valores

para possíveis transições: 255 e 266 nm para Adenina, 248 e 275 nm para Guanina, 269 nm para Citosina e 265 nm para Timina. Estes valores estão na coluna λ_{ref} e, juntamente com as direções de seus respectivos momentos de dipolo de transição, constam na referência (BLOOMFIELD; CROTHERS; TINOCO, 1973).

O ajuste Gaussiano de cada espectro de AO retorna o comprimento de onda referente ao máximo de cada banda e, consequentemente, à cada transição eletrônica. Todos os valores obtidos estão apresentados no quadro 1. Os espectros ajustados, por sua vez, são mostrados nas figuras 17, 18, 19 e 20, na próxima seção, juntamente com o ajuste dos seus respectivos compósitos.

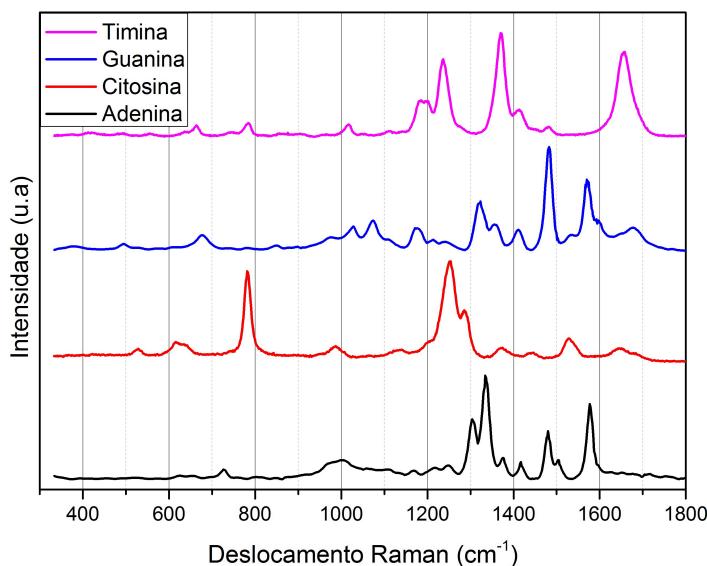
Quadro 1 – Valores dos comprimentos de onda referentes às bandas de absorção das bases. Na coluna λ_{exp} , as bandas obtidas por meio do ajuste Gaussiano dos espectros. Na coluna λ_{ref} , os valores encontrados na literatura

Base	λ_{exp} (nm)	λ_{ref} (nm)
Adenina	249, 260, 272	255, 266
Guanina	248, 272, 283	248, 275
Citosina	265, 271, 279	268
Timina	248, 264, 278	265

Os valores obtidos experimentalmente são comparáveis aos valores encontrados na literatura. As pequenas diferenças devem estar ligadas, entretanto, a algumas condições experimentais. Na referência citada, o estudo foi feito com cristais e com moléculas orientadas em filmes estirados, onde se espera que a conformação das moléculas seja mais plana, interferindo na estrutura eletrônica. Em solução, como foi estudado aqui, as moléculas têm maior grau de liberdade e, devido à desordem, bandas de absorção mais largas são esperadas.

Na figura 16 encontram-se os espectros de espalhamento Raman dos quatro nucleotídeos utilizados. Neles, é possível notar que cada um tem suas bandas características, o que se deve às diferenças na estrutura e conformação entre eles. Cada um dos espectros foi ajustado por meio de funções lorentzianas, usando o software Origin 9.0, e cada uma delas é atribuída a um modo vibracional, ou a uma combinação deles. A região espectral escolhida para analisar está contida na intervalo de 590 à 1800 cm^{-1} . Nela, encontram-se os principais modos vibracionais que caracterizam cada base e permitem diferenciá-las. Os espectros ajustados estão no Anexo B juntamente com tabelas de atribuições dos modos vibracionais, mas um resumo é feito a seguir.

Figura 16 – Espectros de espalhamento Raman das 4 bases de DNA com laser de 325 nm



É possível dividir os espectros em regiões de acordo com os modos característicos de cada base. Na região compreendida entre 560 e 1140 cm^{-1} , são encontrados os modos atribuídos aos anéis de cada uma. As pirimidinas (citosina e timina) apresentam, em geral, uma banda centrada em 782 cm^{-1} , a qual é atribuída ao estiramento de seus anéis. Já os anéis de purinas (adenina e guanina), estes tem modos em frequências um pouco mais baixas, sendo estas em 727 cm^{-1} e 677 cm^{-1} para adenina e guanina, respectivamente. O fato do anel de guanina estar deslocado para menores frequências indica, ainda, que sua estrutura covalente é diferente da adenina, o que favorece o empilhamento dos anéis formando agregados, o que desloca a banda para menores energias.(DUCHESNE, 1973) As bandas em torno de 900 e 1140 cm^{-1} , em seguida, são atribuídas a modos de estiramento de ligações C-C e C-N.(MOVASAGHI *et al.*, 2008)

Na região entre 1140 e 1450 cm^{-1} , fica clara uma maior atividade Raman nos espectros, o que se manifesta nas quatro bases. As bandas nessa região são relativamente mais largas, indicando sobreposições e, possivelmente, combinações de modos. A razão disto é que os modos nesta região são atribuídos a estruturas comuns nas bases, como ligações C-C, C-N, N-H e C=C. Na citosina e adenina temos ainda o grupo NH₂, e para citosina, timina e guanina, ligações C=O. (OTTO *et al.*, 1986) (BRAUER *et al.*, 2005)(MOVASAGHI *et al.*, 2008)(FREIRE *et al.*, 2017)

A última região vai de 1450 à 1800 cm⁻¹. Esta, por sua vez, concentra modos atribuídos ao grupo amida II, o qual aparece na citosina, timina e guanina, e modos associados às ligações duplas C=C, C=N e C=O. (FREIRE *et al.*, 2017)

A linha de laser de 325 nm usada aqui para espectroscopia Raman está fora, como se pode observar nos espectros de AO, da região de absorção das bases de DNA. No entanto, um outro tipo de espectroscopia Raman, chamada de Raman Ressonante, consiste em utilizar linhas de excitação com comprimento de onda na região de absorção do material. Como resultado, obtém-se uma amplificação do sinal espalhado quando um determinado modo vibracional, ativo no Raman, está associado a uma transição eletrônica permitida da molécula. Há alguns estudos feitos neste contexto, os quais discutem a dependência da intensidade de algumas bandas do espectro Raman com o comprimento de onda do laser de excitação. (FODOR *et al.*, 1985)(KUBASEK; HUDSON; PETICOLAS, 1985)

Como mencionado na discussão do espectro de AO, as transições eletrônicas são predominantemente no plano. Nos estudos de Raman ressonante citados acima, alguns modos vibracionais no plano apresentaram amplificação de sinal quando excitados com comprimento de onda próximo daqueles onde a absorção é mais intensa. Cruzando dados de estudos de Raman ressonante com os espectros de AO e Raman obtidos aqui, podemos inferir algumas associações entre modos vibracionais e bandas de absorção, as quais se encontram no quadro 2. Fica claro, então, que as transições eletrônicas se dão predominantemente na região de ligações duplas, onde se formam segmentos conjugados e, a partir destes, sobreposições de orbitais atômicos do tipo p dão origem a orbitais do tipo π .

Quadro 2 – Tabela de atribuições das bandas de AO e modos vibracionais. Na quarta coluna, as letras se referem aos átomos e os números, às respectivas posições segundo a figura 1

Base	λ_{exp} (nm)	Frequência Raman (cm ⁻¹)	Modo Associado
Adenina	249	1601	Vibrações no grupo NH ₂
	260	1336, 1480	Vibrações da região C8
	272	1577, 1601	C2=N3-C4=C5-N7=C8
Guanina	248	1482	N7=C8
	272	1571	C2=N3-C4=C5-N7=C8
	283		
Citosina	265	1241	Estiramento C=C e C=N no grupo N3=C4-C5=C6; vibração no plano conjugado
	271		
	279		
Timina	248		
	264	1370	Modos acoplados do grupo C5=C6-C4=O
	278		

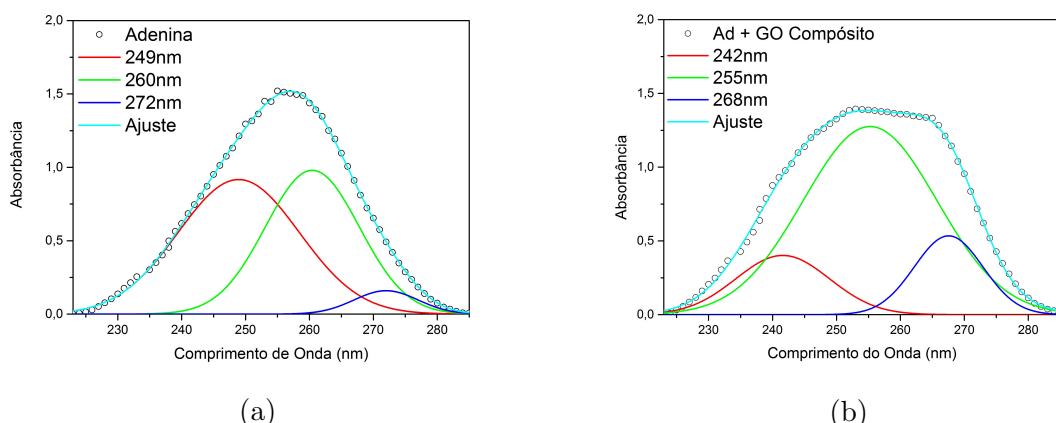
4.3 Compósitos

Para medidas de AO, os compósitos de GO e DNA em solução aquosa foram preparados na proporção em volume de 1 parte de base para 5 partes de GO, ambos previamente já em solução aquosa. No entanto também foi necessária uma diluição adicionando-se água deionizada até que a absorbância deixasse de ultrapassar o limite suportado pelo equipamento. Por conta da diluição, a concentração molar de base neste compósito foi de $1,11 \times 10^{-3}$ mol/L.

As figuras 17, 18, 19 e 20 apresentam os espectros de AO de cada base e do seu respectivo compósito. Nelas, é possível verificar a influência do GO sobre as formas das bandas e, novamente, uma diferença entre purinas e pirimidinas é evidenciada. Os compósitos com Adenina e Guanina apresentam alargamentos, deslocamentos e, no caso da Guanina, uma inversão de intensidade entre suas duas principais bandas. No caso das duas pirimidinas, a menos de uma variação de intensidade, a largura à meia altura e a posição das bandas de absorção não se alteram.

A fim de analisar o comportamento das bandas com a presença do GO nas soluções, todas as curvas foram ajustadas por meio de Gaussianas. As figuras 17a e 17b apresentam o ajuste feito para a Adenina pura e para seu compósito. O quadro 3, em seguida, apresenta os parâmetros de cada gaussiana envolvida e as diferenças entre a base pura e seu respectivo compósito.

