

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

PEDRO HENRIQUE DONDORI ZARAMELLA

**ANÁLISE VIBRACIONAL E ESPACIAL DE ÓXIDO DE GRAFENO E
DNTPs**

Uberlândia

2020

PEDRO HENRIQUE DONDORI ZARAMELLA

**ANÁLISE VIBRACIONAL E ESPACIAL DE ÓXIDO DE GRAFENO E
DNTPs**

Versão original

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).

Z36 Zaramella, Pedro Henrique Dondori, 1996-
2020 Análise vibracional e espacial de óxido de grafeno e dNTPs
[recurso eletrônico] / Pedro Henrique Dondori Zaramella. - 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.2020.300>
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

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



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



PEDRO HENRIQUE DONDORI ZARAMELLA

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

Prof^a. Dra. Raigna Augusta da Silva
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Prof. Dr. Alexandre Marletta
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Prof^a Dra. Clascidia Aparecida Furtado
Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear – CDTN/BH

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais por tudo que fazem por mim.

Aos companheiros do Grupo de Espectroscopia de Materiais, Júlio, Fernando, Roberto, Silésia, Francisco e Danilo. Agradeço a todos os colegas e amigos presentes durante este tempo de mestrado.

Agradeço à professora Dra. Raigna pela paciência, apoio e conhecimento durante esse tempo, ao Prof. Dr. Sydnei Magno da Silva do ICBIM/UFU pelas amostras biológicas e à Dra. Clascídia A. Furtado do CDTN/CNEN pelas amostras de Grafeno Oxidado.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Física e ao Instituto de Física por tudo que foi disponibilizado durante essa dissertação. Por fim, agradeço as Agências de Fomento, que permitiram a realização dessa pesquisa, CAPES, CNPq e Fapemig.

*“A imaginação muitas vezes nos leva a mundos que nunca existiram, mas sem isso nós
não vamos a lugar algum.”
(Carl Sagan)*

RESUMO

ZARAMELLA, Pedro Henrique Dondori. **Análise vibracional e espacial de óxido de grafeno e dNTPs**. 2020. 135 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

Este trabalho trata do estudo da interação entre o grafeno oxidado (GO) e dNTPs (Desoxinucleotídeos trifosfato)- dATP, dCTP, dGTP e dTTP; dois materiais amplamente estudados e aplicáveis na área da nanomedicina. Os materiais foram caracterizados através de espectroscopia Raman e do método de escaneamento de superfície chamado AFM (“*atomic force microscopy*”), de forma individual e em compósito. Do grafeno oxidado, pudemos analisar suas bandas características através de seu espectro vibracional e os perfis de suas folhas através das imagens de superfície. Quanto às bases constituintes do DNA, foi realizada uma atribuição dos modos vibracionais correspondentes a cada um de seus grupamentos. A caracterização individual dos materiais foi feita para a comparação com os compósitos de modo a detectar alterações provocadas pela interação dos materiais. Neste trabalho, pudemos inferir após a análise e comparação de espectros e perfis de superfície dos compósitos, que há uma diferente interação entre as bases classificadas como purinas (dATP e dGTP) e pirimidinas (dCTP e dTTP) com o grafeno oxidado.

Palavras-chaves: Grafeno, Raman, dNTPs, AFM.

ABSTRACT

This work is about the study of the interaction between oxidized graphene (GO) and dNTPs (Deoxynucleotides triphosphate) - dATP, dCTP, dGTP and dTTP; two materials widely studied and applied in the field of nanomedicine. The materials were characterized using Raman spectroscopy and the surface scanning method called AFM (*“atomic force microscopy”*), individually and in a composite. From the oxidized graphene, we were able to analyze its characteristic bands through its vibrational spectrum and the profiles of its leaves through the surface images. As for the constituent bases of DNA, an assignment of the vibrational modes corresponding to each of its groups was carried out. The individual characterization of the materials was made for comparison with the composites in order to detect changes caused by the interaction of the materials. In this work, we were able to infer after analyzing and comparing spectra and surface profiles of composites, that there is a different interaction between the bases classified as purines (dATP and dGTP) and pyrimidines (dCTP and dTTP) with oxidized graphene.

Keywords: Graphene, Raman, DNA, AFM.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração demonstrando a oscilação dos campos elétrico e magnético e direção de propagação da onda.	20
Figura 2 – Propriedades da onda eletromagnética. Fonte: Holler, 2009.	21
Figura 3 – Espectro eletromagnético apresentando as diferentes frequências das ondas eletromagnéticas e suas aplicações.	22
Figura 4 – Níveis eletrônicos e seus estados intermediários. Fonte: Ferraro,2003. (modificado)	24
Figura 5 – Representação de uma molécula diatômica com massas m_1 e m_2 e constante de mola k, Fonte: Sala, 2008.	25
Figura 6 – Diferentes mecanismos de espalhamento. Fonte: Chalmers, 2002. (modificado)	35
Figura 7 – a) <i>Cantilever</i> de silício e b) Ampliação da imagem anterior com foco na ponta na extremidade do componente. Fonte: Alessandrini, 2005.	37
Figura 8 – Representação do comportamento da ponta no modo de contato intermitente. Fonte: Alessandrini, 2005.	38
Figura 9 – Grafeno (cima) e seus derivados: Fulereno (esquerda); Nanotubo (centro) e grafite (direita). Fonte: Randviir, Brownson e Banks 2014.	39
Figura 10 – Métodos de síntese do grafeno. Fonte: Peres, N. M. R. 2009.	40
Figura 11 – Os orbitais sigma e pi do grafeno na hibridização sp^2 . Fonte: JORIO, A et al. 2011.	41
Figura 12 – Níveis de energia para a molécula de NO, explicitando a distribuição de spins distribuídos. Fonte: JORIO, A et al. 2011.	43
Figura 13 – Representação esquemática da hibridização sp . Fonte: JORIO, A et al. 2011.	43
Figura 14 – (a)Representação da célula unitária e (b) Zona de Brillouin e pontos de interesse de simetria na estrutura do grafeno. Fonte: JORIO, A et al. 2011.	44
Figura 15 – Modos vibracionais, seus tipos e frequências relacionadas. Fonte: JORIO, A et al. 2011. (modificado)	45

Figura 16 – Ilustração de como são formadas as bases, partindo de um grupamento fosfato, um açúcar e uma base nitrogenada: a) Timina; b) Citosina; c) Adenina; d) Guanina. Fonte: Amabis e Martho, 2006.	47
Figura 17 – Estrutura de nucleotídeos purínicos, pirimidínicos e as numerações de seus componentes. Fonte: Griffiths, 2008.	48
Figura 18 – Diagrama químico de um DNA desenrolado. Fonte: Griffiths, 2008. . .	48
Figura 19 – Exemplo de organização em formato dupla-hélice. Fonte: Amabis e Martho, 2006.	49
Figura 20 – Modelo de replicação semiconservativa onde as fitas azuis são os moldes e as amarelas são suas novas complementares. Fonte: Griffiths, 2008. .	50
Figura 21 – A. Transcrição de genes em sentidos opostos partindo de filamentos molde diferentes. B. Ribonucleotídios sendo adicionados em uma cadeia transcrita em formação. P = Fosfato e S = açúcar. Fonte: Griffiths, 2008.	51
Figura 22 – Representação do funcionamento de um aparelho de AFM. Fonte: Catálogo Shimadzu SPM-9600	53
Figura 23 – Representação de um aparelho de espectroscopia Raman. Fonte: ARMOND, 1999.	54
Figura 24 – Representação estrutural das bases de DNA: dATP (a), dTTP (b), dGTP (c) e dCTP (d). Sendo (a) e (c) purinas e (b) e (d) pirimidinas.	55
Figura 25 – Representação do substrato metalizado utilizado para as medidas de espectroscopia Raman em soluções.	56
Figura 26 – Espectro Raman referente ao GO em filme obtido por casting.	58
Figura 27 – Espectros Raman de materiais à base de carbono com hibridização sp^2 . Fonte: JORIO, A et al. 2011.	59
Figura 28 – Ajustes por lorentzianas da primeira região do espectro Raman do grafeno isolado.	60
Figura 29 – Esquematização dos modos de vibração para a banda G. Fonte: Beams, 2015.	61
Figura 30 – Esquematização dos modos de vibração para a banda D. Fonte: Beams, 2015.	61
Figura 31 – Ajustes por lorentzianas da segunda região do espectro Raman do grafeno isolado.	62

Figura 32 – Imagens do grafeno utilizado obtidas através de AFM. Acima duas imagens 2D e abaixo uma imagem 3D mostrando as folhas e pequenos aglomerados.	63
Figura 33 – Imagem de AFM do grafeno apresentando os pontos de análise de perfil.	64
Figura 34 – Perfis retirados da imagem de AFM do grafeno	65
Figura 35 – Espectros Raman das quatro dNTPs que compõem o DNA.	66
Figura 36 – Espectro Raman obtido da base dATP.	67
Figura 37 – Espectro Raman dATP Região I - 370 a 830cm ⁻¹	67
Figura 38 – Espectro Raman dATP Região II - 830 a 1440cm ⁻¹	68
Figura 39 – Espectro Raman dATP Região III - 1440 a 1825cm ⁻¹	69
Figura 40 – Espectro Raman obtido da base dCTP.	70
Figura 41 – Espectro Raman dCTP Região I - 380 a 900cm ⁻¹	70
Figura 42 – Espectro Raman dCTP Região II - 900 a 1330cm ⁻¹	71
Figura 43 – Espectro Raman dCTP Região III - 1330 a 1800cm ⁻¹	72
Figura 44 – Espectro Raman obtido da base dGTP.	73
Figura 45 – Espectro Raman dGTP Região I - 400 a 816cm ⁻¹	73
Figura 46 – Espectro Raman dGTP Região II - 816 a 1290cm ⁻¹	74
Figura 47 – Espectro Raman dGTP Região III - 1290 a 1830cm ⁻¹	75
Figura 48 – Espectro Raman obtido da base dTTP.	76
Figura 49 – Espectro Raman dTTP Região I - 330 a 830cm ⁻¹	76
Figura 50 – Espectro Raman dTTP Região II - 830 a 1310cm ⁻¹	77
Figura 51 – Espectro Raman dTTP Região III - 1310 a 1830cm ⁻¹	78
Figura 52 – Imagens do compósito entre GO+dATP (à esquerda) e GO+dCTP (à direita).	79
Figura 53 – Imagens do compósito entre GO+dGTP (à esquerda) e GO+dTTP (à direita).	80
Figura 54 – Análise de perfil do compósito GO+dATP.	80
Figura 55 – Análise de perfil do compósito GO+dTTP.	81
Figura 56 – Imagens do compósito pós lavagem entre GO+dATP (à esquerda) e GO+dCTP (à direita).	81
Figura 57 – Imagens do compósito pós lavagem entre GO+dGTP (à esquerda) e GO+dTTP (à direita).	82
Figura 58 – Análise de perfil do compósito GO+dATP pós lavagem.	82

Figura 59 – Análise de perfil do compósito GO+dCTP pós lavagem.	83
Figura 60 – Análise de perfil do compósito GO+dGTP pós lavagem.	83
Figura 61 – Análise de perfil do compósito GO+dTTP pós lavagem.	84
Figura 62 – Comparação dos perfis dos compósitos pós lavagem com perfis do GO, analisado previamente.	85
Figura 63 – Espectros Raman do compósito entre GO + dATP (à esquerda) e GO + dCTP (à direita).	86
Figura 64 – Espectros Raman do compósito entre GO + dGTP (à esquerda) e GO + dTTP (à direita).	86
Figura 65 – Regiões analisadas do compósito de GO + dATP. São: a) Região I, b) Região II e c) Região III.	87
Figura 66 – Espectro Raman do ATP puro, discriminando a região de vibrações de cada componente da molécula. Fonte: Bhaumik, 2014.	88
Figura 67 – Compósitos (A, C, T, G) na região de 650cm^{-1} a 900cm^{-1}	89
Figura 68 – Comparação dos compósitos GO+dATP e GO+dCTP com o GO. . . .	90
Figura 69 – Comparação dos compósitos GO+dGTP e GO+dTTP com o GO. . . .	91
Figura 70 – Espectro Raman da área 1 do compósito entre GO e dATP.	111
Figura 71 – Espectro Raman da área 2 do compósito entre GO e dATP.	111
Figura 72 – Espectro Raman da área 3 do compósito entre GO e dATP.	112
Figura 73 – Espectro Raman da área 1 do compósito entre GO e dCTP.	112
Figura 74 – Espectro Raman da área 2 do compósito entre GO e dCTP.	113
Figura 75 – Espectro Raman da área 3 do compósito entre GO e dCTP.	113
Figura 76 – Espectro Raman da área 1 do compósito entre GO e dGTP.	114
Figura 77 – Espectro Raman da área 2 do compósito entre GO e dGTP.	114
Figura 78 – Espectro Raman da área 3 do compósito entre GO e dGTP.	115
Figura 79 – Espectro Raman da área 1 do compósito entre GO e dTTP.	115
Figura 80 – Espectro Raman da área 2 do compósito entre GO e dTTP.	116
Figura 81 – Espectro Raman da área 3 do compósito entre GO e dTTP.	116
Figura 82 – Imagem de AFM do grafeno apresentando pontos de análise.	117
Figura 83 – Perfis de AFM do grafeno utilizado (2)	119
Figura 84 – Imagem de AFM do compósito GO + dATP apresentando pontos de análise.	120

Figura 86 – Imagem de AFM do compósito GO + dCTP apresentando pontos de análise.	122
Figura 88 – Imagem de AFM do compósito GO + dGTP apresentando pontos de análise.	124
Figura 90 – Imagem de AFM do compósito GO + dTTP apresentando pontos de análise.	126
Figura 92 – Imagem de AFM do compósito GO + dATP pós lavagem apresentando pontos de análise.	128
Figura 94 – Imagem de AFM do compósito GO + dCTP pós lavagem apresentando pontos de análise.	130
Figura 96 – Imagem de AFM do compósito GO + dGTP pós lavagem apresentando pontos de análise.	132
Figura 98 – Imagem de AFM do compósito GO + dTTP pós lavagem apresentando pontos de análise.	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação de rugosidade média entre compósitos e grafeno oxidado.	85
Tabela 2 – Frequências vibracionais do GO e compósitos.	92
Tabela 3 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dATP	
Região I	99
Tabela 4 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dATP	
Região II	100
Tabela 5 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dATP	
Região III	101
Tabela 6 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dCTP	
Região I	102
Tabela 7 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dCTP	
Região II	103
Tabela 8 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dCTP	
Região III	104
Tabela 9 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dGTP	
Região I	105
Tabela 10 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dGTP	
Região II	106
Tabela 11 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dGTP	
Região III	107
Tabela 12 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dTTP	
Região I	108
Tabela 13 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dTTP	
Região II	109
Tabela 14 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dTTP	
Região III	110

SUMÁRIO

1	Introdução	16
2	Fundamentação Teórica	18
2.1	<i>Teoria eletromagnética</i>	18
2.2	<i>Espectroscopia Raman</i>	23
2.2.1	O espectro Raman	32
2.3	<i>Microscopia de força atômica - AFM</i>	36
2.4	<i>Grafeno</i>	38
2.5	<i>O DNA</i>	46
3	Material e Métodos	52
3.1	<i>Origem das amostras</i>	52
3.2	<i>Microscopia de Força Atômica (AFM)</i>	52
3.3	<i>Espectroscopia Raman</i>	53
3.4	<i>Preparação dos Materiais</i>	54
3.4.1	Medidas de espectroscopia Raman	56
3.4.2	Medidas de AFM	57
4	Resultados e discussões	58
4.1	<i>Análise do grafeno</i>	58
4.1.1	Caracterização do grafeno por Espectroscopia Raman	58
4.1.2	Caracterização por AFM do grafeno	63
4.2	<i>Análise dNTPs</i>	66
4.2.1	dATP - desoxiadenosina trifosfato	66
4.2.2	dCTP - desoxicitidina trifosfato	69
4.2.3	dGTP - desoxiguanidina trifosfato	72
4.2.4	dTTP - desoxitimidina trifosfato	75
4.3	<i>Análise do compósito (GO + dNTP)</i>	78
4.3.1	GO + dNTPs - AFM	79
4.3.2	GO + dNTPs - Raman	85
5	Conclusão e perspectivas futuras	94

Referências	96
Anexo A – Modos Vibracionais	99
<i>A.1 1.1 Modos vibracionais dATP</i>	99
<i>A.2 1.2 Modos vibracionais dCTP</i>	102
<i>A.3 1.3 Modos vibracionais dGTP</i>	105
<i>A.4 1.3 Modos vibracionais dTTP</i>	108
Anexo B – Análises Raman dos compósitos	111
<i>B.1 Espectros Raman do compósito GO + dATP analisado</i>	111
<i>B.2 Espectros Raman do compósito GO + dCTP analisado</i>	112
<i>B.3 Espectros Raman do compósito GO + dGTP analisado</i>	114
<i>B.4 Espectros Raman do compósito GO + dTTP analisado</i>	115
Anexo C – Dados referentes à análises de perfis de AFM	117
<i>C.1 Imagens de AFM do grafeno utilizado</i>	117
<i>C.2 Imagens analisadas dos compósitos pré lavagem</i>	120
<i>C.3 Imagens analisadas dos compósitos pós lavagem</i>	128

1 INTRODUÇÃO

Há alguns anos, a dupla de pesquisadores Andre Geim e Konstantin Novoselov conseguiu isolar o grafeno. Utilizando de um simples método chamado "*scotch-tape*", que consiste em sucessivas microexfoliações mecânicas de grafite ^[1]. A partir deste feito, em 2004, foi observado um crescimento exponencial de publicações científicas em diversos países, relacionadas a este material ^[2].

O grafeno é definido como um material 2D, onde os átomos de carbono ligam-se formando redes hexagonais e tomando formas de colmeias ^[3]. Diferentemente do grafeno obtido em 2004, o grafeno utilizado neste trabalho é o chamado grafeno oxidado (GO), obtido por exfoliação química e não mecânica ^[4]. Este material já é explorado em diversos ramos de estudo, como: armazenamento de dados, células solares, sensores, baterias e em especial o ramo da saúde e nanomedicina^[5]. O óxido de grafeno (GO) é um nanomaterial promissor para ser empregado como sistema de entrega de fármacos hidrofóbicos devido à sua superfície planar em duas dimensões. A interação entre GO e materiais biológicos pode levar à formação de um nanossistema eficaz no tratamento de diversas doenças, por exemplo o câncer ^[6].

Dentro da área de pesquisa do grafeno aplicado à saúde existe uma ainda maior ramificação de aplicações, os estudos do GO aplicado em *drug delivery* e *gene delivery* vem crescendo de forma exponencial de 2008 até os dias atuais. Comparado a outros sistemas de carregamento, o GO é estudado para aplicações na área da saúde, já que conta com características como: boa biocompatibilidade e grande área superficial para carregamento ^[7, 8]. Devido a essa área superficial e sua estrutura 2D, o grafeno possui a capacidade de interagir com diferentes moléculas orgânicas e até penetrar em membranas celulares sem causar dano ^[7, 9]. A possibilidade de interação das ligações π dos anéis de carbono com drogas que contém anéis aromáticos também se mostra um diferencial ^[10], contribuindo com pesquisas englobando, por exemplo, a área de combate ao câncer ^[5].

Dada a necessidade de mais informação para aplicações concretas do grafeno na área da saúde^[7], este trabalho tratará do estudo da interação do grafeno com um material biológico específico, as dNTPs (desoxirribonucleotídeos fosfatados), bases fundamentais para a formação do DNA. Essas bases têm em sua estrutura açúcar e fosfatos, atados aos seus núcleos púrinicos com as chamadas adenina e guanina, ou pirimidínicos com citosina

e timina ^[11]. Estas bases estão presentes em todas os tipos de células e responsáveis pela expressão de genes que controlam o metabolismo e o crescimento dos seres vivos ^[12, 13].

Nossos estudos em compósitos de GO e DNTPs, têm como objetivo geral, obter informações sobre sua organização espacial através de medidas de AFM (do inglês “*atomic force microscopy*”) cuja técnica nos permitiu formar imagens em 3D e obter distâncias em escala de micro a nanômetros. O método de AFM pode ser resumido como sendo um tipo de escaneamento de superfície através de uma ponta de prova, assim formando uma imagem topográfica, geralmente, de nano ou micrômetros. Juntamente com a técnica de AFM o micro Raman foi realizado a fim de obter informações a respeito da estrutura vibracional desses materiais, em escalas micro a nanométricas. Essa imagem é resultado de interações entre a superfície da amostra e a ponta de prova; por exemplo, podemos citar forças eletrostáticas, forças mecânicas de contato e interação de van der Waals, entre outras. De forma simplificada as interações da ponta de prova formam uma imagem digital e analisável por softwares específicos ^[14].

A espectroscopia Raman tem como base a interação da radiação com a matéria, de um modo que resulta em um espalhamento inelástico ^[15, 16]. No espalhamento Raman não há absorção de radiação por parte da amostra e temos assim a possibilidade de ocorrer tanto a aniquilação quanto a criação de fônons. Com isso, a energia resultante difere da energia fornecida ao sistema. Essa diferença de energia está relacionada às frequências de vibração do material, e esta, juntamente com a intensidade dessas vibrações. Assim, podemos obter algumas características intrínsecas do material relacionadas à sua estrutura (conformação e/ou configuração) ^[16].

Neste trabalho analisamos o óxido de grafeno e as DNTPs. No caso do grafeno pudemos identificar suas características a nível vibracional, através da espectroscopia Raman, e suas características topográficas com a AFM, correlacionando os dados para entendermos sua composição corroborando com os dados da literatura. No caso das DNTPs, através de análise Raman, foram identificados os modos vibracionais de cada uma das bases e assim diferenciá-las umas das outras. Após o conhecimento dos materiais de forma separada, foi estudada a interação do GO com cada uma das bases. Nas análises destes compósitos, tentamos identificar como se dá a sua interação, contribuindo para o entendimento do comportamento do grafeno na presença deste material biológico.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 TEORIA ELETROMAGNÉTICA

James Clerck Maxwell mostrou uma das mais significativas contribuições para a teoria eletromagnética. Em 1865 Maxwell propôs um conjunto de 4 equações que levariam, quando resolvidas, à descrição dos fenômenos eletromagnéticos. Hoje em dia estas equações são conhecidas como equações de Maxwell. As quatro equações descrevem propriedades dos campos elétricos e magnéticos levando em conta as distribuições de carga e correntes [17].

Supondo um meio dielétrico e livre de cargas e correntes, as equações diferenciais podem assim serem escritas:

$$\nabla \cdot \vec{B} = 0. \quad (2.1.1)$$

$$\nabla \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t}. \quad (2.1.2)$$

$$\nabla \cdot \vec{D} = 0. \quad (2.1.3)$$

$$\nabla \times \vec{H} = -\frac{\partial \vec{D}}{\partial t}. \quad (2.1.4)$$

Maxwell apresentou o termo conhecido como corrente de deslocamento ($\frac{\partial \vec{D}}{\partial t}$) que implica no surgimento de um campo magnético pelo fato do campo elétrico variar no tempo, mesmo papel de uma corrente elétrica. Com isso Maxwell concluiu que a luz se propaga pelos meios como as ondas eletromagnéticas [18].

Partindo destas equações podemos chegar a equação da onda. Primeiramente, vamos tomar o rotacional das eqs. (2.1.1)–(2.1.4), obtendo:

$$\nabla \times (\nabla \times \vec{E}) = -\frac{\partial (\nabla \times \vec{B})}{\partial t} \quad (2.1.5)$$

$$\nabla \times (\nabla \times \vec{H}) = -\frac{\partial (\nabla \times \vec{D})}{\partial t} \quad (2.1.6)$$

Aqui devemos usar a identidade vetorial, válida para qualquer vetor:

$$\nabla \times (\nabla \times \vec{V}) = -\nabla^2 \vec{V} + \nabla(\nabla \cdot \vec{V}) \quad (2.1.7)$$

E as relações:

$$\vec{B} = \mu \vec{H} \quad (2.1.8a)$$

$$\vec{D} = \varepsilon \vec{E} \quad (2.1.8b)$$

Como os divergentes são nulos, dados em Equação 2.1.1 e Equação 2.1.3, temos como resultado após algumas manipulações algébricas, duas equações que satisfazem a equação de onda em duas dimensões:

$$\nabla^2 \vec{E} = \varepsilon \mu \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2}. \quad (2.1.9)$$

$$\nabla^2 \vec{B} = \varepsilon \mu \frac{\partial^2 \vec{B}}{\partial t^2}. \quad (2.1.10)$$

Dessa forma vemos que os campos elétrico e magnético podem se propagar como ondas no espaço, de forma que, os campos são componentes da onda. A velocidade da onda é dada por ^[18]:

$$v = \sqrt{\mu \varepsilon}, \quad (2.1.11)$$

onde μ e ε são respectivamente propriedades magnéticas e elétricas, denominadas permeabilidade magnética e permitividade elétrica do meio ^[18].

Podemos expressar a equação de onda de forma a caracterizar uma onda eletromagnética monocromática com frequência bem definida utilizando como soluções dos campos:

$$\vec{E}(r, t) = \vec{E}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)} \quad (2.1.12)$$

$$\vec{B}(r, t) = \vec{B}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)} \quad (2.1.13)$$

Tendo E_0 e B_0 como amplitude dos campos, ao substituir essas soluções nas eqs. (2.1.9)–(2.1.10) obtemos como resultado a relação entre o vetor de onda (κ) e a frequência angular(ω):

$$\kappa^2 = v^2 \omega^2. \quad (2.1.14)$$

Por fim, ao substituir as soluções dadas pelas eqs. (2.1.9)–(2.1.10) nas eqs. (2.1.1)–(2.1.4) temos que:

$$\vec{E}_0 \cdot \vec{k} = 0, \quad \vec{B}_0 \cdot \vec{k} = 0 \quad e \quad \vec{B} = \frac{\kappa \times \vec{E}}{\omega} \quad (2.1.15)$$

Surge assim um aspecto importante sobre as ondas eletromagnéticas harmônicas, os campos elétrico e magnético oscilam de modo ortogonal entre si ^[18]. Concluindo também que:

$$\vec{E}_0 \cdot \vec{B}_0 = 0 \quad (2.1.16)$$

Dessa forma vemos que além de perpendiculares entre si, ambos são perpendiculares à direção de propagação da onda. A Figura 1 ilustra o que foi calculado acima, com os campos elétrico e magnético oscilando em y e z , respectivamente, e a onda se propagando em x .

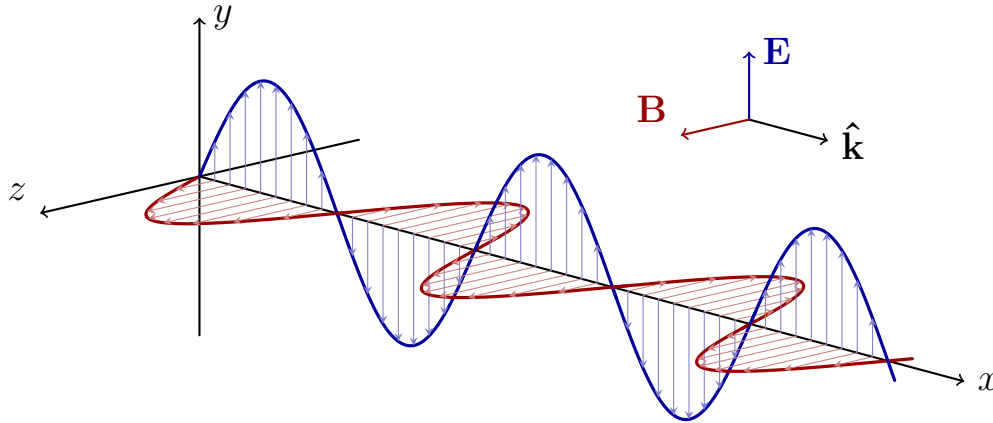


Figura 1 – Ilustração demonstrando a oscilação dos campos elétrico e magnético e direção de propagação da onda.

Outras características da onda são importantes para a espectroscopia, como o comprimento de onda (λ) que é a distância entre dois pontos sucessivos e iguais no padrão ondulatório. Já a frequência (ν) é o número de ciclos de um evento em um intervalo de tempo. Estas características estão presentes na Figura 2.

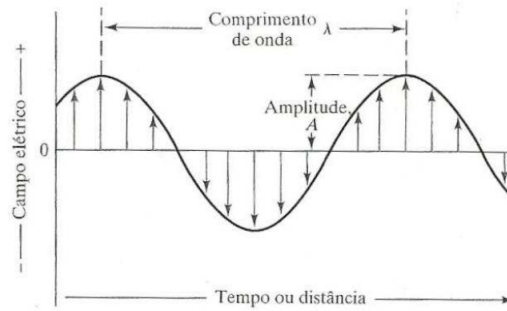


Figura 2 – Propriedades da onda eletromagnética. **Fonte:**Holler, 2009.

A equação que une a frequência e o comprimento de onda é dada por

$$c = \lambda\nu \quad (2.1.17)$$

onde temos c representando a velocidade da luz no vácuo. Outro parâmetro muito importante é o número de onda κ , sendo este, o inverso do comprimento de onda com dimensão de cm^{-1} [19]:

$$\kappa = \frac{1}{\lambda} \quad (2.1.18)$$

Reescrevendo a equação 2.1.17 como:

$$\kappa = \frac{\nu}{c} \quad (2.1.19)$$

Usando do princípio de osciladores harmônicos, Max Planck explicou o modo de quantização de energia para um corpo luminoso. Segundo Planck, os níveis de energia são:

$$E_n = nh\nu \quad (2.1.20)$$

onde n se refere ao estado de vibração, ν é a frequência do menor estado de energia, h é a constante de Planck e E_n do n -ésimo nível de energia. A constante de Planck h possui o

valor de $6,626 \times 10^{-34} Js$. Posteriormente com a teoria da mecânica quântica e a energia de ponto zero, ou *ground state*, reescrevemos a equação anterior em [19]:

$$E_n = (n + \frac{1}{2})h\nu \quad (2.1.21)$$

de forma que o valor responsável pela diferença entre os níveis de energia é dado por:

$$\Delta E = E_{n+1} - E_n = h\nu \quad (2.1.22)$$

Essa energia é a energia de um fóton, que são pacotes quantizados de energia e sem massa. Podendo reescrever a Equação 2.1.22 de outra forma, usando a Equação 2.1.18 e Equação 2.1.19.

$$E = h\nu = \frac{h}{\lambda} = hc\kappa \quad (2.1.23)$$

Onde $\kappa = \frac{c}{\lambda}$. Considerando a frequência angular: $\omega = 2\pi\nu$, podemos reescrever a energia de outra forma, tal que:

$$E = h\frac{\omega}{2\pi} = \hbar\omega \quad (2.1.24)$$

Com isso podemos subdividir o espectro eletromagnético seguindo o critério energético. A Figura 3 apresenta o espectro eletromagnético na região de ondas de radiofrequências até radiações gama, de menor a maior energia respectivamente.

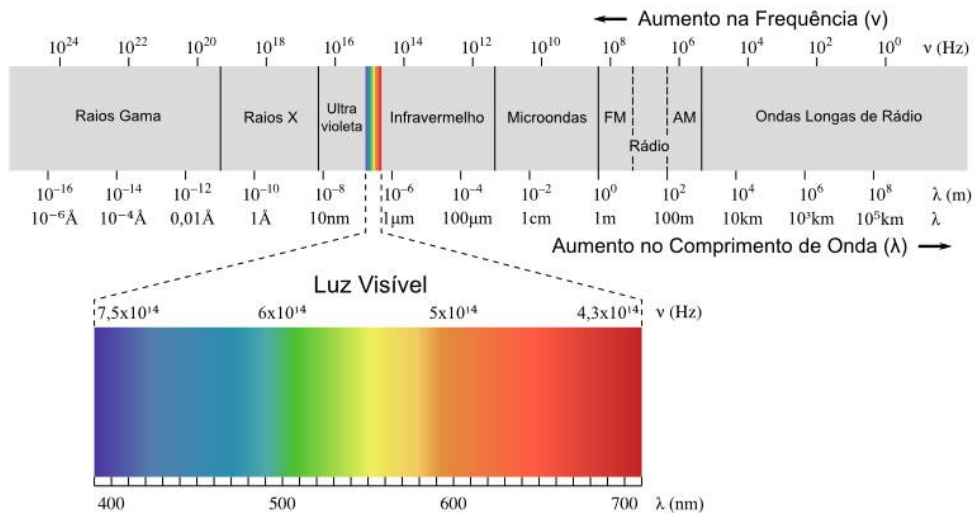


Figura 3 – Espectro eletromagnético apresentando as diferentes frequências das ondas eletromagnéticas e suas aplicações.

2.2 ESPECTROSCOPIA RAMAN

A espectroscopia é o estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria, e o seu principal objetivo é a determinação de níveis de energia vibracional de átomos e moléculas. Partindo dos espectros podemos encontrar a diferença de energia entre níveis e seus valores de transição, e, com isso, determinar as posições dos níveis energéticos. Para moléculas, temos regiões de diferentes tipos de energias que influenciam a região espectral onde as transições são observadas; sendo estes níveis: eletrônicos, vibracionais ou rotacionais.

Na região do ultravioleta ou visível temos as transições eletrônicas, na região do infravermelho as transições vibracionais e na região de microondas as rotacionais [15].

Sabendo que a energia total de uma molécula (E_{tot}) é a soma das energias eletrônica (E_{ele}), vibracional (E_{vib}) e rotacional (E_{rot}), essa relação pode ser representada por:

$$E_{tot} = E_{ele} + E_{vib} + E_{rot} \quad (2.2.1)$$

E quanto à magnitude das energias podemos seguir a ordem decrescente:

$$E_{ele} \gg E_{vib} \gg E_{rot} \quad (2.2.2)$$

de forma que os espectros podem ser estudados separadamente, em uma primeira aproximação.

Da aproximação de Born-Oppenheimer que trata da separação entre os movimentos dos núcleos e dos elétrons, podemos usar a grande diferença entre as massas dos elementos envolvidos. Como os elétrons se movem muito mais rápido que os núcleos, podemos considerar que os núcleos estão fixos em uma posição durante a transição eletrônica. Dessa forma, a interação de radiação eletromagnética com o movimento vibracional dos núcleos dá origem a um espectro vibracional no infravermelho ou um espalhamento Raman [15]. Vemos assim que a espectroscopia vibracional tem o intuito de obter informações à respeito da molécula partindo da análise de suas transições vibracionais. Desse modo podemos identificar substâncias partindo de seu espectro Raman [15].

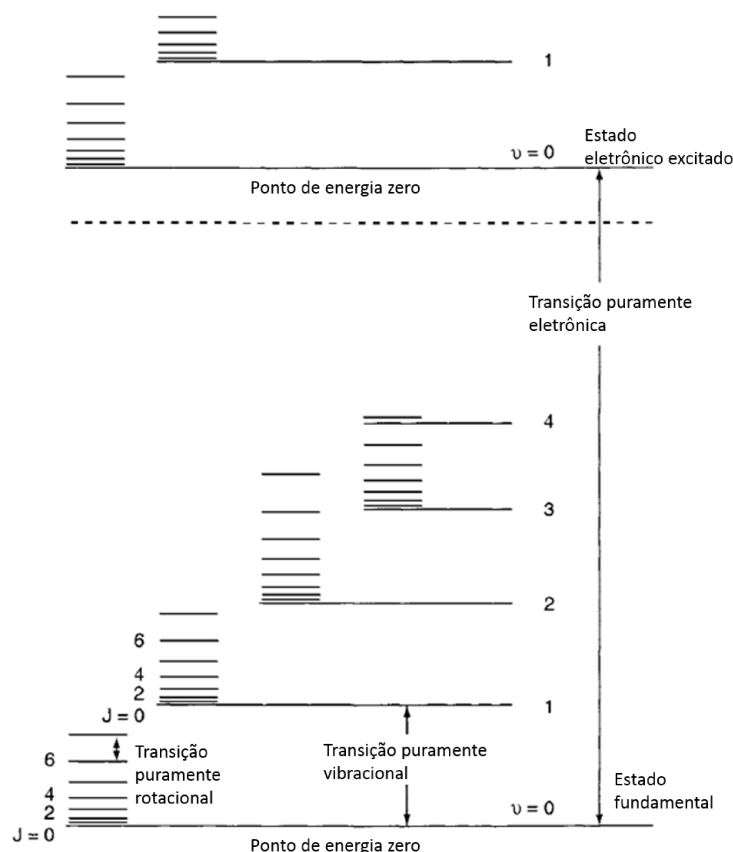


Figura 4 – Níveis eletrônicos e seus estados intermediários. **Fonte:**Ferraro,2003. (modificado)

O espalhamento Raman pode também ser usado para se obter espectros vibracionais na região do visível e do infravermelho, de uma maneira indireta. No espalhamento Raman temos uma diferença entre as frequências de radiações incidente e espalhada, sendo essa a frequência vibracional [15, 20]. Afim de entendermos as frequências vibracionais, descrevemos o Efeito Raman, do ponto de vista clássico.

Modelo Clássico

O método clássico para as vibrações moleculares foi desenvolvido primeiro por Edgar Bright Wilson Jr. (1908 - 1992) [15].

Para facilitar o tratamento de moléculas poliatômicas vamos levar em conta, primeiramente, propriedades de simetria molecular. Considerando que cada átomo conta com 3 graus de liberdade (movimentos possíveis nas direções x,y e z), então para uma molécula de N átomos teremos 3N graus de liberdade, contabilizando somente os movimentos vibracionais, podemos descartar três graus de liberdade translacionais intrínsecos dos movimentos em fase de todos os átomos, centro de massa da molécula, nos três eixos. Para

as moléculas não lineares, podemos descartar três graus de liberdade, devido aos seus movimentos rotacionais. Com isso, podemos contar com $3N-6$ graus de liberdade restantes, todos correspondentes a modos vibracionais. Em moléculas lineares, considerando núcleos como pontuais teremos apenas $3N-5$ graus de liberdade vibracional.

Vamos considerar um modelo de molécula diatômica. A molécula é constituída por duas massas diferentes m_1 e m_2 e uma mola de constante k representando a ligação química entre as moléculas, como representado na Figura 5.

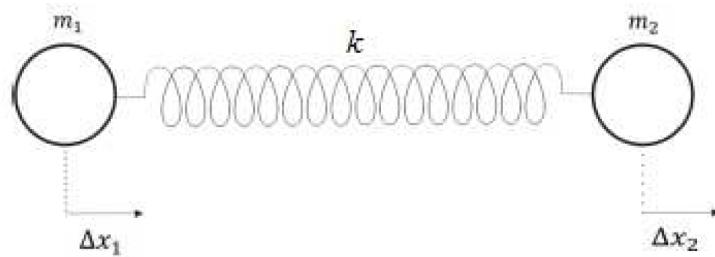


Figura 5 – Representação de uma molécula diatômica com massas m_1 e m_2 e constante de mola k ,
Fonte:Sala, 2008.