Figura 17 – Ajuste Gaussiano dos espectros de AO para a Adenina (a) e para o compósito Adenina + GO (b)

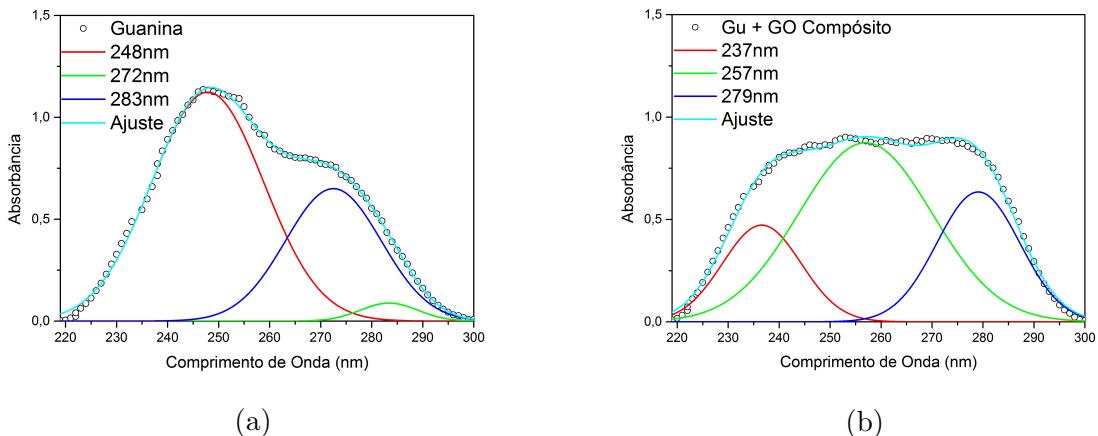


Quadro 3 – Valores das posições e da largura à meia altura das Gaussianas utilizadas no ajuste da Adenina e seu compósito; a diferença entre os parâmetros da base pura e do compósito são apresentados na última coluna, onde valores positivos indicam deslocamento para maior energia/estreitamento de banda e negativos deslocamento para menor energia/alargamento de banda

Fit	Parâmetro	Adenina	Adenina + GO	Diferença
1	$\lambda_1(\text{nm})$	249	242	7
	$w_1(\text{nm})$	22	17	5
2	$\lambda_2(\text{nm})$	260	255	5
	$w_2(\text{nm})$	17	25	-7
3	$\lambda_3(\text{nm})$	272	268	4
	$w_3(\text{nm})$	12	13	-1

As figuras 18a e 18b mostram os espectros de AO ajustados. A presença do GO na solução causa alterações significativas na forma e na posição das bandas envolvidas, como mostra o quadro 4.

Figura 18 – Ajuste Gaussiano dos espectros de AO para a Guanina (a) e para o compósito Guanina + GO (b)



Quadro 4 – Valores das posições e da largura à meia altura das Gaussianas utilizadas no ajuste da Guanina e seu compósito; a diferença entre os parâmetros da base pura e do compósito são apresentados na última coluna, onde valores positivos indicam deslocamento para maior energia/estreitamento de banda e negativos deslocamento para menor energia/alargamento de banda

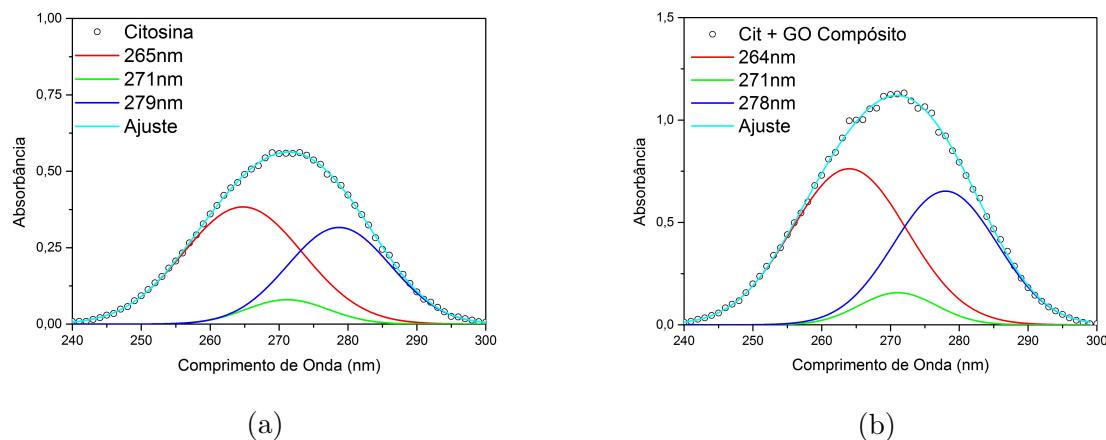
Fit	Parâmetro	Guanina	Guanina + GO	Diferença
1	$\lambda_1(\text{nm})$	248	237	11
	$w_1(\text{nm})$	26	18	8
2	$\lambda_2(\text{nm})$	272	257	15
	$w_2(\text{nm})$	19	31	-12
3	$\lambda_3(\text{nm})$	283	279	4
	$w_3(\text{nm})$	13	19	-6

Os deslocamentos para menores comprimentos de onda (maiores energias) indicam um afastamento entre os níveis fundamental e excitado das moléculas de adenina e guanina, quando estas interagem com o GO. É possível que esta interação permita uma transferência de cargas, onde há uma transição eletrônica do orbital ligante de um material para o antiligante correspondente no outro material, mas esta afirmação requer mais análises.

O comportamento anômalo da Guanina em relação às outras bases é alvo de estudo desde a década de 60. Experimentos de AO com dicroísmo circular, bem como Raman e Raman ressonante indicam que a guanina apresenta uma torção na ligação dupla entre carbonos que une os dois anéis que compõe sua estrutura. E é esta maior assimetria que implica nesta peculiaridade na sua distribuição de energia, uma vez que esta causa uma deformação na energia potencial dos seus estados fundamental e excitado. (MISHRA, 1986) Nós especulamos aqui, que essa assimetria pode ser causada pela presença do oxigênio ligado a um dos anéis (ligação C=O), que é mais eletronegativo que o nitrogênio do outro anel gerando, assim, uma competição entre estes na interação com o GO.

As figuras 19a e 19b mostram os espectros de AO ajustados para a citosina pura e para o seu compósito com GO, respectivamente. Ambos os ajustes se deram por 3 Gaussianas e no quadro 5, em seguida, encontram-se seus parâmetros obtidos.

Figura 19 – Ajuste Gaussiano dos espectros de AO para a Citosina (a) e para o compósito Citosina + GO (b)

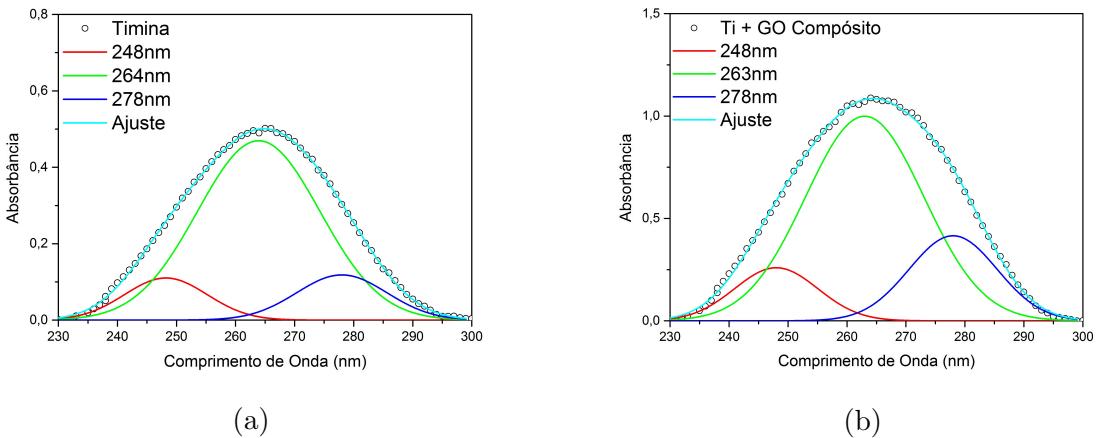


Quadro 5 – Valores das posições e da largura à meia altura das Gaussianas utilizadas no ajuste da Citosina e seu compósito; a diferença entre os parâmetros da base pura e do compósito são apresentados na última coluna, onde valores positivos indicam deslocamento para maior energia/estreitamento de banda e negativos deslocamento para menor energia/alargamento de banda

Fit	Parâmetro	Citosina	Citosina + GO	Diferença
1	$\lambda_1(\text{nm})$	265	264	1
	$w_1(\text{nm})$	20	20	0
2	$\lambda_2(\text{nm})$	271	271	0
	$w_2(\text{nm})$	14	13	1
3	$\lambda_3(\text{nm})$	279	278	1
	$w_3(\text{nm})$	18	18	0

As figuras 20a e 20b mostram os espectros de AO ajustados para Timina e seu compósito. Em seguida, o quadro 6 apresenta os valores dos parâmetros das Gaussianas utilizadas.

Figura 20 – Ajuste Gaussiano dos espectros de AO para a Timina (a) e para o compósito Timina + GO (b)

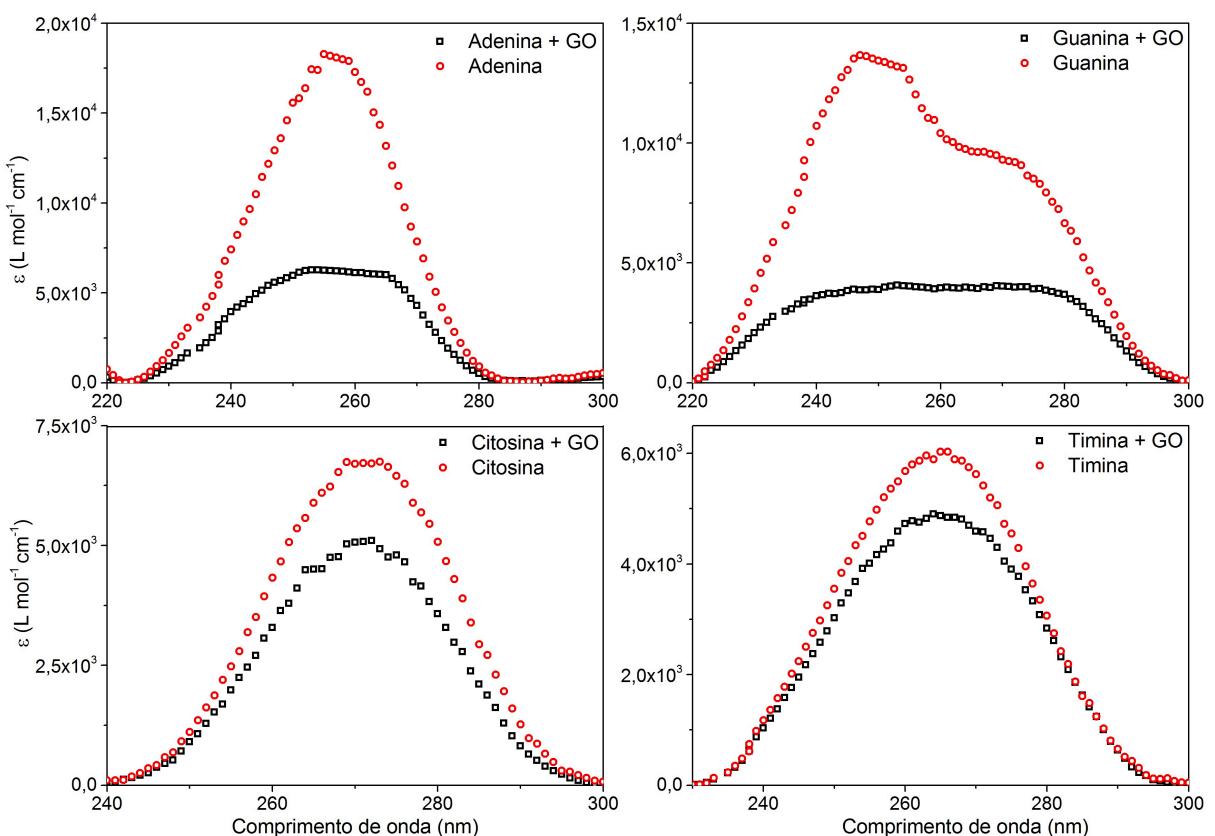


Quadro 6 – Valores das posições e da largura à meia altura das Gaussianas utilizadas no ajuste da Timina e seu compósito; a diferença entre os parâmetros da base pura e do compósito são apresentados na última coluna, onde valores positivos indicam deslocamento para maior energia/estreitamento de banda e negativos deslocamento para menor energia/alargamento de banda

Fit	Parâmetro	Timina	Timina + GO	Diferença
1	$\lambda_1(\text{nm})$	248	248	0
	$w_1(\text{nm})$	16	17	-1
2	$\lambda_2(\text{nm})$	264	263	1
	$w_2(\text{nm})$	24	24	0
3	$\lambda_3(\text{nm})$	278	278	0
	$w_3(\text{nm})$	18	18	0

A partir destes resultados de AO, vemos que tanto a citosina quanto a timina não apresentam alteração nos perfis de absorção, a menos da variação de intensidade. Deslocamentos e alargamentos de banda são consequência da modificação da estrutura eletrônica, onde os níveis de energia são deslocados, fazendo com que seja necessário mais ou menos energia para uma dada transição ocorrer. Podemos inferir, com isto, que a interação do GO com as bases pirimidinas não afeta estes níveis de energia, mas a variação da intensidade deve ser analisada com mais cuidado. Para analisar as intensidades relativas entre as bandas de absorção de cada base com seu compósito, é necessário normalizar os espectros para obtê-los em termos do coeficiente de absorção molar em função do comprimento de onda da luz absorvida. Dividindo, então, a absorbância de cada material pela concentração molar ($4,16 \times 10^{-3}$ mol/L para bases puras e $1,11 \times 10^{-3}$ mol/L para os compósitos) e pelo caminho óptico (espessura da cubeta utilizada = 0,2 cm), foram obtidos estes espectros, os quais são apresentados na figura 21. A ordem de grandeza do coeficiente de absorção molar para transições $\pi - \pi^*$ está, em geral, entre 10^3 e 10^4 L mol $^{-1}$ cm $^{-1}$ (VALEUR, 2001), o que está de acordo com os valores obtidos em nossos espectros.