Nos interessam os pequenos deslocamentos dos núcleos assim, as vibrações podem ser descritas por coordenadas cartesianas de deslocamento $(\Delta x, \Delta y, \Delta z)$. Denotando os deslocamentos das massas/núcleos por Δx_1 e Δx_2 podemos escrever as energias cinética e potencial como ^[15]:

$$T = \frac{1}{2} (m_1 \Delta \dot{x}_1^2 + m_2 \Delta \dot{x}_2^2) \quad V = \frac{1}{2} k (\Delta x_2 - \Delta x_1)^2 \quad (2.2.3)$$

Vamos considerar a energia cinética como $T = \frac{1}{2} m \Delta \dot{x}^2$, a energia potencial como $V = \frac{1}{2} k \Delta x^2$ e a função lagrangeana dada por $L = T - V$. Além disso usaremos também a equação de Lagrange ^[15]:

$$\frac{d}{dt} \left[\frac{\partial L}{\partial \Delta \dot{x}} \right] - \frac{\partial L}{\partial \Delta x} = 0 \quad (2.2.4)$$

Que pode ser reescrita de outra forma usando T e V

$$\frac{d}{dt} \left[\frac{\partial T}{\partial \Delta \dot{x}} \right] + \frac{\partial V}{\partial \Delta x} = 0 \quad (2.2.5)$$

Reescrevendo a lagrangeana mostrada na Equação 2.2.5 para cada coordenada teremos:

$$\frac{d}{dt} \left[\frac{\partial T}{\partial \Delta \dot{x}_1} \right] + \frac{\partial V}{\partial \Delta x_1} = 0 \quad (2.2.6)$$

$$\frac{d}{dt} \left[\frac{\partial T}{\partial \Delta \dot{x}_2} \right] + \frac{\partial V}{\partial \Delta x_2} = 0 \quad (2.2.7)$$

Vamos tratar primeiramente a Equação 2.2.6 utilizando da Equação 2.2.3, com isso teremos:

$$\frac{d}{dt} \left\{ \frac{\partial}{\partial \Delta \dot{x}_1} \left[\frac{1}{2} (m_1 \Delta \dot{x}_1^2 + m_2 \Delta \dot{x}_2^2) \right] \right\} + \frac{\partial}{\partial \Delta x_1} \left[\frac{1}{2} k (\Delta x_2 - \Delta x_1)^2 \right] = 0$$

$$\frac{d}{dt} \{m_1 \Delta \dot{x}_1\} + k [(\Delta x_2 - \Delta x_1) (-1)] = 0$$

$$m_1 \Delta \ddot{x}_1 - k (\Delta x_2 - \Delta x_1) = 0 \quad (2.2.8)$$

De modo semelhante, podemos repetir os passos para a equação Equação 2.2.7:

$$\frac{d}{dt} \left\{ \frac{\partial}{\partial \Delta \dot{x}_2} \left[\frac{1}{2} (m_1 \Delta \dot{x}_1^2 + m_2 \Delta \dot{x}_2^2) \right] \right\} + \frac{\partial}{\partial \Delta x_2} \left[\frac{1}{2} k (\Delta x_2 - \Delta x_1)^2 \right] = 0$$

$$\frac{d}{dt} \{m_2 \Delta \dot{x}_2\} + k [(\Delta x_2 - \Delta x_1) (-1)] = 0$$

$$m_2 \Delta \ddot{x}_2 - k (\Delta x_2 - \Delta x_1) = 0 \quad (2.2.9)$$

Agora, vamos supor que as equações diferenciais (Equação 2.2.8 e Equação 2.2.9) tenham soluções do tipo ^[15]:

$$\Delta x_1 = A_1 \cos (2\pi \nu t + \phi) , \quad (2.2.10)$$

e

$$\Delta x_2 = A_2 \cos (2\pi \nu t + \phi) . \quad (2.2.11)$$

com A_1 e A_2 constantes. Se derivamos as soluções da Equação 2.2.10 e da Equação 2.2.11, teremos ^[15]:

$$\frac{d}{dt}(\Delta x_1) = -2\pi\nu A_1 \text{sen}(2\pi\nu t + \phi)$$

$$\frac{d^2}{dt^2}(\Delta x_1) = -4\pi^2\nu^2 A_1 \cos(2\pi\nu t + \phi), \quad (2.2.12)$$

e

$$\frac{d}{dt}(\Delta x_2) = -2\pi\nu A_2 \text{sen}(2\pi\nu t + \phi)$$

$$\frac{d^2}{dt^2}(\Delta x_2) = -4\pi^2\nu^2 A_2 \cos(2\pi\nu t + \phi), \quad (2.2.13)$$

que podem ser substituídas na Equação 2.2.8 e na Equação 2.2.9, dessa forma:

$$-4\pi^2\nu^2 m_1 A_1 \cos(2\pi\nu t + \phi) - k[A_2 \cos(2\pi\nu t + \phi) - A_1 \cos(2\pi\nu t + \phi)] = 0$$

$$-4\pi^2\nu^2 m_1 A_1 - k(A_2 - A_1) = 0, \quad (2.2.14)$$

e

$$-4\pi^2\nu^2 m_2 A_2 \cos(2\pi\nu t + \phi) - k[A_2 \cos(2\pi\nu t + \phi) - A_1 \cos(2\pi\nu t + \phi)] = 0$$

$$-4\pi^2\nu^2 m_2 A_2 - k(A_2 - A_1) = 0, \quad (2.2.15)$$

O que nos leva ao sistema de equações:

$$(-4\pi^2\nu^2 m_1 + k)A_1 - kA_2 = 0, \quad (2.2.16)$$

e

$$kA_2 + (-4\pi^2\nu^2 m_1 + k)A_2 = 0 \quad (2.2.17)$$

O conjunto de equações anteriores (Equação 2.2.16 e Equação 2.2.17) formam um conjunto de equações homogêneas e lineares. Para obtermos uma solução diferente da trivial $A_1 = A_2 = 0$ devemos encontrar o determinante da matriz ^[15]:

$$\begin{vmatrix} -4\pi^2\nu^2m_1 + k & -k \\ -k & -4\pi^2\nu^2m_2 + k \end{vmatrix} \quad (2.2.18)$$

Dessa forma,

$$(-4\pi^2\nu^2m_1)(-4\pi^2\nu^2m_2) - k^2 = 0$$

$$16\pi^4\nu^4m_1m_2 - 4\pi^2\nu^2m_1k - 4\pi^2\nu^2m_2k + k^2 - k^2 = 0$$

$$4\pi^2\nu^2 \left[4\pi^2\nu^2m_1m_2 - k(m_1 + m_2) \right] = 0 \quad (2.2.19)$$

Com isso podemos obter as raízes:

$$\nu = 0, \quad (2.2.20)$$

$$4\pi^2\nu^2m_1m_2 = k(m_1 + m_2)$$

$$\nu^2 = \frac{1}{4\pi^2}k \frac{(m_1 + m_2)}{m_1m_2}$$

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (2.2.21)$$

onde μ é a massa reduzida, que é definida como:

$$\mu = \frac{m_1m_2}{(m_1 + m_2)} \quad (2.2.22)$$

Substituiremos os valores encontrados como soluções na Equação 2.2.16 e na Equação 2.2.17, de forma que:

- Para $\nu = 0$

$$(-4\pi^2 0^2 m_1 + k)A_1 - kA_2 = 0,$$

$$kA_1 - kA_2 = 0,$$

$$A_1 = A_2 \tag{2.2.23}$$

Com isso, interpretando as constantes como sendo as amplitudes dos movimentos dos núcleos, $\Delta x_1 = \Delta x_2$ implica em uma amplitude igual para ambos os núcleos caracterizando um movimento de translação ^[15].

- Para $\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$

$$-kA_1 + \left[-4\pi^2 \left(\frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\nu}} \right)^2 m_2 + k \right] A_2 = 0$$

$$-kA_1 + \left[-\frac{k(m_1 + m_2)}{m_1 m_2} m_2 + k \right] A_2 = 0$$

$$-A_1 - \left[\frac{(m_1 + m_2)}{m_1} - 1 \right] A_2 = 0$$

$$-A_1 m_1 = [(m_1 + m_2) - m_1] A_2$$

$$A_1 m_1 = -m_2 A_2, \tag{2.2.24}$$

ou

$$\Delta x_1 m_1 = -m_2 \Delta x_2, \tag{2.2.25}$$

Como as coordenadas cartesianas de deslocamento são diretamente proporcionais ao deslocamento dos núcleos de sua posição de equilíbrio, esse resultado significa que as partículas se deslocam em direções opostas com amplitude inversamente proporcional às suas massas, executando um movimento vibracional ^[15].

Modelo Quântico

Para a resolução do problema de modo quântico, usaremos a função hamiltoniana (H), onde $H = T + V$. Agora teremos as energia cinética e potencial da partícula descritas como:

$$T = \frac{1}{2m}p^2 \rightarrow \mathbf{T} = -\frac{\hbar^2}{2\mu} \frac{d^2}{dq^2}, \quad (2.2.26)$$

O operador de energia potencial para o oscilador harmônico é dado por ^[15]:

$$\mathbf{V} = \frac{1}{2}kq^2, \quad (2.2.27)$$

onde estão presentes a coordenada interna q e a massa reduzida μ .

Primeiramente, devemos relembrar a equação de Scrödinger:

$$\mathbf{H}\Psi = \mathbf{E}\Psi, \quad (2.2.28)$$

Utilizando os operadores na equação acima, teremos como resultado ^[15]:

$$\mathbf{T}\Psi + \mathbf{V}\Psi = E\Psi$$

$$-\frac{\hbar^2}{2\mu} \frac{d^2\Psi}{dq^2} + \frac{kq^2}{2}\Psi = E\Psi$$

$$\frac{d^2\Psi}{dq^2} + \frac{2\mu}{\hbar^2} \left(E - \frac{kq^2}{2} \right) \Psi = 0 \quad (2.2.29)$$

Para essa resolução iremos considerar uma função de onda particular, dada por:

$$\Psi(q) = A \exp\left(-\frac{\alpha q^2}{2}\right), \quad (2.2.30)$$

substituindo essa função de onda na Equação 2.2.29, temos que:

$$\frac{d\Psi}{dq} = -A\alpha q e^{-\alpha q^2/2} \quad (2.2.31)$$

e

$$\frac{d^2\Psi}{dq^2} = -A\alpha e^{-\alpha q^2/2} + a\alpha^2 q^2 e^{-\alpha q^2/2} = -\alpha\Psi + \alpha^2 q^2 \Psi. \quad (2.2.32)$$

Modificando a Equação 2.2.29 e igualando com a Equação 2.2.32, resultará em ^[15]:

$$\begin{aligned} -\alpha\Psi + \alpha^2 q^2 \Psi &= -\frac{2\mu}{\hbar^2} E \Psi + \frac{\mu k q^2}{\hbar^2} \Psi \\ -\alpha + \alpha^2 q^2 &= -\frac{2\mu}{\hbar^2} E + \frac{\mu k q^2}{\hbar^2}, \end{aligned} \quad (2.2.33)$$

quando igualamos as ordens de q , os seguintes termos são resgatados:

$$\alpha = \frac{2\mu}{\hbar^2} E, \quad (2.2.34)$$

e

$$\alpha^2 = \frac{\mu k}{\hbar^2} \rightarrow \alpha = \frac{\sqrt{\mu k}}{\hbar}. \quad (2.2.35)$$

Finalmente, substituindo a Equação 2.2.35 na Equação 2.2.34, vemos que:

$$E = \frac{\alpha \hbar^2}{2\mu} = \frac{\hbar^2}{2\mu} \frac{\sqrt{\mu k}}{\hbar} = \frac{\hbar}{2} \sqrt{\frac{k}{\mu}} = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}, \quad (2.2.36)$$

sendo o μ o valor da frequência de um oscilador clássico.

Os estados que possuem energia mais alta são obtidos utilizando da Equação 2.2.30, ao multiplicar essa equação por um polinômio, resultando em:

$$\Psi_V(q) = N_V \cdot H_V(\sqrt{\alpha}q) \exp\left(-\frac{\alpha q^2}{2}\right) \quad (2.2.37)$$

onde N_V é apenas um fator de normalização e os polinômios de Hermite são representados por $H_V(\sqrt{\alpha}q)$.

Já que as transições vibracionais, de modo usual, são dadas em cm^{-1} que é o número de onda, podemos escrever os termos de energia de modo:

$$G_V(\text{cm}^{-1}) = \frac{1}{hc} E_V = \frac{\nu}{c} \left(v + \frac{1}{2}\right) = \omega_e \left(v + \frac{1}{2}\right) \quad (2.2.38)$$

onde o termo ω_e representa o valor clássico do número de onda do oscilador. São esses valores de transições vibracionais que serão observados nos espectros Raman. A unidade de cm^{-1} , na espectroscopia vibracional, é denominada como frequência mesmo sendo unidade de número de onda. Com isso temos a origem dos modos vibracionais de acordo com as teorias clássica e quântica.

2.2.1 O espectro Raman

O espectro Raman é uma consequência de um espalhamento inelástico de radiação monocromática incidente em uma molécula. Diferentemente do infravermelho, onde consideramos o momento dipolar intrínseco, o efeito Raman está ligada a uma variação do momento de dipolo induzido na molécula consequente da radiação incidente ^[15]. O vetor momento de dipolo induzido é classicamente escrito como:

$$\vec{P} = \alpha \vec{E}, \quad (2.2.39)$$

sendo α a polarizabilidade da molécula e \vec{E} o vetor campo elétrico referente à radiação incidente. Vamos considerar a coordenada generalizada q e o campo \vec{E} da seguinte forma ^[15].

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu_\nu t), \quad (2.2.40)$$

e

$$\vec{E} = \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t), \quad (2.2.41)$$

apresentando uma diferença entre ν_ν que é a frequência vibracional e ν_0 sendo a frequência da radiação incidente. Podemos escrever a polarizabilidade α como uma série de Taylor em função de q .

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 q + \dots, \quad (2.2.42)$$

com isso o momento de dipolo induzido terá, levando em conta apenas termos de menor ordem para α devido à pequena variação de q , a seguinte forma:

$$\begin{aligned} \vec{P} &= \left[\alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 q \right] \vec{E} = \alpha_0 \vec{E} + \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 q \vec{E} \\ \vec{P} &= \alpha \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 q_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_\nu t), \end{aligned} \quad (2.2.43)$$

e usando a propriedade trigonométrica

$$\cos(a)\cos(b) = \frac{1}{2} [\cos(a+b) + \cos(a-b)], \quad (2.2.44)$$

e que nos retorna

$$\vec{P} = \alpha \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 \left(\frac{q_0 \vec{E}_0}{2} \right) \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_\nu)t] + \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_\nu)t]. \quad (2.2.45)$$

Podemos analisar a Equação 2.2.45 de forma a perceber algumas características, como: o primeiro termo diz respeito apenas à radiação incidente inalterada que corresponde ao espalhamento Rayleigh, ou seja, o espalhamento elástico da luz ^[15].

Já no segundo termo temos presentes radiações espalhadas com frequências $\nu_0 - \nu_\nu$ (conhecido como espalhamento Raman Stokes) e $\nu_0 + \nu_\nu$ (espalhamento Raman Anti-Stokes). Vemos que para esse fenômeno ocorrer temos:

$$\left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_0 \neq 0, \quad (2.2.46)$$

isso significa que deve haver uma variação na polarizabilidade, dependendo de um pequeno deslocamento da coordenada q em torno de sua posição de equilíbrio ^[15].

A variação na polarizabilidade da molécula é necessária para que ocorra o efeito Raman. Teremos dois espalhamentos relacionados de modo simétrico no efeito Raman, em escala de energia em cm^{-1} . Teremos a banda referente ao espalhamento Rayleigh ao centro, uma banda ao lado, de frequências mais baixas, a Stokes e outra ao lado de frequências mais altas, a anti-Stokes. Experimentalmente verificamos que as bandas de espalhamento Stokes e anti-Stokes não possuem a mesma intensidade, assim. Essa diferença em intensidades é descrita no modelo quântico, para o efeito Raman ^[15].

Primeiramente podemos definir a polarizabilidade como

$$\alpha_{mn} = \int \psi_m \alpha \psi_n d\tau, \quad (2.2.47)$$

onde α_{mn} são componentes do tensor de polarizabilidade e ψ_m e ψ_n representam, respectivamente, as funções de onda final e inicial.

Podemos representar a relação das componentes de momento de dipolo elétrico e as componentes do campo elétrico de forma que:

$$\begin{bmatrix} P_x \\ P_y \\ P_z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{bmatrix}.$$

onde, temos as componentes α_{ij} simétricas, já que $\alpha_{xy} = \alpha_{yx}$, $\alpha_{xz} = \alpha_{zx}$ e $\alpha_{yz} = \alpha_{zy}$ [15].

A cada transição de estados vibracionais m e n , devem ser consideradas as componentes $(\alpha_{ij})_{mn}$, sendo i e j coordenadas x , y , ou z .

$$(\alpha_{ij})_{mn} = \int \psi_m \alpha \psi_n d\tau. \quad (2.2.48)$$

Utilizando ainda o desenvolvimento por série de Taylor visto na Equação 2.2.42 temos:

$$(\alpha_{ij})_{mn} = (\alpha_{ij})_0 \int \psi_m \psi_n d\tau + \left(\frac{d\alpha_{ij}}{dq} \right)_0 \int \psi_m q \psi_n d\tau. \quad (2.2.49)$$

No espalhamento Raman para a primeira integral do segundo membro temos estados vibracionais diferentes e $m \neq n$ nulos, pela ortogonalidade entre ψ_m e ψ_n . Se $m = n$ não teríamos dipolo induzido, não haveria transição de estados. Nesse caso o primeiro termo é correspondente ao espalhamento Rayleigh. Para que ocorra o efeito Raman, a segunda integral deve ser diferente de zero, e algumas condições que devem ser satisfeitas [15]:

$$\left(\frac{d\alpha_{ij}}{dq} \right)_0 \neq 0, \quad (2.2.50)$$

ou seja, pelo menos um dos componentes do tensor polarizabilidade deverá variar com a vibração em torno da posição de equilíbrio.

Em adição, o produto $\psi_m q \psi_n$ deve ser uma função par. Sendo q uma função ímpar, o produto $\psi_m \psi_n$ também deverá ser uma função ímpar.

A probabilidade de transição se relaciona à intensidade Raman, da seguinte forma [15].

$$I_{mn} = \left(\frac{16\pi^2}{9c^4} \right) I_0 \nu^4 \sum_i \sum_j |(\alpha_{ij})_{mn}|^2, \quad (2.2.51)$$

sendo por definição I_0 a intensidade da radiação incidente e ν a frequência da radiação espalhada.

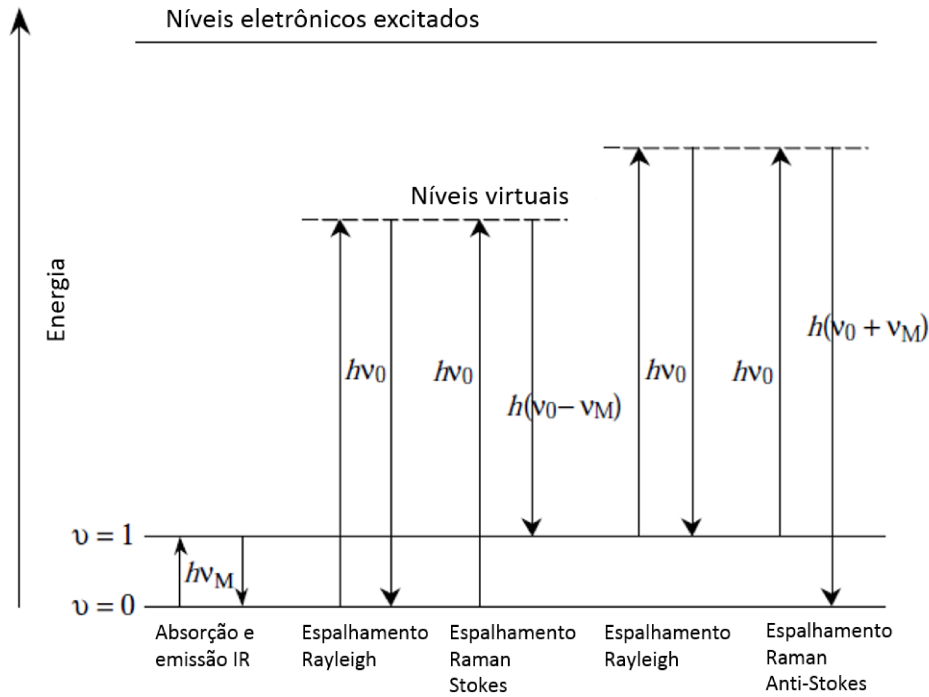


Figura 6 – Diferentes mecanismos de espalhamento. **Fonte:** Chalmers, 2002. (modificado)

A Figura 6 representa os diferentes mecanismos de espalhamento. No espalhamento Raman Stokes, a molécula no estado fundamental sofre interação com um fóton de energia $h\nu_0$ e ocupa um estado intermediário (também chamado de virtual), e em seguida decai para um estado vibracional excitado, caracterizado pela energia $h\nu_M$. Nesse processo, emite um fóton que possui energia $h(\nu_0 - \nu_M)$; com energia menor que a incidente. Já no espalhamento Rayleigh, a molécula interage com um fóton, esta decai para o nível de energia inicial emitindo um fóton de mesma energia que a incidente, caracterizando um espalhamento elástico. No espalhamento anti-Stokes a molécula já se encontra em um estado excitado e, após interação com fóton, decai para o estado fundamental, emitindo um fóton com energia $h(\nu_0 + \nu_M)$ ^[21].

Como a distribuição da população de estados vibracionais segue a distribuição de Boltzmann, temos que as bandas Stokes devem possuir maior intensidade do que as bandas anti-Stokes, já que os estados vibracionais de maior energia possuem menor ocupação. A relação experimental entre as intensidades anti-Stokes (I_A) e Stokes (I_S) é dada por:

$$\frac{I_A}{I_S} = \left(\frac{\nu_0 + \nu_\nu}{\nu_0 - \nu_\nu} \right)^4 \exp \left(-\frac{e_\nu}{KT} \right). \quad (2.2.52)$$

Para frequências vibracionais menores as duas intensidades são comparáveis, e para frequências vibracionais maiores é mais difícil vermos as bandas anti-Stokes ^[15].

Sendo assim, o espectro Raman pode ser comparado a uma "impressão digital" das moléculas, já que, cada modo vibracional possui um comprimento de onda específico, e assim, cada molécula possui um único espectro característico ^[15].

2.3 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA - AFM

Criada em 1986 por Binnig, a microscopia de força atômica (do inglês *Atomic force microscopy*) é um tipo de microscopia de sonda de varredura, as chamadas SPM, que permite o escaneamento e análise de propriedades de superfície com resoluções em uma escala sub nanométrica ^[14, 22].

O modo de escaneamento da microscopia de força atômica depende de alguns elementos principais, contando com um uma pequena ponta anexada ao chamado *cantilever* que interage com a amostra em análise, formando uma imagem. ^[14]. O movimento relativo dessa parte do aparelho com a amostra pode ser monitorado, através de uma deflexão de sinal de um laser ao incidir em um fotodetector e da interação deste com alguns componentes de checagem da distância da ponta com a amostra. Esse sinal que a amostra retorna é interpretado de forma a resultar em imagens 2D e 3D da topografia do material ^[22].

A ponta e o *cantilever* compõem os principais acessórios do AFM^[14]. Diferentes tipos de conjunto ponta-*cantilever* podem ser utilizados para os diversos modos de operação do aparelho ^[14, 22].

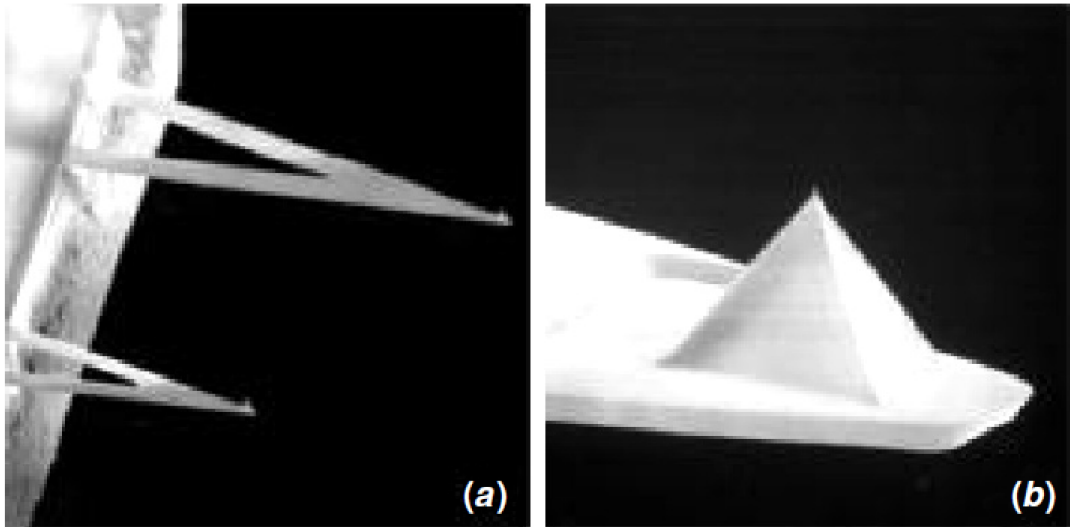


Figura 7 – a) *Cantilever* de silício e b) Ampliação da imagem anterior com foco na ponta na extremidade do componente. **Fonte:** Alessandrini, 2005.

Existem três tipos de modos de operação do aparelho para a aquisição dos dados e a utilização de cada um depende da interação de forças entre a amostra e a ponta. Se a interação entre a amostra e a ponta for sempre repulsiva, a ponta deve operar no modo de contato. Caso a força resultante seja atrativa, o modo de não contato é utilizado. Se temos um conjunto de interações, atrativa e repulsiva, o modo de contato intermitente (também chamado de dinâmico) é utilizado [14].

No modo de contato, onde a ponta varre a amostra através do toque, a força aplicada na ponta pelo sistema é mantida constante durante a varredura, criando imagens através da variação vertical de sinal. Para o modo de não contato temos um semelhante procedimento, modificando apenas a força constante aplicada [14].

Para o modo de contato intermitente, o *cantilever* oscila sob a amostra e a variação da amplitude de oscilação pós toque na amostra é computada. Neste modo a ponta varia entre as regiões de atração e repulsão para com a amostra durante a oscilação, diminuindo os efeitos de arraste que podem prejudicar a qualidade da imagem [14].

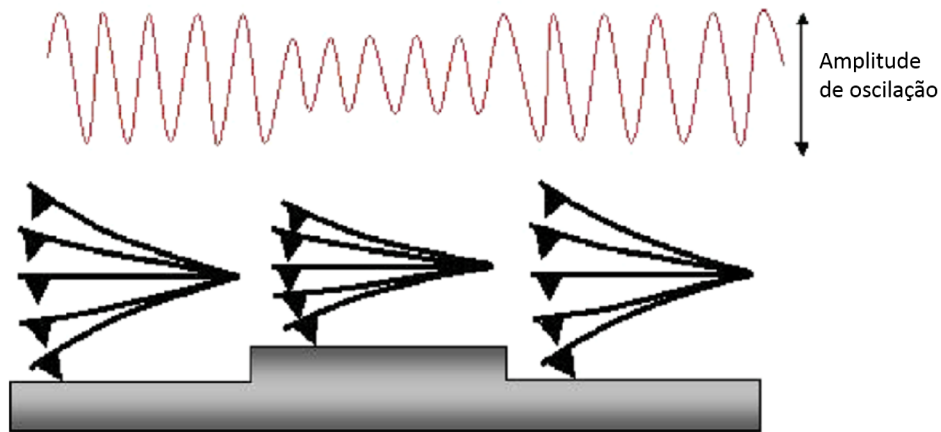


Figura 8 – Representação do comportamento da ponta no modo de contato intermitente. **Fonte:** Alessandrini, 2005.

O número de átomos na amostra influencia na resolução da imagem obtida, devido às forças de longo alcance que interagem com a ponta.

As características técnicas utilizadas nesse trabalho poderão ser encontrados na seção 3.2 [14, 22].

2.4 GRAFENO

Em 2004 Andre Geim e Konstantin Novoselov descobriram o grafeno e desde então, a comunidade científica tem pesquisado esse material com extremo interesse em suas propriedades físico-químicas. O grafeno, como definido, é um material 2D (duas dimensões) que se organiza em forma de folhas e possui hibridização sp^2 . Os átomos tomam uma forma hexagonal conhecida como *honeycomb* e sua espessura é equivalente a um átomo. É um material composto apenas por átomos de carbono, onde os átomos ligados entre si ocupam o mesmo plano e suas folhas podem ligar-se por forças de van der Waals [23]. A Figura 9 apresenta possíveis estruturas de carbono, que podem ser obtidas do grafeno.

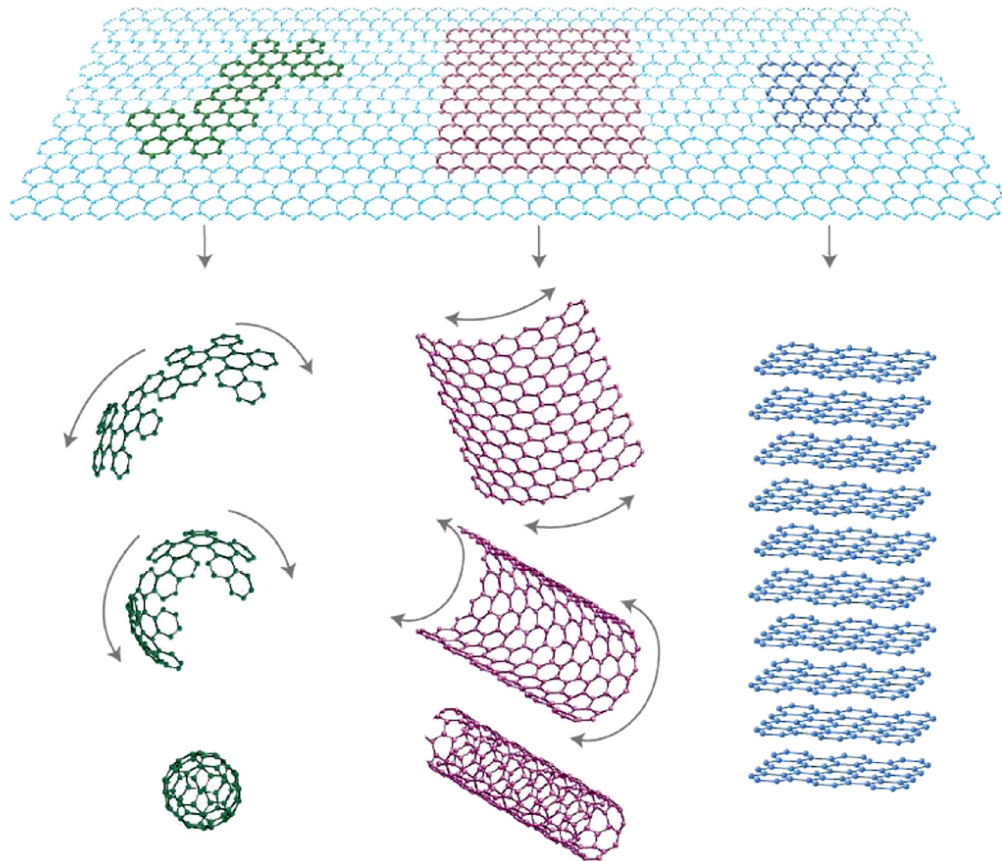


Figura 9 – Grafeno (cima) e seus derivados: Fulereo (esquerda); Nanotubo (centro) e grafite (direita).
Fonte: Randviir, Brownson e Banks 2014.

Geim e Novoselov, utilizaram a técnica conhecida como "*Scotch Tape method*", como um modo mais simples para isolar o grafeno. Esse método envolve o uso de uma fita adesiva para remover flocos de grafite de uma placa de grafite pirolítico altamente ordenado (HOPG) que depois será depositado em um substrato de sílica. Em seguida, utilizaram o mesmo método, de exfoliação mecânica, para obterem o grafeno [23, 4]. Hoje em dia contamos com alguns métodos diferentes para obtenção do grafeno como produto final, alguns destes métodos estão exibidos na Figura 10.

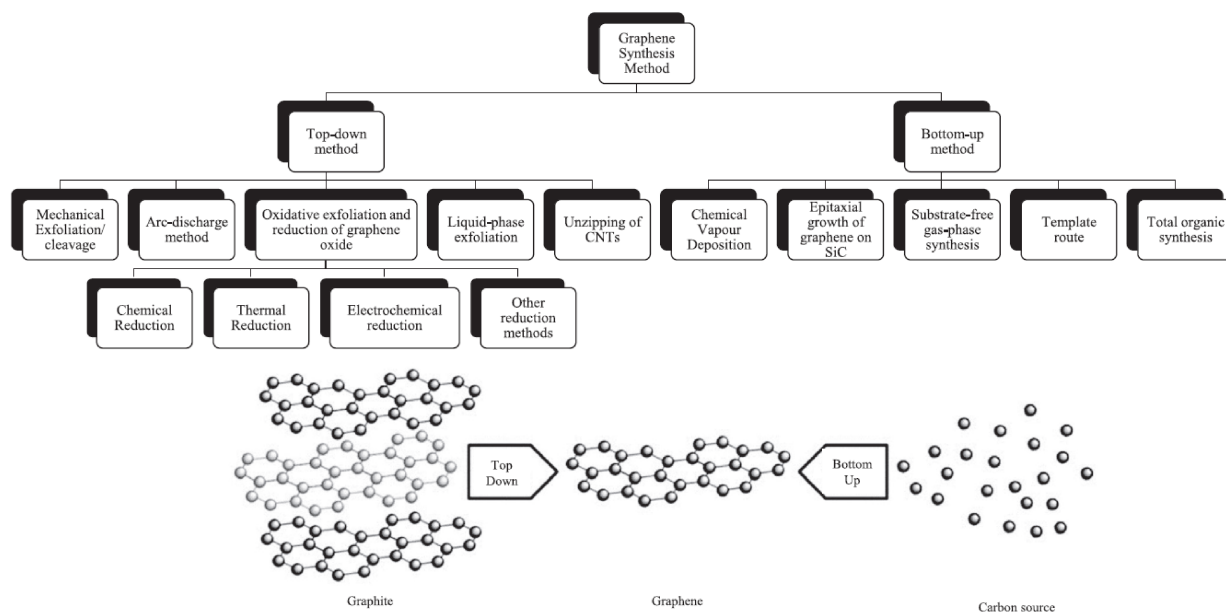


Figura 10 – Métodos de síntese do grafeno. **Fonte:** Peres, N. M. R. 2009.

O átomo de carbono possui seis elétrons que, segundo a distribuição eletrônica de Linus Pauling, são distribuídos nos orbitais $1s^2 2s^2 2p^2$. Os elétrons do orbital $1s$ não contribuem para as ligações químicas devido a uma forte atração com o núcleo. Dado que a diferença de energia entre os níveis $2s$ e $2p$ é menor que a energia ganha com a ligação C-C vemos então uma hibridização no orbital $2s$. Sendo assim, $2p_x$ e $2p_y$ se combinam quando os carbonos se unem formando o chamado orbital sp^2 dando origem a três ligações covalentes no plano, cada um contendo um elétron, chamados orbitais sigma (vide Figura 11). Os orbitais resultantes da hibridização são separados por ângulos de 120° , responsáveis pela geometria hexagonal da estrutura. [16, 3].

Podemos perceber um orbital perpendicular o plano, o orbital p_z com um elétron, que ao se combinar com outro átomo formam as ligações π . Os orbitais π são responsáveis pelas propriedades eletrônicas diferenciadas do grafeno. Do ponto de vista da rede e da estrutura de bandas, podemos ver o grafeno como duas redes triangulares, cada uma contendo dois átomos de carbono. Dados os dois átomos como unidade primitiva para a formação de toda a rede, temos que o orbital π resultante da ligação destes, possui duas bandas; uma banda de condução (maiores energias) e a banda de valência (menores energias), sendo a banda de valência completamente preenchida.

De modo diferente de outros sistemas, no grafeno não são levadas em conta as propriedades eletrônicas do material próximas aos últimos estados preenchidos, e sim

informações de seus estados próximos ao topo da banda de valência e fundo da banda de condução.

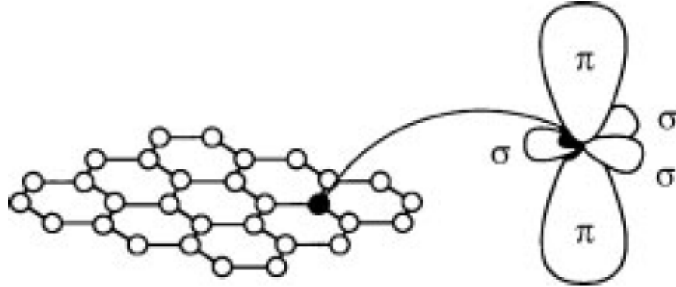


Figura 11 – Os orbitais sigma e pi do grafeno na hibridização sp^2 . **Fonte:** JORIO, A et al. 2011.

Para melhor entender a hibridização vamos ao exemplo do sistema de um elétron. Tomando o átomo de hidrogênio com apenas um elétron ($-e$) e massa m que orbita um núcleo de massa M . Podemos escrever a equação de Schrödinger, neste caso, da forma ^[16]:

$$\left[-\frac{\hbar^2}{2\mu} \nabla^2 + V(r) \right] \Psi(r) = E\Psi(r), \quad (2.4.1)$$

onde μ é a massa reduzida, que neste caso toma a forma:

$$\mu = \frac{M}{m + M} m \quad (2.4.2)$$

Considerando a simetria esférica do átomo de hidrogênio, podemos escrever o potencial $V(r)$ utilizando que $r = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}$ e

$$V(r) = -\frac{Ze^2}{4\pi\epsilon_0 r}, \quad (2.4.3)$$

nessa equação Z representa a carga do núcleo, no caso do hidrogênio temos $Z = 1$, já ϵ_0 é a constante dielétrica do vácuo. Novamente, utilizando da simetria esférica, a função de onda pode ser escrita como:

$$\Psi(r) = R(r)\Theta(\theta)\Phi(\phi), \quad (2.4.4)$$

que pode ser decomposta de forma a termos três equações diferenciais. Já que não temos nenhuma dependência de θ ou ϕ na Equação 2.4.3, pode ser utilizado na equação uma substituição através dos harmônicos esféricos $Y_l^m(\theta, \phi)$. Para a parte radial $R(r)$ que restou, utilizamos os polinômios de Laguerre. Temos associado a $R(r)$ a seguinte expressão:

$$R_{nl}(r) = \exp\left(-\frac{Zr}{na_0}\right) \left(\frac{Zr}{a_0}\right)^l G_{nl}\left(\frac{Zr}{a_0}\right) \quad (2.4.5)$$

Após alguns procedimentos matemáticos, obtêm-se o seguinte resultado para autovalores de energia:

$$E_n = -\frac{Z^2}{(4\pi\epsilon_0)} \cdot \frac{\mu e^4}{2\hbar} \cdot \frac{1}{n^2} \quad (n = 1, 2, 3 \dots), \quad (2.4.6)$$

Nestes autovalores temos alguns números quânticos: o número quântico principal n , o momento angular l , a componente z do momento angular m_l e o spin do elétron m_s . Os números quânticos podem assumir alguns valores já definidos

$$n = 1, 2, 3, \dots \quad (2.4.7)$$

$$l = 0, 1, 2, \dots, n - 1. \quad (2.4.8)$$

$$m_l = -l, -l + 1, \dots, l - 1, l. \quad (2.4.9)$$

$$m_s = 1/2, -1/2. \quad (2.4.10)$$

Os orbitais atômicos já citados $s, p, d \dots$ são apresentados $l = 1, 2, 3, \dots$ respectivamente. No caso do material que estamos estudando, o carbono, temos um $Z = 6$, que implica em um total de $n = 1, 2$ orbitais, sendo o primeiro orbital ($1s$) totalmente preenchido e um orbital $n = 2$ ocupado parcialmente, com elétrons ocupando orbitais hibridizados.

A complexidade eletrônica de uma molécula cresce conforme o nível de organização da molécula aumenta. Como exemplo, podemos tomar a molécula de NO. Os elétrons localizados no nível $1s^2$, em menores energias, e desse modo, não contribuem com propriedades moleculares. Os elétrons localizados no nível $2s$ também ocupam totalmente o orbital. Considerando os elétrons de ligação p , a ligação de NO hibridiza os níveis de energia de N e O que possuem o mesmo momento L ao redor do eixo z , tomando o eixo z como o eixo ao longo da ligação. Os elétrons pertencentes aos átomos de N e O, possuem os momentos $L = 0$ para os níveis $2s$ e $2p_z$ e $L = 1$ para $2p_x$ e $2p_y$. Já os localizados em $n = 2$, um total de 11 elétrons no nível $n = 2$: Para N: $2s^2, 2p^3$ e para O: $2s^2, 2p^4$ são responsáveis por ocupar os cinco níveis de mais baixa energia e um estado π^* , podemos ver a organização dos níveis na Figura 12. Neste caso, o orbital π^* é o que chamamos de *Singly occupied molecular orbital* (SOMO), se possuímos a molécula de NO ionizada, teremos o LUMO (*Lowest unoccupied molecular orbital*) já que o estado mais alto da ligação π^*

estará vazio e será o mencionado LUMO. Já o HOMO, (*Highest occupied molecular orbital*) será representado pelo nível p_z [16].

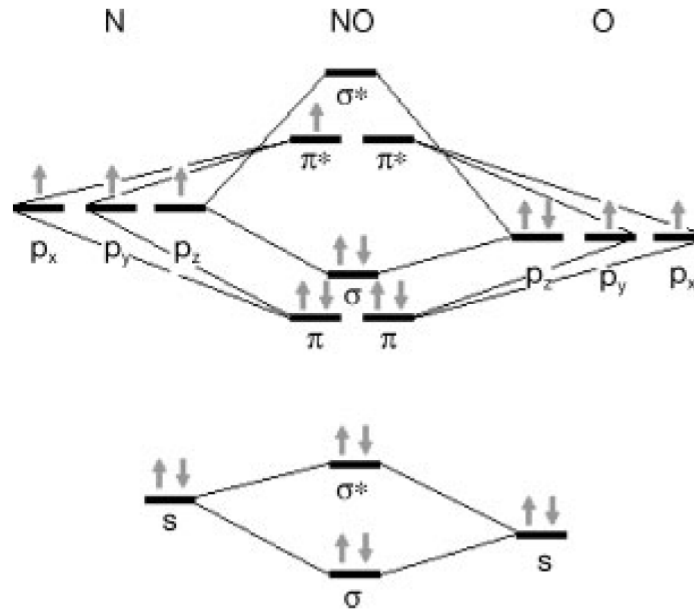


Figura 12 – Níveis de energia para a molécula de NO, explicitando a distribuição de spins distribuídos.
Fonte: JORIO, A et al. 2011.

Temos agora que direcionar o estudo ao problema da hibridização, a junção de orbitais atômicos. Voltando à Figura 12, os níveis de energia $2s$ é próximo ao $2p$ do outro átomo, em alguns casos a interação entre os átomos é tão forte que temos como consequência a hibridização destes dois níveis por questões de sua simetria semelhante.

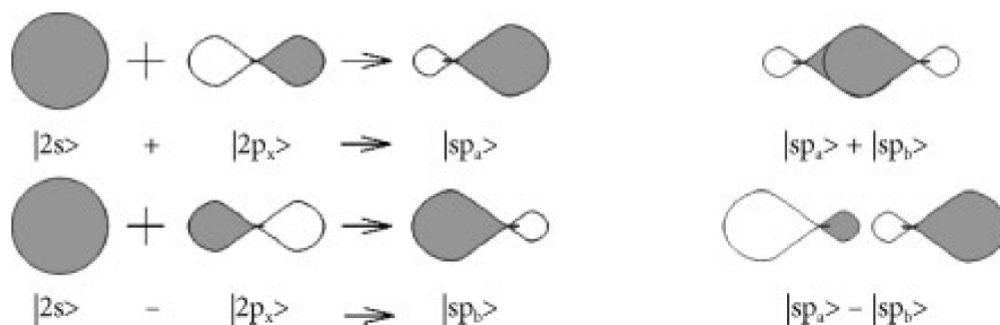


Figura 13 – Representação esquemática da hibridização sp . **Fonte:**JORIO, A et al. 2011.

No caso do grafeno, um material com hibridização sp^2 , essa característica se dá pela junção dos orbitais $2s$, e os orbitais $2p_x$ e $2p_y$ (Figura 13).

Na espectroscopia Raman a fonte de espalhamento inelástico que origina o espectro, em sua maioria, são os fônons. Que dependem da estrutura atômica do material, quando

falamos de material à base de carbono com hibridização sp^2 . Isso nos permite estudar materiais e destacar suas similaridades e diferenças dados os diversos materiais da família dos carbonos com hibridização sp^2 .

A estrutura cristalina deste material segue uma geometria 2D plana e possui uma célula unitária constituída por dois átomos (A e B) e de vetores da rede (\mathbf{a}_1 e \mathbf{a}_2), como mostra a Figura 14.

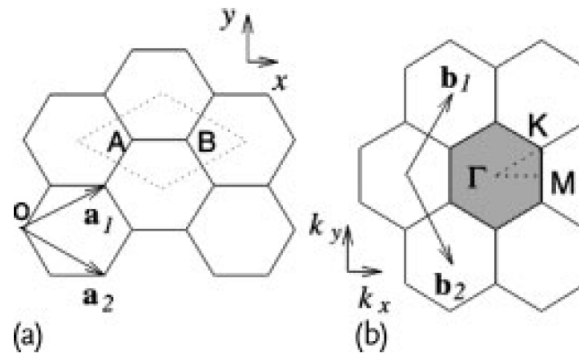


Figura 14 – (a) Representação da célula unitária e (b) Zona de Brillouin e pontos de interesse de simetria na estrutura do grafeno. **Fonte:** JORIO, A et al. 2011.

Também temos os vetores da rede recíproca, representados por \mathbf{b}_1 e \mathbf{b}_2 , juntamente com os pontos de interesse de simetria da zona de Brillouin, onde temos as relações de energia. Neste caso são três: Γ , K , e M . Estes pontos são importantes para, posteriormente, melhor entendermos onde estão localizados os modos de vibração que estão relacionados com as frequências de interesse. Os pontos importantes e vetores de rede estão na Figura 14.

Na Figura 15 podemos ver as relações de dispersão de fônons no grafeno 2D. São discriminados assim os modos no plano e fora deste, transversais ópticos e acústicos (TO e TA respectivamente) e longitudinais ópticos e acústicos (LO e LA respectivamente). Temos assim, cada modo discriminado e ligado a sua frequência.

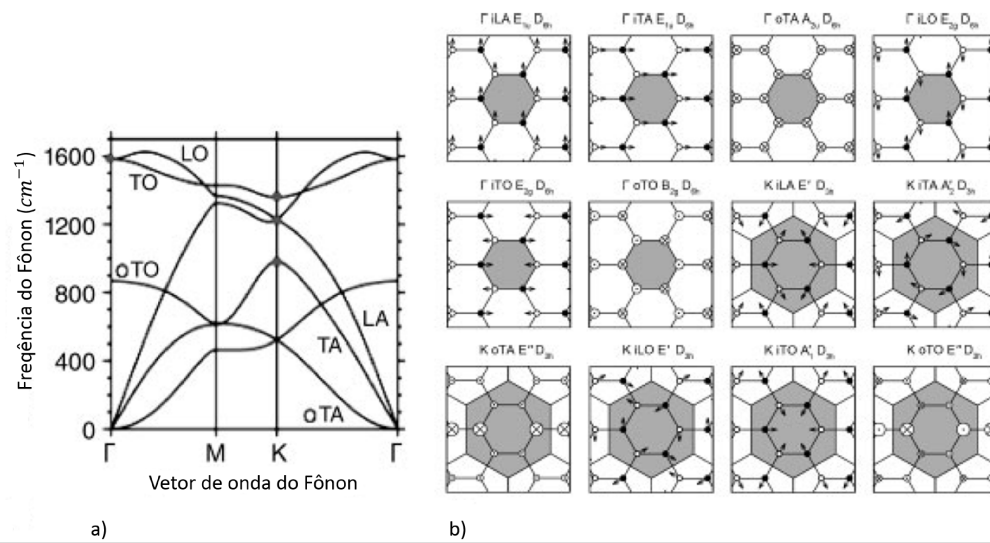


Figura 15 – Modos vibracionais, seus tipos e frequências relacionadas. **Fonte:**JORIO, A et al. 2011. (modificado)

Durante a nossa análise dos modos vibracionais do grafeno, estes serão relacionados com os modos apresentados na Figura 15. Após discutidos os parâmetros de interesse para o estudo do grafeno e sua importância, será apresentado brevemente o material biológico no próximo capítulo.

2.5 O DNA

O componente que une todos os seres vivos, as células, sofrem constantemente divisões para o surgimento de novas células e essas células podem diferenciar-se de acordo com sua função. Podemos observar células com as mais diversas funções, como, células musculares, nervosas, epiteliais e sanguíneas. Sendo assim o desenvolvimento e o crescimento dos organismos vivos são dependentes da diferenciação e multiplicação celular ^[13].

A biologia celular define o termo gene como: "a sequência de DNA que contém as informações necessárias para produzir uma molécula de RNA e, se esta corresponder a um RNA mensageiro, a partir dele elaborar uma proteína". Os processos fisiológicos e a estrutura dos seres vivos baseiam-se, na maior parte, em proteínas. Estima-se que existam 30.000 genes quando consideramos os 46 cromossomos presentes nas células humanas. Sendo assim temos toda a informação genética contida no ácido desoxirribonucleico (DNA) ^[13]. O DNA, do ponto de vista químico, é constituído em sua maior parte por desoxirribonucleotídeos compostos de um grupamento fosfato e uma pentose do tipo desoxirribose que encontra-se ligada em uma das quatro bases nitrogenadas. Das quatro bases possíveis temos citosina e timina apresentando uma estrutura de anel único, característica das pirimidinas e adenina e guanina com uma estrutura de anel duplo, caracterizada como purina. Os 4 nucleotídeos encontrados no DNA estão ilustrados na Figura 16 ^[11, 12, 13].

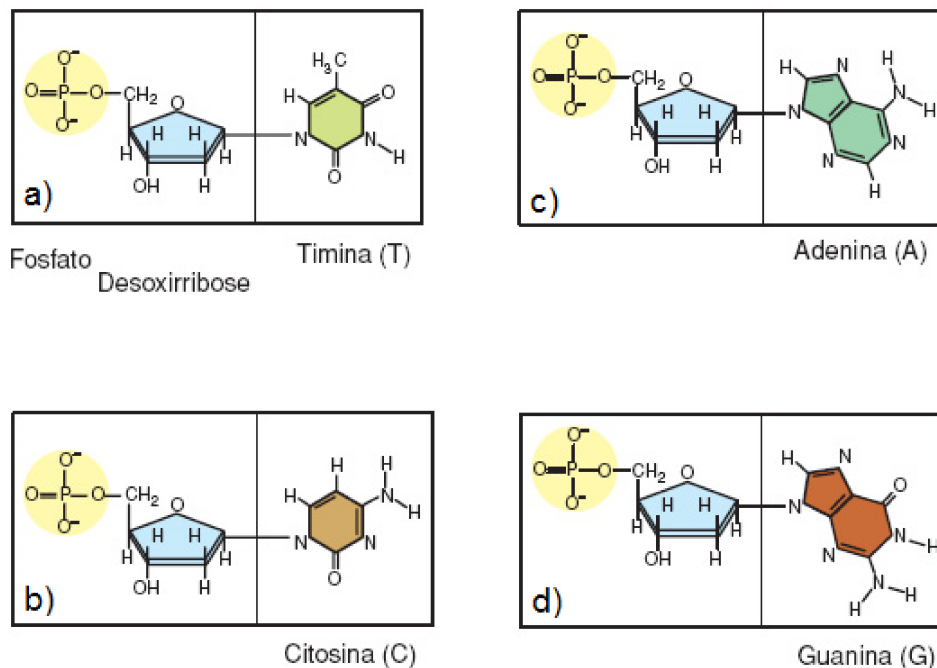


Figura 16 – Ilustração de como são formadas as bases, partindo de um grupamento fosfato, um açúcar e uma base nitrogenada: **a)** Timina; **b)** Citosina; **c)** Adenina; **d)** Guanina. **Fonte:** Amabis e Martho, 2006.

O modelo de organização do DNA conhecido, atualmente, foi proposto em 1953 por James Watson (geneticista americano) e Francis Crick (físico inglês). Baseando-se em seus estudos e também estudos anteriores de outros cientistas, Watson e Crick chegaram à conclusão de que o DNA é de dupla hélice, sendo composta por dois filamentos enrolados um ao redor do outro, juntamente, com bases de nucleotídeos ligados. Esse modelo foi confirmado juntamente com experimentos de raios-x pela química britânica Rosalind Franklin.

Dessa forma a estrutura de dupla-hélice compõe-se de dois filamentos de nucleotídeos torcidos entre si, mantidos por ligações de hidrogênio entre as bases de cada filamento em sua parte interna. Essa estrutura que se assemelha a uma escada em espiral possui o arcabouço (laterais da hélice) formados de açúcar (desoxirribose) e grupamentos fosfato alternados. A ligação que permite essa junção de nucleotídeos é chamada de ligação fosfodiéster. Partindo da ligação fosfodiéster podemos organizar e parametrizar a cadeia nucleotídica, de forma que os carbonos dos grupamentos de açúcar são numerados de 1' a 5' como mostra a Figura 17 ^[12].

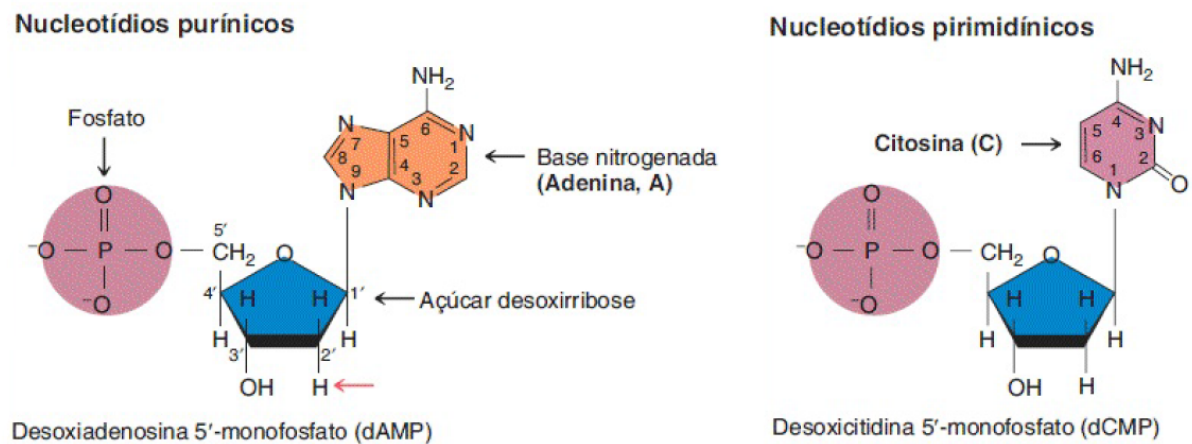


Figura 17 – Estrutura de nucleotídeos purínicos, pirimidínicos e as numerações de seus componentes. **Fonte:** Griffiths, 2008.

Partindo dessa numeração vemos que a ligação fosfodiéster é responsável por conectar o átomo de carbono 5' de uma desoxirribose a um átomo de carbono 3' da desoxirribose seguinte no filamento. Dado isso, é dito que a polaridade do conjunto ligado de açúcar e fosfato é no sentido 5' para 3'. Esse sentido de ligação é vital para a organização celular. Os filamentos opostos possuem orientação antiparalela^[12].

As bases nitrogenadas apresentam-se ligadas no carbono 1' da desoxirribose no arcabouço de cada filamento. Cada base está direcionada para a parte interna e em direção à uma base conectada ao filamento oposto. A interação entre as bases é feita por ligações de hidrogênio, que mantém unidos os dois filamentos da molécula de DNA. As interações entre as bases, assim como o sentido de ligação fosfodiéster do DNA, podem ser vistas na Figura 18.

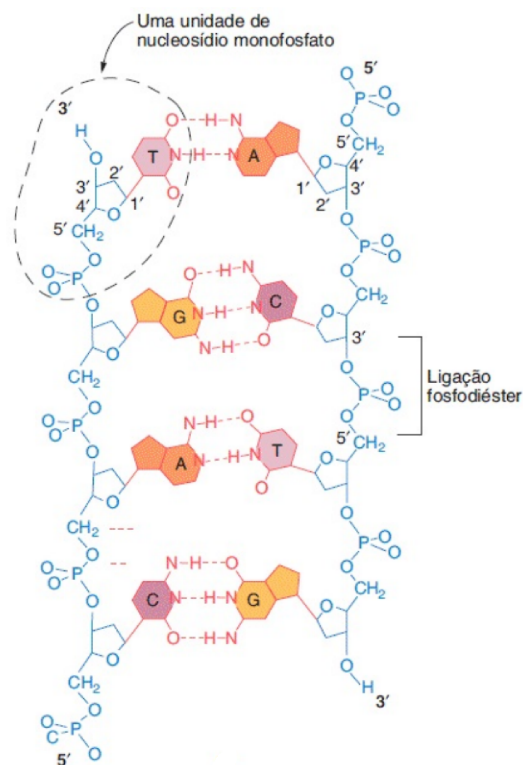


Figura 18 – Diagrama químico de um DNA desenrolado. **Fonte:** Griffiths, 2008.

Os dois filamentos compostos pelos nucleotídeos, quando pareados de modo antiparalelo, automaticamente apresentam a conformação de dupla hélice. A principal causa disso pode ser atribuída às interações dos pares de bases que se apresentam em uma conformação

de empilhamento no centro do DNA, aumentando a estabilidade e excluindo moléculas de água dos locais entre as bases pareadas. O modo de organização mais estável para o DNA dá origem a dois filamentos em formato de dupla-hélice, apresentando sulcos de tamanhos diferentes ao longo da espiral ^[12], como ilustrado na Figura 19.

Existe uma especificidade entre as ligações resultantes dos quatro nucleotídeos: a adenina sempre irá parar-se com uma timina do outro filamento e a guanina de um filamento sempre terá como par a citosina de outro. Temos essas ligações específicas devido a características como o formato e as cargas elétricas complementares das bases. Adenina e timina são unidas por uma dupla ligação de hidrogênio e, guanina e citosina unidas por uma tripla ligação de hidrogênio, como visto na Figura 18. Dessa forma o par Citosina - Guanina se apresenta mais estável do que o par Adenina - Timina.

Ainda, a quantidade de adenina é igual a quantidade de timina ($A = T$) e a de guanina é igual à de citosina ($G = C$); onde podemos afirmar que o número de purinas é igual ao de pirimidinas ($A + G = T + C$) ^[13].

Existe um mecanismo de cópia celular muito importante que é chamado de replicação semiconservativa. A replicação tem início com a deslicoidização dos dois filamentos que compõem a dupla-hélice. Como cada base não possui ligante, temos a possibilidade de ela se ligar a um nucleotídio livre, de modo a seguir a exigência de pareamento, já discutida anteriormente. Temos assim os dois filamentos atuando como um molde, direcionando a montagem de uma fita auxiliar de bases para a formação de duas dupla-hélices, idênticas à original. Com isso teremos duas moléculas "filhas" de DNA, cada uma delas contendo um filamento da molécula original, como podemos ver na Figura 20.

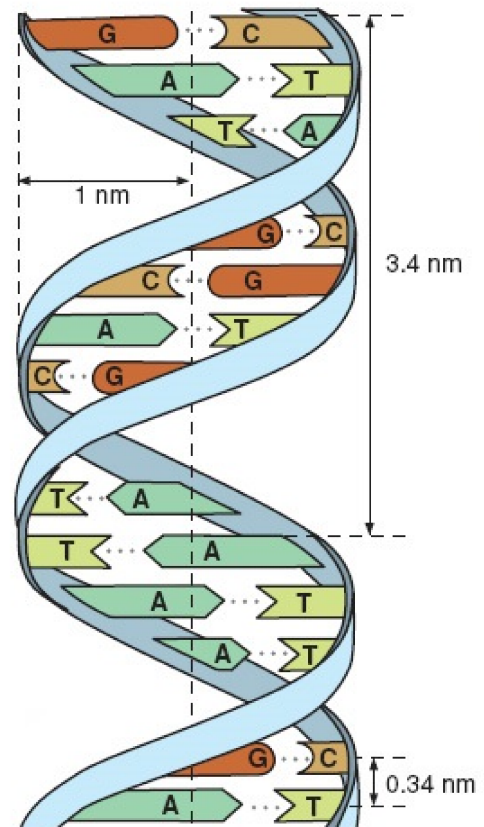


Figura 19 – Exemplo de organização em formato dupla-hélice. **Fonte:** Amabis e Martho, 2006.

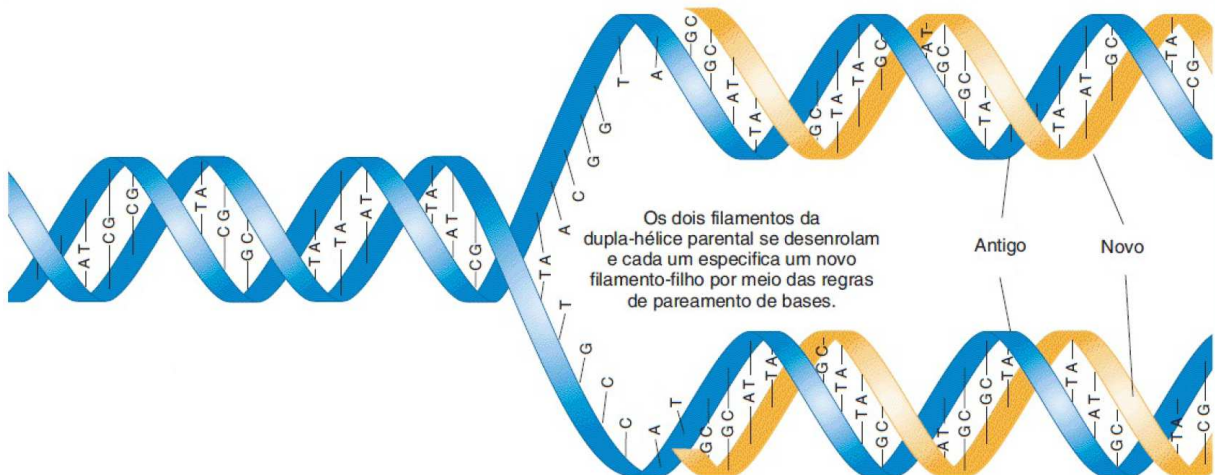


Figura 20 – Modelo de replicação semiconservativa onde as fitas azuis são os moldes e as amarelas são suas novas complementares. **Fonte:** Griffiths, 2008.

Além do mecanismo de cópia do DNA, podemos citar outra característica muito importantes envolvendo o material genético, é o método de como essa informação contida no material genético é transferido ou transcrito.

No processo chamado de transcrição do DNA os filamentos que compõem a dupla hélice são separados, de maneira análoga ao citado no processo de replicação, e desse modo um filamento pode ser utilizado como molde para a síntese de um RNA.

O RNA (*Ribonucleic Acid*), diferentemente do DNA, possui o açúcar ribose e não a desoxirribose. Também de modo diferente o RNA é composto apenas de uma cadeia de nucleotídios, ou seja, apenas um filamento que não dá origem a uma dupla-hélice. O RNA possui a base pirimidínica uracila no lugar da timina [12].

A responsabilidade de deselcoidização do DNA e posicionamento de cada ribonucleotídeo com seu par correspondente é dada à enzima RNA polimerase; onde A é pareado com T do DNA, G com C, C com G e U com A. Na Figura 21 vemos a ação da enzima em uma dupla hélice e a produção dos genes, que quando forem expressados darão origem a uma proteína.

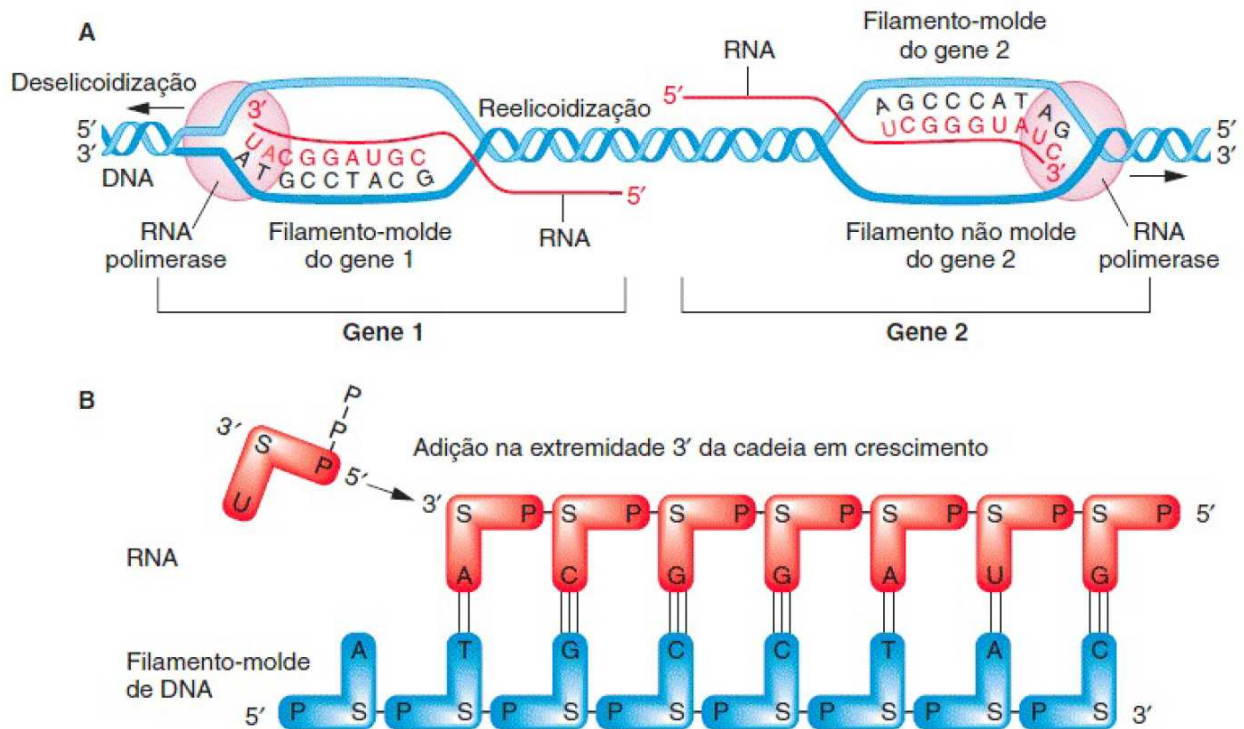


Figura 21 – **A.** Transcrição de genes em sentidos opostos partindo de filamentos molde diferentes. **B.** Ribonucleotídeos sendo adicionados em uma cadeia transcrita em formação. P = Fosfato e S = açúcar. **Fonte:** Griffiths, 2008.

Esse RNA transcrito partindo dos genes é o chamado RNA mensageiro (mRNA), que junto com outros tipos de RNA darão origem a moléculas de proteínas. Temos então a expressão da organização e ordenação do desenvolvimento de um indivíduo ^[12].

Dessa forma, vemos a importância do DNA na célula, junto a isso temos o grafeno que se tornou um grande atrativo na área da nanomedicina. O grafeno possui características que o torna eficiente para drug e gene delivery, entre outros caminhos possíveis para estes materiais. Entretanto, os dados adquiridos até então são insuficientes quanto à biocompatibilidade dado as formas numerosas e de produção do grafeno, com isso, pretendemos neste trabalho entender melhor como o grafeno se interage com as bases de DNA ^[7].

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ORIGEM DAS AMOSTRAS

Foram utilizadas, neste trabalho, amostras de bases de DNA e óxido de grafeno. As amostras de grafeno foram cedidas pelo Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), pela professora Dra. Clascídia A. Furtado. As amostras de bases de DNA foram cedidas em colaboração com o Prof. Dr. Sydnei Magno da Silva da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

3.2 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM)

A técnica usada para análise das estruturas foi o AFM (*atomic force microscopy*). Esse tipo de análise permite obter imagens em 3D e analisar distâncias em escala de micrômetros a nanômetros. O método de AFM pode ser resumido a um escaneamento de superfície através de uma ponta de prova, assim formando uma imagem 3D de alturas. Essa imagem é resultado de interações entre a superfície da amostra e a ponta de prova, tais como forças eletrostáticas, forças mecânicas de contato e interação de Van der Waals, entre outras^[14, 22]. De forma simplificada as interações da ponta de prova formam uma imagem digital e analisável por softwares específicos. A Figura 22 mostra o esquema de funcionamento básico do equipamento que foi utilizado.

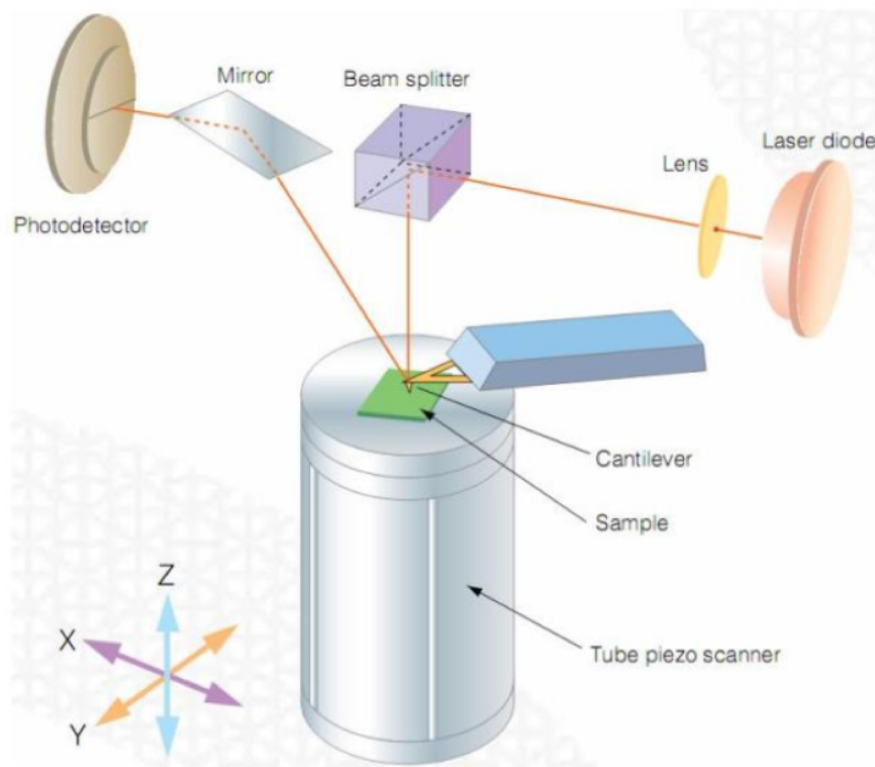


Figura 22 – Representação do funcionamento de um aparelho de AFM. **Fonte:** Catálogo Shimadzu SPM-9600

O equipamento utilizado foi o Shimadzu SPM - 9600, operando no modo dinâmico do aparelho, referente ao modo de contato intermitente. Na Figura 22 temos a composição do aparelho segundo o manual do fabricante: o *tube piezo scanner* é o mecanismo de controle da posição da amostra (*sample*) que será analisada pela ponta de prova anexada ao *cantilever*. E este *cantilever* é uma estrutura flexível e com uma extremidade livre, com a ponta de prova. O laser reflete na ponta de prova e após outra reflexão em um espelho encontra um fotodetector. No *fotodetector* temos a relação das variações das posições do laser refletidas com as deflexões no *cantilever*, causadas pela mudança de topografia da amostra, assim formando uma imagem de superfície que pode ser analisada por softwares de códigos livres, como no nosso caso [22].

3.3 ESPECTROSCOPIA RAMAN

As medidas de espectroscopia Raman foram realizadas no equipamento multi-usuário da Universidade Federal de Uberlândia e no equipamento próprio do Grupo de Espectroscopia de Materiais (GEM).

O equipamento utilizado é composto de um espectrômetro com grades de difração com um alcance do UV (Ultravioleta) ao Infravermelho próximo (NIR - *Near Infra-Red*) passando também pelo visível. Fontes de excitação, acessórios ópticos e um microscópio (micro-Raman).

Como detectores, atualmente, têm-se utilizado os CCD (*Charge Coupled Device*) juntamente com filtros. Um monocromador é utilizado para eliminar e subtrair a luz de excitação do laser, o chamado espalhamento Rayleigh. O equipamento pode ser encontrado com outras configurações, vide Figura 23.^[24]

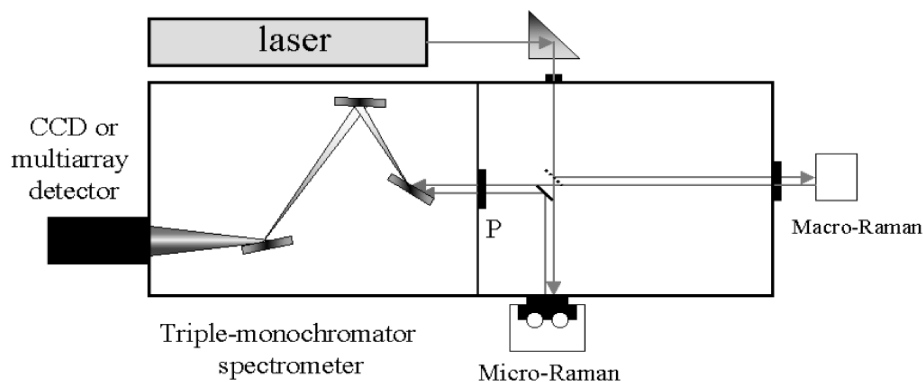


Figura 23 – Representação de um aparelho de espectroscopia Raman. **Fonte:**ARMOND, 1999.

3.4 PREPARAÇÃO DOS MATERIAIS

- Bases de DNA: As bases de DNA usadas fazem parte de um kit laboratorial feito pela empresa *BIORON*^[25]. O kit consiste em quatro frascos de 250 μ L contendo uma das quatro bases em cada, com a concentração padrão de 100mM de:

- *Deoxyadenosine triphosphate* (dATP)
- *Deoxyguanosine triphosphate* (dGTP)
- *Deoxycytidine triphosphate* (dCTP)
- *Deoxythymidine triphosphate* (dTTP)

As amostras foram armazenadas como sugere o fabricante, mantidas em uma temperatura próxima a -20°C e só foram retiradas desta condição para preparação de compósitos e medições. Os Desoxirribonucleotídeos Fosfatados (dNTPs) são acompanhados também de um sal afim de manter o pH em 7,5 para conservação.^[25] Abaixo podemos observar a estrutura molecular desse material biológico^[26, 27, 28, 29].

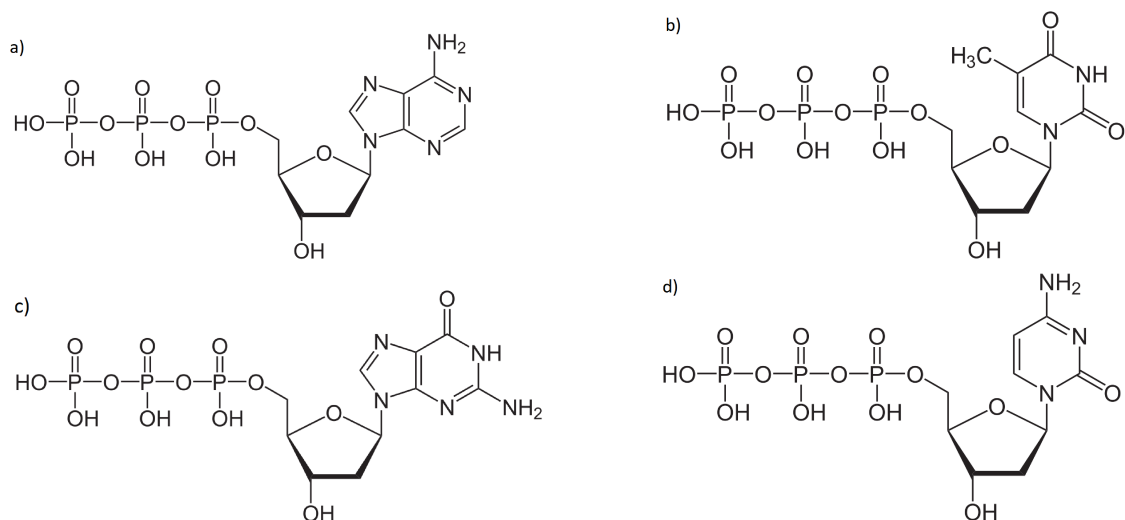


Figura 24 – Representação estrutural das bases de DNA: dATP (a), dTTP (b), dGTP (c) e dCTP (d). Sendo (a) e (c) purinas e (b) e (d) pirimidinas.

- Óxido de Grafeno (GO): Como discutido na seção 3.1, tínhamos em mãos amostras de óxido de grafeno, sendo estas em duas concentrações: 60ng/ μ L e 120ng/ μ L. A princípio a primeira concentração, 60ng/ μ L, foi a utilizada para este trabalho pois esta já foi otimizada para estudo de grafeno e DNA em outros trabalhos dentro de nosso grupo.

3.4.1 Medidas de espectroscopia Raman

Para as medidas de espectroscopia Raman, tanto do grafeno, material biológico e compósito, tivemos as seguintes preparações:

- Óxido de Grafeno (GO) em solução: Começamos separando uma alíquota de 1mL da amostra total de grafeno de concentração 1ng/mL. Essa alíquota foi separada a fim de evitar contaminações e degradações à amostra principal. A princípio essa amostra foi armazenada em temperatura ambiente e não sofreu processo de sonificação. Foi utilizado um substrato de vidro com pequenos poços de capacidade de 5 μ L para deposição da amostra durante a medição. Este substrato sofreu um processo de deposição de ouro por evaporação a fim de amplificar o sinal visualizado através de reflexões múltiplas no poço. A espessura de ouro no substrato é pequena e apenas o suficiente para cobrir os poços para as medidas.

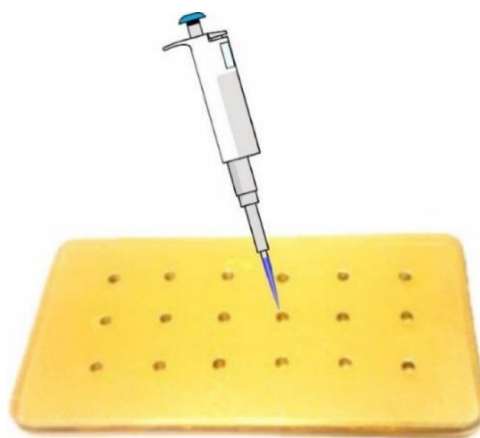


Figura 25 – Representação do substrato metalizado utilizado para as medidas de espectroscopia Raman em soluções.

Para o grafeno houve deposição no substrato no momento da medida para evitar contaminações. Tomou-se o cuidado de manter sempre o mesmo volume de solução durante toda a aquisição dos espectros.

- Óxido de Grafeno (GO) em filme: A partir da solução de grafeno foi pipetado $5\mu\text{L}$ sobre substrato de vidro; que em seguida, foi deixado de secar à temperatura ambiente. O espectro Raman do grafeno foi obtido na linha de excitação do laser em 633nm .
- Bases de DNA: Com as bases o método de medição foi análogo ao grafeno em solução, foram pipetadas alíquotas de $5\mu\text{L}$ em um poço e a obtenção do espectro foi realizada. Foram usados poços diferentes para cada uma das bases citadas na Figura 24.
- Compósito (Bases de DNA + GO): De forma análoga à preparação das bases, em cada poço foi gotejado uma alíquota de $5\mu\text{L}$ de compósito em diferentes concentrações de grafeno para cada volume de base mantido fixo. As concentrações analisadas foram as seguintes em proporção de volume: 1:5, 1:10, 1:1 e 5:1 de dNTP:GO.