Figura 21 – Espectros de absorção de cada uma das bases com seus respectivos compósitos



A relação entre as intensidades das duas curvas de cada um dos espectros da figura 21 revela que a presença do GO causa uma hipocromia. Esta diminuição no valor do coeficiente de absorção molar é resultado de uma interação das moléculas das bases com o GO. Definindo o parâmetro I_{base}/I_{comp} como sendo a razão entre o valor máximo para o coeficiente de absorção molar da base purina e o valor máximo para o compósito, obtemos os seguintes valores dispostos no quadro 7:

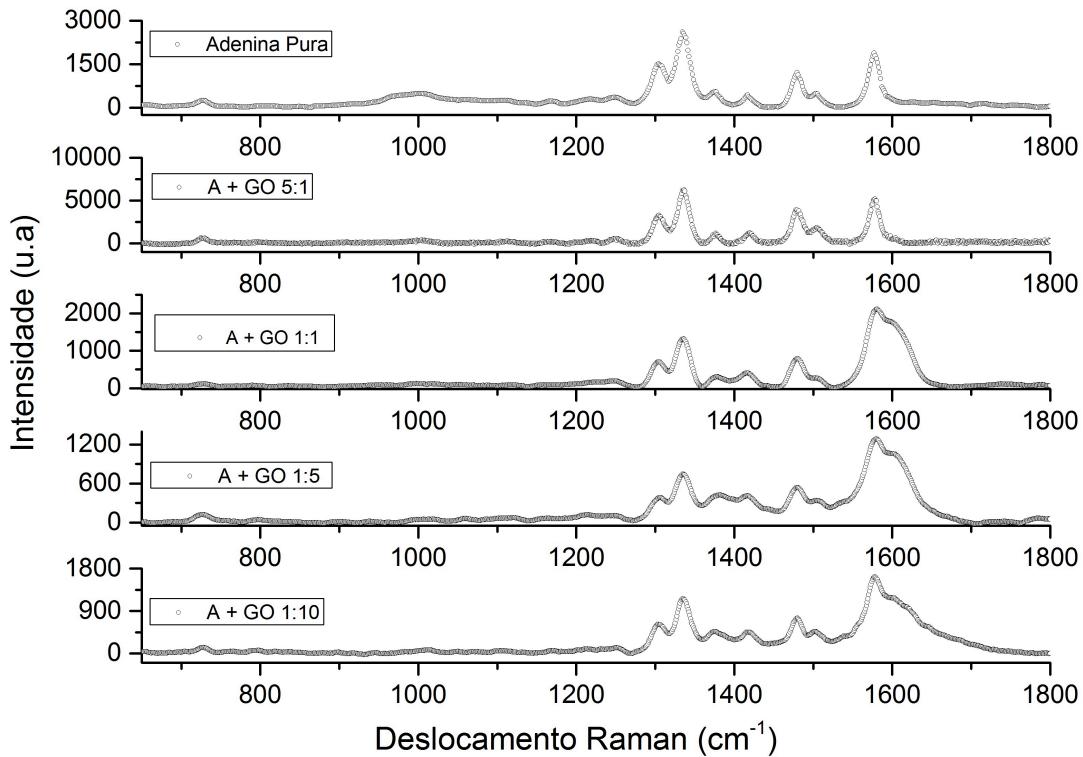
Quadro 7 – Valores de intensidades relativas para os valores máximos do coeficiente de absorção molar, ϵ , para cada base e seu compósito

Base	Razão I_{base}/I_{comp}
Adenina	2,9
Guanina	3,5
Citosina	1,3
Timina	1,2

Os valores obtidos para intensidades relativas indicam que o GO interage, possivelmente, de forma mais próxima às bases purinas (adenina e guanina) do que às bases pirimidinas (citosina e timina). A razão para tal conclusão vem do fato de que a hipocromia é um fenômeno que está associado à diminuição da magnitude do momento de dipolo de transição, o que, por sua vez, está associada com interações Coulombianas entre as cargas envolvidas. A força de interações deste tipo decresce com o aumento da distância e, portanto, em bases pirimidinas, menores valores para a razão I_{base}/I_{comp} podem indicar menor aproximação do GO. Mas a hipocromia, em geral, pode estar associada também à interação entre as próprias moléculas de base. Entre elas, a molécula de guanina é conhecida por ser mais propensa a formar aglomerados (BLOOMFIELD; CROTHERS; TINOCO, 1973), o que explica o maior valor para razão entre as intensidades calculadas. A fim de obter mais informações acerca destas interações, devemos analisar agora os espectros Raman dos compósitos.

Os espectros Raman dos compósitos revelam a região em que o GO interage com as bases. À medida que a quantidade de GO na solução aumenta, ocorre uma variação na forma do espectro na região que vai de aproximadamente 1300 cm^{-1} até perto do fim do intervalo medido, em 1650 cm^{-1} , como é possível ver na figura 22 para a adenina e seus compósitos. As demais figuras comparando as outras bases com seus respectivos compósitos estão no Anexo A. Em todas elas, é possível observar que as regiões onde o GO modifica o espectro das bases são aquelas onde o próprio GO tem suas bandas características, sendo elas em torno de 1400 e de 1600 cm^{-1} .

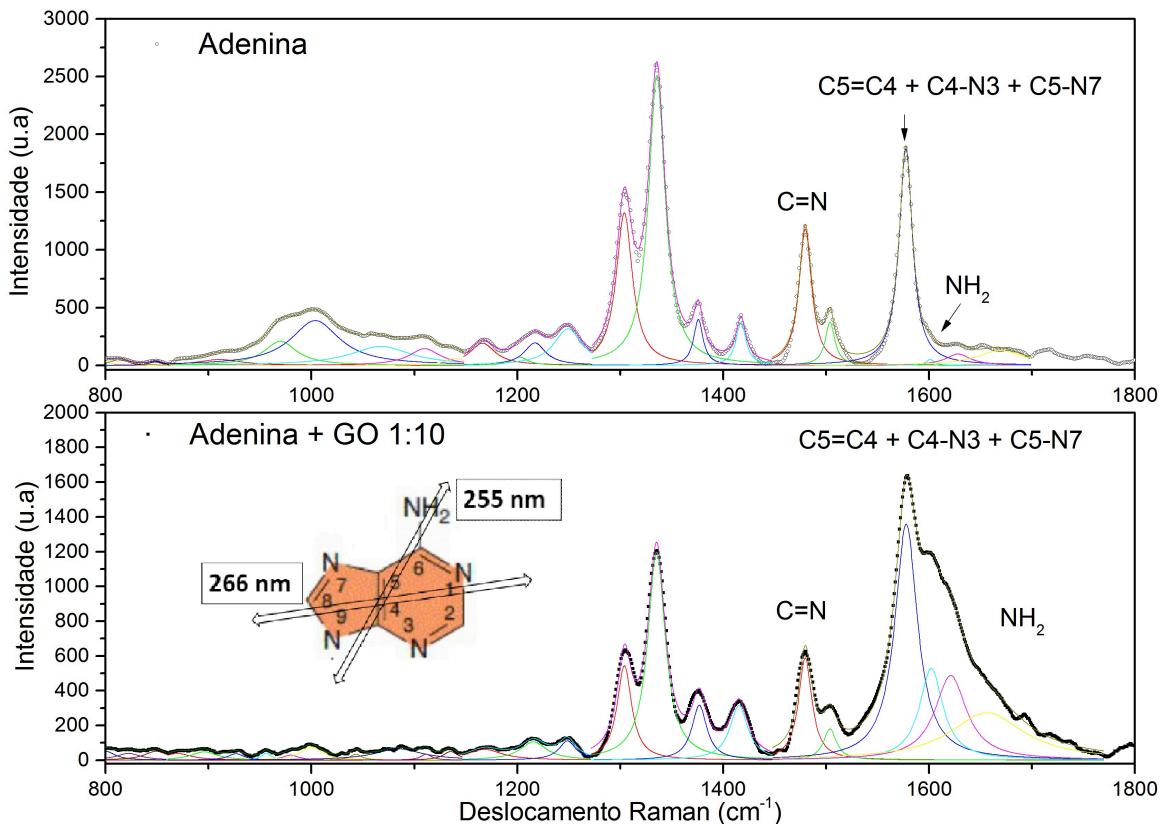
Figura 22 – Espectros Raman dos compósitos de Adenina e GO comparados ao espectro da base pura



Para ajustar cada um desses espectros, foram usados como referência os ajustes das bases puras. O procedimento consistiu em importar o ajuste de cada base pura para o espectro do respectivo compósito e rodar as iterações, buscando possíveis variações nas posições e nas larguras das bandas. Estes espectros ajustados constam no Anexo C.