3.4.2 Medidas de AFM

Na aquisição das imagens de AFM, tanto do grafeno, material biológico e compósito, foram realizados os seguintes procedimentos:

- Grafeno(GO): Foi depositado, pelo método de casting, em um substrato de vidro de $18\times 18\text{mm}$, um total de $5\mu\text{L}$ da solução de grafeno com a concentração de 1ng/mL . As imagens foram coletadas em diferentes pontos da amostra para melhor compreensão da conformação topológica da amostra.
- Compósito (Bases de DNA + GO): De forma análoga à preparação de filmes de GO foram usados substratos de vidro de $18\times 18\text{mm}$, e em cada um gotejado $20\mu\text{L}$ de cada compósito. As primeiras imagens de AFM dos compósitos apresentaram aglomerados, assemelhando se ao sal (conservante) presente nas bases. A fim de comprovar essa observação foi efetuada a lavagem do filme e novas imagens foram obtidas.
- Lavagem dos compósitos: Os substratos contendo os compósitos foram submetidos a um processo de lavagem. Cada amostra recebeu $20\mu\text{L}$ de água ultra pura e, utilizando um *spin-coater*, foi submetida a uma centrifugação rápida. As medidas de AFM foram feitas antes e após a lavagem dos compósitos afim de comparação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão discutidos os dados obtidos à partir das amostras de grafeno e das bases de DNA (dNTPs). As amostras de grafeno foram estocadas em pequenos volumes e armazenadas sob refrigeração, do mesmo modo que as bases de DNA. Os materiais foram retirados do armazenamento refrigerado apenas para as medições. Com isso foi mantida a integridade dos materiais.

4.1 ANÁLISE DO GRAFENO

Os espectros Raman foram obtidos de acordo com a subseção 3.4.1 e as medidas de AFM adquiridas de acordo com a seção 3.2.

4.1.1 Caracterização do grafeno por Espectroscopia Raman

Como discutimos na seção 2.4 os materiais baseados em grafeno, com hibridização sp^2 , podem ser diferenciados estruturalmente pela técnica de espectroscopia Raman. A Figura 26 apresenta o espectro Raman do grafeno na forma de filme obtido utilizando o laser de 633nm como linha de excitação.

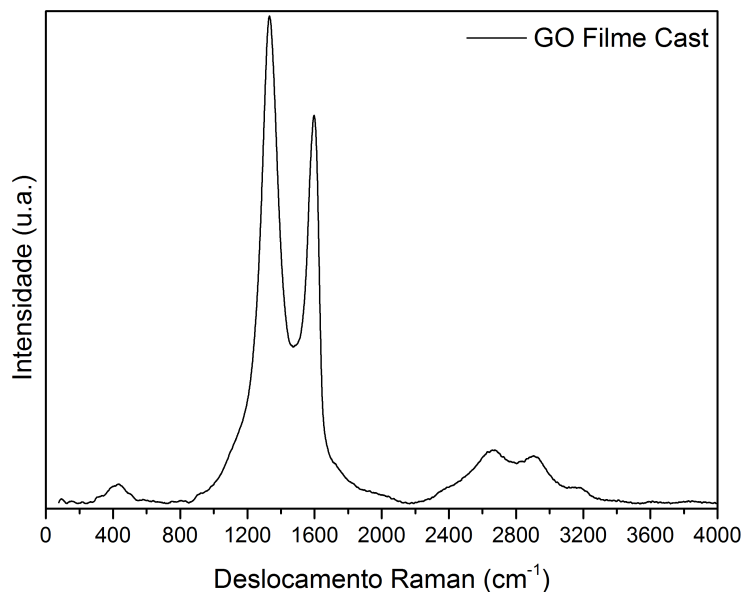


Figura 26 – Espectro Raman referente ao GO em filme obtido por casting.

Primeiramente, comparando o espectro de GO obtido por nós com os espectros da Figura 27 logo abaixo, podemos observar que este corresponde ao espectro de um grafeno danificado (*damaged graphene*). Essa identificação era a esperada, já que temos o GO (grafeno oxidado) como material em questão. O método de produção desse tipo oxidado de grafeno gera defeitos na rede cristalina do grafeno puro. Como defeitos podemos ter a presença de grupos epóxi, hidroxilas, carbonilas e carboxilas. Esses grupamentos são localizados tanto nas bordas como no plano da estrutura, uma consequência do método de Hummers ^[30] durante a fabricação do GO partindo do grafite natural expandido com 99,5% de pureza.

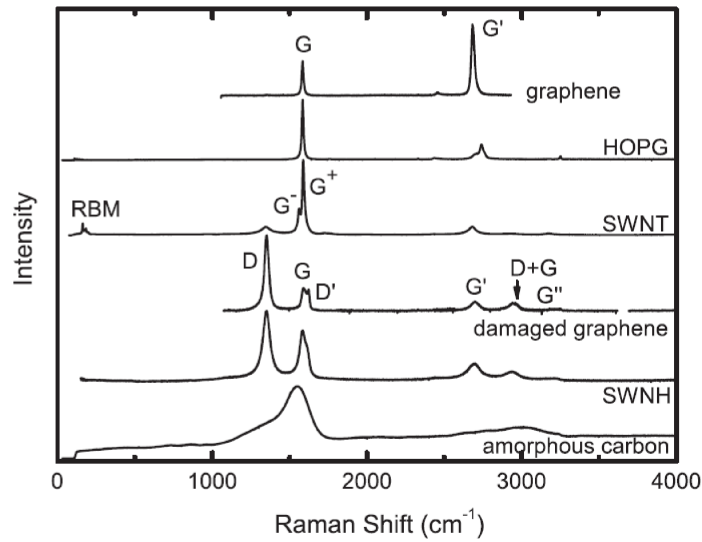


Figura 27 – Espectros Raman de materiais à base de carbono com hibridização sp^2 . **Fonte:** JORIO, A et al. 2011.

São esses defeitos, originados pelos grupos, os responsáveis pela observação de algumas bandas, como veremos à frente. Seguindo com a análise do nosso espectro de grafeno, dividimos em duas regiões espectrais: **Região I** - 800 a 2300 cm^{-1} e **Região II** - 2100 a 3500 cm^{-1} , que descrevem a energia em função da amplitude das oscilações.

Temos a equação matemática para a função lorentziana dada por:

$$y = \frac{a_0}{1 + \left(\frac{x-a_1}{a_2}\right)^2}, \quad (4.1.1)$$

onde a_0 = amplitude; a_1 = centro e a_2 = largura do pico.

Região I - 800 a 2300 cm^{-1}

Essa região do espectro apresenta alguns dos principais modos vibracionais do grafeno, como mostrado na Figura 28.

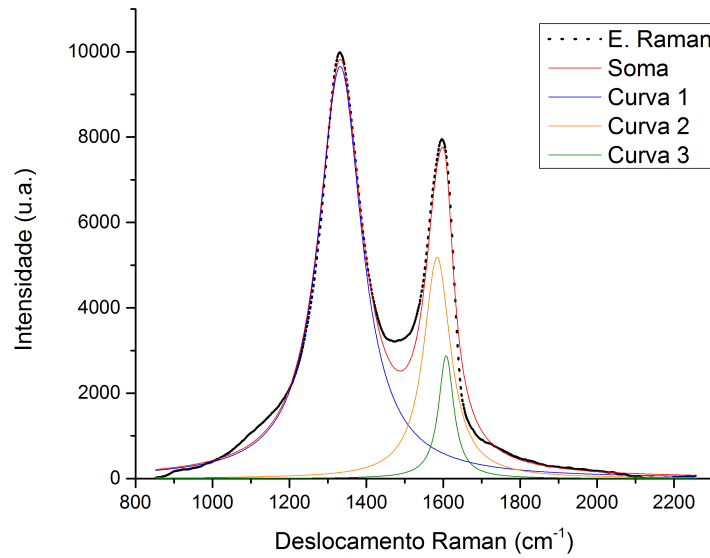


Figura 28 – Ajustes por lorentzianas da primeira região do espectro Raman do grafeno isolado.

O primeiro modo vibracional de interesse é atribuído à chamada **banda G**. Essa é uma banda presente em todos os sistemas de carbono com hibridização sp^2 , a origem deste modo está nos fônons ópticos localizados no ponto Γ da zona de Brillouin. É esperado que esse modo seja encontrado por volta de 1580 cm^{-1} , segundo a literatura e a análise feita previamente pelo CDTN. No espectro da Figura 28 ele é representado pela **curva 2** e tem seu centro localizado em 1584 cm^{-1} [16, 31, 32]. A banda G é originada por um processo que se inicia com um fóton incidente que de modo ressonante excita um par elétron-buraco, seguido de um espalhamento de um destes elementos por um fônon de modo iTO ou iLO. A banda G originada deste processo representa uma vibração no plano, o chamado *stretching*, entre os carbonos da ligação C-C. Esses modos vibracionais estão esquematizados na Figura 29 [31].

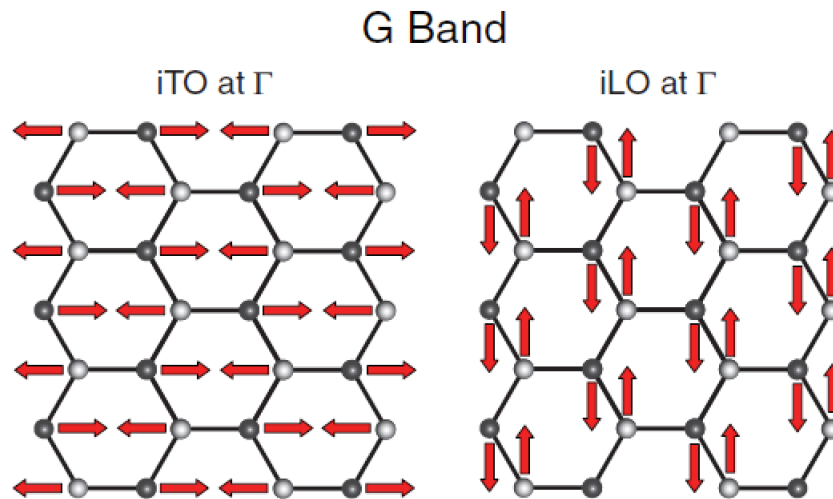


Figura 29 – Esquematização dos modos de vibração para a banda G. **Fonte:** Beams, 2015.

Outra banda de interesse é a chamada **banda D**, geralmente encontrada em torno de 1350 cm^{-1} . Na Figura 28 é representada pela **curva 1**. Diferentemente da banda G, a banda D é consequência de um defeito da rede, como algum grupamento anexado ou uma vacância, como já discutimos antes. No caso da banda D temos um elétron espalhado de forma inelástica por um fônon iTO para o ponto K' e novamente espalhado de volta ao ponto K, como consequência de um defeito. Na Figura 30 podemos ver esse modo de vibração no plano da cadeia [31, 16].

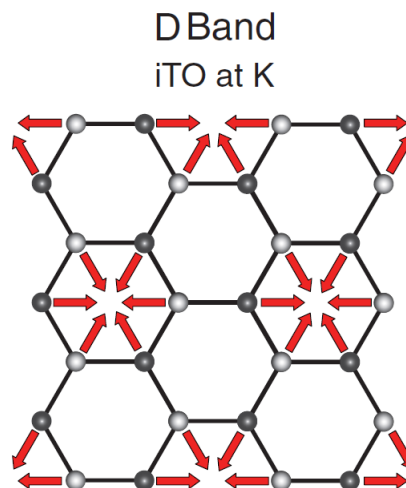


Figura 30 – Esquematização dos modos de vibração para a banda D. **Fonte:** Beams, 2015.

Próximo de 1620 cm^{-1} existe a **banda D'**, esta também é uma banda que depende de defeitos estruturais para existir. Na Figura 28 temos essa banda representada pela **curva 3** com centro em 1607 cm^{-1} [31, 16].

Região II - 2100 a 3500 cm^{-1}

A Figura 31 apresenta o espectro do GO com bandas mais largas e de menores intensidades, que os observados na região I.

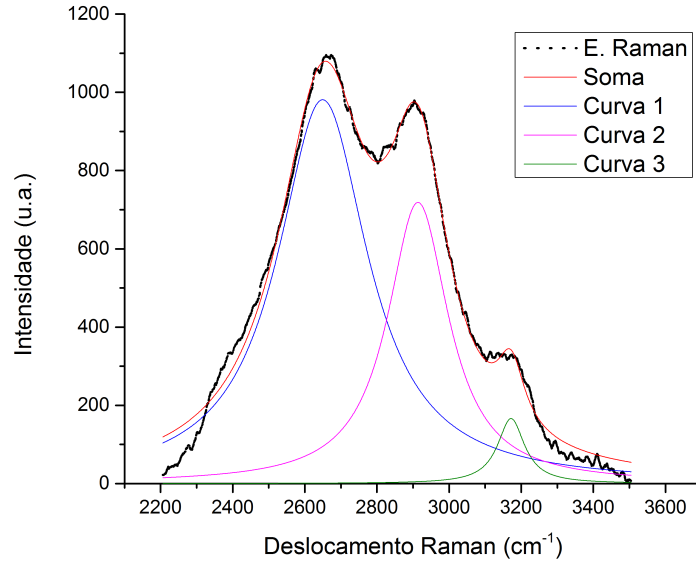


Figura 31 – Ajustes por lorentzianas da segunda região do espectro Raman do grafeno isolado.

O primeiro pico, a **curva 1**, com centro localizado em **2649 cm^{-1}** , é referente à **banda 2D** que é encontrada ao redor de **2700 cm^{-1}** . E esse modo possui o mesmo comportamento vibracional da banda D, um movimento de respiração do anel, consequente de um processo Raman de segunda ordem [16, 31, 32].

Após o primeiro pico, temos a combinação das **bandas D + D'** resultando em uma banda centrada em **2916 cm^{-1}** . Já em **3172 cm^{-1}** há uma banda de defeitos, similar à banda D, entretanto, agora a chamada de **banda 2D'** é resultante de um processo envolvendo dois fônons e o chamado *overtone* da banda D'.

Utilizando os dados obtidos pela espectroscopia Raman, podemos também estimar o tamanho do cristalito de grafeno (L_a) que estamos estudando. A fórmula [33] apresentada abaixo nos permite utilizar a razão entre as intensidades das bandas D e G, e o comprimento de onda do laser utilizado λ_{laser} para obter um tamanho médio das nossas estruturas. Nesse caso, o laser utilizado foi o de 633nm e a razão entre as intensidades das bandas $\frac{I_D}{I_G}$ obtida por nós foi de 1,87.

$$L_a(nm) = (2,4 \times 10^{-10}) \lambda_{laser} \left(\frac{I_D}{I_G} \right)^{-1} \quad (4.1.2)$$

Como resultado da equação temos que o tamanho médio dos nossos cristalitos de grafeno é da ordem de 20,6 nm. O empilhamento de folhas de grafeno nesta amostra é pequeno mas, na seguinte análise por espectroscopia de força atômica, veremos que juntamente com as folhas de grafeno ali coexistem alguns aglomerados de carbono.

4.1.2 Caracterização por AFM do grafeno

Para análise de superfície, com intuito de identificar as formas e dimensões do grafeno utilizado, usamos da técnica de AFM. Através das imagens geradas, tanto em 2D quanto em 3D, foi possível traçar perfis para cada estrutura observada. Na Figura 33 temos imagens e da amostra de GO. O programa utilizado para a obtenção dos perfis das estruturas é o Gwyddion, um software livre de tratamento de dados em imagens.

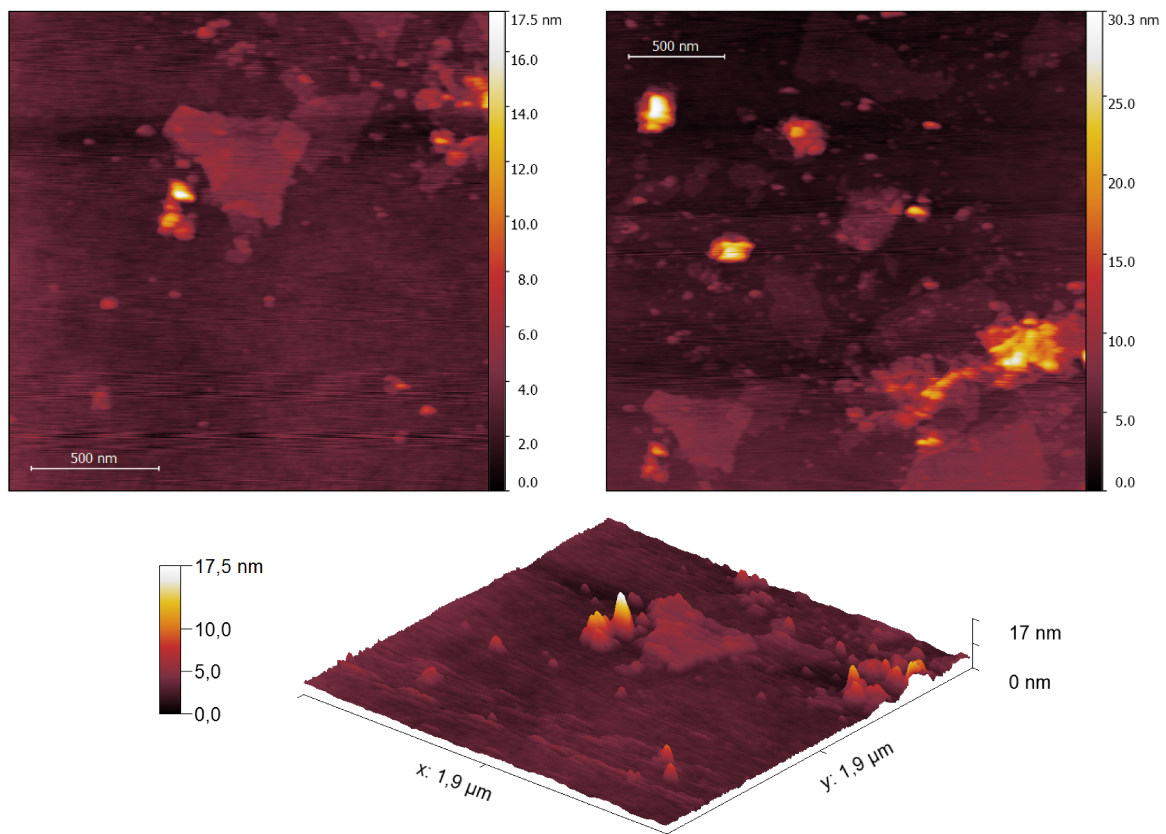


Figura 32 – Imagens do grafeno utilizado obtidas através de AFM. Acima duas imagens 2D e abaixo uma imagem 3D mostrando as folhas e pequenos aglomerados.

Analisando a Figura 32 podemos identificar dois tipos de formas: uma estrutura em formato de folha e outro tipo de estrutura de formato granulado. Ambas as formas eram esperadas, entretanto, apenas as estruturas com formato de folha são de interesse; os

outros tipos de estruturas encontrados, apesar de serem grafeno, se devem ao processo de obtenção do GO. Através de uma análise de perfil foi possível coletar algumas informações acerca das estruturas da Figura 33. E a Figura 34 apresenta as linhas de superfícies obtidas.

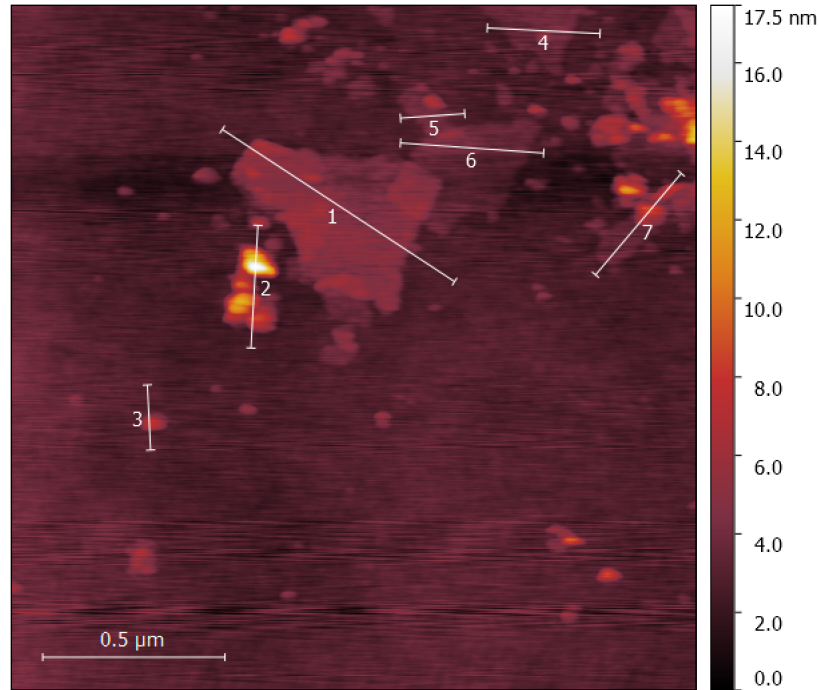


Figura 33 – Imagem de AFM do grafeno apresentando os pontos de análise de perfil.

As imagens (a), (d), (e) e (f) da Figura 34 apresentam a forma estrutural de folhas e possuem uma altura de empilhamento médio que vão de 1.5nm até 2.8nm. As imagens (b) e (c) e apresentam estruturas menores e arredondadas, possuindo altura média de 7nm até 14nm. O empilhamento máximo visualizado é próximo de 20nm como o esperado nesses materiais GO ^[34].

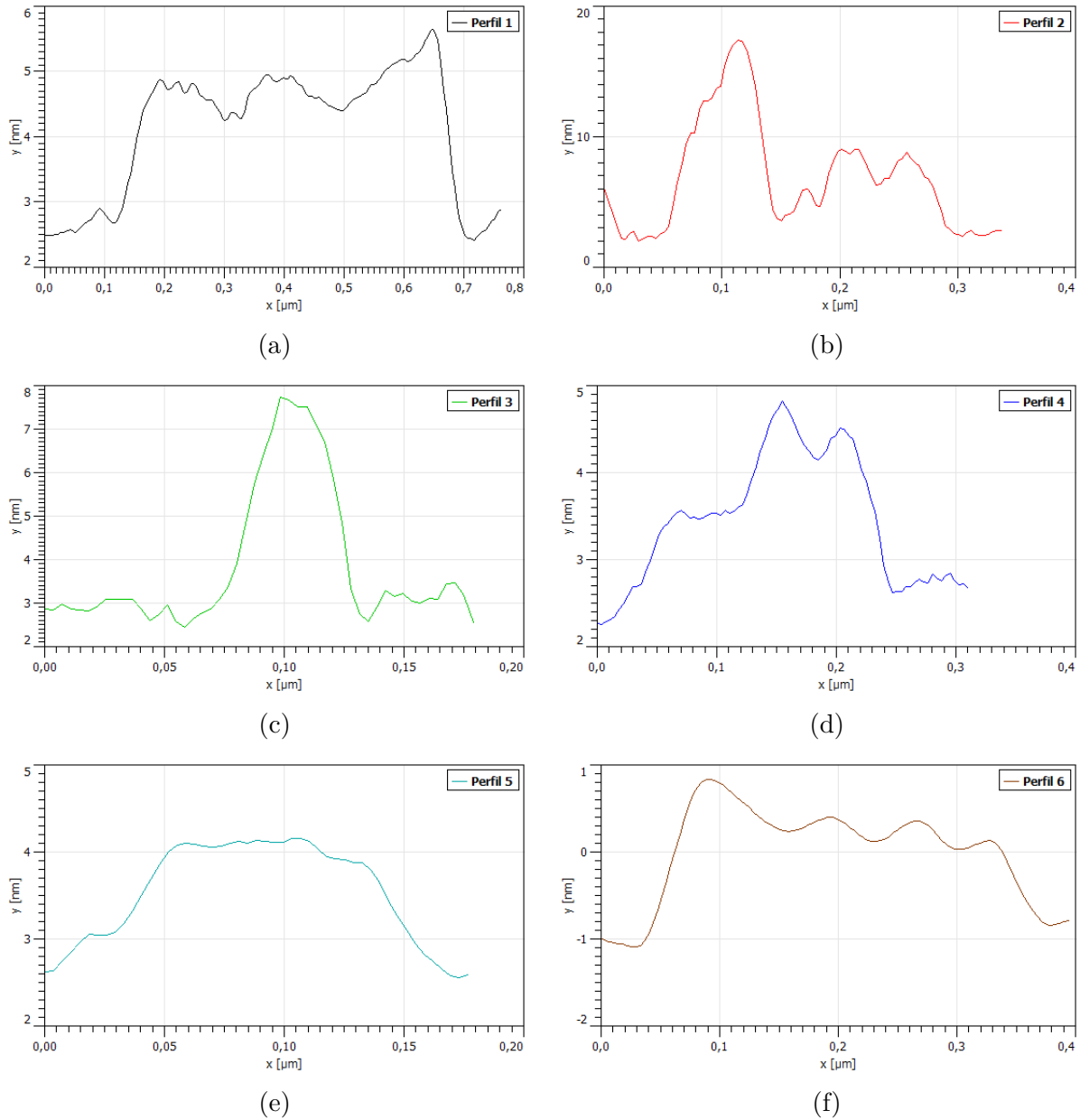


Figura 34 – Perfis retirados da imagem de AFM do grafeno

Os empilhamentos de folhas, apresentados anteriormente, são compostos de poucas folhas, observando que a altura média de uma única folha é de 1nm ^[35]. Com relação aos aglomerados, estes sim apresentam altura elevada, chegando a sete vezes a altura de outras estruturas de grafeno presentes nessa amostra.

Feita a análise do grafeno, de forma espectroscópica e microscópica, vamos partir para a análise do material biológico e como este se comporta no mesmo meio que o grafeno.

4.2 ANÁLISE DNTPS

Para a análise das bases de DNA utilizamos a espectroscopia Raman. Através da análise das bandas, foi possível identificar os modos normais de vibração correspondentes aos grupamentos químicos constituintes da molécula. Os espectros das bases foram obtidos utilizando um laser com comprimento de onda em 325nm. Os espectros foram divididos em três regiões para análise. Tabelas contendo a nossa tentativa de atribuição dos modos normais, estão exibidas no Apêndice A. As referências utilizadas seguem a numeração da lista de referências e também estão presentes no texto. Na Figura 35 podemos perceber semelhanças nos espectros que fazem parte da mesma classificação. Purinas (dATP e dGTP) ou pirimidinas (dTTP ou dCTP).

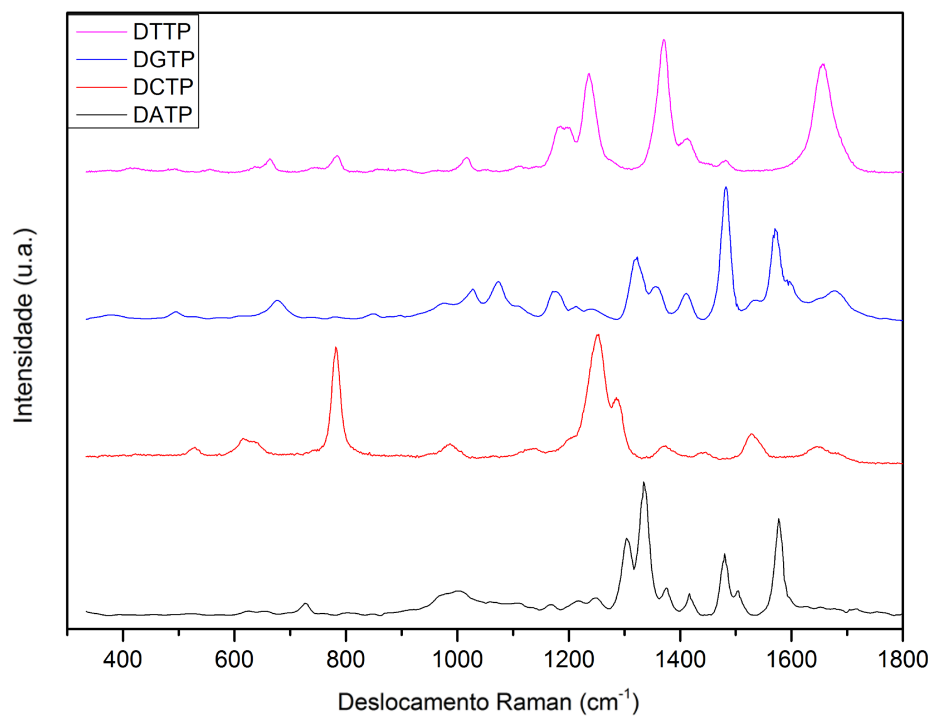


Figura 35 – Espectros Raman das quatro dNTPs que compõem o DNA.

4.2.1 dATP - desoxiadenosina trifosfato

A primeira base a ser analisada será a dATP (desoxiadenosina trifosfato). Abaixo temos o espectro Raman dessa base, na região de 350cm^{-1} a 1800cm^{-1} .

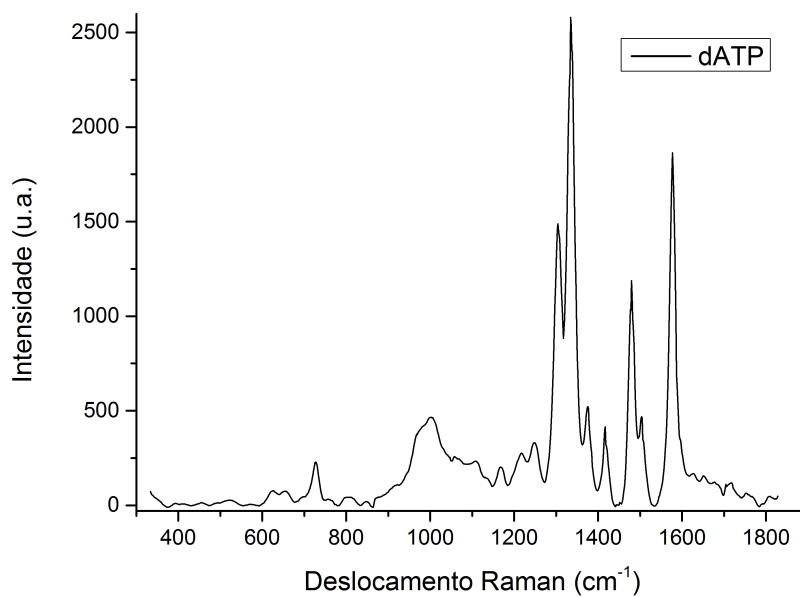


Figura 36 – Espectro Raman obtido da base dATP.

O espectro vibracional na região de 350cm⁻¹ até 1800cm⁻¹, foi dividido nas seguintes regiões para análise dos modos: **Região I** - 370 a 830cm⁻¹, **Região II** - 830 a 1440cm⁻¹ e **Região III** - 1440 a 1825cm⁻¹.

Região I

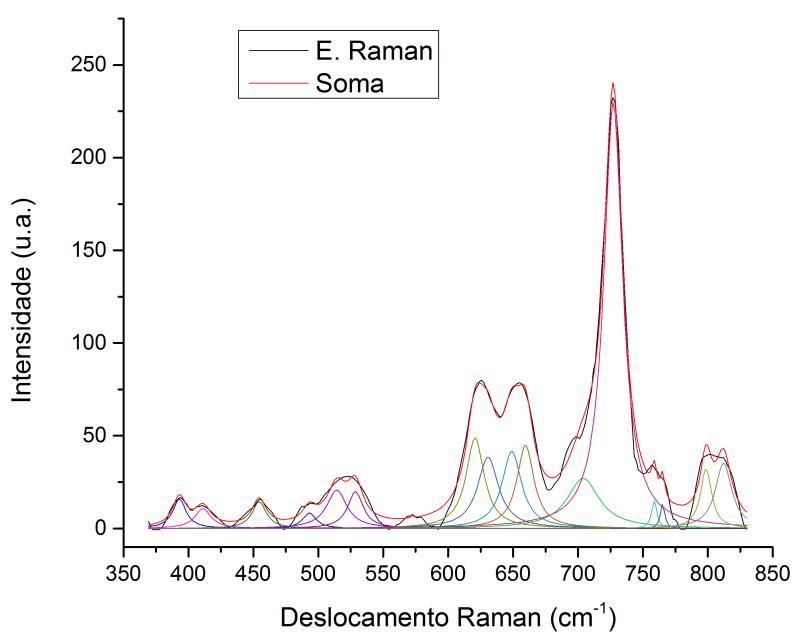


Figura 37 – Espectro Raman dATP Região I - 370 a 830cm⁻¹.

Nessa primeira região de análise, estão presentes os modos de torção dos anéis das bases. Foram utilizadas 16 lorentzianas para o ajuste dessa região espectral. Nessa região temos torções do anel nas regiões de 528cm^{-1} e 620cm^{-1} a 630cm^{-1} . Uma característica visualizada nessa região espectral, se localiza em 727cm^{-1} , que é uma assinatura das purinas, correspondente ao alongamento (*stretching*) do seu anel [36].

Região II

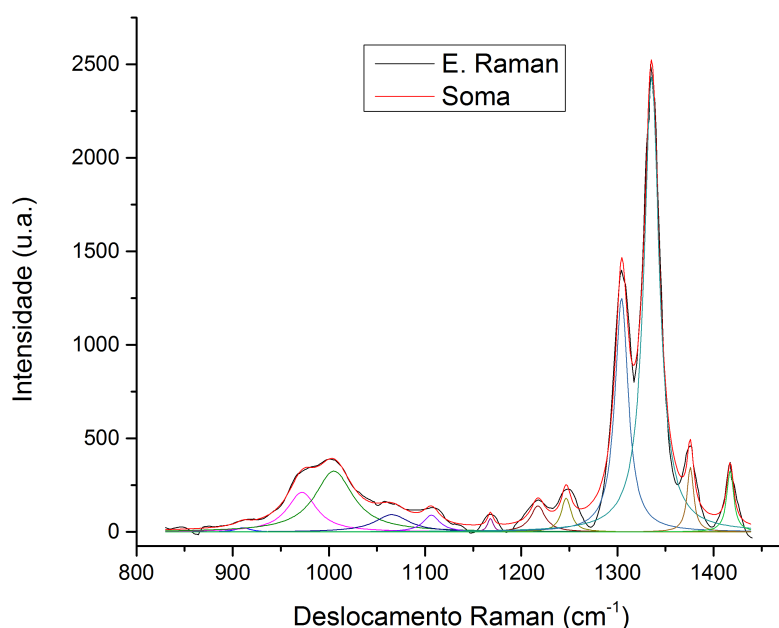


Figura 38 – Espectro Raman dATP Região II - 830 a 1440cm^{-1} .

Nessa segunda faixa espectral, onde foram usadas 11 lorentzianas no ajuste, temos várias contribuições: do estiramento de ligações CC, como em 910cm^{-1} , alongamento da ligação C-N em 1222cm^{-1} e 1335cm^{-1} com modos de *wagging* entre ligações CH_2 e do anel purínico [37, 38].

Região III

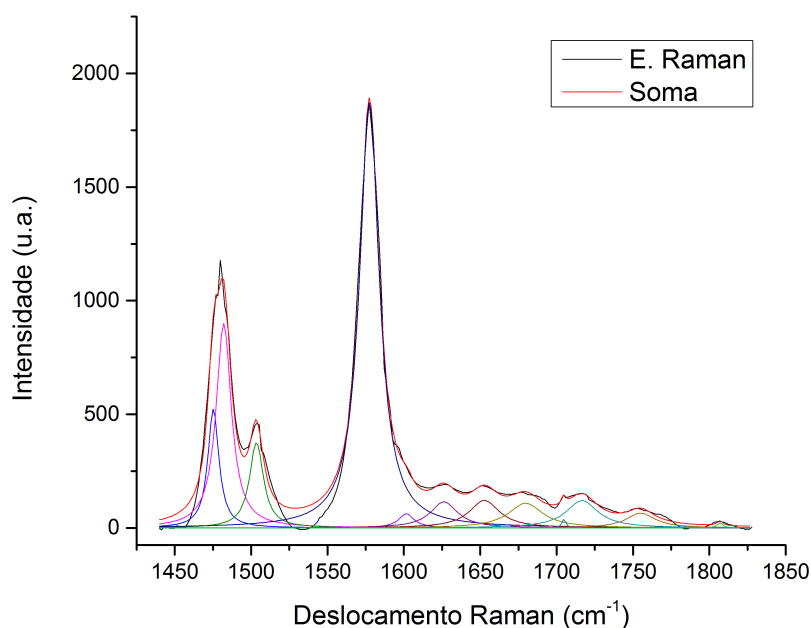


Figura 39 – Espectro Raman dATP Região III - 1440 a 1825cm⁻¹.

Na terceira região espectral temos 11 lorentzianas ajustando essa região. A região entre 1500 e 1700cm⁻¹ é conhecida na literatura por apresentar, em sua maioria, modos relacionados à ligações C=C, C=O e C=N. De 1475 a 1482cm⁻¹ temos a presença do benzeno [38].

4.2.2 dCTP - desoxicitidina trifosfato

Como segunda base, temos a dCTP. Na Figura 40 temos o espectro Raman dessa base e suas regiões analisadas.

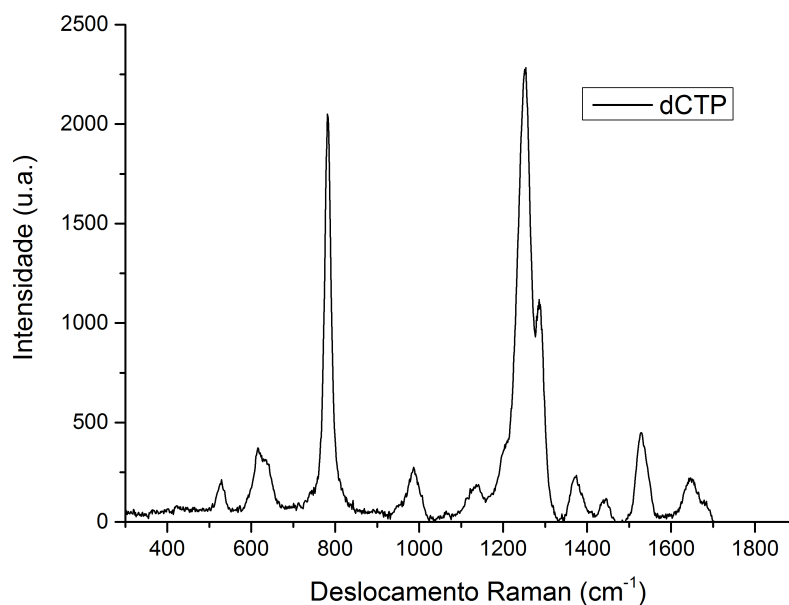


Figura 40 – Espectro Raman obtido da base dCTP.

O espectro da base dCTP nos mostra a região de 350cm⁻¹ até 1700cm⁻¹, e foi dividido nas seguintes regiões para análise dos modos vibracionais: **Região I** - 380 a 900cm⁻¹, **Região II** - 900 a 1330cm⁻¹ e **Região III** - 1330 a 1800cm⁻¹.

Região I

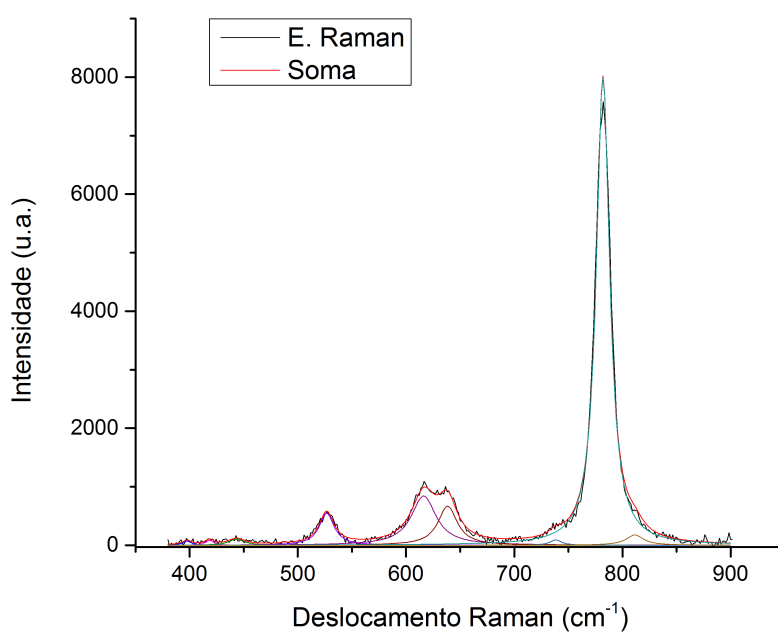


Figura 41 – Espectro Raman dCTP Região I - 380 a 900cm⁻¹.