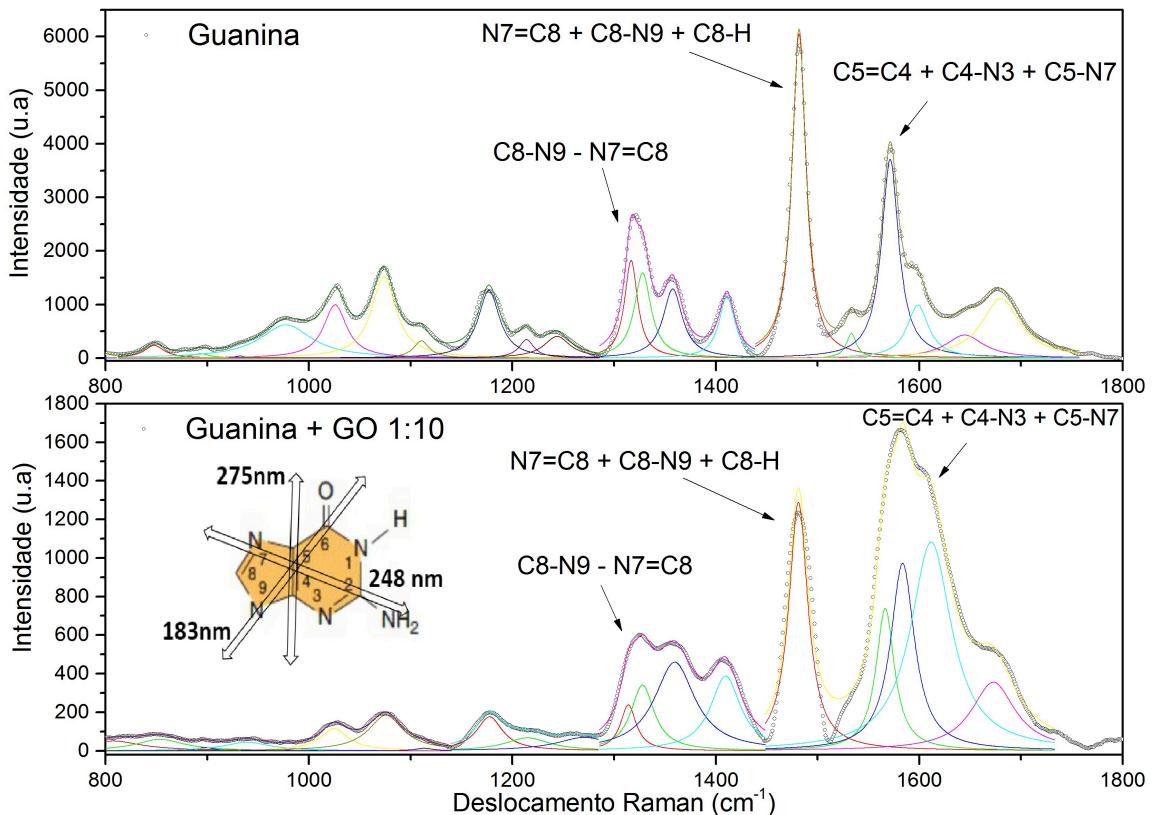
Os ajustes revelam que as posições das bandas não se alteram, mas há alterações nas larguras de algumas bandas na região citada acima. Essa variação de largura indica uma perturbação causada pela presença do GO na solução, o que pode ter induzido a formação de agregados entre moléculas de base, ou mesmo entre base e GO. Mas como os espectros de absorção sugerem uma interação mais fraca do GO com pirimidinas e mais forte com purinas, devemos olhar com mais atenção as bandas que foram modificadas. A figura 23 compara o espectro Raman da adenina com seu compósito na proporção de 1:10. Nela, são destacados os modos vibracionais atribuídos às regiões modificadas pelo GO. É mostrado também uma figura da molécula da base, com os momentos de dipolo de transição associados às transições eletrônicas observadas nos espectros de AO.

Figura 23 – Espectros Raman do compósito de Adenina e GO na proporção 1:10 comparado ao espectro da base pura



Podemos observar a forte modificação causada pelo GO em modos atribuídos à região mais central da molécula de adenina, associado ao segmento que se estende ao longo dos dois anéis que compõe a sua estrutura. Estes modos, como visto no quadro 2 na seção 4.2, estão associados a transições eletrônicas em torno de 260 nm. O mesmo comportamento pode ser observado olhando para a comparação entre a guanina e o espectro de seu compósito na figura 24. As regiões modificadas pelo GO são associadas às transições eletrônicas observadas em 248 e 275 nm, como foi verificado em experimentos de Raman ressonante usando linhas de excitação com energias próximas àquelas das transições eletrônicas. (KUBASEK; HUDSON; PETICOLAS, 1985)(FODOR *et al.*, 1985) Deste modo, em bases purinas, o aumento da energia associada às transições eletrônicas observadas, aliado à diminuição da magnitude do momento de dipolo destas transições e aos modos vibracionais perturbados pela interação com o GO, convergem para a confirmação de que a interação GO-purinas se dê, de fato, por interação do tipo π -stacking, onde há um empilhamento das moléculas de base sobre o GO, o que pode possibilitar uma transferência de cargas.

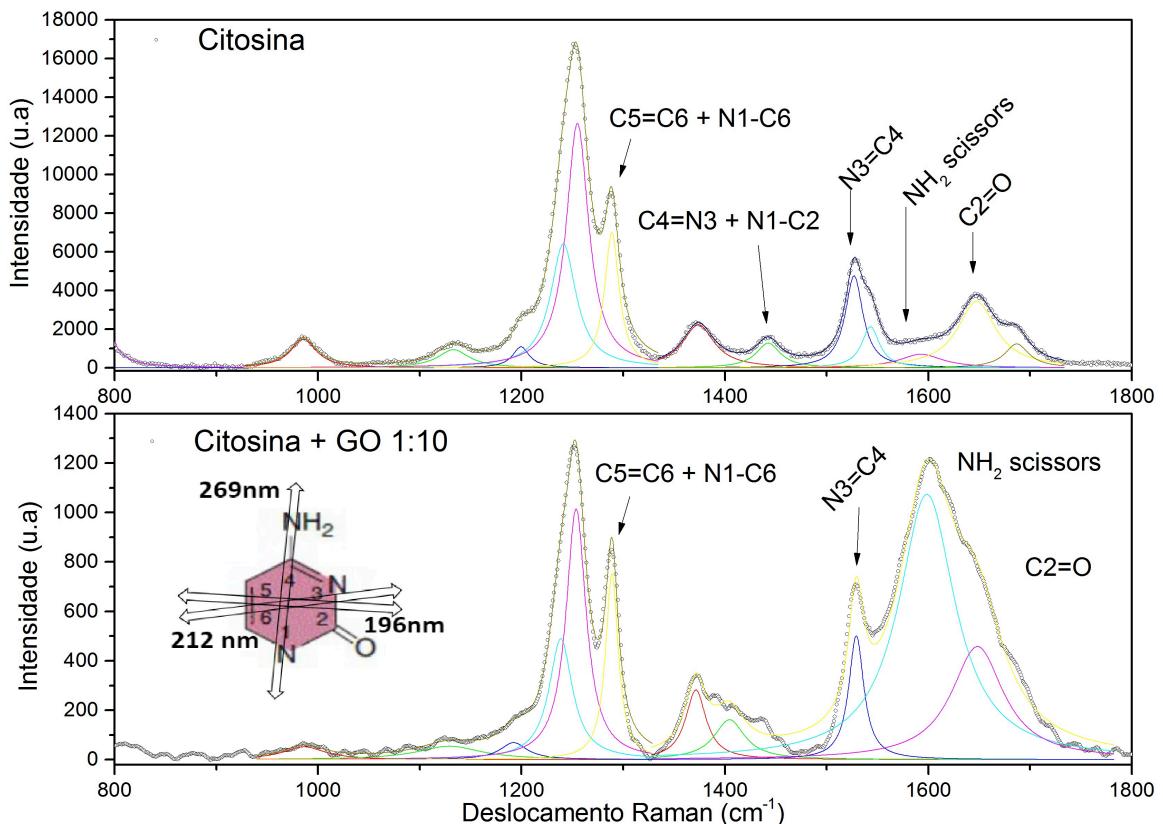
Figura 24 – Espectros Raman do compósito de Guanina e GO na proporção 1:10 comparado ao espectro da base pura



Analisando agora os espectros das pirimidinas, também é observada uma modificação no espectro Raman em torno de 1600 cm^{-1} , como mostra a figura 25 com a mesma comparação para citosina. Esta região é atribuída a modos vibracionais das ligações $\text{C}_2=\text{O}$, NH_2 e $\text{C}_4=\text{N}_3$. No entanto, em relação às transições eletrônicas, experimentos de Raman ressonante (KUBASEK; HUDSON; PETICOLAS, 1985)(FODOR *et al.*, 1985) indicam que cada um destes modos é associado a transições eletrônicas com energias distintas. Como é possível ver na figura da molécula de citosina com os momentos de dipolo, a transição em 269 nm é fortemente polarizada no sentido da ligação NH_2 , enquanto que a $\text{C}_2=\text{O}$ é mais próxima da polarização de transições em energias mais altas, associadas a comprimentos de onda abaixo de 210 nm. A julgar pela diminuição de intensidade observada no espectro de AO em torno de 269 nm, a interação GO-citosina é próxima o suficiente para interferir na magnitude do momento de dipolo de transição, mas pelo fato de não ser observado deslocamento de banda, a estrutura eletrônica envolvida nestas transições, em princípio, não se altera por causa desta interação. Combinado isto com a região modificada no espectro Raman do compósito, a interação GO-Citosina parece se

dar lateralmente pelo oxigênio ligado ao carbono C2, o que poderia ser verificado com um espectro de AO medido em comprimentos de onda menores.

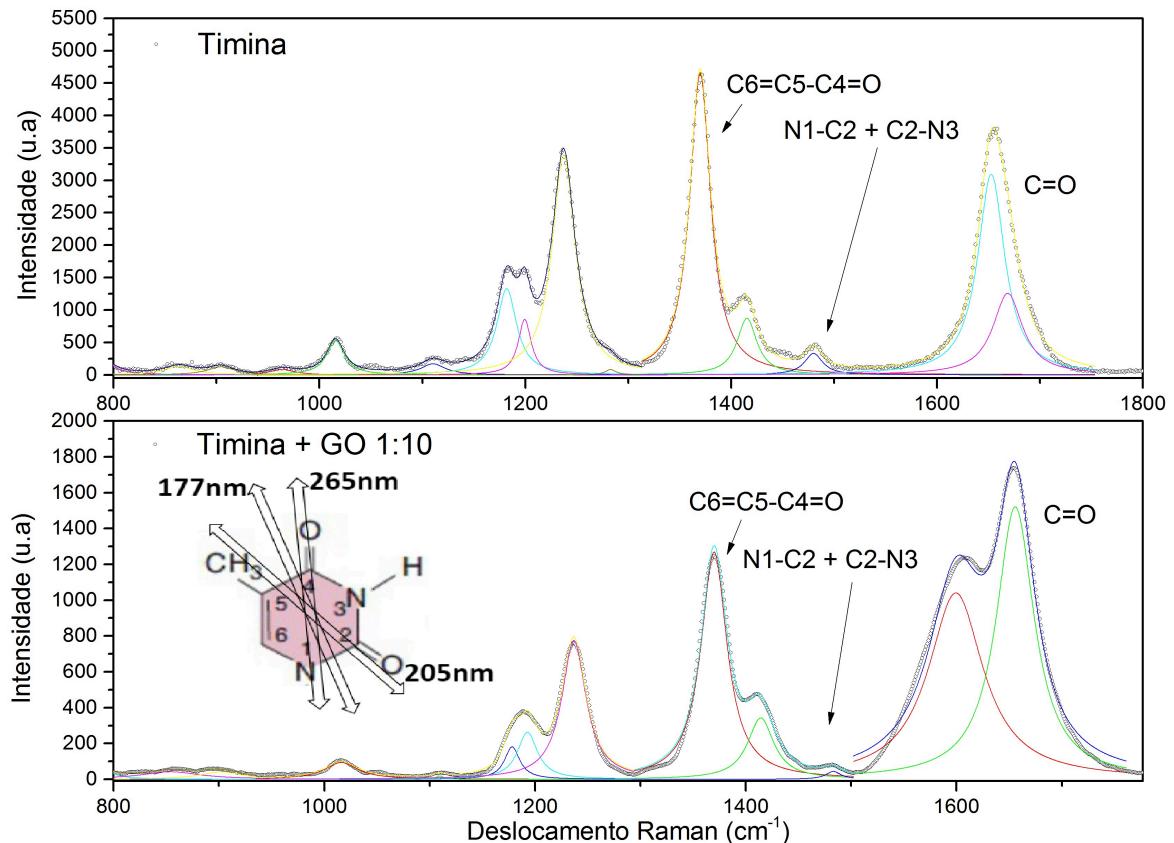
Figura 25 – Espectros Raman do compósito de Citosina e GO na proporção 1:10 comparado ao espectro da base pura



A figura 26 a seguir apresenta estes resultados para timina e seu compósito na proporção de 1:10. A modificação mais intensa no espectro, neste caso, se dá na região atribuída às ligações C=O. Também há uma diminuição de intensidade na banda em torno de 1480 cm^{-1} , atribuída a modos acoplados dos átomos N1-C2 + C2-N3. A figura da molécula de timina com as representações dos momentos de dipolo de transição indicam que a transição em 265 nm e a transição 205 nm é fortemente polarizada nas direções das ligações C4=O e C2=O, respectivamente. Esta última transição de maior energia, no entanto, não pôde ser estudada devido à limitação do equipamento de AO, de modo que seu comportamento devido à presença do GO não é conhecido. Mas pelo fato dos espectros de AO da timina não apresentarem deslocamentos de bandas, variando apenas a intensidade quando comparada a base pura com seu compósito, podemos inferir que a interação GO-timina deve ocorrer pelo lado do oxigênio ligado ao carbono C2. Esta

interação não é próxima o suficiente para haver transferência de carga, mas é suficiente para interferir na magnitude do momento de dipolo de transição associado à transição em torno 265 nm, assim como foi discutido para citosina, que também é pirimidina.