Nessa região de análise temos 12 lorentzianas. Observa-se uma banda ao redor de 500cm^{-1} atribuída ao modo de cisalhamento do anel presente na molécula. Além disso, de 740 a 820cm^{-1} temos os modos de respiração e torção do anel característico de bases pirimidinas [39, 38].

Região II

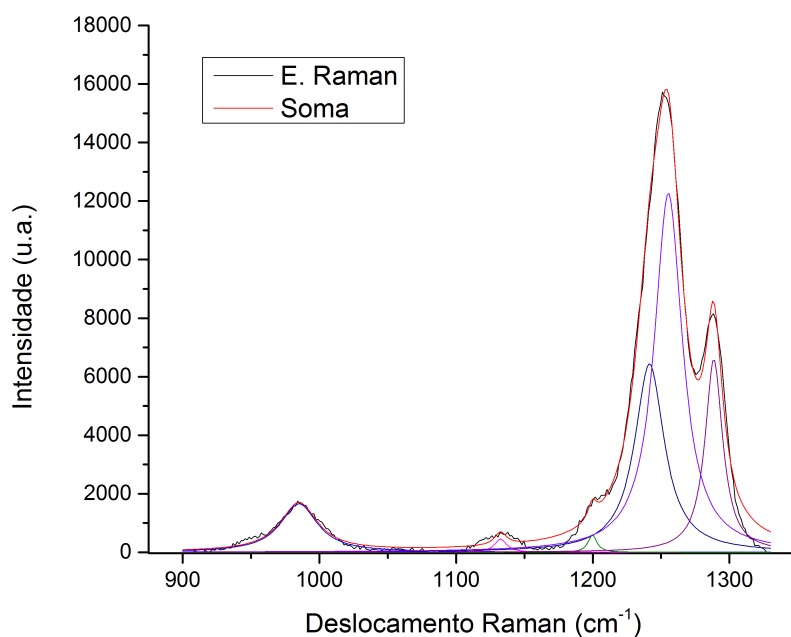


Figura 42 – Espectro Raman dCTP Região II - 900 a 1330cm^{-1} .

A segunda região da dCTP foi ajustada por 6 lorentzianas. Entre 950 a 1000cm^{-1} temos vibrações da ligação CH dentro e fora do plano. Em 1255cm^{-1} temos a assinatura de uma combinação de modos de alongamento do anel, ligações CH e da presença do grupamento amino na citosina [39, 40].

Região III

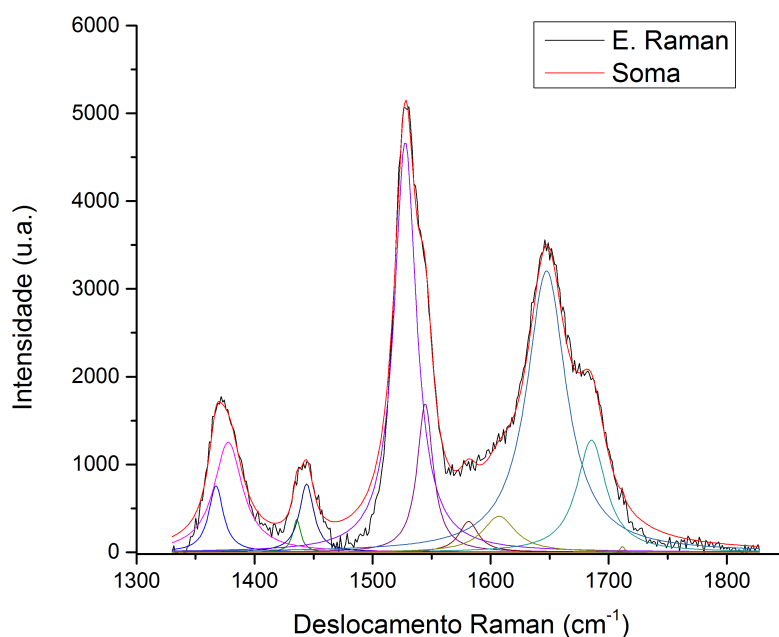


Figura 43 – Espectro Raman dCTP Região III - 1330 a 1800cm⁻¹.

Para os ajustes da terceira região foram utilizadas 11 lorentzianas. Na região de 1367 a 1377cm⁻¹ correspondente às vibrações das ligações N=C-C=C e o estiramento da ligação C-C. Na região de 1500 a 1600cm⁻¹ os modos são característicos do alongamento das ligações C=N, C=C e do anel característico de pirimidinas. De 1600 a 1700cm⁻¹ temos, além do estiramento de ligações CN e CC, o estiramento de ligações C=O e o modo de respiração do anel^[39, 40].

4.2.3 dGTP - desoxiguanidina trifosfato

Como terceira base temos a dGTP. Na Figura 44 temos o espectro Raman individual dessa base e posteriormente suas regiões analisadas.

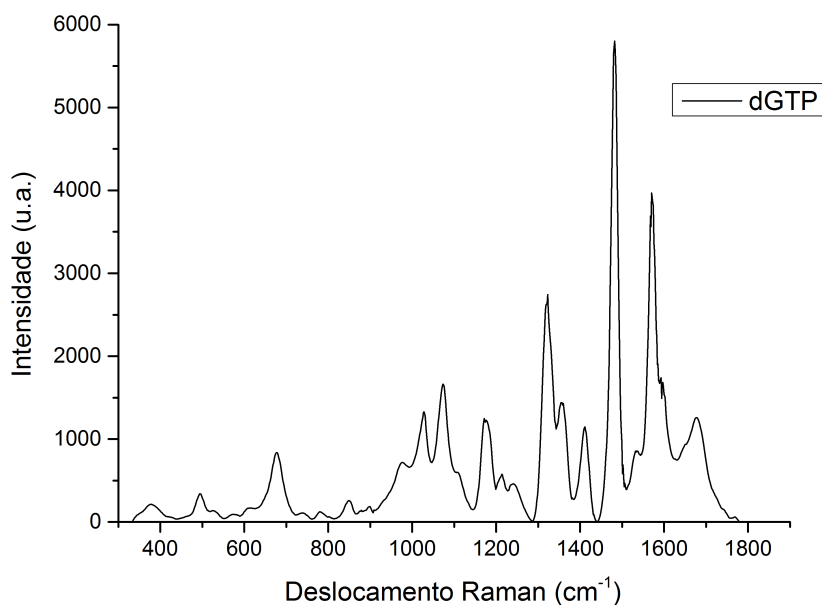


Figura 44 – Espectro Raman obtido da base dGTP.

O espectro na região de 350cm⁻¹ até 1800cm⁻¹ foi dividido nas seguintes regiões para análise dos modos: **Região I** - 400 a 816cm⁻¹, **Região II** - 816 a 1290cm⁻¹ e **Região III** - 1290 a 1830cm⁻¹.

Região I

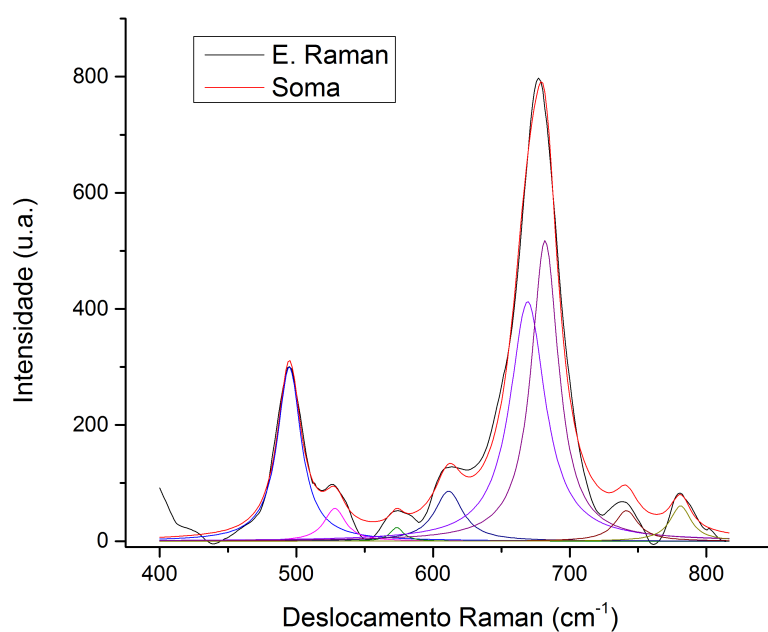


Figura 45 – Espectro Raman dGTP Região I - 400 a 816cm⁻¹.

Para a primeira região de análise que contém 8 lorentzianas, temos vibrações associadas ao grupamento CNC e um modo angular para fora do plano, consequente da ligação NH, em torno de 500cm^{-1} . De 600cm^{-1} até próximo de 730cm^{-1} temos contribuições de modos de respiração e estiramento em fase no anel^[39, 40].

Região II

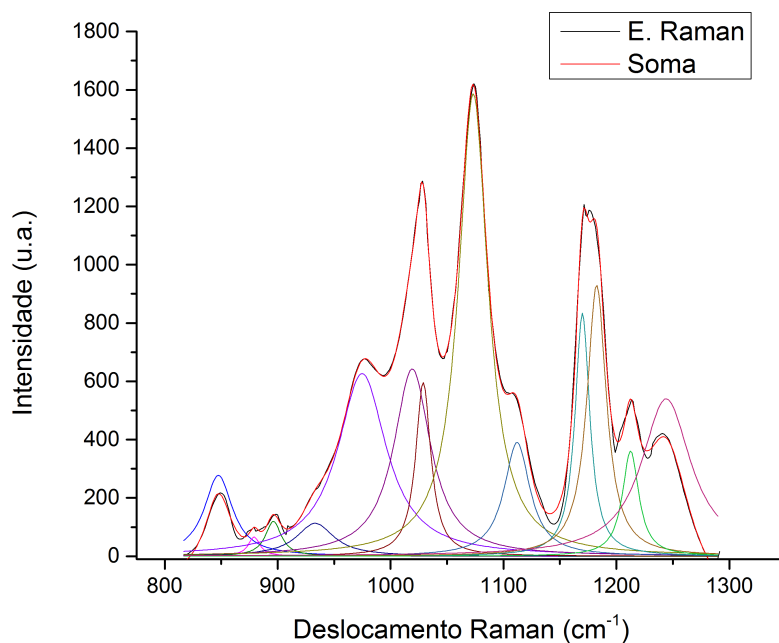


Figura 46 – Espectro Raman dGTP Região II - 816 a 1290cm^{-1} .

Na segunda região ajustada com 13 lorentzianas, temos principalmente a presença de modos normais ao redor de 850cm^{-1} representando a ligação NH e seu modo angular para fora do plano, juntamente com a respiração do anel. Uma banda mais intensa é centrada em 1150cm^{-1} atribuída a modos acoplados do grupamento NH_2 , ligações CC e CN. Nas proximidades de 1235cm^{-1} temos o grupamento amida^[39, 38].

Região III

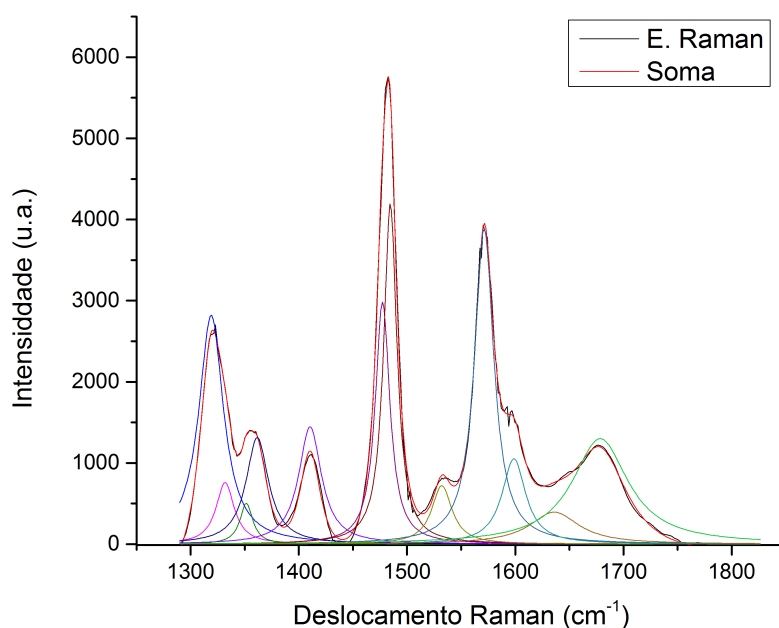


Figura 47 – Espectro Raman dGTP Região III - 1290 a 1830cm⁻¹.

Ajustada por 12 lorentzianas, a terceira parte conta com contribuições do grupamento amina em torno de 1330cm⁻¹. Na região de 1480cm⁻¹ são vistas as contribuições dos modos de respiração do anel juntamente com a ligação C-H. O grupamento amida aparece ao redor dos 1575cm⁻¹, e o estiramento de ligações C=O e C=C perto de 1675cm⁻¹ [36, 38].

4.2.4 dTTP - desoxitimidina trifosfato

Como última base analisada, temos a dTTP apresentada na Figura 48.

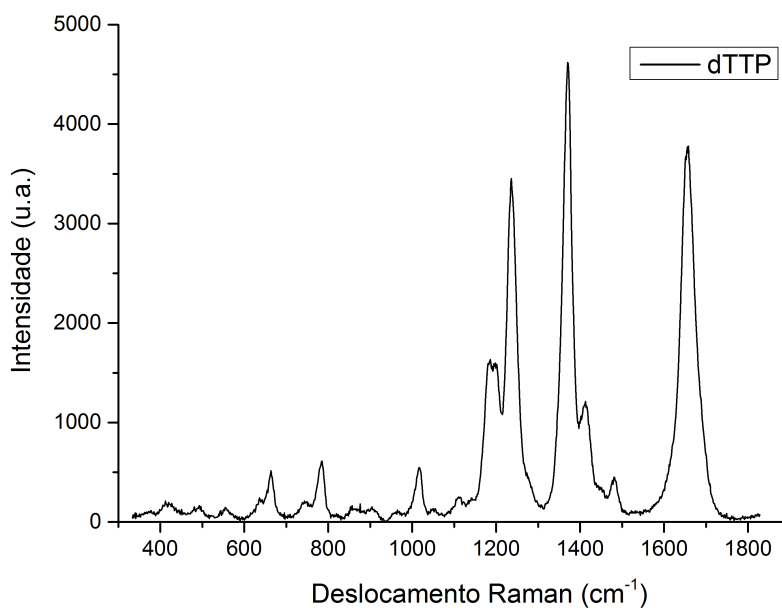


Figura 48 – Espectro Raman obtido da base dTTP.

O espectro nos mostra a região de 350cm⁻¹ até 1800cm⁻¹, e foi dividido nas seguintes regiões: **Região I** - 330 a 830cm⁻¹, **Região II** - 830 a 1310cm⁻¹ e **Região III** - 1310 a 1830cm⁻¹.

Região I

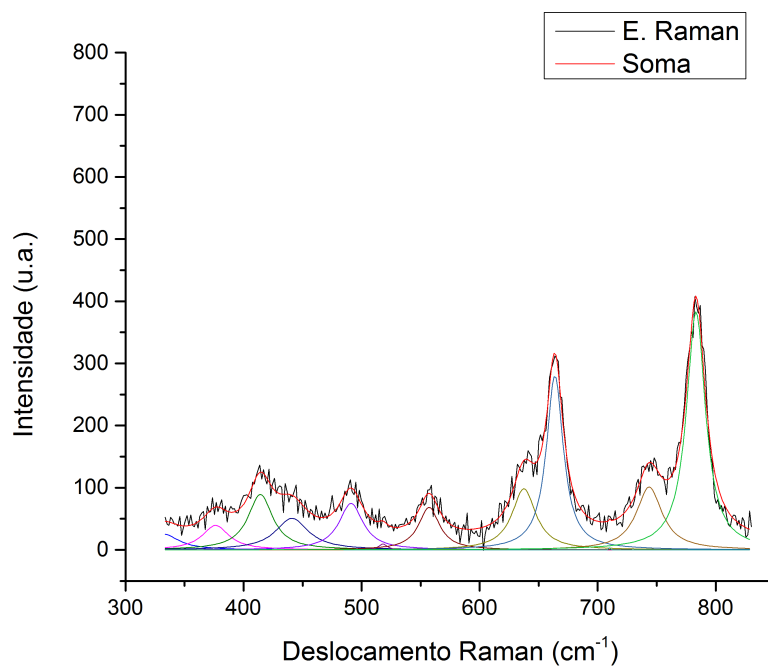


Figura 49 – Espectro Raman dTTP Região I - 330 a 830cm⁻¹.

Na primeira região espectral da dTTP, o ajuste foi feito com 9 lorentzianas. Em torno de 500cm^{-1} vibrações das ligações CNC e NCC da timina são atribuídos. De 600 a 700cm^{-1} vibrações angulares para fora do plano das ligações OH e CH, juntamente com o modo de respiração do anel da timina. As vibrações características do anel da timina também são vistas entre 750 e 800cm^{-1} [39, 38].

Região II

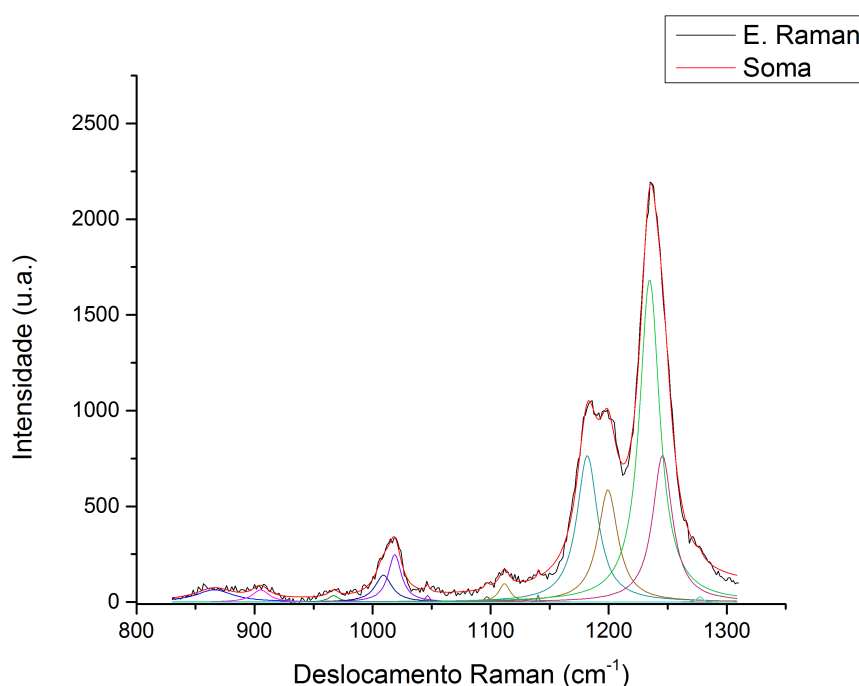


Figura 50 – Espectro Raman dTTP Região II - 830 a 1310cm^{-1} .

Na segunda área de análise da dTTP utilizamos no ajuste 10 lorentzianas. Ao redor de 1020cm^{-1} temos o estiramento de ligações CO e CC e o tipo *scissoring* no grupamento OCH. Aproximadamente em 1200cm^{-1} vemos o grupamento amida e a vibração das ligações CH e CN. A região de 1250cm^{-1} apresenta a deformação da ligação N-H [39, 37].

Região III

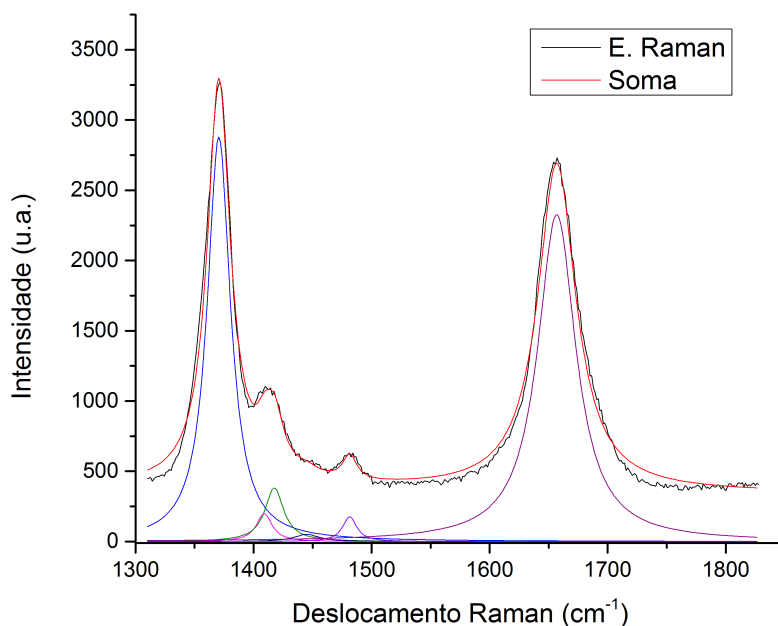


Figura 51 – Espectro Raman dTTP Região III - 1310 a 1830cm⁻¹.

A última região foi ajustada com apenas 5 lorentzianas. O modo de respiração do anel da timina apresenta-se ao redor de 1375cm⁻¹. Em 1650cm⁻¹ o grupamento amida e as vibrações de C=O e C-C são os mais intensos [36, 37].

Com essa atribuição dos modos normais à estrutura molecular das bases, podemos identificar os componentes das dNTPs nas diferentes regiões analisadas e inferir sobre a existência ou não de interação entre as dNTPs e o grafeno. Quanto a classificação das bases em seus subgrupos de purinas e pirimidinas, podemos diferenciá-las apenas observando seu espectro Raman. Como por exemplo, os modos em torno de 782cm⁻¹ e 1288cm⁻¹ são característicos dos anéis de citosina e timina, as duas pirimidinas. Já as purinas, adenina e guanina possuem modos normais característicos em torno de 1550cm⁻¹. Com essa análise, ao mesmo tempo em que podemos caracterizar as bases dentro de seus grupos relacionados a sua base nitrogenada, também podemos caracterizá-las individualmente.

4.3 ANÁLISE DO COMPÓSITO (GO + DNTP)

Como objetivo final, temos a análise de comportamento da interação entre o grafeno oxidado (GO) e as dNTPs. Destes dados, procuramos entender melhor a relação do grafeno com o material biológico para futuras aplicações.

4.3.1 GO + dNTPs - AFM

Primeiramente, foram adquiridas imagens de AFM dos compósitos. Com as imagens podemos observar os perfis das estruturas e obter informações sobre a forma de interação entre o GO e as dNTPs. As amostras foram preparadas de acordo com a subseção 3.4.2 e nesta seção serão apresentados os resultados e discussões das amostras, em filme, dos compósitos pré e pós lavagem. A lavagem das amostras foi necessária, já que, o sal utilizado como tampão para manutenção do pH das amostras interferiu na visualização das estruturas de carbono dos materiais. A concentração utilizada para preparação dos compósitos analisados é de 1 volume de dNTP para 5 volumes de GO, concentração 1:5.

GO + dNTPs - AFM - Pré lavagem

As imagens de AFM do compósito, pré lavagem e em concentração 1:5 estão listadas abaixo, para todas as bases.

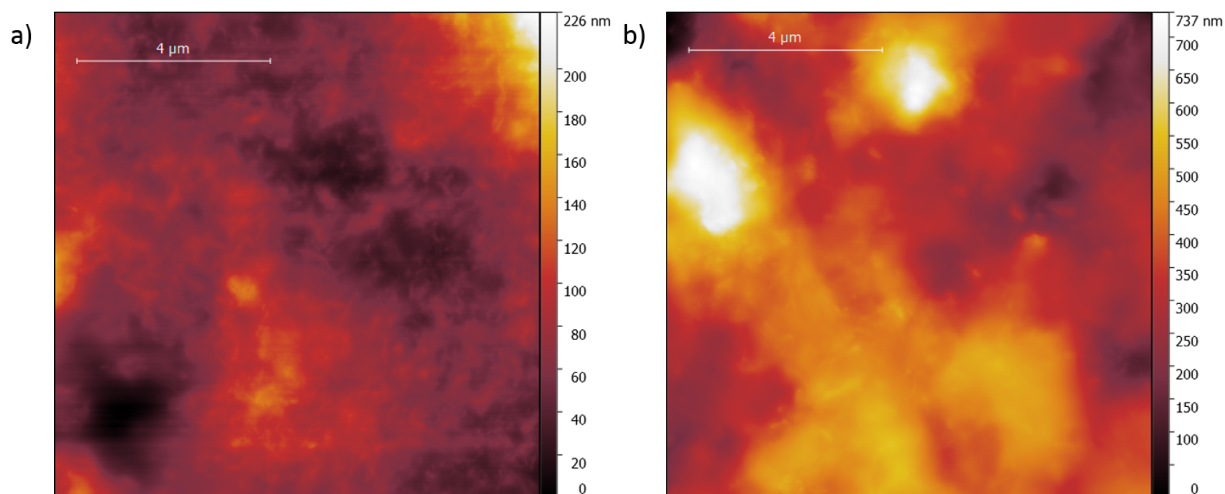


Figura 52 – Imagens do compósito entre GO+dATP (à esquerda) e GO+dCTP (à direita).

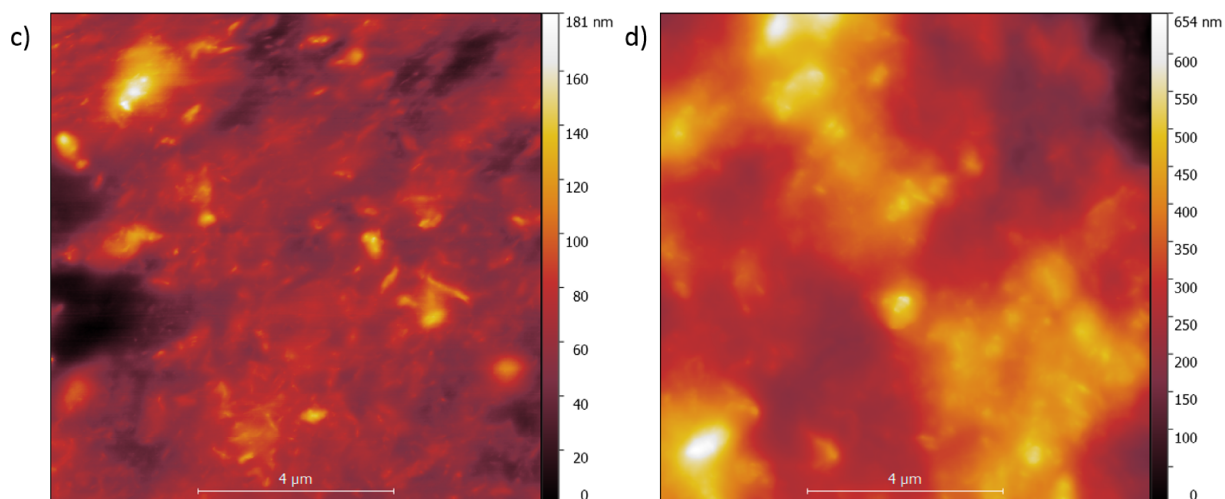


Figura 53 – Imagens do compósito entre GO+dGTP (à esquerda) e GO+dTTP (à direita).

Observando as primeiras imagens de topografia obtidas dos compósitos, vemos uma altura total da amostra, com relação às escalas de cores, muito maior do que as já analisadas contendo o grafeno puro. Para extrair mais informações temos as imagens de perfil, obtidas utilizando as figuras 52 e 53. As imagens de alguns perfis exibidas nessa discussão são referentes a uma purina (dATP) Figura 54, e uma pirimidina (dTTP) Figura 55. As imagens dos outros perfis destas bases e relativos aos perfis das outras também analisados estão apresentados no Apêndice A - seção C.2.

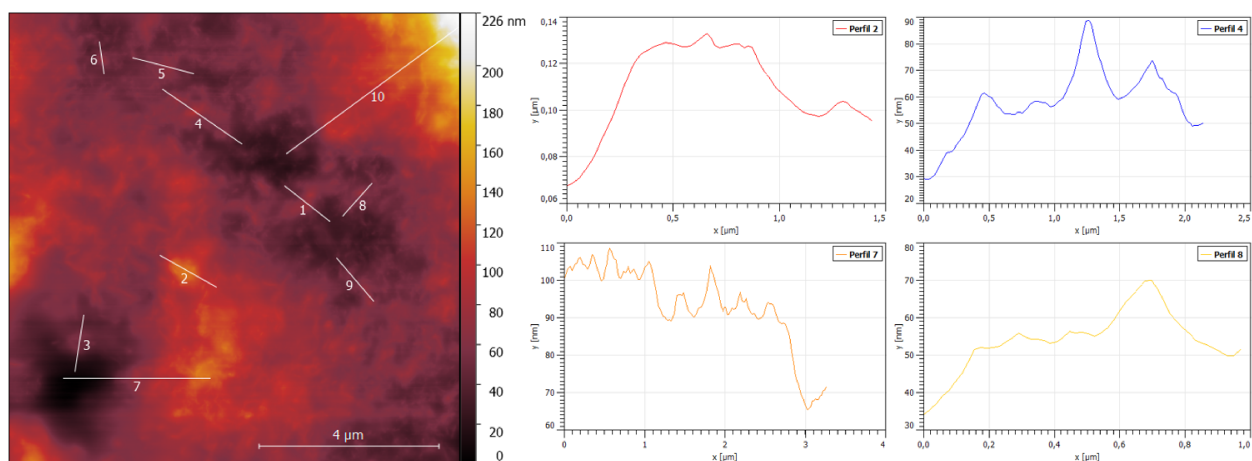


Figura 54 – Análise de perfil do compósito GO+dATP.

A figura 54 apresenta a imagem AFM e alguns perfis para o compósito de grafeno com a base adenina. Podemos observar estruturas que possuem alturas maiores do que as observadas no grafeno puro. Observando a imagem não temos claramente como distinguir estruturas presentes no compósito devido a presença de sal da solução tampão. Com isso,

foi pensado o processo de lavagem para a retirada desse sal. Abaixo temos o compósito GO+dTTP, na figura 55, onde observamos também a presença desse sal.

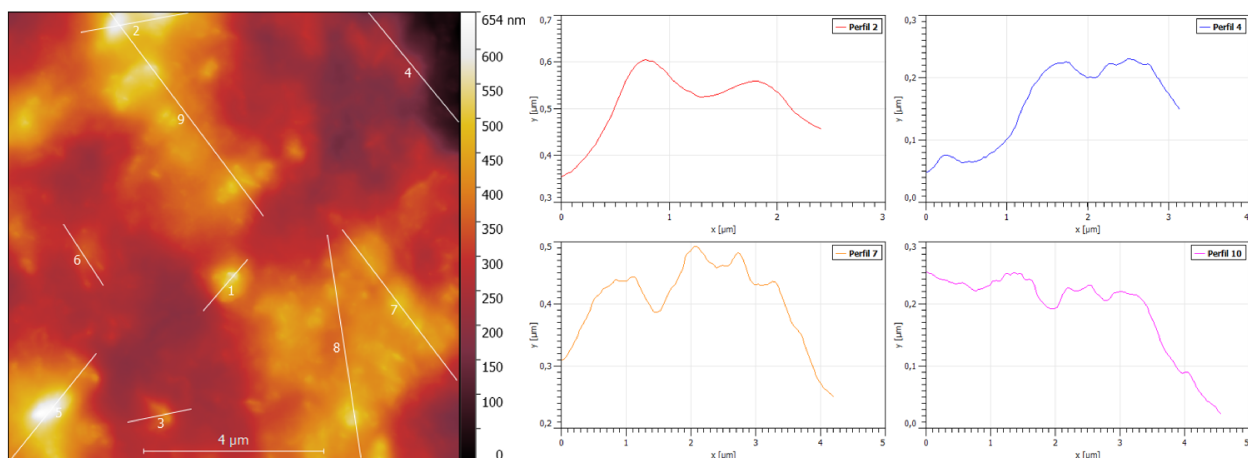


Figura 55 – Análise de perfil do compósito GO+dTTP.

Visto que o sal dificulta a interpretação desses dados de AFM para os compósitos, foi realizada a lavagem das amostras, novas medidas e novas análises de AFM.

GO + dNTPs - AFM - Pós lavagem

A lavagem das amostras ocorreu como descrito na subseção 3.4.2 e as novas imagens AFM de todos os compósitos estão apresentadas nas Figuras 56 e 57.

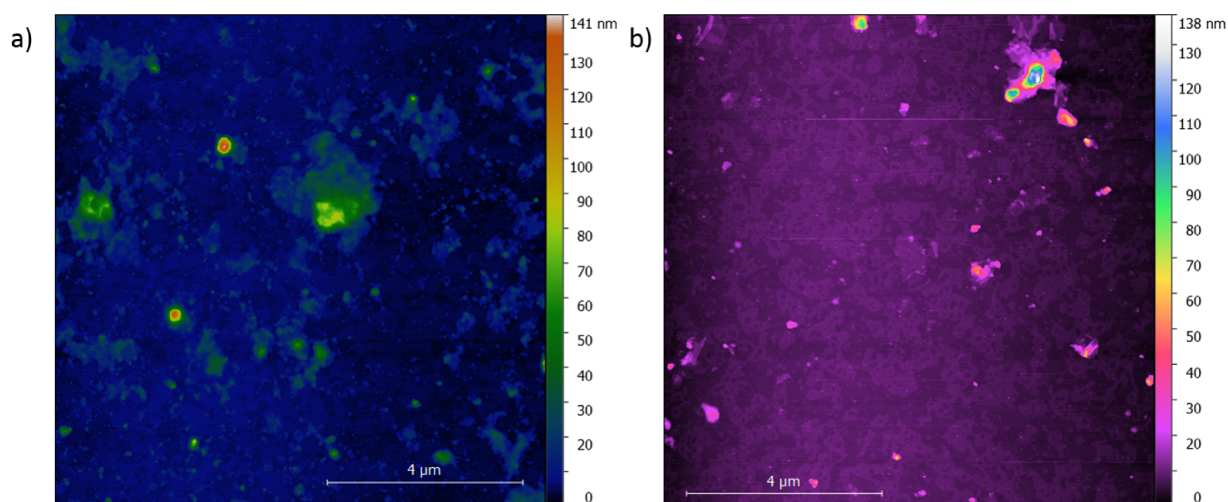


Figura 56 – Imagens do compósito pós lavagem entre GO+dATP (à esquerda) e GO+dCTP (à direita).

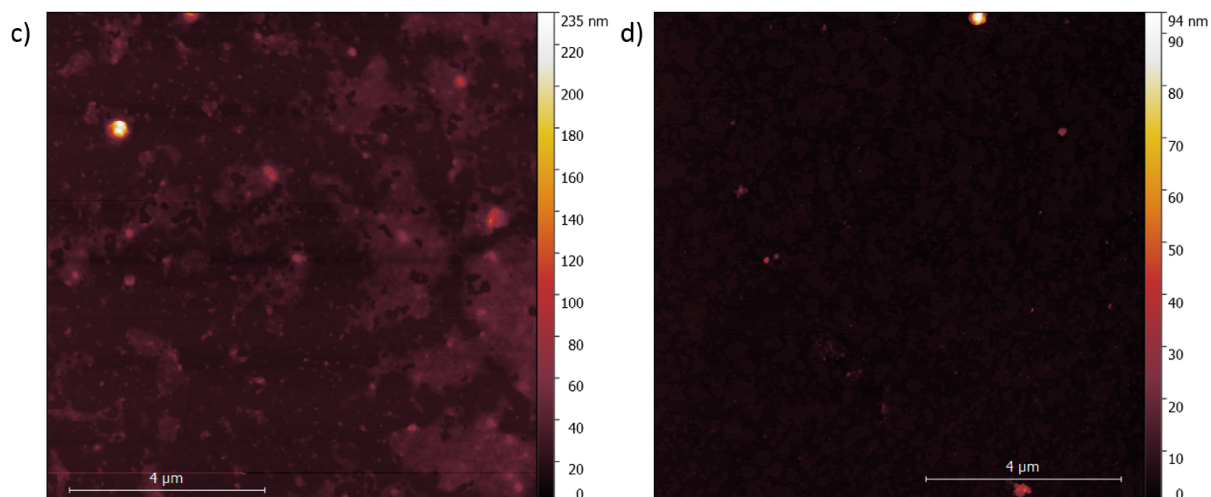


Figura 57 – Imagens do compósito pós lavagem entre GO+dGTP (à esquerda) e GO+dTTP (à direita).

Observando agora as imagens dos compósitos pós lavagem, vemos de forma mais clara as estruturas presentes na amostra. Embora a lavagem tenha sido feita da mesma forma para todas as bases, percebemos uma diferença de estruturas entre as figuras a) e c) com as figuras b) e d). Sendo assim, um indício de diferença de interação das bases purinas e pirimidinas com o GO parece evidenciada. Uma melhor análise será feita a seguir, analisando os perfis das imagens dos compósitos de grafeno com adenina (Figura 58), citosina (Figura 59), guanina (Figura 60) e com timina (Figura 61). Novamente, os demais perfis das outras duas bases citosina e guanina com grafeno, são listados no Apêndice A na seção C.3.

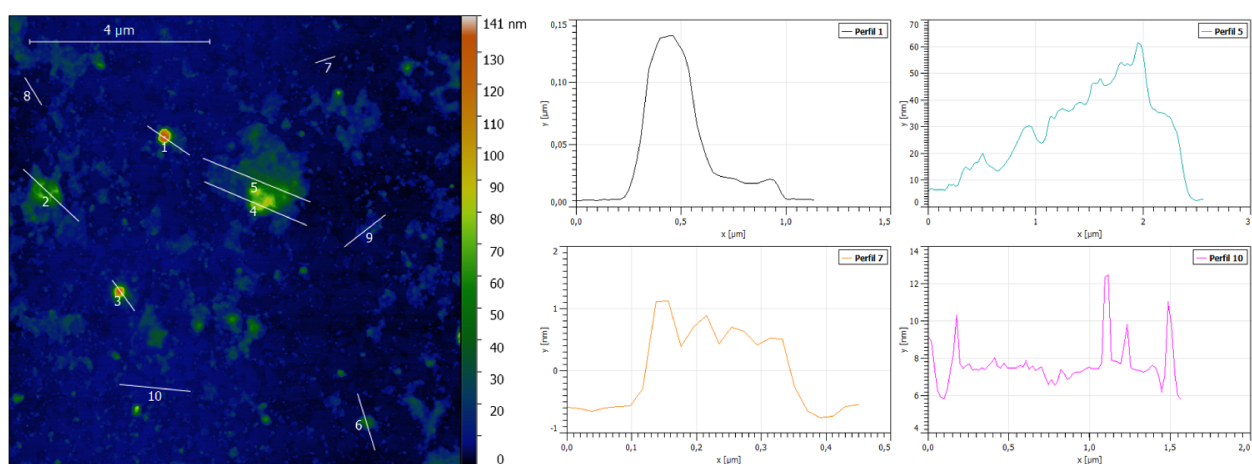


Figura 58 – Análise de perfil do compósito GO+dATP pós lavagem.

Na Figura 58, analisando as figuras de perfil, vemos estruturas iguais as do grafeno, de mesma forma e altura (como no perfil 7) e algumas outras estruturas que apresentam maior altura; possivelmente, um empilhamento de grafeno e base. Nessa imagem

(Figura 58) podem ser observadas mais regiões com empilhamentos de maiores alturas, quando comparada com a Figura 61.