Figura 26 – Espectros Raman do compósito de Timina e GO na proporção 1:10 comparado ao espectro da base pura



5 Conclusões

O estudo realizado fez uso de técnicas de espectroscopia óptica para caracterizar uma amostra do óxido de grafeno (GO), as quatro bases que compõe o DNA e, por fim, compósitos feitos a partir da mistura de cada uma das bases com o GO. As técnicas utilizadas foram a absorção óptica (AO) e a espectroscopia Raman.

As medidas de AO revelaram a região do espectro eletromagnético onde as bases absorvem luz. Dentro desta região, que vai de aproximadamente 200 até 300 nm, as quatro bases apresentaram bandas em torno de 260 nm, as quais são características da sua estrutura e advém de transições do tipo $\pi - \pi^*$. Em relação ao GO, três bandas foram identificadas, das quais uma também advém de transição $\pi - \pi^*$, em 237 nm, e outras duas, deslocadas para energias menores, surgem de transições de elétrons provenientes de heterátomos, como oxigênio (transição $n - \pi^*$), e de estados localizados provenientes de defeitos.

Em seguida, os espectros de espalhamento Raman permitiram a identificação dos modos vibracionais tanto das bases, quanto do GO. Neste, a presença de bandas associadas a defeitos foi observada, bem como bandas que sugerem a formação de alguns aglomerados, como nanocristais de grafeno. Já para as bases, o Raman revelou bandas características de cada uma, o que permite diferenciá-las em análises de DNA, por exemplo, e também revelou alguns modos dos quais pudemos identificar e separar as regiões do espectro de acordo com os tipos de ligações. A partir disto, foi possível correlacionar com os dados de AO para associar as bandas de absorção com modos vibracionais envolvidos no processo.

Os espectros de AO apresentaram variações de intensidades quando comparados o valores máximos do coeficiente de absorção molar de cada base com seu respectivo compósito. A razão entre estes valores se mostrou maior em bases purinas do que em pirimidinas, sugerindo que a interação do GO com as primeiras se dê de maneira mais próxima. Ainda em relação às purinas, foram observados deslocamentos e variações nas larguras das bandas de absorção, indicando interações envolvendo possíveis transferência de carga entre estas bases e o GO, visto que estas variações estão associadas aos níveis de energia das moléculas. Em relação à espectroscopia Raman, os resultados apresentaram modificações significativas nos espectros em regiões similares para os compósitos, quando comparados com os espectros das bases individuais. Os quatro compósitos apresentaram

mudanças mais significativas em torno de 1600 cm^{-1} , região esta que está associada às transições eletrônicas em torno de 260 nm, como observado nos espectros de AO das bases purinas, o que corrobora com os deslocamentos e alterações de larguras das bandas de absorção. Já em bases pirimidinas, os modos vibracionais associados a esta região dos espectros Raman estão associados a transições de mais altas energias, as quais ocorrem abaixo de 210 nm no espectro AO. Estes resultados sugerem, então, que a interação do GO com bases purinas seja, de fato, do tipo π -stacking, mas que com pirimidinas seja mais fraca. No entanto, é necessário um estudo mais aprofundado, analisando regiões em comprimentos de onda menores que os estudados aqui na AO, para obter mais informações e inferir sobre o tipo de interação.

Referências¹

- BLOOMFIELD, V. a; CROTHERS, D. M.; TINOCO, I. *Nucleic Acids: structures, properties and functions.* [S.l.]: University Science Books, 1973.
- BRAUER, B.; GERBER, R. B.; KABELÁČ, M.; HOBZA, P.; BAKKER, J. M.; RIZIQ, A. G. A.; VRIES, M. S. de. Vibrational spectroscopy of the g · · · c base pair: Experiment, harmonic and anharmonic calculations, and the nature of the anharmonic couplings. *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 109, n. 31, p. 6974–6984, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jp051767m>>.
- CHARLIER, J. C.; EKLUND, P. C.; ZHU, J.; FERRARI, A. C. Electron and phonon properties of graphene: Their relationship with carbon nanotubes. In: JORIO, A.; DRESSELHAUS, G.; DRESSELHAUS, M. S. (Ed.). *Carbon Nanotubes. Topics in Applied Physics, vol 111.* Springer, Berlin, Heidelberg, 2007. p. 673–709. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-540-72865-8_21>.
- CHOU, P.-J.; JOHNSON, W. C. Base inclinations in natural and synthetic dnas. *Journal of the American Chemical Society*, v. 115, n. 4, p. 1205–1214, 1993. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ja00057a001>>.
- CLARK, L. B.; TINOCO, I. Correlations in the ultraviolet spectra of the purine and pyrimidine bases. *Journal of the American Chemical Society*, v. 87, n. 1, p. 11–15, 1965. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ja01079a003>>.
- DREYER, D. R.; PARK, S.; BIELAWSKI, C. W.; RUOFF, R. S. The chemistry of graphene oxide. *Chem. Soc. Rev.*, The Royal Society of Chemistry, v. 39, p. 228–240, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/B917103G>>.
- DUCHESNE, J. *Physico-chemical Properties of Nucleic Acids.* [S.l.]: Academic Press Inc, 1973. v. 2.
- FERRARI, A. C.; ROBERTSON, J. Interpretation of raman spectra of disordered and amorphous carbon. *Phys. Rev. B*, American Physical Society, v. 61, p. 14095–14107, May 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1103/PhysRevB.61.14095>>.
- FODOR, S. P. A.; RAVA, R. P.; HAYS, T. R.; SPIRO, T. G. Ultraviolet resonance raman spectroscopy of the nucleotides with 266-, 240-, 218-, and 200-nm pulsed laser excitation. *Journal of the American Chemical Society*, v. 107, n. 6, p. 1520–1529, 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ja00292a012>>.
- FREIRE, P.; BARBOZA, F.; JR, J. Alves de L.; MELO, F.; FILHO, J. Raman spectroscopy of amino acid crystals. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5772/65480>>.
- GONÇALVES, G.; MARQUES, P.; VILA, M. *Graphene-based Materials in Health and Environment.* Springer International Publishing Switzerland, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/978-3-319-45639-3>>.
- GRIFFITHS, A. J. F. *Introdução à Genética.* 11. ed. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2016.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

GUIMARÃES, L. de M. *Perfis de espalhamento Raman ressonante em estruturas unidimensionais de carbono: cadeias lineares e nanotubos quiralmente enriquecidos.* Tese (Doutorado) — Universidade Federal de Minas Gerais, 2011. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1843/BUOS-8SYHWD>>.

HU, J.-F.; FENG, L.; ZHANG, W.-X.; LI, Y.; LU, Y.-X. Detection of dna bases using fe atoms and graphene. *Chinese Physics Letters*, IOP Publishing, v. 33, n. 1, p. 017901, jan 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1088%2F0256-307x%2F33%2F1%2F017901>>.

HUMMERS, W. S.; OFFEMAN, R. E. Preparation of graphitic oxide. *Journal of the American Chemical Society*, v. 80, n. 6, p. 1339–1339, 1958. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ja01539a017>>.

JORIO, A.; SAITO, R.; DRESSELHAUS, G.; DRESSELHAUS, M. S. *Raman Spectroscopy in Graphene Related Systems*. WILEY-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/9783527632695>>.

KANIYOOR, A.; RAMAPRABHU, S. A raman spectroscopic investigation of graphite oxide derived graphene. *AIP Advances*, v. 2, n. 3, p. 032183, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1063/1.4756995>>.

KUBASEK, W. L.; HUDSON, B.; PETICOLAS, W. L. Ultraviolet resonance raman excitation profiles of nucleic acid bases with excitation from 200 to 300 nanometers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, National Academy of Sciences, v. 82, n. 8, p. 2369–2373, 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1073/pnas.82.8.2369>>.

LEI, H.; MI, L.; ZHOU, X.; CHEN, J.; HU, J.; GUO, S.; ZHANG, Y. Adsorption of double-stranded dna to graphene oxide preventing enzymatic digestion. *Nanoscale*, The Royal Society of Chemistry, v. 3, p. 3888–3892, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C1NR10617A>>.

LIANG, H. F.; SMITH, C. T. G.; MILLS, C. A.; SILVA, S. R. P. The band structure of graphene oxide examined using photoluminescence spectroscopy. *J. Mater. Chem. C*, The Royal Society of Chemistry, v. 3, p. 12484–12491, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C5TC00307E>>.

LIU, S.; ZENG, T. H.; HOFMANN, M.; BURCOMBE, E.; WEI, J.; JIANG, R.; KONG, J.; CHEN, Y. Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: Membrane and oxidative stress. *ACS Nano*, v. 5, n. 9, p. 6971–6980, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/nn202451x>>.

MAXWELL, J. C. Viii. a dynamical theory of the electromagnetic field. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, v. 155, p. 459–512, 1865. Disponível em: <<https://doi.org/10.1098/rstl.1865.0008>>.

MISHRA, P. Vibrational structures and intensity distributions in the electronic absorption spectra of nucleic acid bases: evidence for non-planarity of guanine. *Journal of Molecular Structure*, v. 144, n. 3, p. 309 – 317, 1986. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0022-2860\(86\)85009-8](https://doi.org/10.1016/0022-2860(86)85009-8)>.

MOVASAGHI, Z.; REHMAN, S.; IHTESHAM, D.; REHMAN ur. Raman spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, Taylor and Francis, v. 42, n. 5, p. 493–541, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/05704920701551530>>.

MOVASAGHI, Z.; REHMAN, S.; IHTESHAM, D.; REHMAN ur. Fourier transform infrared (ftir) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, Taylor and Francis, v. 43, n. 2, p. 134–179, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/05704920701829043>>.

NANDA, S.; YI, D.; KIM, K. Study of antibacterial mechanism of graphene oxide using raman spectroscopy. *Sci Rep*, v. 6, n. 28443, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/srep28443>>.

OTTO, C.; van den Tweel, T.; de Mul, F.; GREVE, J. Surface-enhanced raman spectroscopy of dna bases. *Journal of raman spectroscopy*, Wiley, v. 17, n. 3, p. 289–298, 1986. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ja800023j>>.

PIMENTA, M. A.; DRESSELHAUS, G.; DRESSELHAUS, M. S.; CANÇADO, L. G.; JORIO, A.; SAITO, R. Studying disorder in graphite-based systems by raman spectroscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, The Royal Society of Chemistry, v. 9, p. 1276–1290, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/B613962K>>.

PRESCOTT, B.; STEINMETZ, W.; JR., G. J. T. Characterization of dna structures by laser raman spectroscopy. *Biopolymers*, v. 23, n. 2, p. 235–256, 1984. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/bip.360230206>>.

SALA, O. *Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho*. [S.l.]: São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996.

SANTOS, D. M. dos. Caracterização por espectroscopia raman do ácido desoxirribonucleico (dna) de parasitos do gênero leishmania irradiados e não irradiados com radiação ionizante. *Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação em Física Médica)*, Univeresidade Federal de Uberlândia, v. 87f, 2017. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/20538>>.