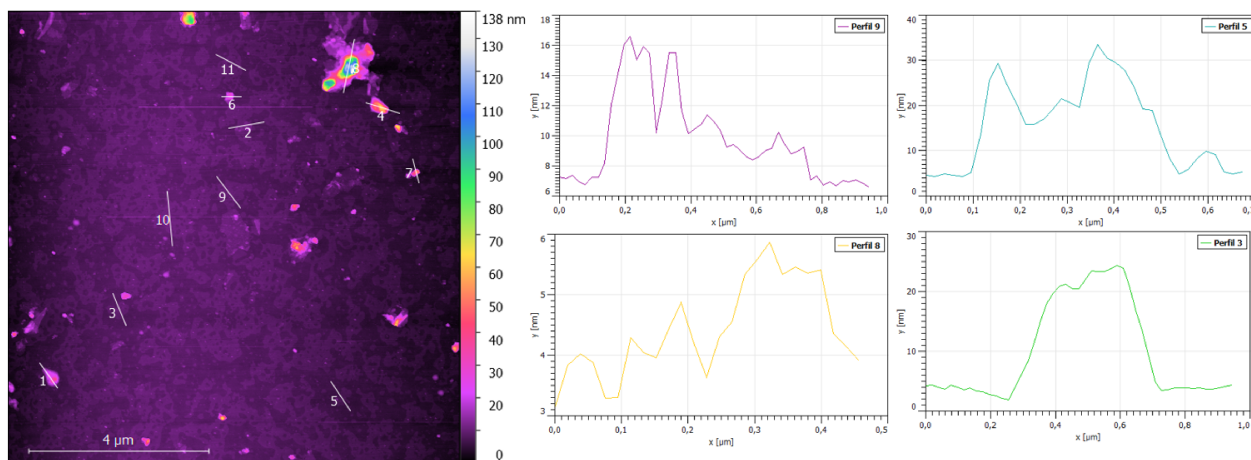


Figura 59 – Análise de perfil do composto GO+dCTP pós lavagem.

Analisando as figuras de perfil da base pirimidina citosina, na Figura 59, percebemos estruturas com altura menor do que a base purina (adenina). Observando os perfis, temos estruturas que remetem ao grafeno oxidado puro, em sua grande maioria.

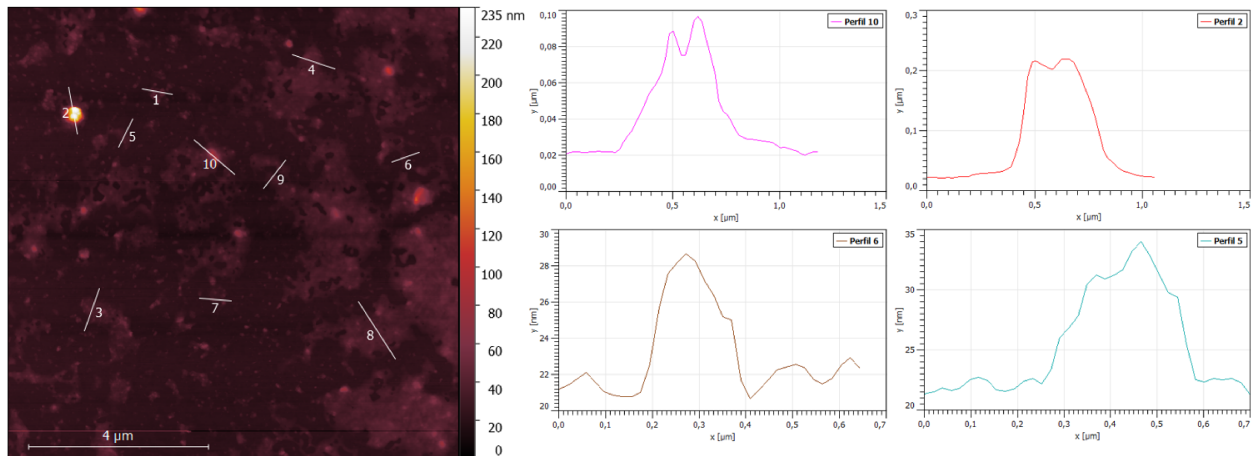


Figura 60 – Análise de perfil do composto GO+dGTP pós lavagem.

Na Figura 60, analisando as imagens de perfil da base purina guanina, observamos estruturas de maiores alturas, semelhante à base purina adenina. As estruturas são maiores, em altura e área, do que as vistas na análise da base pirimidina citosina, na Figura 59.

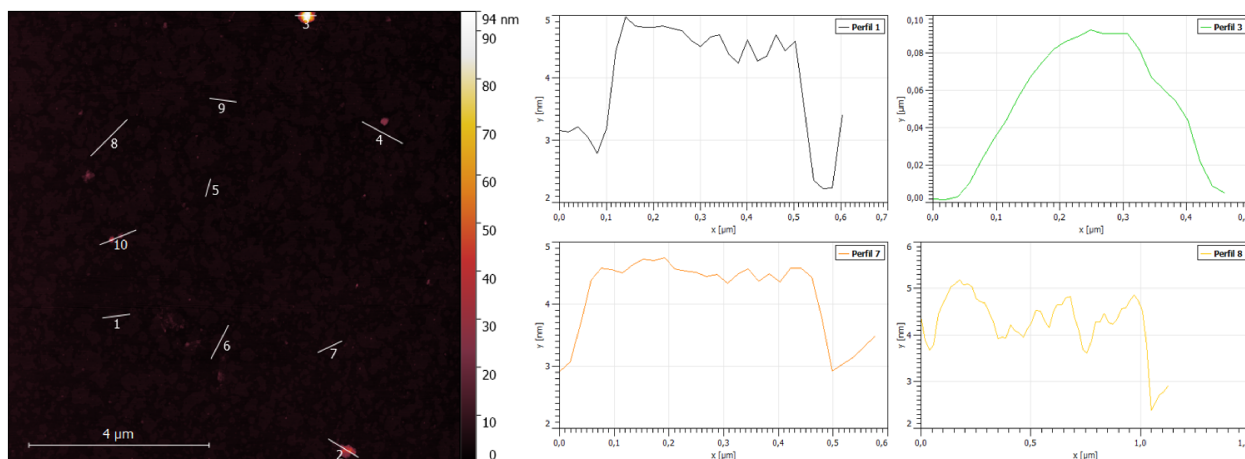


Figura 61 – Análise de perfil do compósito GO+dTTP pós lavagem.

Observando a base pirimidina (timina) na Figura 61 percebemos estruturas com menores alturas do que nas bases purinas (adenina e guanina) na Figura 58 e Figura 60. Analisando agora os perfis, podemos compará-los em sua maioria com os perfis do grafeno oxidado puro analisado anteriormente.

Nesses compósitos pós lavagem percebemos uma diferença no comportamento de interação entre purinas e pirimidinas com o GO. Após a lavagem do compósito com a base pirimidina (dTTP - Figura 58) ainda restam visivelmente resquícios de compósito empilhados nas folhas de grafeno; já no compósito da base purina (dTTP - Figura 61) temos predominantemente estruturas de grafeno. Pode ser inferido então que, as bases pirimidinas possuam maior afinidade com o GO do que bases purinas; já que pós lavagem no compósito purínico temos como resultado apenas o grafeno.

Na Figura 62 temos a comparação das estruturas analisadas nos compósitos pós lavagem e os perfis estruturais do grafeno pré lavagem, analisado previamente. Vemos que as estruturas possuem mesma forma e altura.

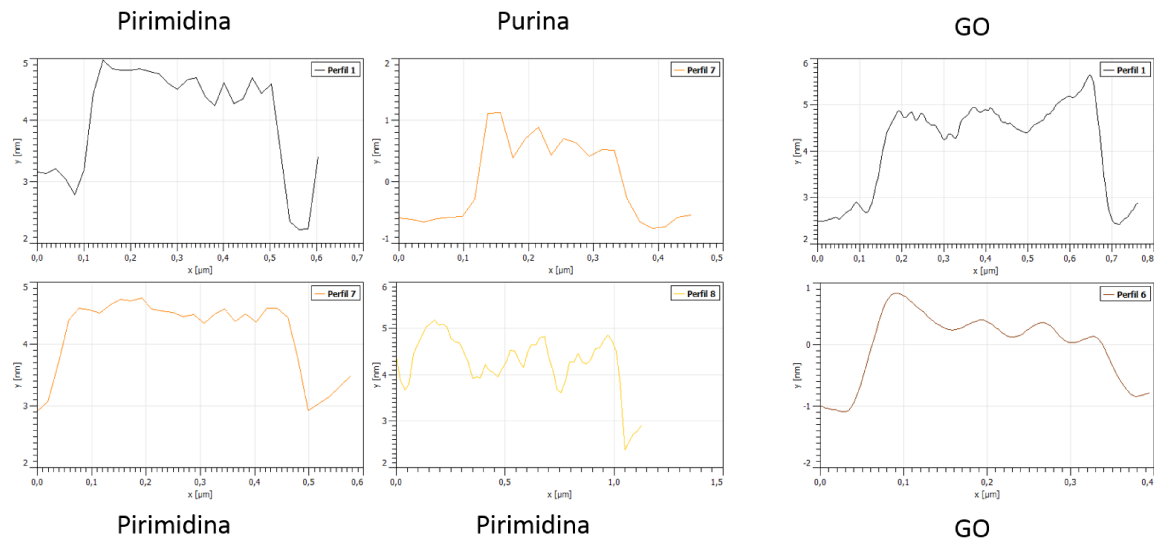


Figura 62 – Comparação dos perfis dos compósitos pós lavagem com perfis do GO, analisado previamente.

Um parâmetro que pode ainda ser analisado é a rugosidade da superfície. Observando a Tabela 1, que trata da comparação entre a rugosidade dos compósitos purínicos (dATP e dGTP) e pirimidínicos (dCTP e dTTP) com o grafeno oxidado, pode ser reforçada a diferença de afinidade do GO com as bases purinas e pirimidinas. Sendo a rugosidade média dos compósitos pirimidínicos mais próximo dos valores do grafeno oxidado.

Tabela 1 – Comparação de rugosidade média entre compósitos e grafeno oxidado.

Amostra	Rugosidade média (Ra)
GO + dATP	14,56 nm
GO + dCTP	544,93 pm
GO + dGTP	2,27 nm
GO + dTTP	423,48 pm
GO	494,96 pm

O próximo passo para análise da interação do grafeno com as bases será dado por espectroscopia Raman dos compósitos.

4.3.2 GO + dNTPs - Raman

As amostras dos compósitos foram submetidas também a uma análise por espectroscopia Raman. Os espectros obtidos estão dispostos nas Figura 63 e Figura 64 abaixo.

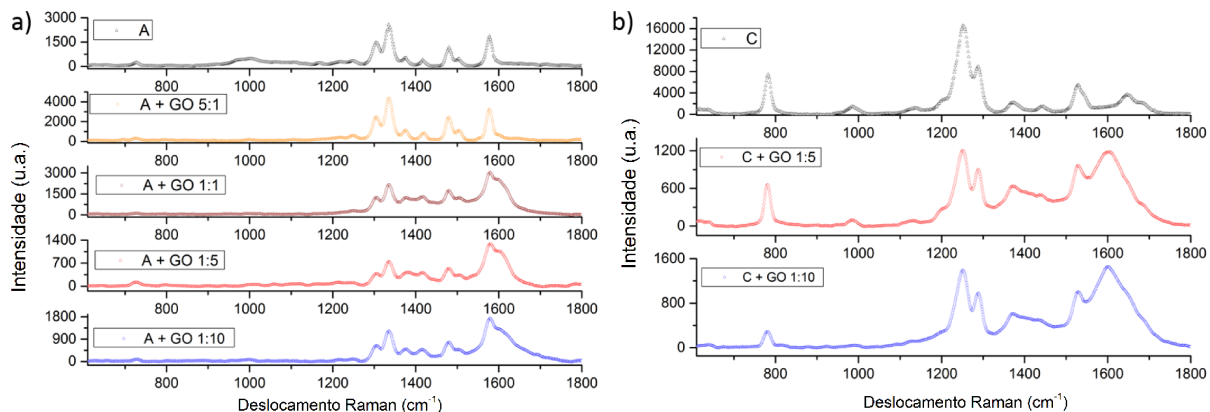


Figura 63 – Espectros Raman do composto entre GO + dATP (à esquerda) e GO + dCTP (à direita).

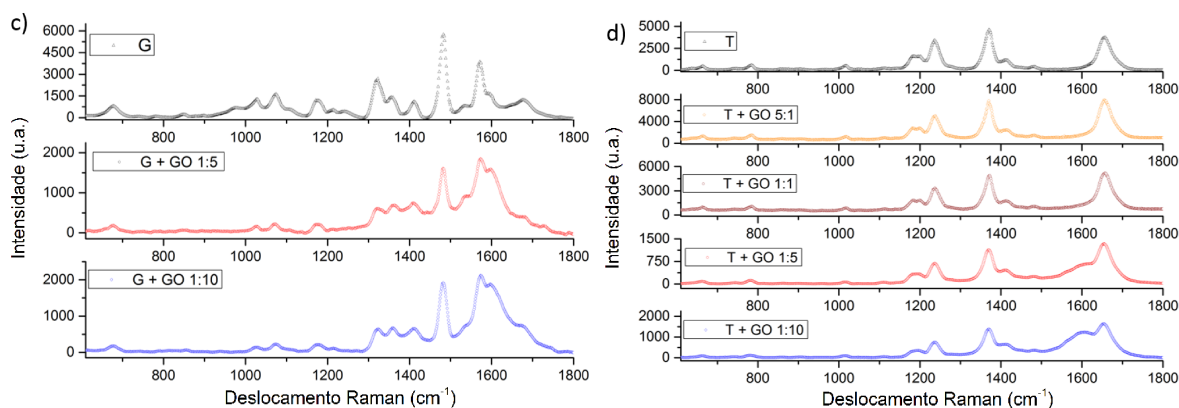


Figura 64 – Espectros Raman do composto entre GO + dGTP (à esquerda) e GO + dTTP (à direita).

Para os compostos com dATP e dTTP, figuras 63 a) e 64 d), foram obtidos espectros Raman em 4 concentrações volumétricas de dNTP + GO : 5:1, 1:1, 1:5 e 1:10. Já os compostos com dCTP e dGTP, figuras 63 b) e 64 c), foram estudados em duas concentrações de GO + dNTP: 1:5 e 1:10. Com o intuito de analisarmos a dependência da concentração na formação do composto, escolhemos uma base purina e outra pirimidina e preparamos duas concentrações, com maior proporção em volume das bases (1:1 e 5:1). Os espectros foram obtidos utilizando o laser de comprimento de onda 325nm.

Lembrando que a concentração utilizada em todas as nossas análises corresponde a volume de solução de base / volume de solução de grafeno, podemos observar dos espectros Raman que o aumento na concentração das bases timina e adenina não apresenta mudanças na forma dos espectros. Essa observação pode ser devido ao fato de que a solução de base 100mM é muito mais concentrada que a solução de grafeno oxidado 60ng/mL. A partir dessa observação, analisaremos aqui, somente a concentração concentradas em grafeno;

ou seja, aquelas onde a concentração de GO é 5 vezes maior do que a concentração das dNTPs, sendo assim 1:5.

Todos os espectros foram obtidos na região de 400cm^{-1} até 2000cm^{-1} , e divididos em regiões de análise. De forma análoga às análises das bases e grafeno oxidado separadamente, para os compósitos também foram utilizadas lorentzianas para o ajuste dos modos normais de vibração.

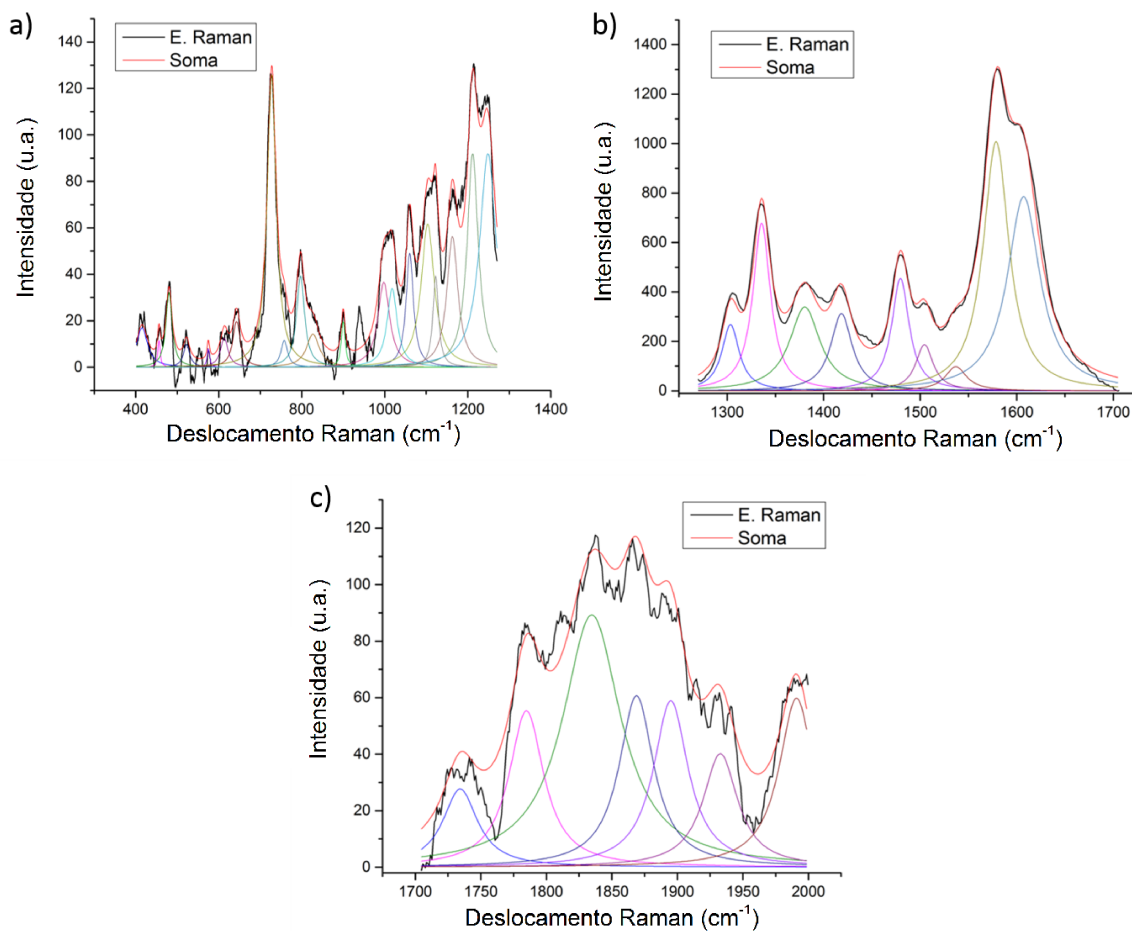


Figura 65 – Regiões analisadas do compósito de GO + dATP. São: a) Região I, b) Região II e c) Região III.

A Figura 65 é um exemplo de espectro Raman obtido a partir do compósito dATP + GO. Nesse caso estão expostas as três regiões de análise do compósito. Os outros espectros das outras bases estão exibidos no Apêndice B.

Como foi discutido anteriormente, há uma diferente interação entre os subgrupos das bases, purinas e pirimidinas, com o grafeno. O componente que difere cada uma das bases, e dessa forma é o responsável pela diferente interação, é a base nitrogenada.

Sabendo disso, podemos delimitar a área de estudo que corresponde a vibrações da base nitrogenada, dispensando áreas de contribuição dos grupamentos fosfato e desoxirribose.

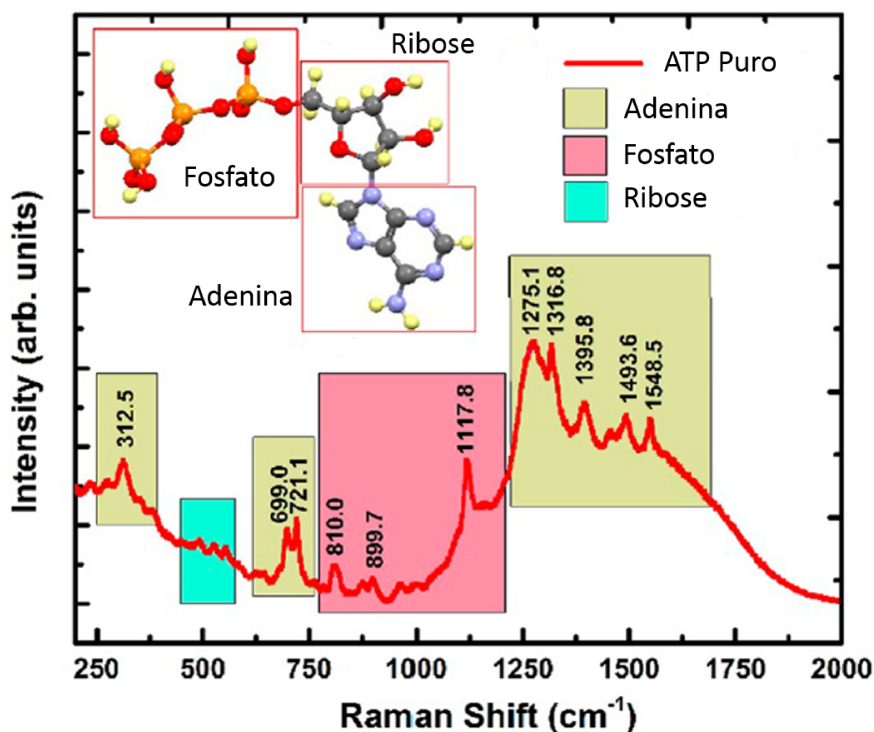


Figura 66 – Espectro Raman do ATP puro, discriminando a região de vibrações de cada componente da molécula. **Fonte:** Bhaumik, 2014.

A Figura 66 apresenta as regiões onde são encontrados os modos vibracionais de cada um dos componentes das dNTPs estudadas. Observando a figura, temos que as regiões de maiores contribuições da base nitrogenada, neste caso a adenina como exemplo, são localizadas em torno de 700cm^{-1} e após 1250cm^{-1} [41]. As outras três bases seguem o exemplo e apresentam os modos vibracionais das bases nitrogenadas após 1250cm^{-1} .

Nesta seção apresentaremos as análises dos compósitos grafeno oxidado / bases nitrogenadas. Para tais análises separamos os nossos espectros em duas regiões de interesse, que correspondem na primeira região aos modos vibracionais atribuídos à presença dos anéis purínicos e pirimidínicos e na outra região, à presença de modos das ligações duplas presentes nas bases e às bandas D e G para o grafeno. Assim, a região I em torno de 650 a 900cm^{-1} e a região II de 1100cm^{-1} a $1700 - 1800\text{cm}^{-1}$.

A Figura 67 apresenta os espectros Raman para o compósito grafeno oxidado / base adenina, ajustados com funções lorentzianas, na região de 650 a 900cm^{-1} .

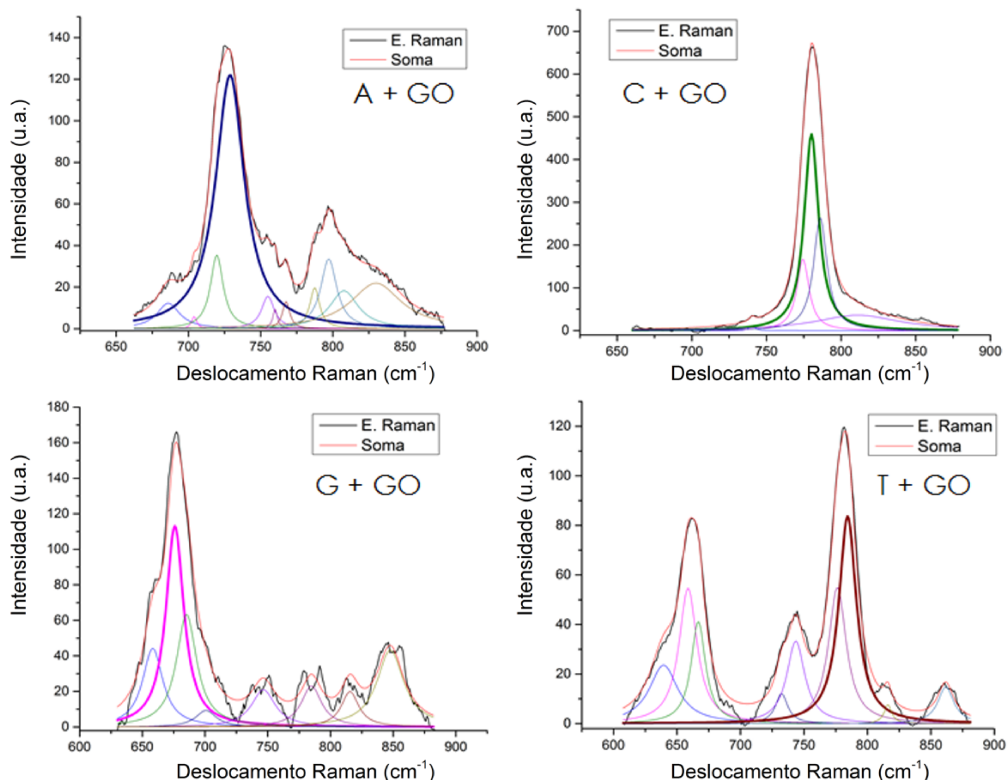


Figura 67 – Compósitos (A, C, T, G) na região de 650cm^{-1} a 900cm^{-1} .

Observa-se que a forma espectral para os compósitos com as bases adenina, timina e guanina são semelhantes. No compósito com a base citosina, a intensidade relativa da banda centrada em 780cm^{-1} , atribuído ao anel pirimidínico é maior que a intensidade da banda em torno de 730cm^{-1} , atribuído ao anel purínico da base adenina. Para a base purínica guanina, o modo do anel está deslocado em frequência e centrado em torno de 675cm^{-1} . Se compararmos as frequências das bases pirimidinas (timina e citosina) com as das bases purinas (adenina e guanina), vemos que a diferença no número de onda, é de 50cm^{-1} e que as bases purinas possuem frequência vibracional menor que as bases pirimidinas. Isso sugere que o anel pirimidínico das bases adenina e guanina possui uma estrutura mais rígida que a do anel purínico das bases timina e citosina. Para todos os compósitos, o maior deslocamento dessas bandas, em relação às suas frequências características sem o grafeno, foi no compósito com a guanina que se deslocou de 5cm^{-1} para menores frequências vibracionais.

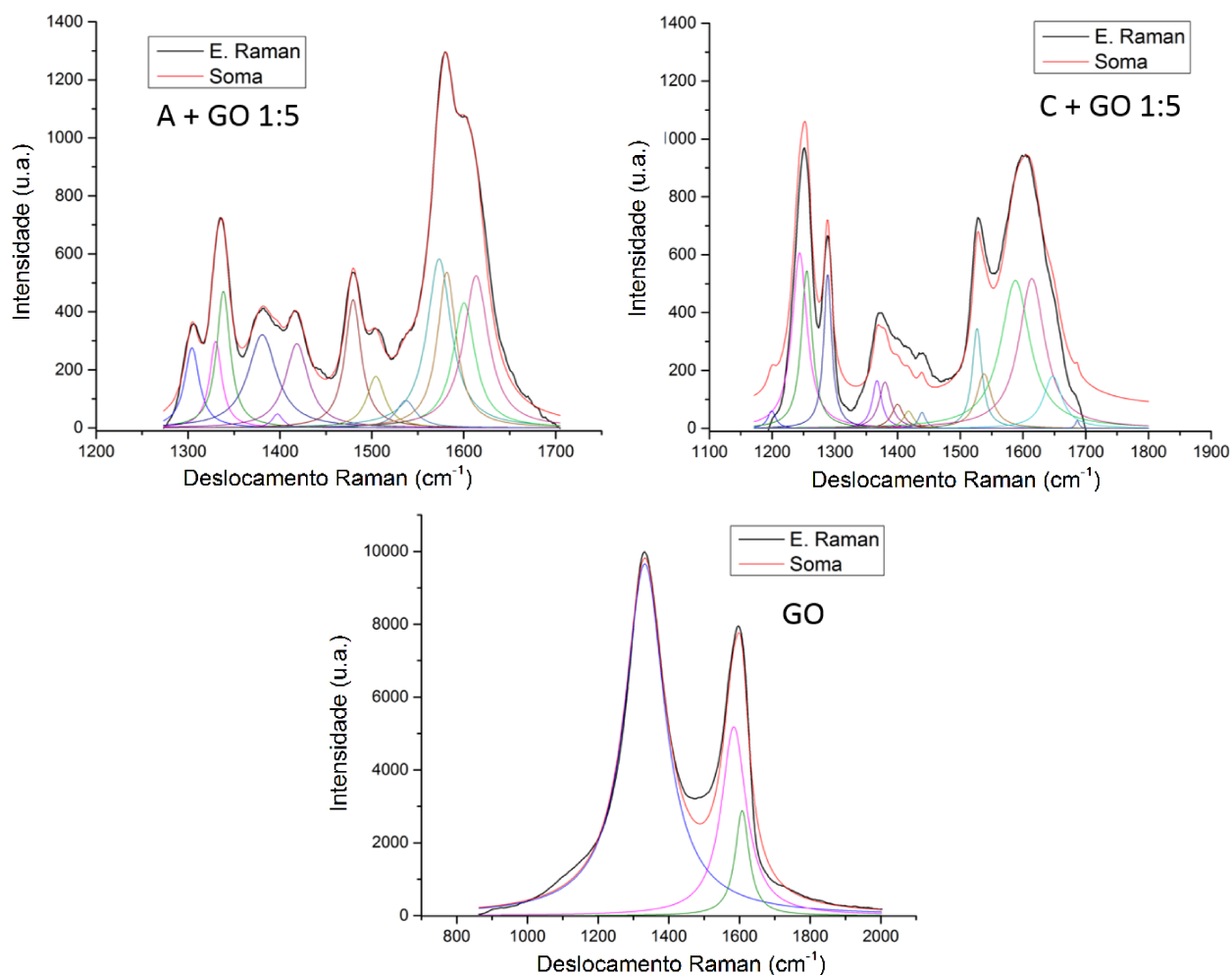


Figura 68 – Comparação dos compósitos GO+dATP e GO+dCTP com o GO.

A Figura 68 e a Figura 69 apresentam os espectros Raman para o compósito grafeno oxidado / base adenina ou citosina e o grafeno oxidado, para a região de 1100 a 1800 cm^{-1} , ajustados com funções lorentzianas.

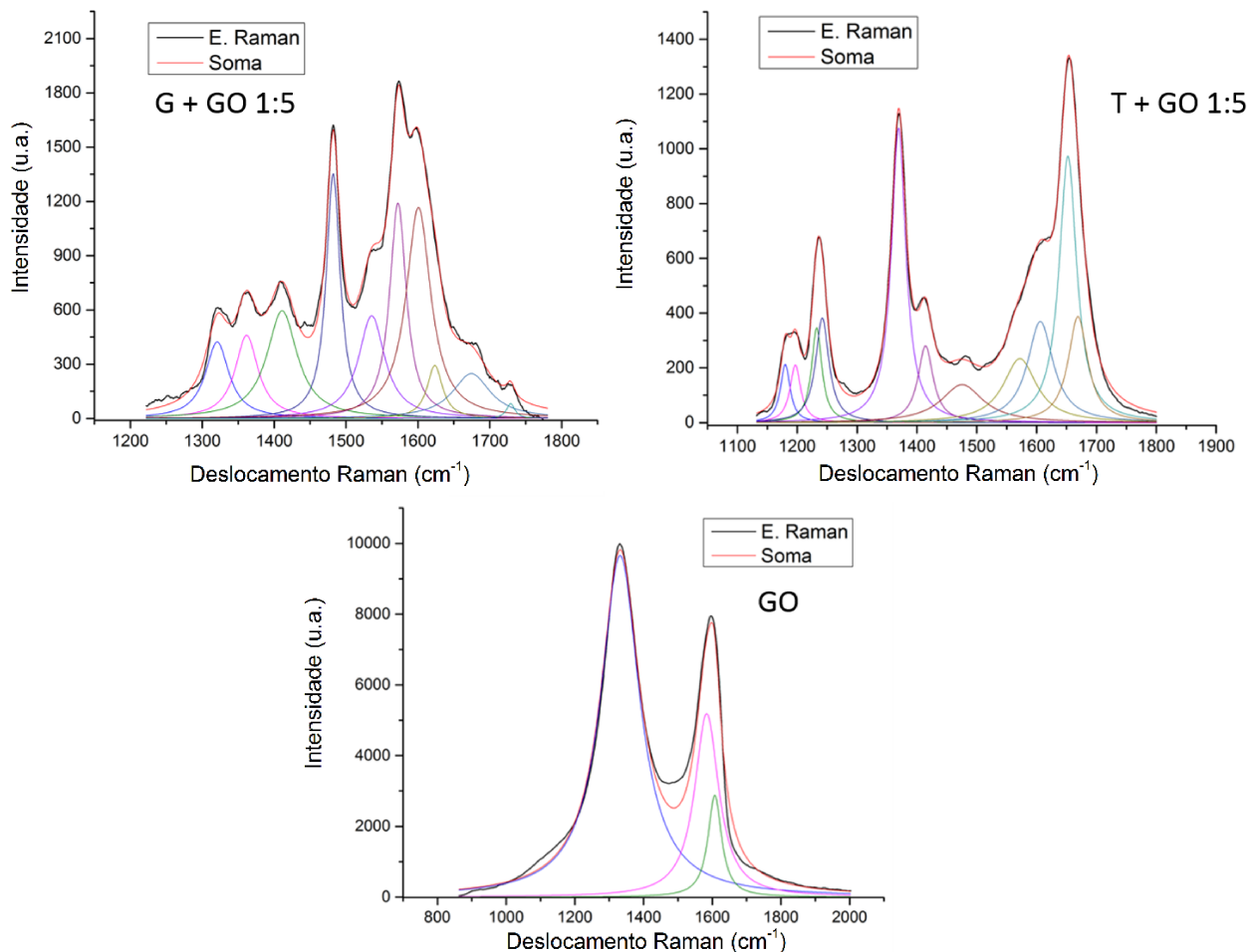


Figura 69 – Comparação dos compósitos GO+dGTP e GO+dTTP com o GO.

Podemos observar para os espectros dos compósitos, que na região de vibração correspondente aos modos dos grupamentos químicos presentes nas bases (CC, NH, CH, NH, etc..) situado abaixo de 1500cm^{-1} , ocorre um deslocamento para menores frequências de 100cm^{-1} no compósito com adenina em comparação ao com a citosina. Comparando-se os compósitos com as bases timina e citosina, observamos um deslocamento bem menor. E, as bandas atribuídas aos modos vibracionais das bases ficam bem mais largas nessa região, indicando uma organização estrutural diferente nos compósitos em relação às estruturas do GO e das bases em separado.

O razão da intensidade integrada das bandas em torno de 1300cm^{-1} e 1600cm^{-1} , denominadas para o grafeno, bandas D e G, respectivamente, pode ser um parâmetro que indique a desordem relativa presente na estrutura dos materiais de carbono, com estrutura sp^2 [42]. Assim, quanto maior for essa razão I_D/I_G , menor será o grau de organização do material. Na tabela abaixo estão os valores da intensidade integrada para as bandas D e

G do grafeno oxidado (GO), retiradas no ajuste dos compósitos com as bases purina (A e G) e as bases pirimidinas (T e C).

Tabela 2 – Frequências vibracionais do GO e compósitos.

Bandas (cm^{-1})	GO	A	G	T	C
Banda D	1332	1329	1330	1242	1289
Banda G	1584	1578	1569	1572	1582
I_D/I_G	2,27	0,36	0,47	0,63	0,54

Observa-se da Tabela 2 que: 1 – as frequências vibracionais das bandas D e G para os compósitos deslocam-se para menores energias em comparação aos do GO; 2 – a razão I_D/I_G em todos os compósitos é muito menor que a do GO, com valores menores para as bases com T e C, maiores para as bases A e G. Inferimos dessas observações que há uma modificação na estrutura de defeitos do GO quando nos compósitos, e que essa modificação é maior para as bases pirimidinas que as bases purinas. Essas observações corroboram, àquelas observadas anteriormente: na preparação das soluções, os compósitos com A e G são mais turvos – maior concentração de grafeno suspensa na solução – que os compósitos com T e C; e no AFM as imagens de topografia do grafeno pós-lavagem indicam diferença na morfologia dos compósitos com bases purinas, cujas imagens das pirimidinas T e C se assemelham mais às do GO que as das purinas A e G; ou seja, as bases purinas interagem mais fortemente com o grafeno, que as pirimidinas.

A princípio concluímos que existem interações entre as bases e o GO, e que essas interações ocorrem diferentemente para as bases purinas e pirimidinas. Provavelmente, porque as purinas (adenina e guanina) possuem em sua estrutura química uma maior quantidade de grupamentos responsáveis pelas interações $\pi - \pi^*$ no compósito; já as pirimidinas (timina e citosina) apresentam uma menor quantidade desses grupamentos funcionais, e por consequência são mais hidrofílicas, e assim, interações eletrostáticas e/ou ligações de hidrogênio são mais dominantes nos compósitos grafeno oxidado/pirimidinas. Em adição, a razão das intensidades integradas entre as bandas D e G do grafeno, refletem o grau de organização das folhas e também a sua qualidade de processamento.

Se compararmos as duas regiões selecionadas, na região entre 600 e 800cm^{-1} - relacionada às vibrações CCC fora o plano, as bandas possuem maior intensidade nos compósitos GO com timina e citosina, em relação aos compósitos GO com adenina e guanina. E na região abaixo de 1400cm^{-1} , associada às vibrações do grupo CCO^- são

mais intensas nos compósitos GO com adenina e guanina em comparação aos compósitos GO com timina e citosina. Uma maior intensidade está relacionada ao aumento no número de grupos funcionais dentro dos nossos materiais. Nesse trabalho, I_{CCO-} é maior que I_{CCC} nos compósitos GO/bases purinas em relação aos compósitos GO/pirimidinas. Isso nos leva a outro indício que as interações entre o GO e bases são de naturezas diferentes; e que as bases purinas (adenina e guanina) interagem mais com o grafeno oxidado que as bases pirimidinas (citosina e timina).

5 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

Neste trabalho foram apresentados os dados e análises sobre a caracterização por espectroscopia Raman e microscopia de força atômica (AFM) de grafeno e dNTPs, sendo o grafeno um material muito visado para inovação em diversas áreas. Os dNTPs foram caracterizados individualmente e nos compósitos.

No espectro Raman, utilizando uma linha de excitação de 633 nm, pudemos verificar a integridade do grafeno oxidado e a sua "qualidade" estrutural, verificando a presença das bandas características como a banda G (1584 cm^{-1}) e banda D (1350 cm^{-1}) relacionada aos defeitos na sua estrutura. As bandas D'e 2D'atribuídas aos modos vibracionais da estrutura de grafite, foram consideradas desprezíveis; pois as suas intensidades nos espectros do GO eram muito menores, quando comparadas às das bandas G e D. Através da espectroscopia de força atômica verificou-se sua organização espacial, como folhas de grafeno. Das análises dos seus perfis de alturas, comprovamos que a nossa solução de GO, possui uma distribuição de folhas empilhadas de alguns nanômetros.

Nos espectros Raman das DNTPs foi possível identificar os modos vibracionais de grupamentos da molécula. Para uma melhor análise os espectros de cada dNTP foram divididos em três regiões para deconvolução. De modo geral, de 400 a 900 cm^{-1} encontramos modos vibracionais simétricos e assimétricos da cadeia molecular como um todo e deformações de alguns grupamentos químicos laterais. Na região de 900 a 1250 cm^{-1} foram encontrados modos ligados ao açúcar desoxirribose e ao fosfato. Já a região de 1250 a 2000 cm^{-1} engloba os modos das bases nitrogenadas. As frequências vibracionais acima de 2000 cm^{-1} é correspondente das dNTPs em solução. Através dos seus espectros, pudemos diferenciar as bases em seus subgrupos: purinas e pirimidinas.

Na análise dos compósitos, por microscopia de força atômica verificou se a necessidade de minimizar a presença do sal, presente na solução tampão de armazenamento das bases. Após o procedimento de lavagem, as nossas análises das imagens de AFM de GO/DNTPs, indicaram que: as bases purinas (dATP e dGTP) permaneceram adsorvidas à superfície das empilhados nas folhas de grafeno, e nos compósitos com as bases pirimidinas (dCTP e dTTP) observamos predominantemente estruturas de grafeno.

Para análise dos espectros Raman relativo aos compósitos, separamos os espectros em duas regiões de interesse: na primeira região, em torno de 650 a 900 cm^{-1} , temos modos

vibracionais de anéis purínicos e pirimidínicos, e a segunda região de 1100 cm^{-1} a $1700 - 1800\text{ cm}^{-1}$ atribuímos às ligações duplas nas bases e as bandas D e G para o grafeno.

Para a primeira região, os maiores deslocamentos das bandas referentes aos anéis pirimidínicos, quando comparados com os purínicos, sugerem uma maior rigidez dos anéis da adenina e guanina (purinas) e uma estrutura menos rígida dos anéis de citosina e timina (pirimidinas), após adição do grafeno oxidado.

Ao analisar a segunda região, por comparação da razão I_D/I_G para os compósitos e o GO, temos uma diferença de valores para as bases purinas e pirimidinas. Sugerimos que existe uma diferença na estrutura de defeitos do GO, com maior modificação nas purinas do que as pirimidinas; provavelmente devido à uma maior afinidade das purinas com o GO, como analisado nas imagens de AFM. Essa diferença de comportamento pode ser explicada devido ao maior número de grupamentos oxigenados e nitrogenados na citosina e timina, resultando interações eletrostáticas ou pontes de hidrogênio no compósito. Já nas purinas inferimos que as ligações $\pi - \pi^*$ são as principais responsáveis pelas interações de adenina e guanina com o GO.

Com isso, concluímos através de análises espaciais e estruturais, que há uma diferença de interação dos dNTPs com o grafeno oxidado. Essa diferença de interação é observada seguindo os subgrupos nos quais essas bases são classificadas: purinas e pirimidinas; sendo as purinas (dATP e dGTP) mais interagentes com o GO do que as pirimidinas (dCTP e dGTP).

Como perspectivas futuras a esse estudo, esperamos realizar um estudo de como a interação se dá em diferentes concentrações de compósitos. Visando as aplicações biológicas do GO como um "drug delivery", a variação do pH e a formação de compósitos com drogas são parâmetros a serem estudados, em diferentes valores de pH simulando um ambiente biológico, utilizando os compósitos como carregadores.

REFERÊNCIAS

- 1 NOVOSELOV, K. S. et al. **Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films.** *Science*, American Association for the Advancement of Science, v. 306, n. 5696, p. 666–669, 2004. ISSN 0036-8075. Disponível em: <<https://science.sciencemag.org/content/306/5696/666>>.
- 2 AHN, S. et al. **Emerging analysis on the preparation and application of graphene by bibliometry.** *J Material Sci Eng*, v. 4, n. 192, p. 2169–0022, 2015.
- 3 Peres, N. M. R. **Graphene, new physics in two dimensions.** *Europhysics News*, v. 40, n. 3, p. 17–20, May 2009.
- 4 LEE, X. J. et al. **Review on graphene and its derivatives: Synthesis methods and potential industrial implementation.** *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 98, p. 163 – 180, 2019. ISSN 1876-1070. Microreactor: Fundamentals and Applications in Chemical Engineering.
- 5 SUN, X. et al. **Nano-graphene oxide for cellular imaging and drug delivery.** *Nano Research*, v. 1, n. 3, p. 203–212, Sep 2008.
- 6 CHEN, Y.-W. et al. **Functionalized graphene nanocomposites for enhancing photothermal therapy in tumor treatment.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 105, p. 190 – 204, 2016. ISSN 0169-409X. Graphene-based materials in nanomedicine.
- 7 GONCALVES, G.; MARQUES, P.; VILA, M. **Graphene-based Materials in Health and Environment New Paradigms.** [S.l.: s.n.], 2016.
- 8 ZHI, X. et al. **The immunotoxicity of graphene oxides and the effect of PVP-coating.** *Biomaterials*, v. 34, n. 21, p. 5254 – 5261, 2013. ISSN 0142-9612.
- 9 PAN, Y.; SAHOO, N. G.; LI, L. **The application of graphene oxide in drug delivery.** *Expert Opinion on Drug Delivery*, Taylor e Francis, v. 9, n. 11, p. 1365–1376, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1517/17425247.2012.729575>>.
- 10 KIM, H. et al. **Photothermally Triggered Cytosolic Drug Delivery via Endosome Disruption Using a Functionalized Reduced Graphene Oxide.** *ACS Nano*, v. 7, n. 8, p. 6735–6746, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/nn403096s>>.
- 11 MARTHO, A. e. **Fundamentos da Biologia Moderna.** 2006.
- 12 GRIFFITHS, A. **Introdução à Genética.** 2008.
- 13 ROBERTIS E. D. P. ; DE ROBERTIS, E. M. F. D. **Bases da biologia celular e molecular.** *Rio de Janeiro:Guanabara Koogan*, 2006.
- 14 DANTAS N. O.; SILVA, A. C. A. **Atomic and magnetic force microscopy of semiconductor and semimagnetic nanocrystals grown in colloidal solutions and glass matrices.** [S.l.]: Nova Science, 2012. 109-132 p.
- 15 SALA, O. **Fundamentos da espectroscopia raman no infravermelho.** [S.l.]: Universidade Estadual Paulista, 1996.

- 16 JORIO, A. et al. ***Raman Spectroscopy in Graphene Related Systems***. Wiley, 2011. ISBN 9783527408115. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=dSanDAEACAAJ>>.
- 17 MAXWELL, J. C. **A Dynamical Theory of the Electromagnetic Field**. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, The Royal Society, v. 155, p. 459–512, 1865.
- 18 GRIFFITHS, D. J. ***Introduction to electrodynamics; 4th ed.*** Boston, MA: Pearson, 2013. Re-published by Cambridge University Press in 2017.
- 19 HOLLER, S. D. A. F. J.; NIEMAN, T. A. ***Principles of instrumental analysis***. [S.l.]: Philadelphia: Saunders College Pub., 1998.
- 20 FERRARO, J. R.; NAKAMOTO, K.; BROWN, C. W. **Introductory Raman Spectroscopy (Second Edition)**. In: . Second edition. San Diego: Academic Press, 2003. p. 1 – 94.
- 21 CHALMERS, P. R. G. J. M. ***Handbook of Vibrational Spectroscopy Theory and Instrumentation***. [S.l.: s.n.], 2002. v. 124.
- 22 SPM-9600., S. *Shimadzu Scanning Probe Microscope*.
- 23 RANDVIIR DALE A.C. BROWNSON, C. E. B. E. P. **A decade of graphene research: production, applications and outlook**. *Materials Today*, v. 17, n. 9, p. 426 – 432, 2014. ISSN 1369-7021.
- 24 ARMOND, R. A. S. Z. **Estudo de Eletrólitos Poliméricos a base de Poliéter por Espectroscopia Raman, Análise Térmica e Condutividade Iônica**. *Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte*, 1999.
- 25 SET of 4 dNTPs. Disponível em: <<https://www.bioron.net/en/products/nucleotides/standard-dntps/set-dntps/set-4-dntps/>>. Acesso em: 14 abr. 2019.
- 26 FORMULA of deoxyadenosine triphosphate. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/Deoxyadenosine_triphosphate>. Acesso em: 24 jun. 2019.
- 27 FORMULA of thymidine triphosphate. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/Thymidine_triphosphate>. Acesso em: 24 jun. 2019.
- 28 FORMULA of Deoxyguanosine triphosphate. Disponível em: <<https://www.wikidata.org/wiki/Q424586>>. Acesso em: 24 jun. 2019.
- 29 FORMULA of deoxycytidine triphosphate. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/Deoxycytidine_triphosphate>. Acesso em: 24 jun. 2019.
- 30 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>>.
- 31 BEAMS, R.; CANÇADO, L. G.; NOVOTNY, L. **Raman characterization of defects and dopants in graphene**. *Journal of Physics: Condensed Matter*, IOP Publishing, v. 27, n. 8, p. 083002, jan 2015.

- 32 JORIO, A. **Raman Spectroscopy in Graphene-Based Systems: Prototypes for Nanoscience and Nanometrology.** *ISRN Nanotechnology*, v. 2012, 12 2012.
- 33 PIMENTA, M. A. et al. **Studying disorder in graphite-based systems by Raman spectroscopy.** *Phys. Chem. Chem. Phys.*, The Royal Society of Chemistry, v. 9, p. 1276–1290, 2007.
- 34 RAMAN spectroscopy analysis of number of layers in mass-produced graphene flakes. *Carbon*, v. 161, p. 181 – 189, 2020. ISSN 0008-6223.
- 35 STANKOVICH, S. e. a. **Graphene-based composite materials.** v. 442, 2006.
- 36 BRAUER, B. et al. **Vibrational Spectroscopy of the GC 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.
- 37 MOVASAGHI, Z.; REHMAN, S.; REHMAN, D. I. ur. **Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues.** *Applied Spectroscopy Reviews*, Taylor e Francis, v. 43, n. 2, p. 134–179, 2008.
- 38 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.
- 39 OTTO, C. et al. **Surface-enhanced Raman spectroscopy of DNA bases.** *Journal of raman spectroscopy*, Wiley, v. 17, p. 289–298, 1986.
- 40 MOVASAGHI, Z.; REHMAN, S.; REHMAN, D. I. U. **Raman Spectroscopy of Biological Tissues.** *Applied Spectroscopy Reviews*, Taylor e Francis, v. 42, n. 5, p. 493–541, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/05704920701551530>>.
- 41 BHAUMIK, A. et al. **Probing the Interaction at the Nano–Bio Interface Using Raman Spectroscopy: ZnO Nanoparticles and Adenosine Triphosphate Biomolecules.** *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 118, n. 32, p. 18631–18639, 2014.
- 42 ZHAO, W. et al. **Intercalation of Few-Layer Graphite Flakes with FeCl₃: Raman Determination of Fermi Level, Layer by Layer Decoupling, and Stability.** *Journal of the American Chemical Society*, v. 133, n. 15, p. 5941–5946, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ja110939a>>.

Anexo A – MODOS VIBRACIONAIS

Apresentação dos modos vibracionais correspondentes a cada uma das bases

A.1 1.1 MODOS VIBRACIONAIS DATP

Tabela 3 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dATP Região I**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
393	Banda sem atribuição	
411	Banda sem atribuição	
454	Banda sem atribuição	
493	Banda sem atribuição	
514	Banda sem atribuição	
528	Adenina	[36]
572	Banda sem atribuição	
620 - 630	Adenina, torção da ligação C-C, CN-NCC	[36, 37]
649 - 659	Adenina	[40, 36]
703	Modos angulares para fora do plano	[40, 36]
727	Grupamento Amina para fora do plano, Adenina	[40, 36, 37]
758	Banda sem atribuição	
758	Banda sem atribuição	
798	Banda sem atribuição	
812	Vibração da ligação CH no anel	[37]

Tabela 4 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dATP Região II**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
910	Estiramento da ligação CC	[40]
972	Banda sem atribuição	
1005	Estiramento da ligação CC, estiramento do anel por modos de torção no plano de CH, anel aromático Adenina	[37, 40]
1065	Banda sem atribuição	
1106	Banda sem atribuição	
1167	Estiramento CC	[40]
1217	Adenina	[37]
1246	Adenina, Ligações CN e CH	[39, 38]
1304	Adenina e modos do grupo CH ₂	[37, 38]
1335	Adenina, ligação CN, movimento de cisso-ring de ligações CH	[39, 36, 37, 40, 38]
1375	Respiração do anel de base purínica, ligações CN, Adenina	[39, 40, 38]
1417	Adenina, ligações CH	[39, 36, 37, 40, 38]

Tabela 5 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dATP Região III**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
1475 - 1482	Adenina, Benzeno	[37, 40, 38]
1503	Modos Angulares no plano das ligações CH, respiração do anel, Adenina	[37, 40, 38]
1577	Respiração do anel e vibração da ligação C=N, Adenina	[37, 40, 38]
1601	Adenina	[37, 40]
1626	Banda sem atribuição	
1652	Modo referente à água	[37, 38]
1679	Banda sem atribuição	
1704	Banda sem atribuição	
1716	Banda sem atribuição	
1755	Banda sem atribuição	
1806	Banda sem atribuição	

A.2 1.2 MODOS VIBRACIONAIS DCTP

Tabela 6 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - dCTP Região I

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
397	Vibração de "abano" das ligações NH ₂ e OH	[37, 40, 38]
418	Banda sem atribuição	
443	Modo de torção do anel	[37, 40, 38]
487	Torção do anel	[36]
526	Torção do grupo-mento COH e cisa-lhamento do anel	[36]
616	Citosina e modo de torção C-C	[36, 37]
638	Citosina, vibração angular para fora do plano referente às ligações CH	[38]
701	Torção do anel	[36]
738	Torção do anel e vibrações angulares fora do plano	[36, 40]
782	Citosina, respiração e torção do anel, vibrações angulares fora do plano	[39, 37, 40, 38]
811	Estiramento da ligação C-C, deformação CH do anel	[37, 40]

Tabela 7 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dCTP Região II**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
985	Vibração da ligação CH, vibração CH fora do plano e estiramento de ligações C-C	[36, 39]
1132	Alongamento de ligações C-C	[40]
1199	Modo angular do grupo COH	[36]
1241	Atribuído ao grupamento amida	[40]
1255	Citosina, alongamento CN no plano	[40, 38]
1288	Citosina, deformação NH, vibração das ligações NC + C=C	[39, 37, 40, 38]

Tabela 8 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dCTP Região III**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
1367	Vibração de ligações N=C-C=C e estiramento da ligação C-C	[40, 39]
1377	Alongamento de ligação CC e ligação NH ₂	[36]
1435	"scissoring" de CH ₂	[36]
1444	"scissoring" de CH ₂ e alongamento da ligação CC	[36, 40]
1527	Citosina, estiramento de ligações CN, ligações C=C do anel e deformação de CH	[37, 38]
1544	Ligações CN e CC em alongamento	[36]
1581	Anel de pirimidina	[40, 38]
1607	Citosina, estiramento de ligações CN e CC e vibração da ligação C=N	[36, 40, 38]
1647	Estiramento da ligação C=O e H ₂ O e vibração das ligações O=C-NC	[39, 37, 40, 38]
1685	Vibração da ligação C=O e grupamento amida	[40]
1711	Vibração da ligação C=O	[40]

A.3 1.3 MODOS VIBRACIONAIS DGTP

Tabela 9 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dGTP Região I**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
494	Guanina, vibração do grupo CNC e modo angular para fora do plano relacionado à NH	[39, 36, 38]
528	Torção da ligação C=C	[37]
573	Guanina e vibração da ligação NCN	[36, 40]
611	Modo de cisalhamento do anel	[36]
669	Guanina, modo de estiramento do anel	[36, 37, 38]
681	Guanina, modo de respiração do anel	[36, 37, 38]
741	Estiramento do anel	[36]
781	Modo angular da ligação NH para fora do plano, guanina	[36, 40]

Tabela 10 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dGTP Região II**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
847	Ligação NH com modos para fora do plano, guanina e respiração do anel	[36, 37]
879	Vibração da ligação C-C	[40]
896	Modos relacionados com a ligação C-C	[40]
933	Modo angular do grupo NCN e respiração da ligação C-C	[36, 37]
974	Vibração da ligação C-C e do grupamento PO ₄	[36, 37]
1019 - 1028	Vibração ads ligações NH e modos angulares das ligações CH	[39, 36, 40]
1073	Modo de abanamento de NH ₂ , vibração das ligações CN e C-C	[39, 37, 38]
1112	Estiramento de ligações CC e CO	[37, 40]
1169	Guanina, vibrações associadas à CN e CNH, também à ligações CO	[39, 37, 40]
1182	Guanina, vibrações da ligação CH ₂ e modos angulares de ligações CH	[37, 38]
1212	Estiramento do anel, das ligações CN e modos angulares da ligação NH	[36, 37]
1244	Vibrações atribuídas ao grupamento amida e guanina	[37, 40]

Tabela 11 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dGTP Região III**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
1318	Grupamento amida e guanina	[37, 40]
1330	Guanina, modos angulares das ligações NH e estiramento de ligações CN. Presença do abanamento do grupamento CH_3CH_2 presente nas purinas	[36, 37, 38]
1352 - 1362	Vibrações das ligações CN, estiramento do anel, modo angular de NH e deformações de N-H	[36, 37, 40, 38]
1410	Modo angular de ligações NH no plano, estiramento de ligações C-N e deformações da ligação N-H	[36, 40]
1477 - 1484	Guanina, modo de respiração do anel e ligações C-H acopladas no anel	[36, 40, 38]
1532	Guanina	[40]
1571	Guanina e grupamento amida	[36, 40, 38]
1598	Estiramento de ligações C=O	[37, 40]
1637	Guanina, estiramento de ligações C=O e C=C	[39, 37]
1677	Guanina, estiramento de ligações C=O e C=C	[36, 40, 38]

A.4 1.3 MODOS VIBRACIONAIS DTTP

Tabela 12 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dTTP Região I**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
333	Vibração de ligações CN	[39]
376	Banda sem atribuição	
414	Banda sem atribuição	
441	Banda sem atribuição	
491	Vibração de ligações CNC e NCC	[39, 38]
518	Banda sem atribuição	
557	Vibrações da ligação CH fora do plano	[37]
637	Vibração da ligação OH fora do plano	[37, 40]
663	Modo de respiração do anel de timina e vibrações fora do plano de ligações CH	[40, 37]
710	Banda sem atribuição	
743	Vibrações angulares fora do plano e modo de respiração do anel	[40, 37]
783	Modo de respiração do anel e vibrações angulares para fora do plano	[40, 37]

Tabela 13 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dTTP Região II**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
865	Vibrações angulares para fora do plano, tirosina	[37, 40]
905	Vibrações angulares para fora do plano	[37, 40]
966	Ligações C=O do tipo "scissoring" e modo angular para fora do plano da ligação CH	[40]
1009	Vibrações do anel e vibrações angulares da ligação CH	[37]
1018	Estiramento das ligações CO e CC e "scissoring" do grupamento OCH	[40]
1046	Estiramento das ligações CO, CN CC e "scissoring" do grupamento OCH	[37, 40]
1096	Vibrações das ligações CN e CC	[40]
1111	Estiramento das ligações CO e CC no anel juntamente com modos angulares no plano das ligações CH	[37, 40]
1140	Banda sem atribuição	
1181	Região do grupamento amida e vibrações das ligações CH e CN	[39, 40, 38]
1199	Região das bandas de amidas e vibrações de CH e CN	[40, 37, 37]
1234	Região de vibração de amidas	[40, 37]
1245	Região de amida e timina	[40, 37, 37]
1275	Região de amida, timina e deformação de ligações N-H	[40, 37]

Tabela 14 – Modos normais de vibração e suas frequências associadas - **dTTP Região III**

$\nu(cm^{-1})$	Modo de vibração	Referências
1370	Deformação C=H e N-H juntamente com modo de respiração do anel	[37, 40, 38]
1408 - 1417	Deformação C-H e N-H juntamente com estiramento C-N	[39, 40, 38]
1445	"scissoring" da ligação CH ₂	[40]
1481	Região de vibrações do grupamento amida	[37, 40]
1656	Região de vibrações das amidas e das ligações C=O e C-C	[39, 40, 38]

Anexo B – ANÁLISES RAMAN DOS COPÓSITOS

B.1 ESPECTROS RAMAN DO COMPÓSITO GO + DATP ANALISADO

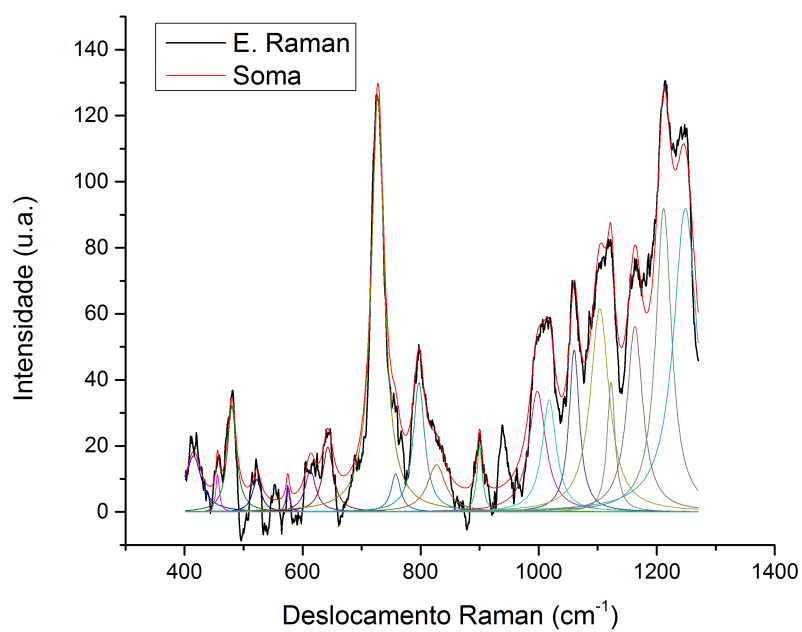


Figura 70 – Espectro Raman da área 1 do compósito entre GO e dATP.

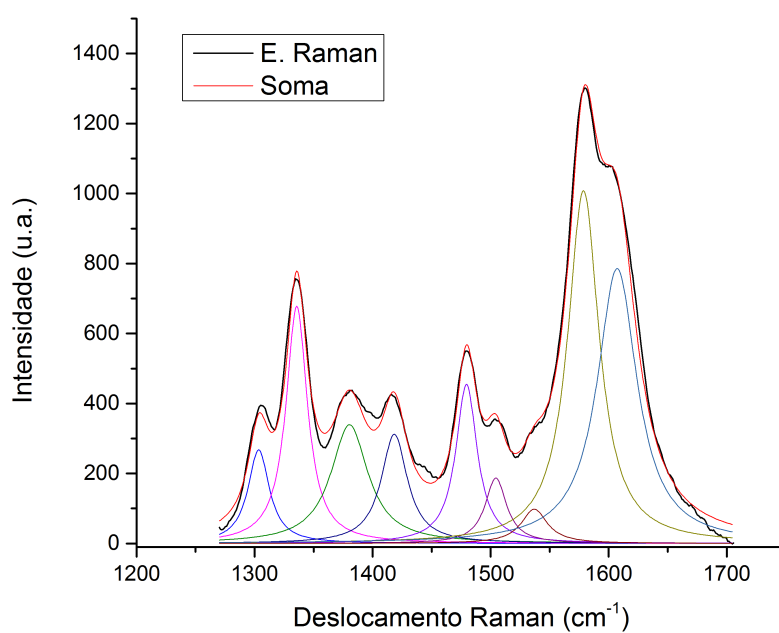


Figura 71 – Espectro Raman da área 2 do compósito entre GO e dATP.

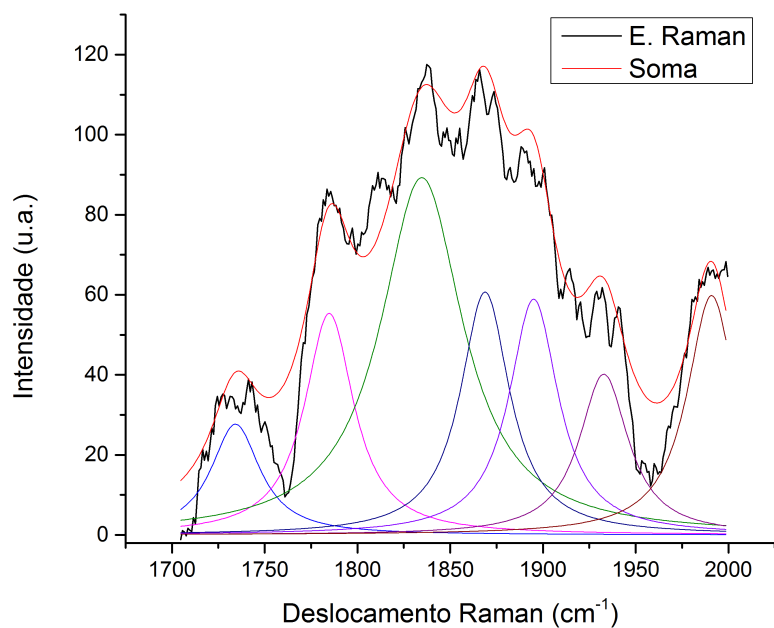


Figura 72 – Espectro Raman da área 3 do compósito entre GO e dATP.

B.2 ESPECTROS RAMAN DO COMPÓSITO GO + DCTP ANALISADO

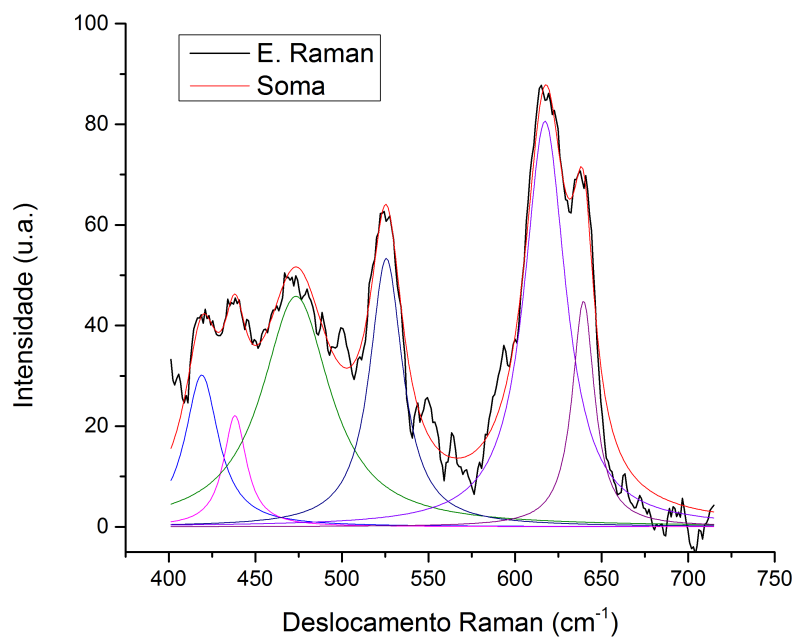


Figura 73 – Espectro Raman da área 1 do compósito entre GO e dCTP.

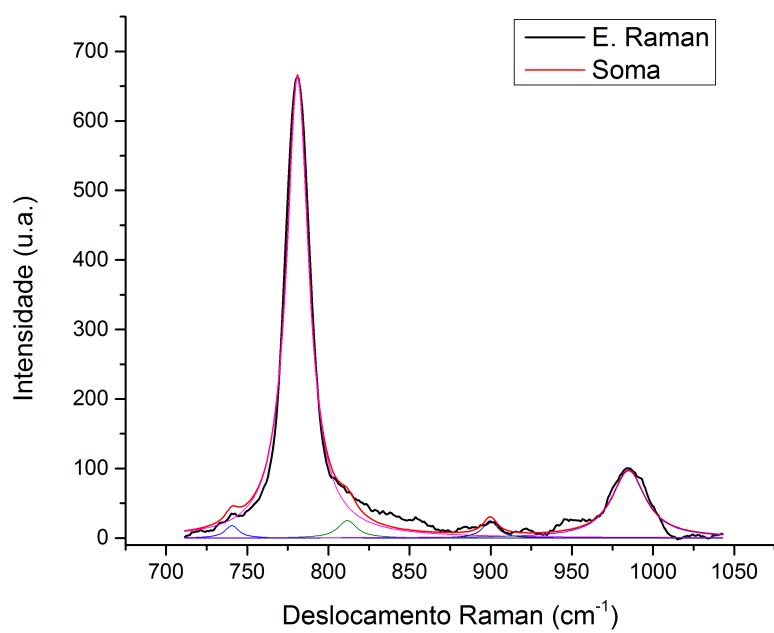


Figura 74 – Espectro Raman da área 2 do compósito entre GO e dCTP.

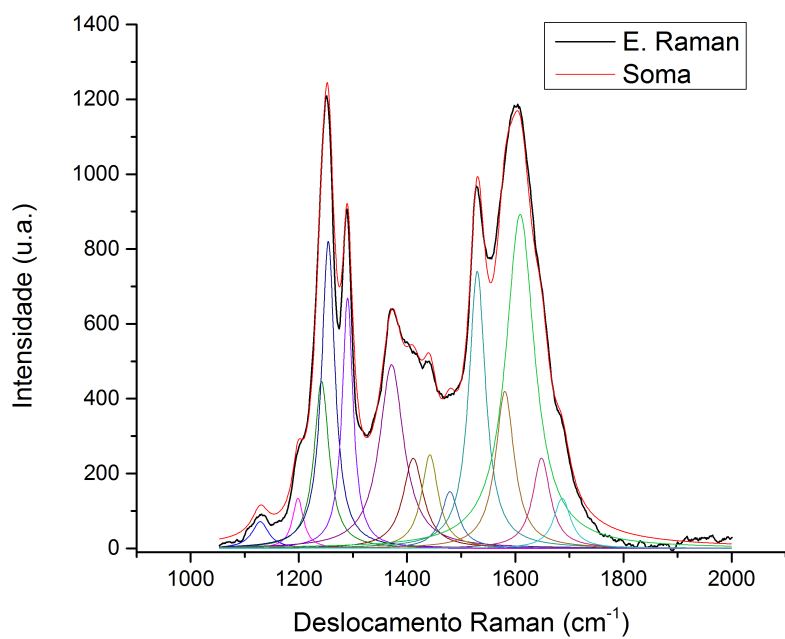


Figura 75 – Espectro Raman da área 3 do compósito entre GO e dCTP.

B.3 ESPECTROS RAMAN DO COMPÓSITO GO + DGTP ANALISADO

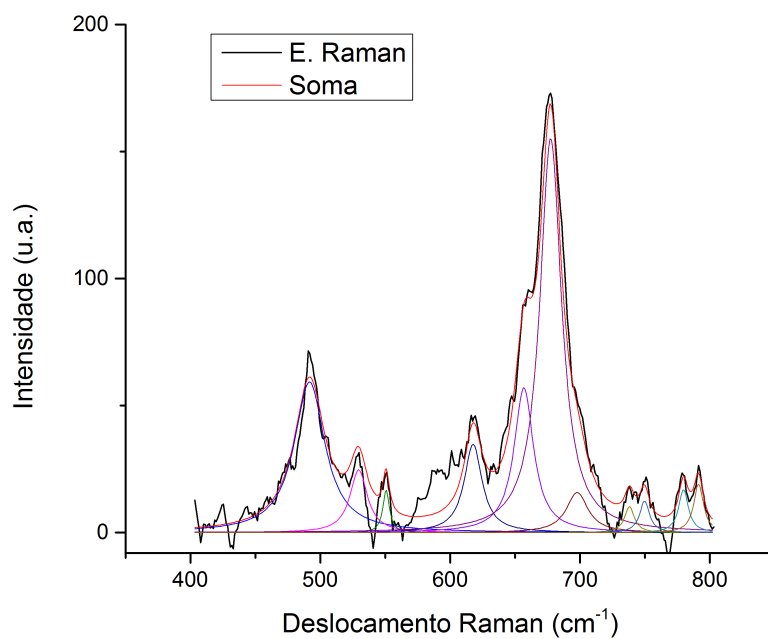


Figura 76 – Espectro Raman da área 1 do compósito entre GO e dGTP.

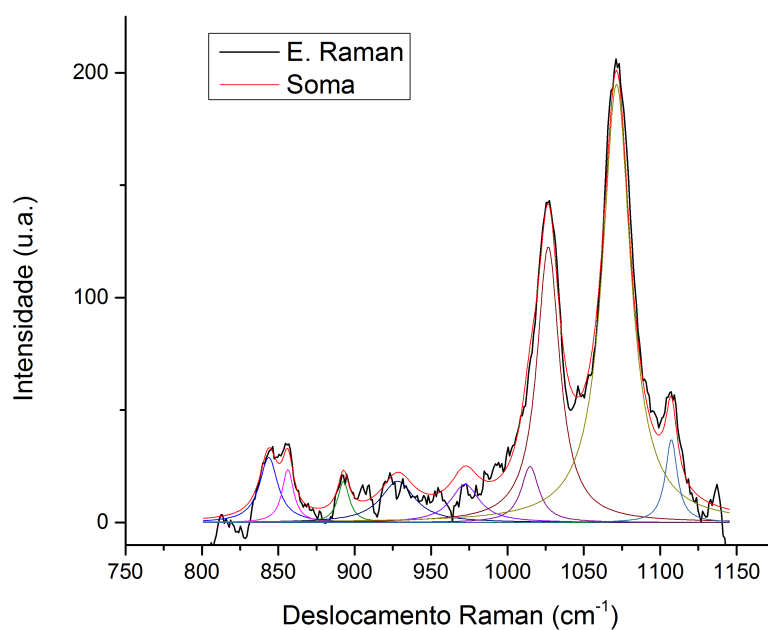


Figura 77 – Espectro Raman da área 2 do compósito entre GO e dGTP.

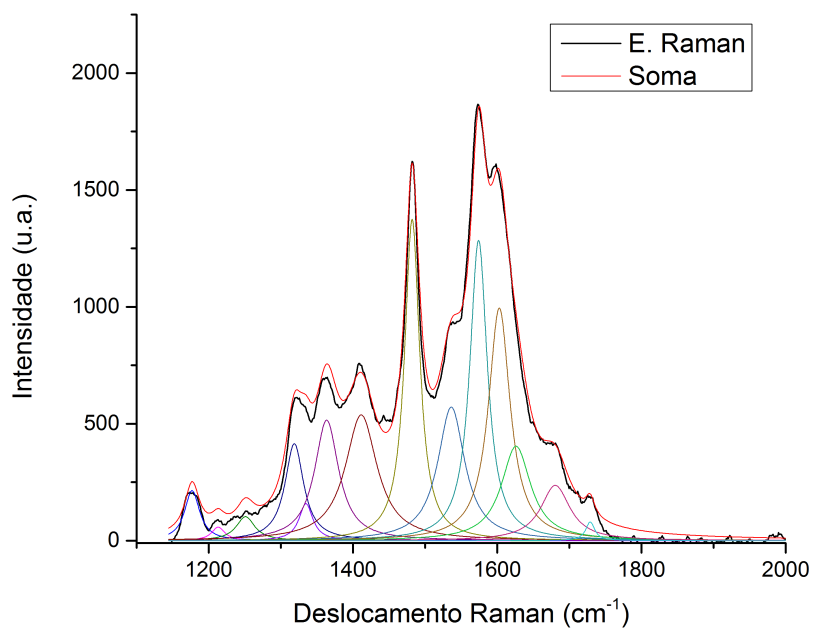


Figura 78 – Espectro Raman da área 3 do compósito entre GO e dGTP.

B.4 ESPECTROS RAMAN DO COMPÓSITO GO + DTTP ANALISADO

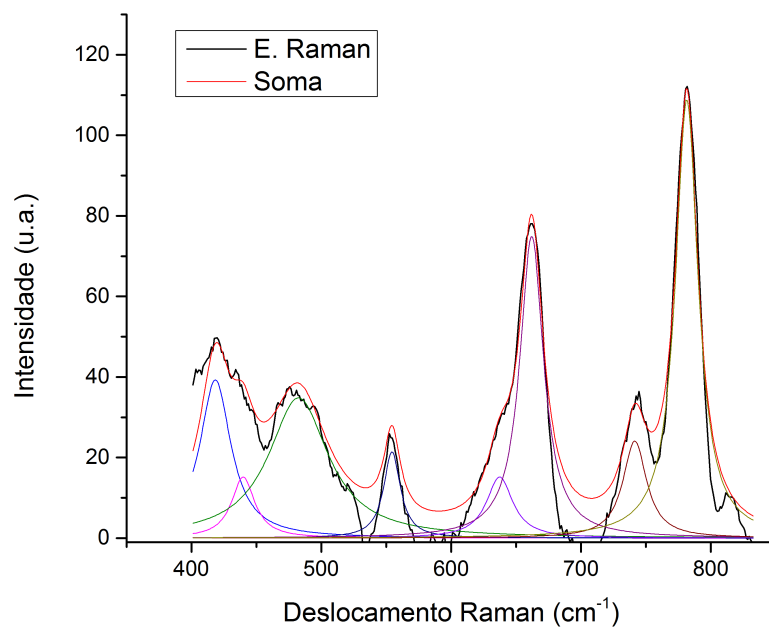


Figura 79 – Espectro Raman da área 1 do compósito entre GO e dTTP.

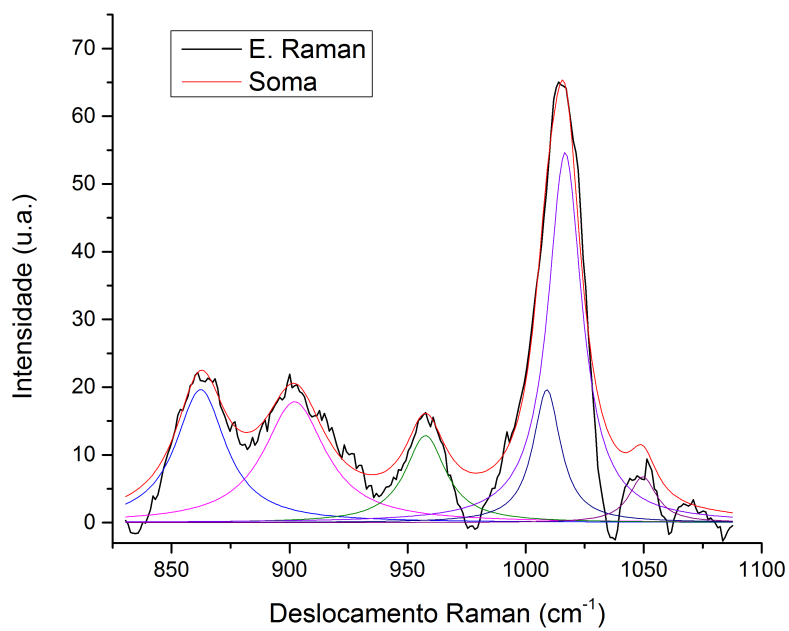


Figura 80 – Espectro Raman da área 2 do compósito entre GO e dTTP.

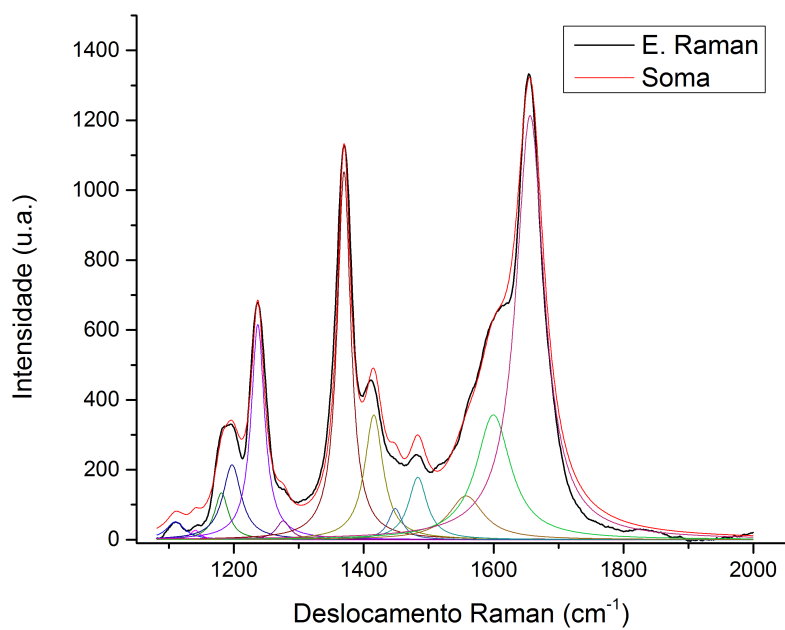


Figura 81 – Espectro Raman da área 3 do compósito entre GO e dTTP.