SUVARNAPHAET, P.; PECHPRASARN, S. Graphene-based materials for biosensors: A review. *Sensors*, v. 17, n. 10, p. 2161, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/s17102161>>.

TANG, Z.; WU, H.; CORT, J. R.; BUCHKO, G. W.; ZHANG. Constraint of dna on functionalized graphene improves its biostability and specificity. *Small*, v. 6, n. 11, p. 1205–1209, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/smll.201000024>>.

VALEUR, B. *Molecular Fluorescence: Principles and Applicantions*. WILEY-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/3527600248>>.

YANG, X.; ZHANG, X.; LIU, Z.; MA, Y.; HUANG, Y.; CHEN, Y. High-efficiency loading and controlled release of doxorubicin hydrochloride on graphene oxide. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 112, n. 45, p. 17554–17558, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jp806751k>>.

ZHANG, Y.; PETIBONE, D.; XU, Y.; MAHMOOD, M.; KARMAKAR, A.; CASCIANO, D.; ALI, S.; BIRIS, A. S. Toxicity and efficacy of carbon nanotubes and graphene: the utility of carbon-based nanoparticles in nanomedicine. *Drug Metabolism Reviews*, Taylor and Francis, v. 46, n. 2, p. 232–246, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.3109/03602532.2014.883406>>.

Anexo A – Espectros Raman - Comparação entre as diferentes concentrações de GO para cada base

Figura 27 – Espectros Raman dos compósitos de Guanina e GO comparados ao espectro da base pura

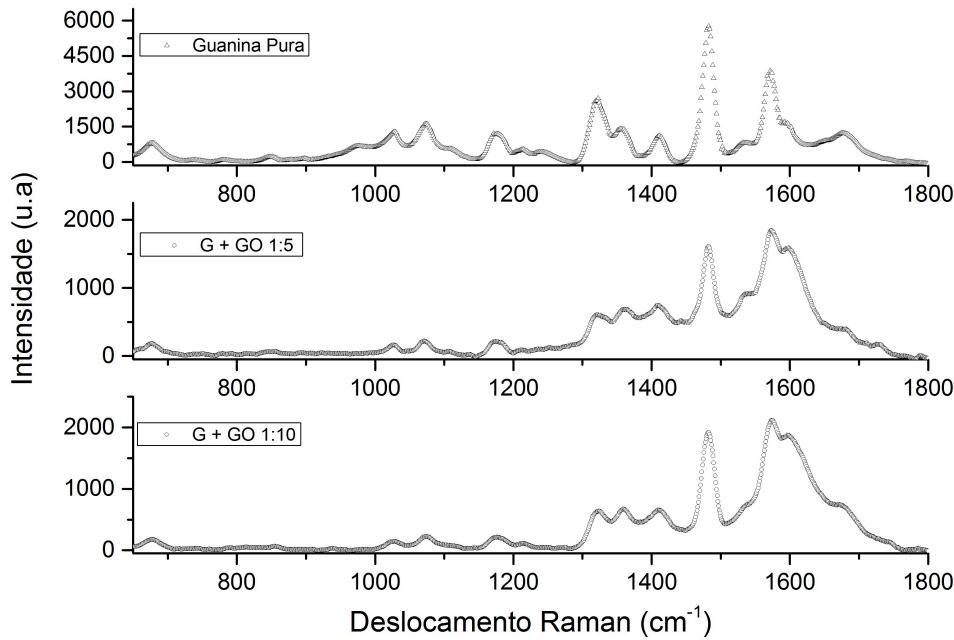


Figura 28 – Espectros Raman dos compósitos de Citosina e GO comparados ao espectro da base pura

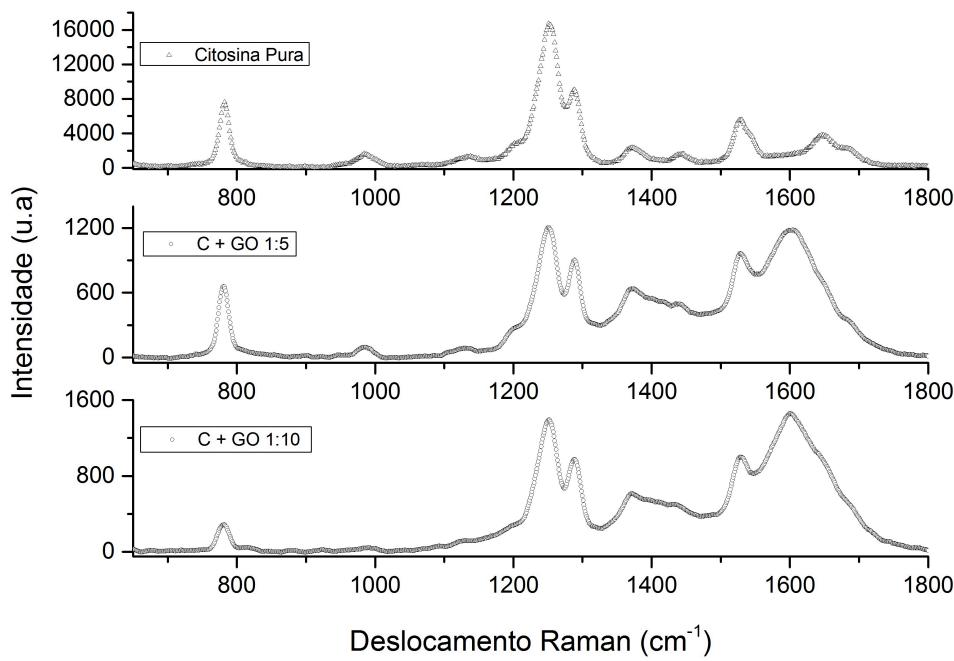
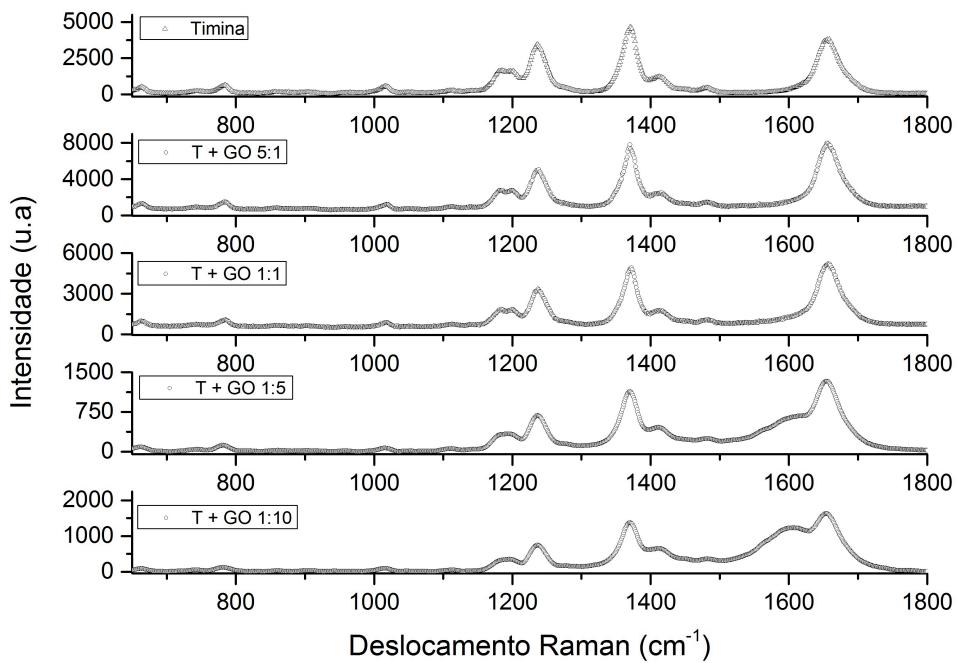
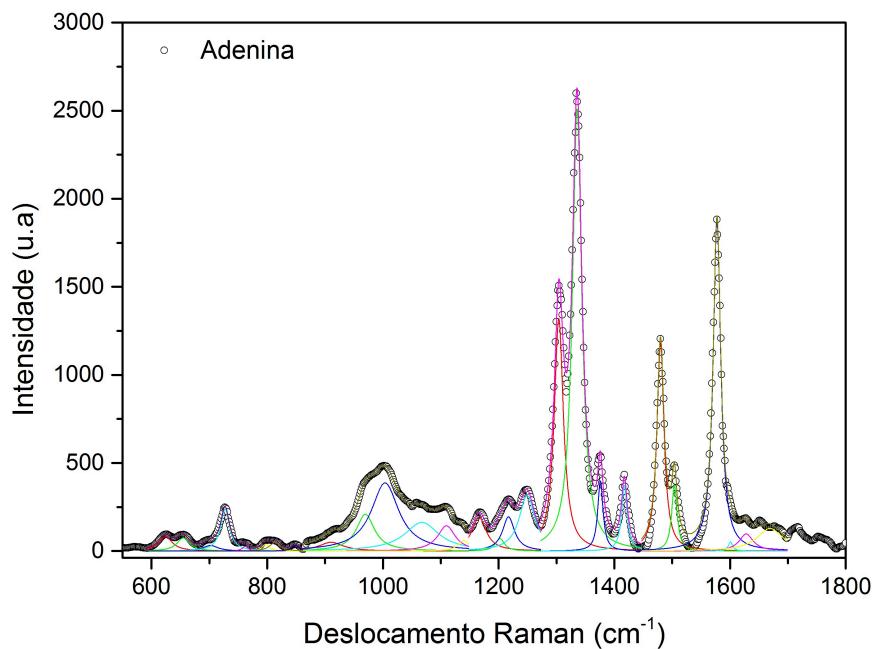


Figura 29 – Espectros Raman dos compósitos de Timina e GO comparados ao espectro da base pura



Anexo B – Espectros Raman - Ajustes das bases puras

Figura 30 – Ajuste do espectro Raman da Adenina



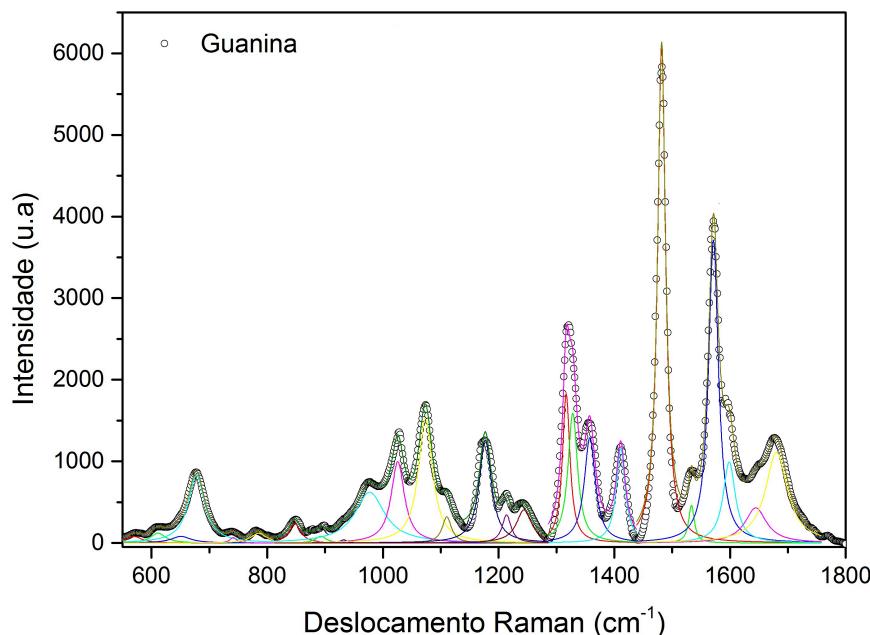
Quadro 8 – Atribuições de modos normais de vibração para Adenina

$\bar{\nu}(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
624	Torção C-C, CN-NCC	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
655	Adenina	(PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
702	Modos angulares fora do plano	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
727	Modos angulares fora do plano do grupo amina, anel de Adenina	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
797	Banda sem atribuição	
813	Deformação CH	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
848	Estiramento CC	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (FREIRE <i>et al.</i> , 2017)
910	Estiramento da ligação CC	(FREIRE <i>et al.</i> , 2017)
969	Banda sem atribuição	
1003	Estiramento da ligação CC, estiramento do anel por modos de torção no plano de CH, anel aromático Adenina	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (FREIRE <i>et al.</i> , 2017)

Quadro 9 – Atribuições de modos normais de vibração para Adenina - Continuação

$\bar{\nu}(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
1065	Banda sem atribuição	
1109	Banda sem atribuição	
1166	Estiramento CC	(FREIRE <i>et al.</i> , 2017)
1217	Adenina	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008)
1249	Adenina, Ligações CN e CH	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (PREScott; STEINMETZ; JR., 1984)
1304	Adenina e modos do grupo CH ₂	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (PREScott; STEINMETZ; JR., 1984)
1336	Adenina, ligação CN, movimento de scissoring de ligações CH	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (PREScott; STEINMETZ; JR., 1984) (FREIRE <i>et al.</i> , 2017)
1376	Respiração do anel de base purínica, ligações CN, Adenina	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (FREIRE <i>et al.</i> , 2017) (PREScott; STEINMETZ; JR., 1984)
1417	Adenina, ligações CH	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (FREIRE <i>et al.</i> , 2017) (PREScott; STEINMETZ; JR., 1984)
1480	Adenina, Benzeno	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PREScott; STEINMETZ; JR., 1984)
1504	Modos angulares no plano das ligações CH, respiração do anel	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PREScott; STEINMETZ; JR., 1984)
1577	Vibração ligação C=N, respiração do anel	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PREScott; STEINMETZ; JR., 1984)
1601	Vibração Adenina	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)

Figura 31 – Ajuste do espectro Raman da Guanina



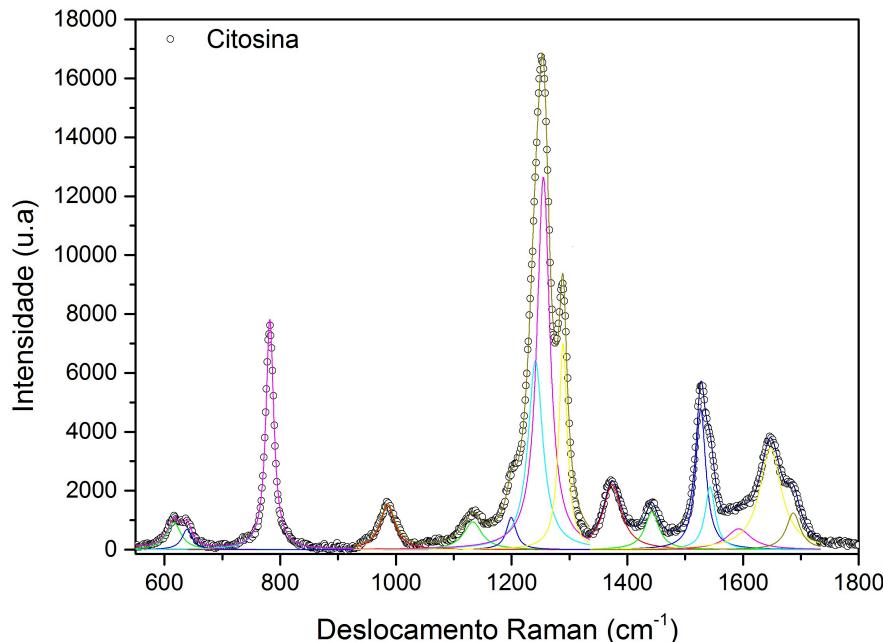
Quadro 10 – Atribuições de modos normais de vibração para Guanina

$\bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$	Modo de vibração	Referências
611	Cisalhamento de anel	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005)
651	Guanina, modo de anel	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
677	Guanina, respiração do anel	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
741	Estiramento de anel, vibrações angulares fora do plano	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
785	Modo fora do plano ligação NH, Guanina	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
847	Respiração anel de tirosina	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008)
893	Modos da ligação C-C	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
932	Modo angular no plano do grupo NCN	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (BRAUER <i>et al.</i> , 2005)
1025	Vibrações NH, modo angular ligações CH	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1073	Abanamento do grupo NH_2 , estiramento CN, vibrações C-C	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)

Quadro 11 – Atribuições de modos normais de vibração para Guanina - Continuação

$\bar{\nu}(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
1110	Estiramento CC	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1176	Vibrações CN, CNH Guanina	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008)
1213	Estiramento de anel, Modo angular ligação CH, estiramento ligação NH	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008)
1243	Guanina, amida III	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1327	Guanina, amida III	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1328	Guanina, estiramento CN, modo angular ligação NH, abanamento grupo CH_3CH_2	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1357	Estiramento de anel, modo angular ligação NH, deformação de C-H e N-H	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1411	Modo angular no plano ligação NH, deformação C-H, N-H	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1482	Respiração de anel, amida II C-H acoplada com anel	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1533	Guanina	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1571	Guanina, amida II	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1598	Amida I, estiramento C=O	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1680	Estiramento C=O, C=C	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)

Figura 32 – Ajuste do espectro Raman da Citosina



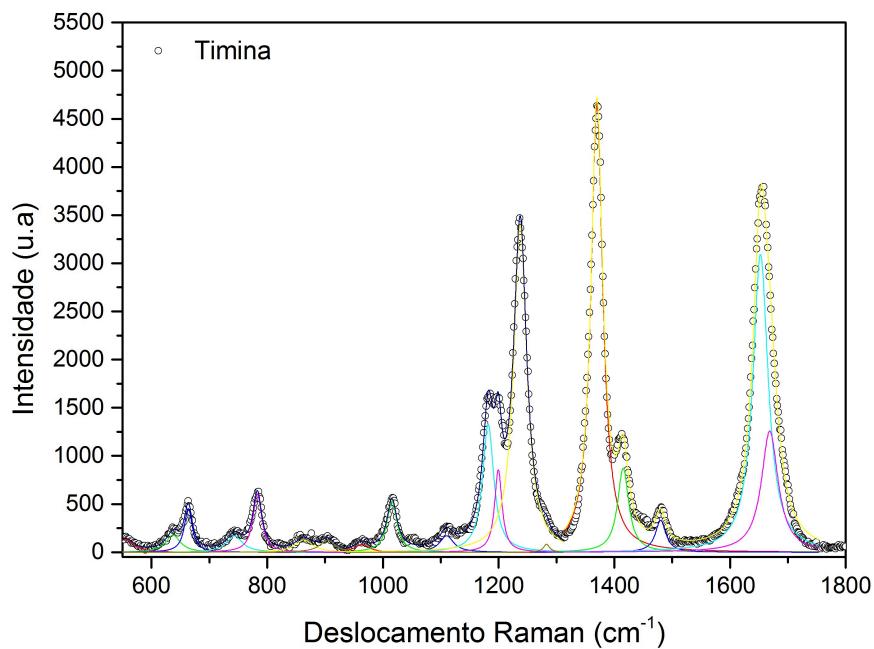
Quadro 12 – Atribuições de modos normais de vibração para Citosina

$\bar{\nu}(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
616	Citosina, C=O+NR+CN, torção C-C	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008)
639	Vibração angular fora do plano ligações CH	(PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
782	Citosina, respiração de anel, vibrações angulares fora do plano	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
985	Vibrações CH e CH fora do plano	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (BRAUER <i>et al.</i> , 2005)
1199	Modo angular do grupo COH	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008)
1241	Sem atribuição	(OTTO <i>et al.</i> , 1986)
1255	Citosina	(PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1288	Vibrações NC + C=C, Citosina, deformação NH	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1373	Vibrações N=C - C=C, estiramento C-C	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)

Quadro 13 – Atribuições de modos normais de vibração para Citosina - Continuação

$\bar{\nu}(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
1526	Vibração no plano C=C, estiramento C=C e C=N	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1593	Estiramento CN e CC, Modo NH ₂ e vibrações da ligação C=N	(BRAUER <i>et al.</i> , 2005) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1647	Estiramento C=O, vibração ligações O=C-NC	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)

Figura 33 – Ajuste do espectro Raman da Timina



Quadro 14 – Atribuições de modos normais de vibração para Timina

$\bar{\nu}(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
637	Vibrações angulares de OH fora do plano	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
663	Vibrações angulares de CH fora do plano, Timina	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
743	Modos fora do plano, anel de Timina	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESCOTT; STEINMETZ; JR., 1984)

Quadro 15 – Atribuições de modos normais de vibração para Timina - Continuação

$\bar{\nu}(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
783	Respiração do anel de Timina	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
863	Vibrações angulares fora do plano	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
904	Vibrações angulares fora do plano	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
963	Modo tesoura de C=O	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1015	Estiramento C-C, OCH	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1110	Estiramento CC e modo angular CH	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1181	Amida III, ligações CH e CN	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1199	Vibrações das ligações CH e CN	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1237	Amida III	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1283	Deformação N-H Amida III	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1370	Deformação C-H e N-H, respiração de anel	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1415	Deformação C-H e N-H, estiramento C-N	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESOTT; STEINMETZ; JR., 1984)
1480	Amida II	(MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1652	Amida I, Ligações C=O	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007)
1668	Estiramento C=O, grupo carbonil	(OTTO <i>et al.</i> , 1986) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2008) (MOVASAGHI <i>et al.</i> , 2007) (PRESOTT; STEINMETZ; JR., 1984)

Anexo C – Espectros Raman - Ajuste dos compósitos

Figura 34 – Ajuste do espectro Raman da Adenina + GO 1:1

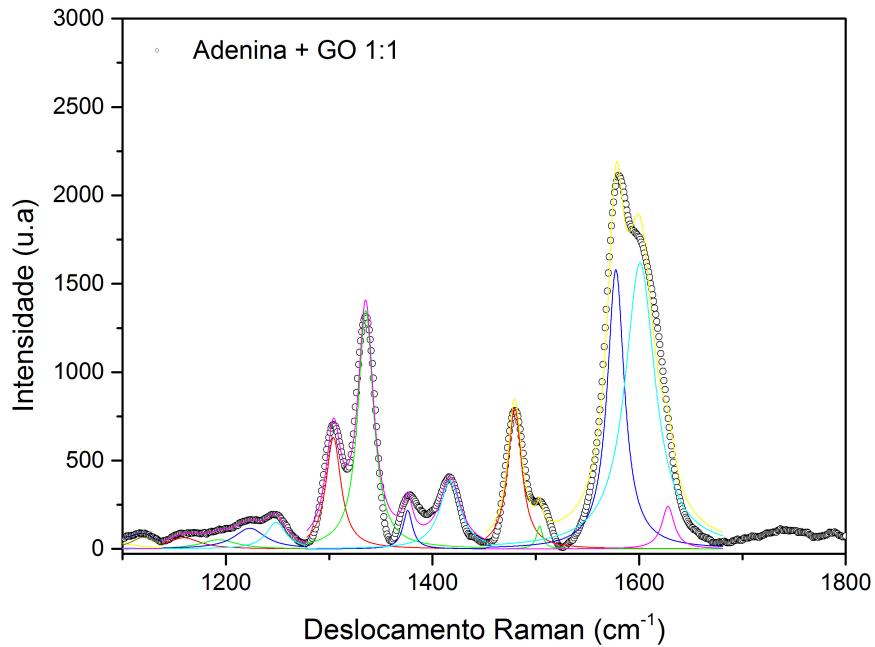


Figura 35 – Ajuste do espectro Raman da Adenina + GO 1:10

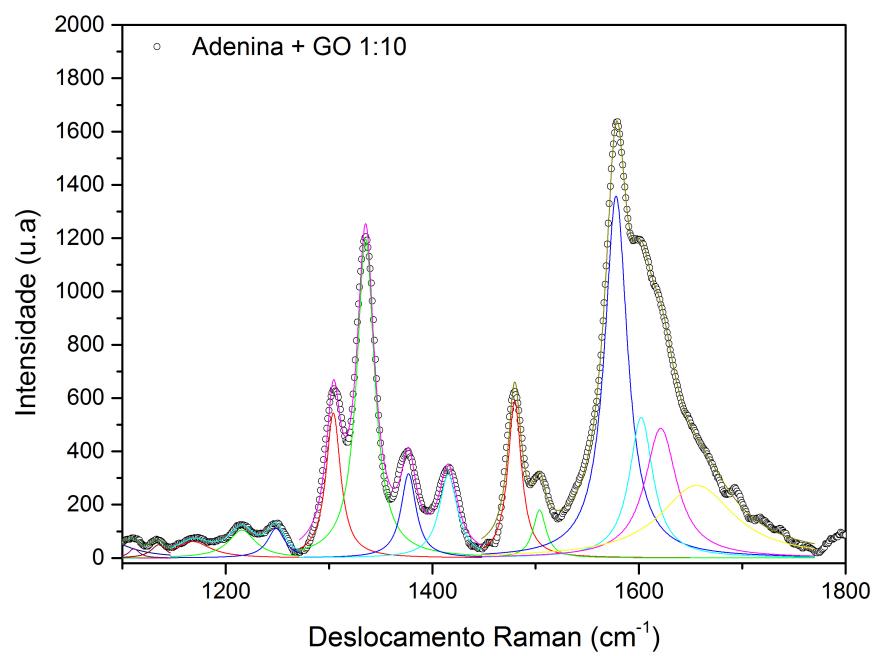


Figura 36 – Ajuste do espetro Raman da Adenina + GO 5:1

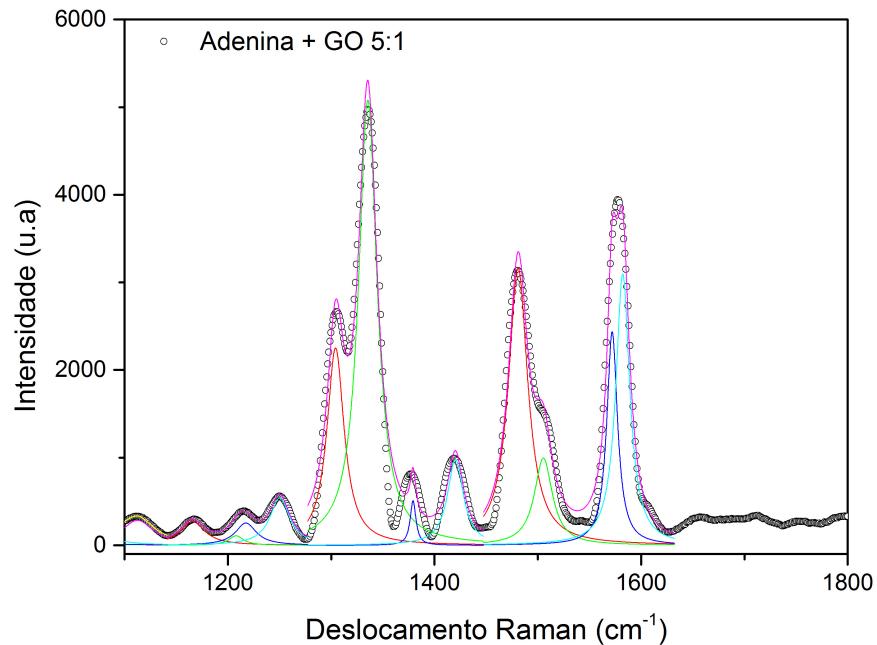


Figura 37 – Ajuste do espetro Raman da Guanina + GO 1:10

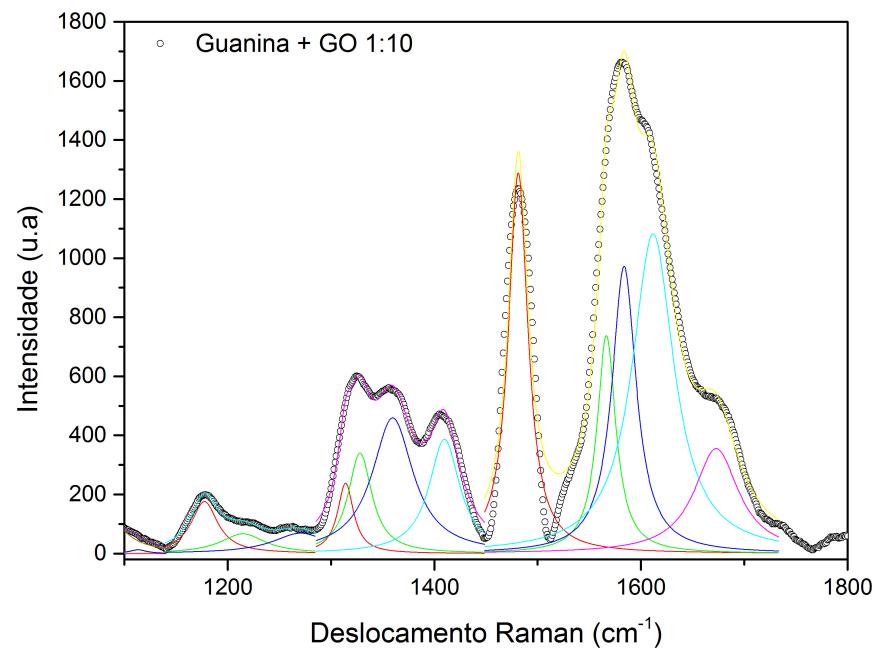


Figura 38 – Ajuste do espectro Raman da Citosina + GO 1:10

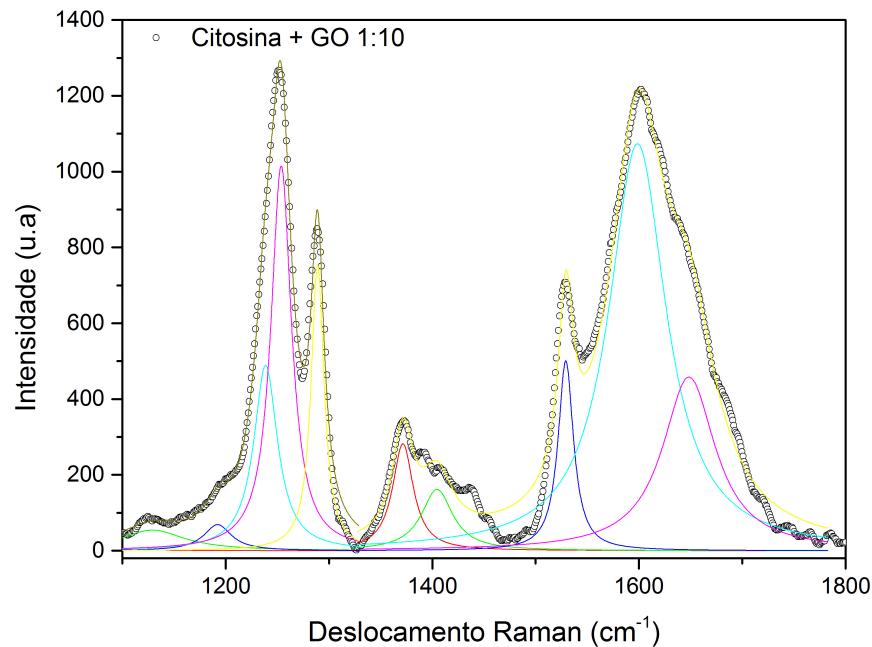


Figura 39 – Ajuste do espectro Raman da Timina + GO 1:1

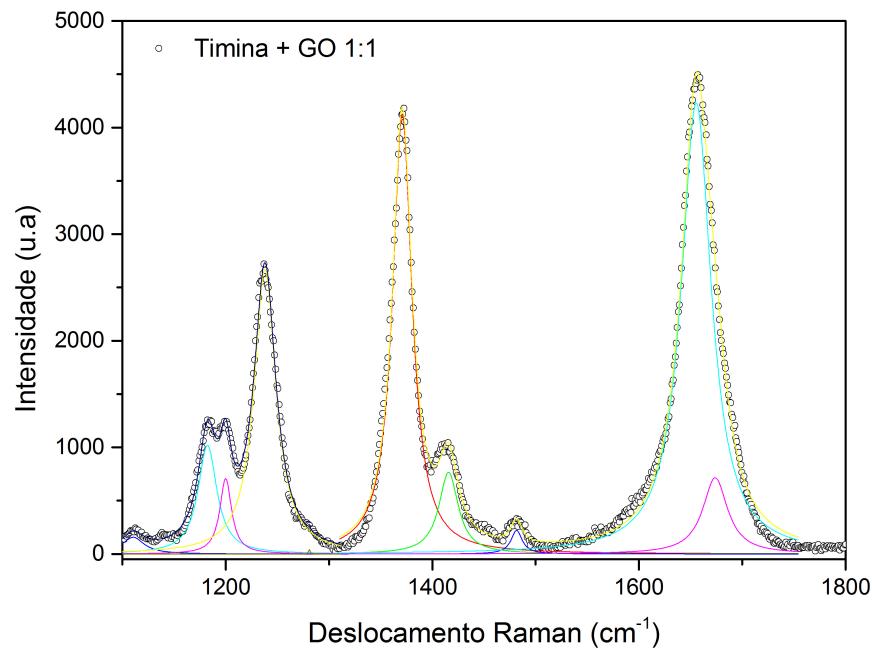


Figura 40 – Ajuste do espectro Raman da Timina + GO 1:10

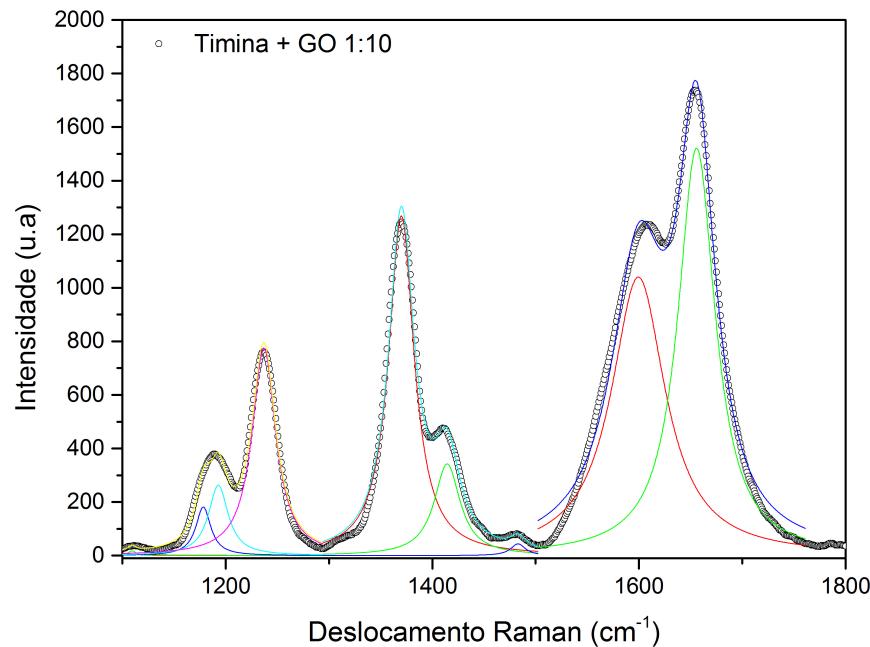


Figura 41 – Ajuste do espectro Raman da Timina + GO 5:1