Anexo C – DADOS REFERENTES À ANÁLISES DE PERFIS DE AFM

C.1 IMAGENS DE AFM DO GRAFENO UTILIZADO

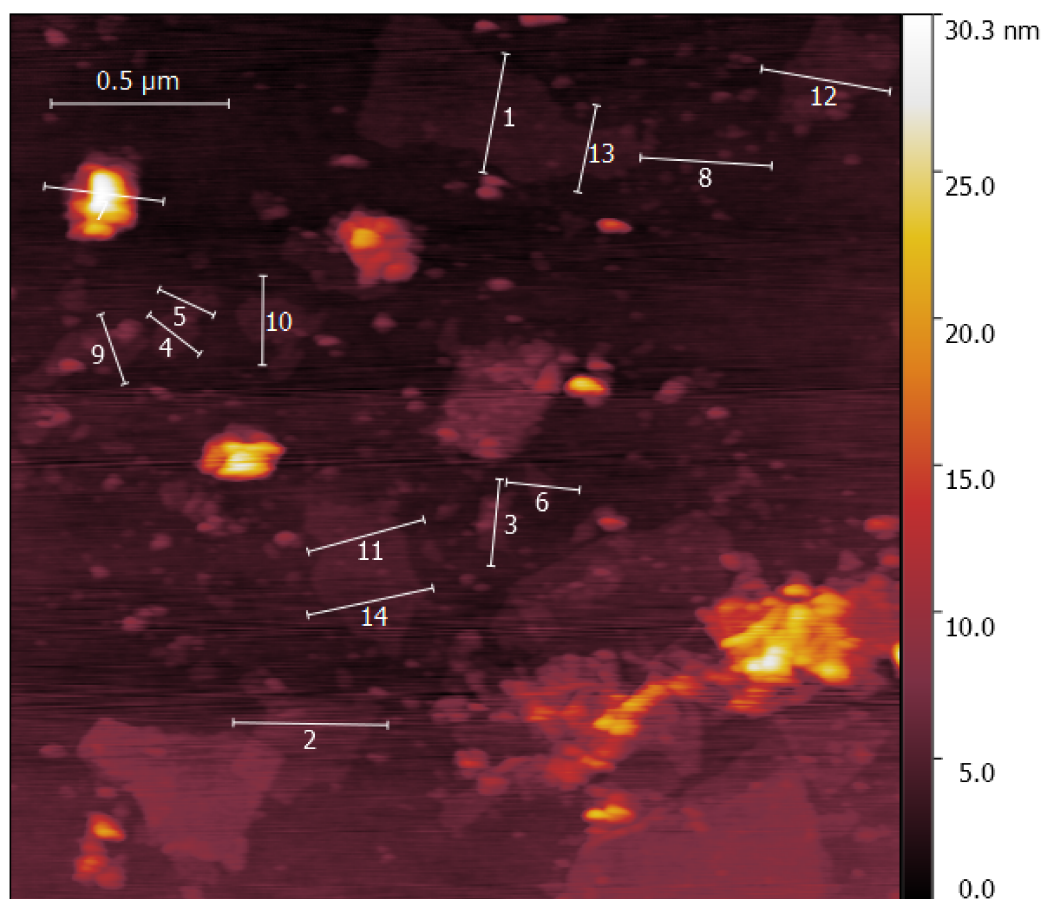
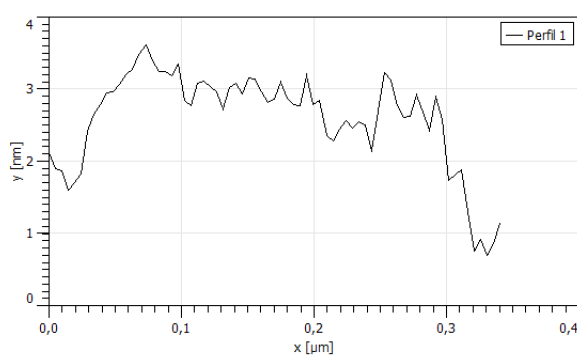
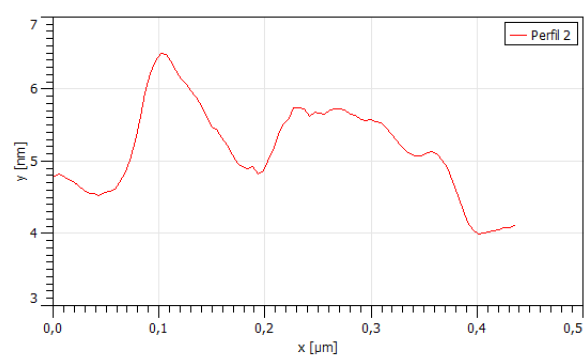


Figura 82 – Imagem de AFM do grafeno apresentando pontos de análise.

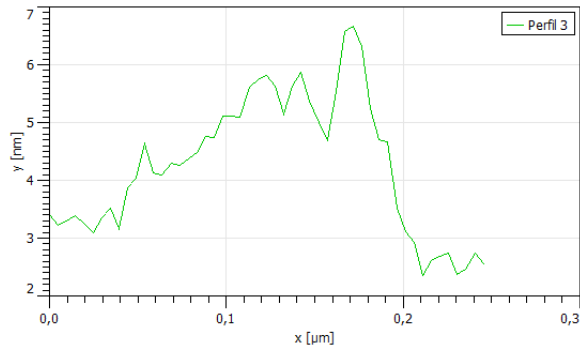
Análises de perfil relacionadas à Figura 82:



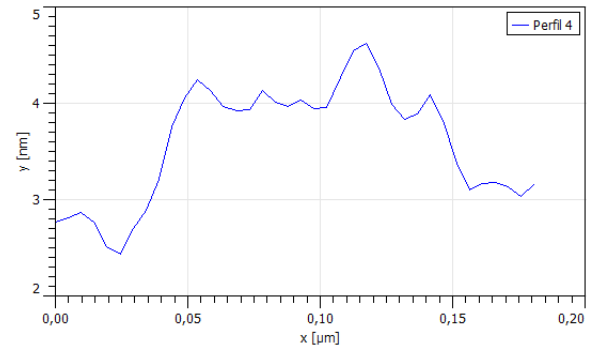
(a)



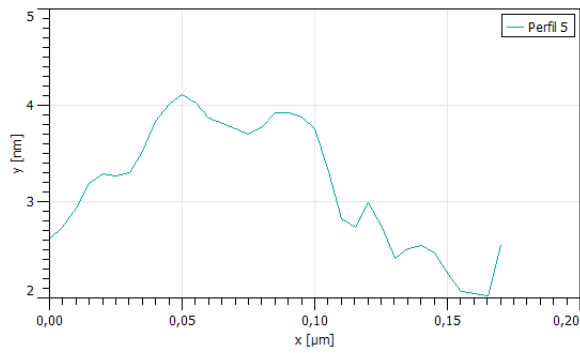
(b)



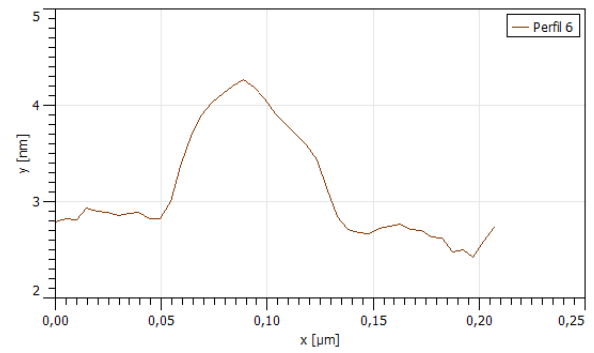
(c)



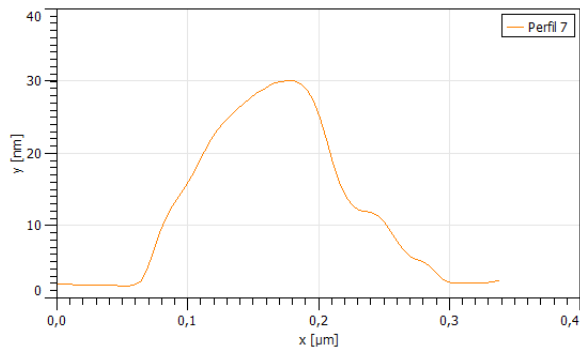
(d)



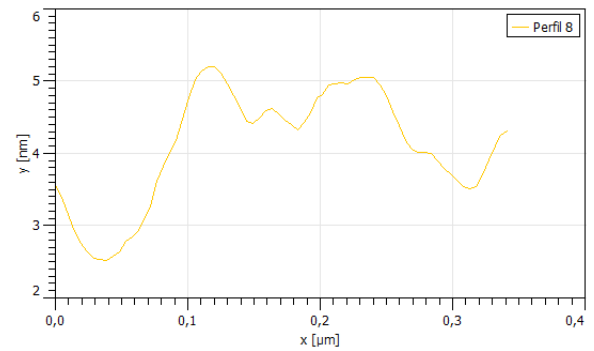
(e)



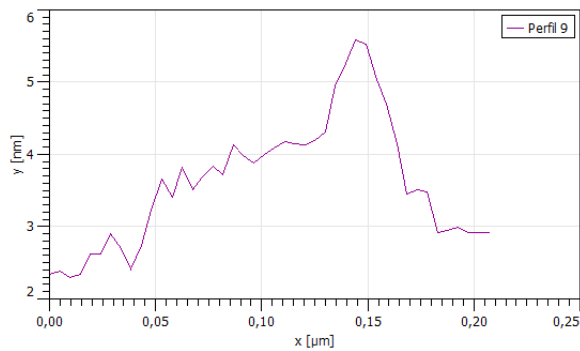
(f)



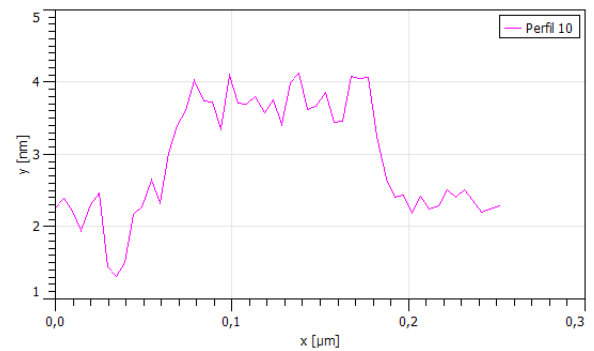
(g)



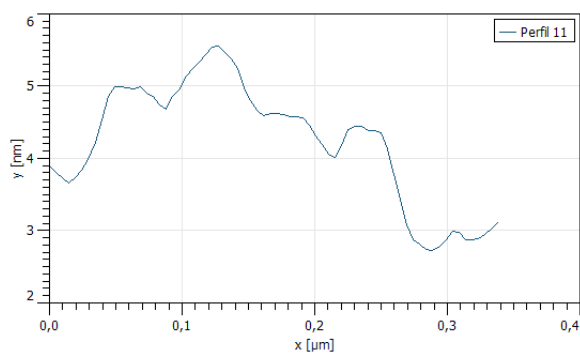
(h)



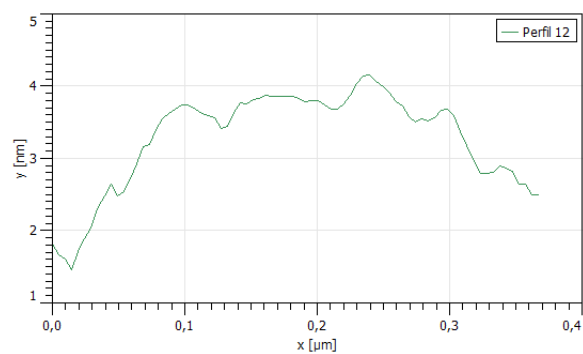
(i)



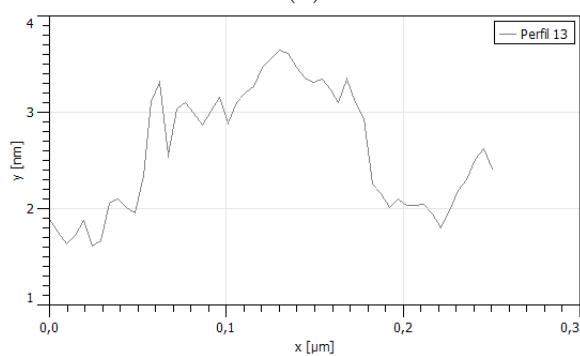
(j)



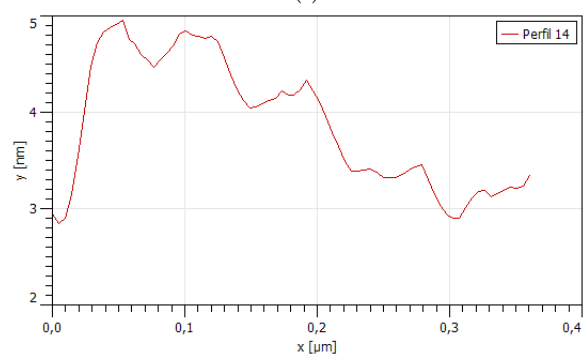
(k)



(l)



(m)



(n)

Figura 83 – Perfis de AFM do grafeno utilizado (2)

C.2 IMAGENS ANALISADAS DOS COMPÓSITOS PRÉ LAVAGEM

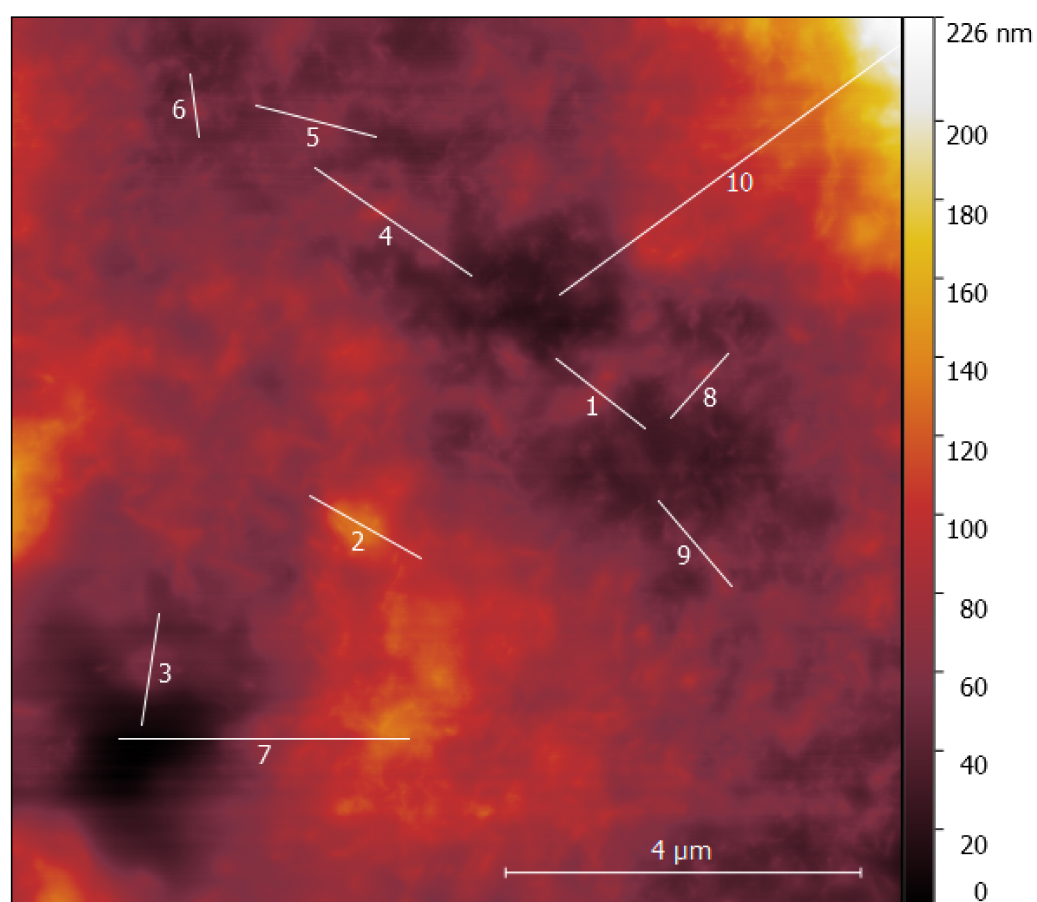
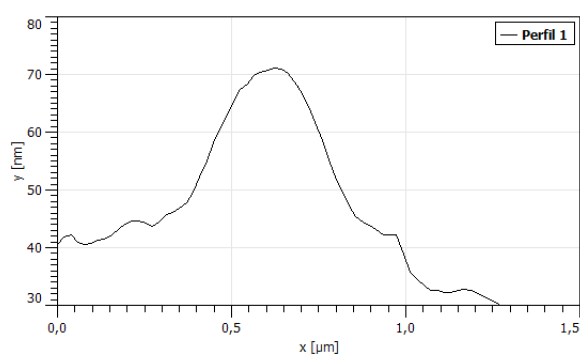
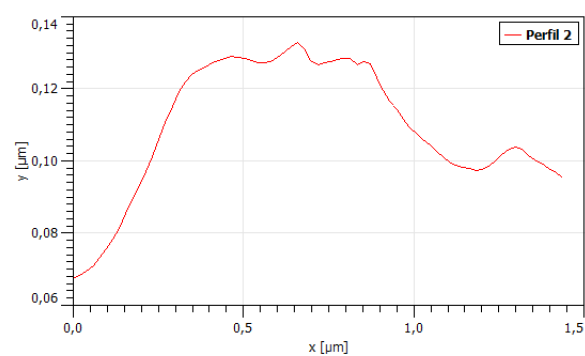


Figura 84 – Imagem de AFM do compósito GO + dATP apresentando pontos de análise.

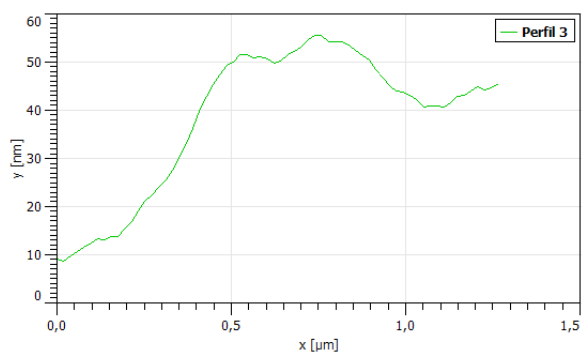
Análises de perfil relacionadas à Figura 84:



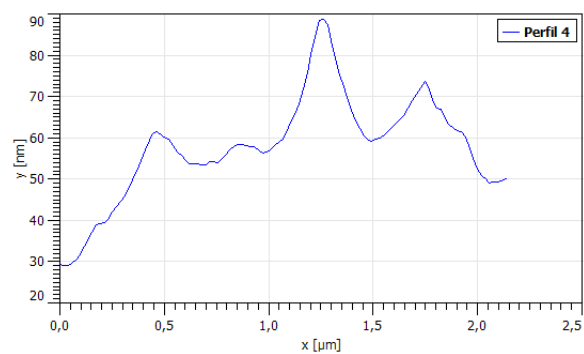
(a)



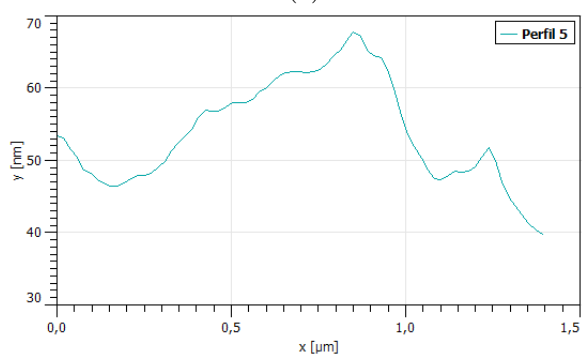
(b)



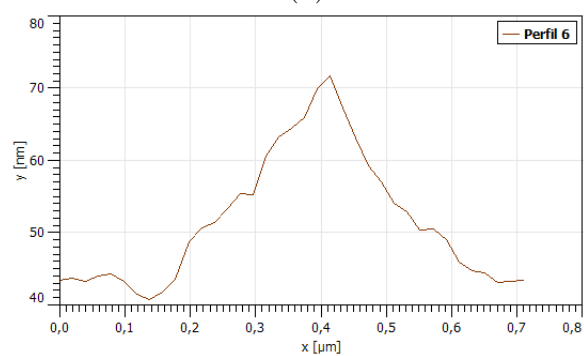
(c)



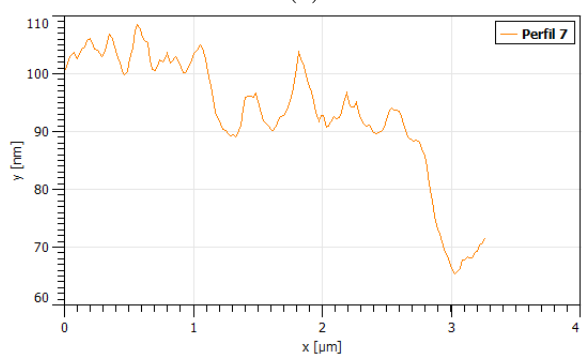
(d)



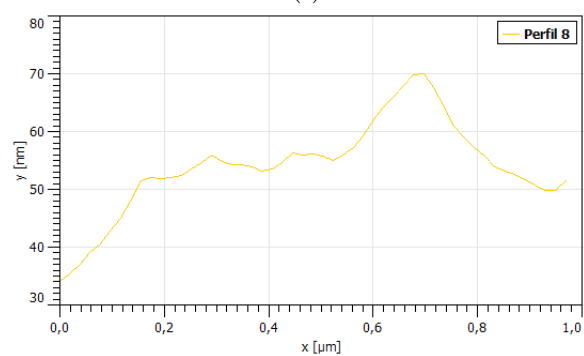
(e)



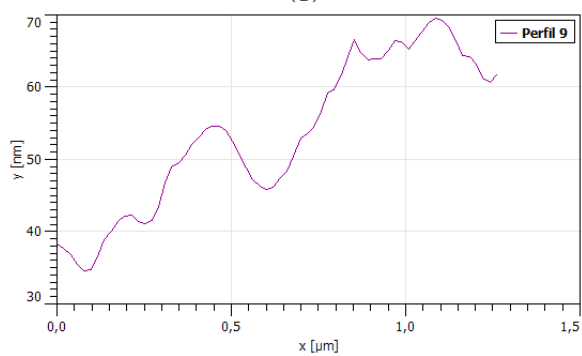
(f)



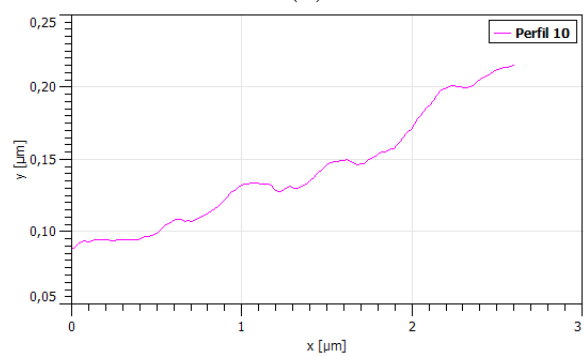
(g)



(h)



(i)



(j)

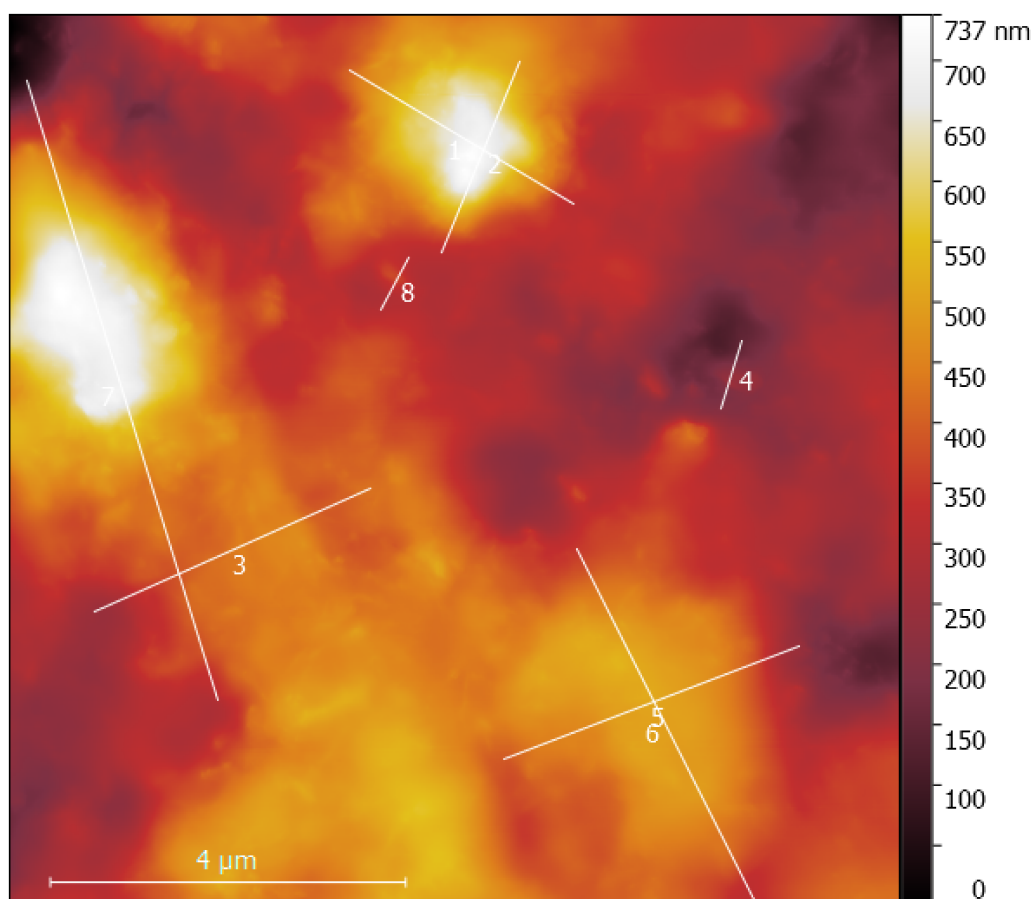
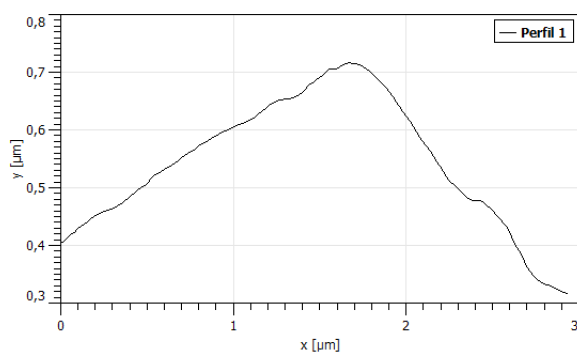
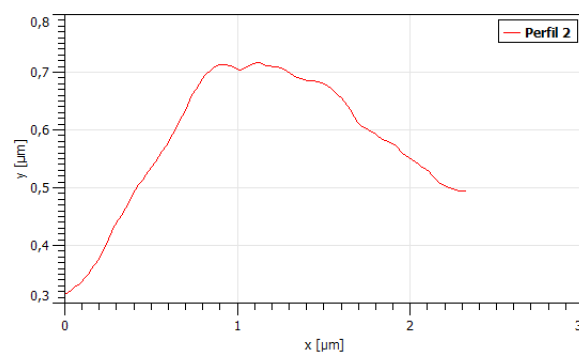


Figura 86 – Imagem de AFM do compósito GO + dCTP apresentando pontos de análise.

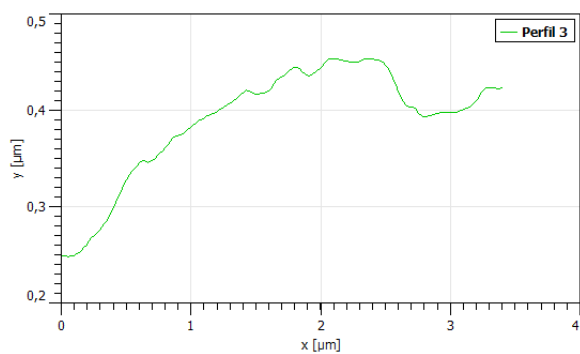
Análises de perfil relacionadas à Figura 86:



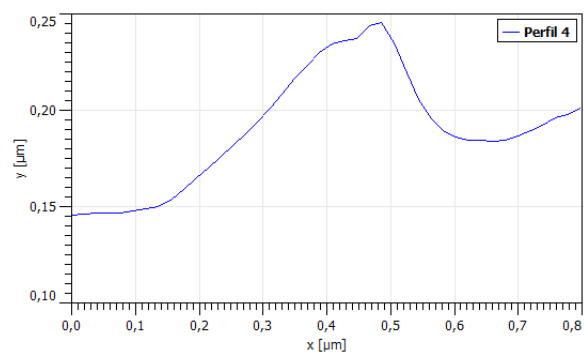
(a)



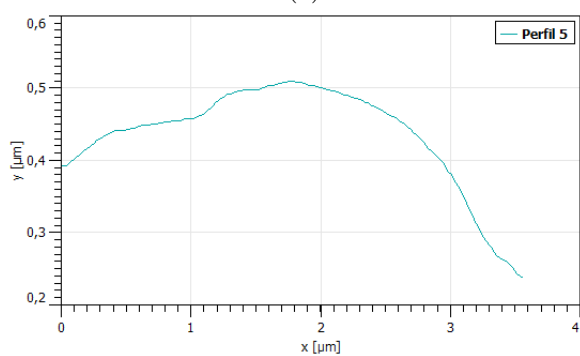
(b)



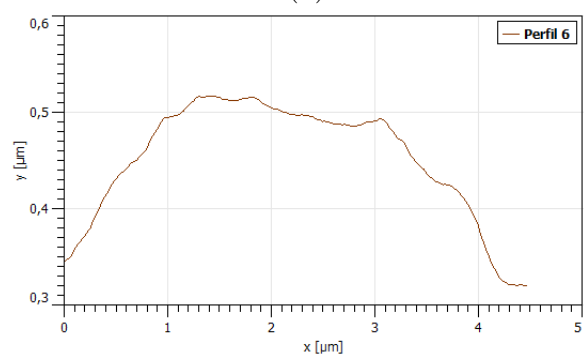
(c)



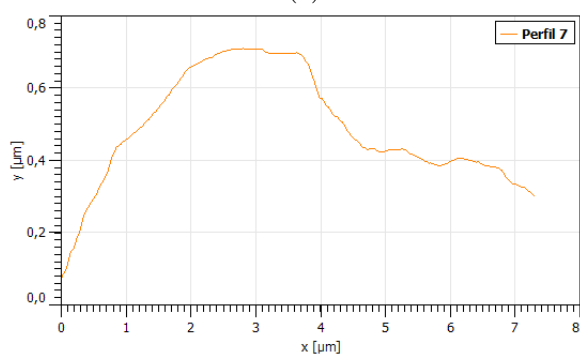
(d)



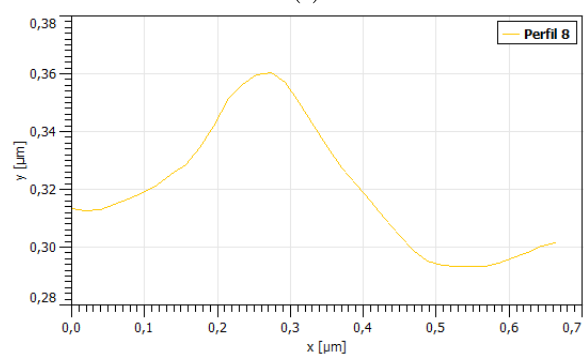
(e)



(f)



(g)



(h)

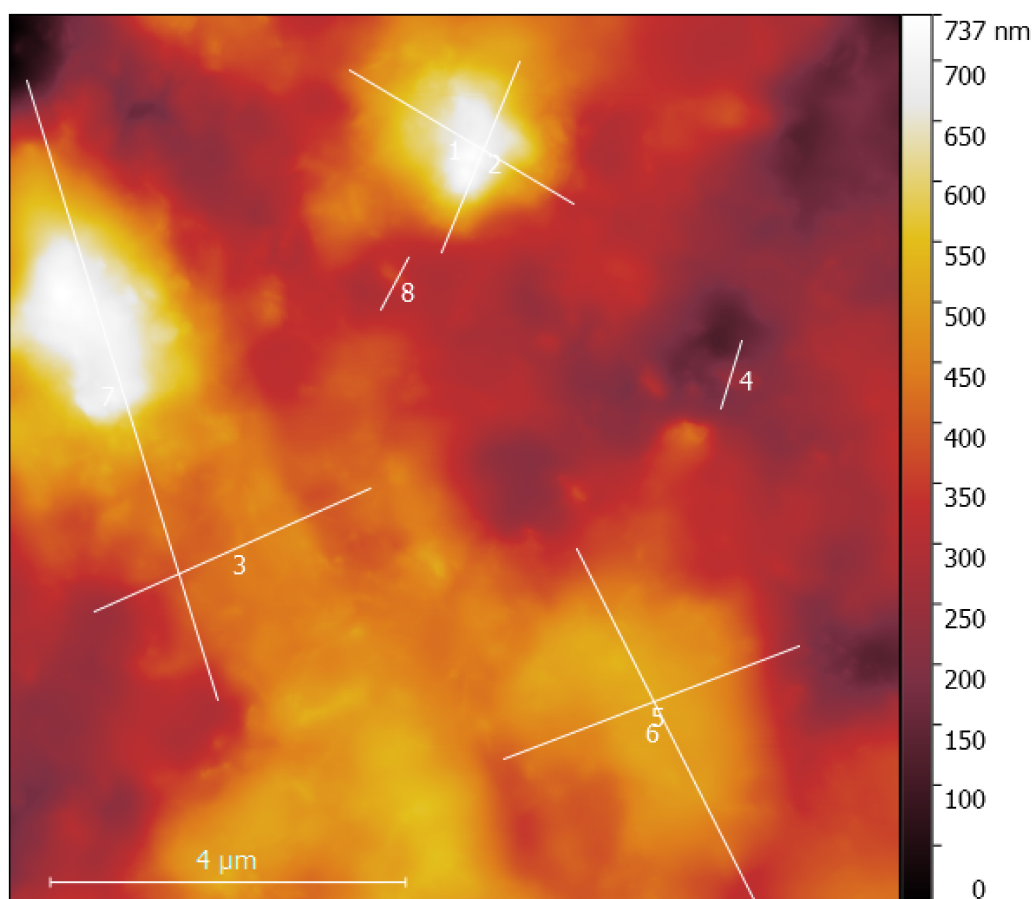
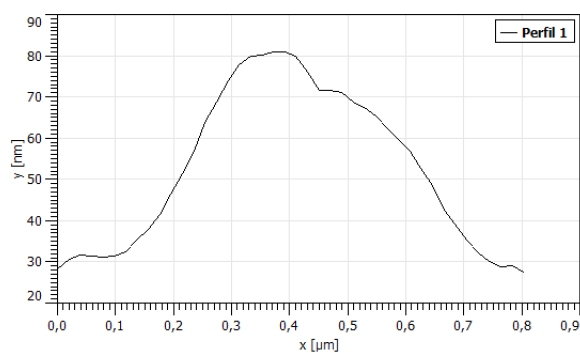
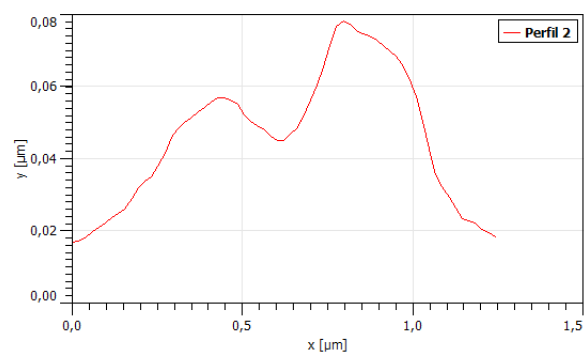


Figura 88 – Imagem de AFM do compósito GO + dGTP apresentando pontos de análise.

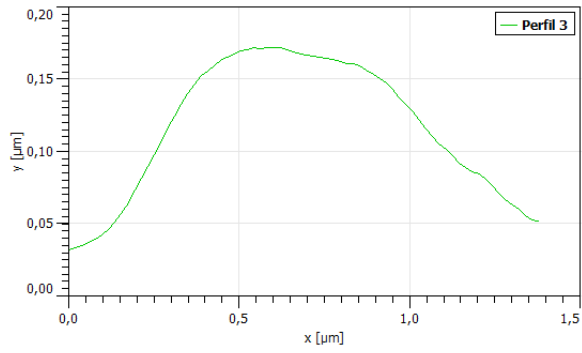
Análises de perfil relacionadas à Figura 88:



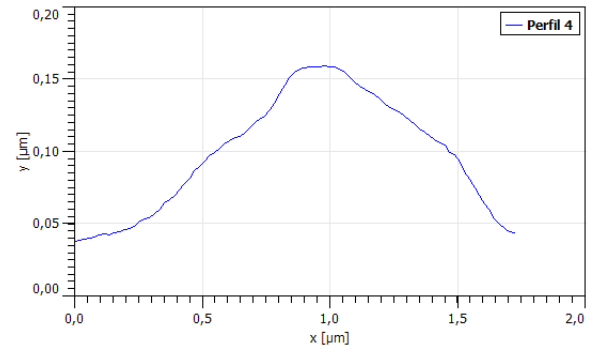
(a)



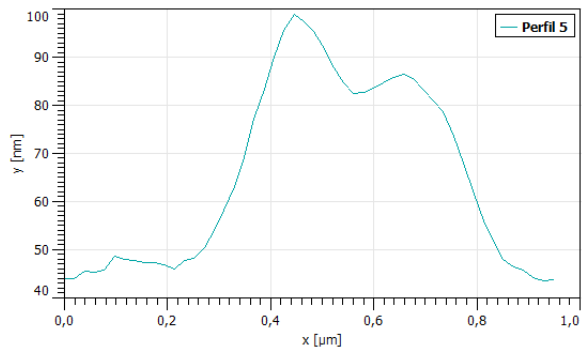
(b)



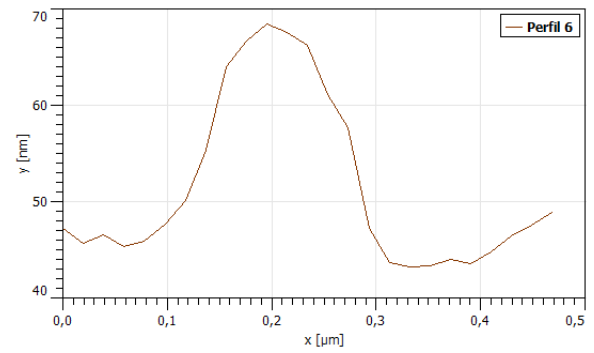
(c)



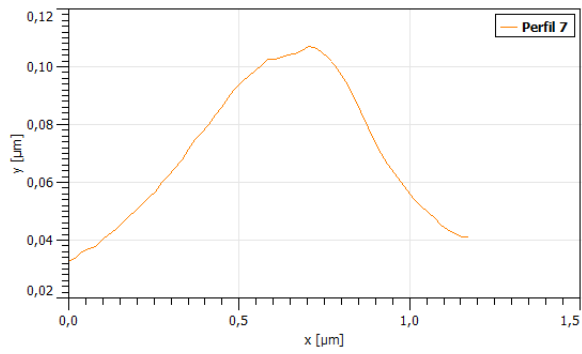
(d)



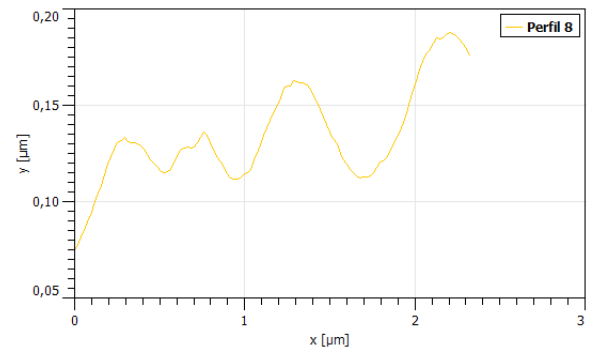
(e)



(f)



(g)



(h)

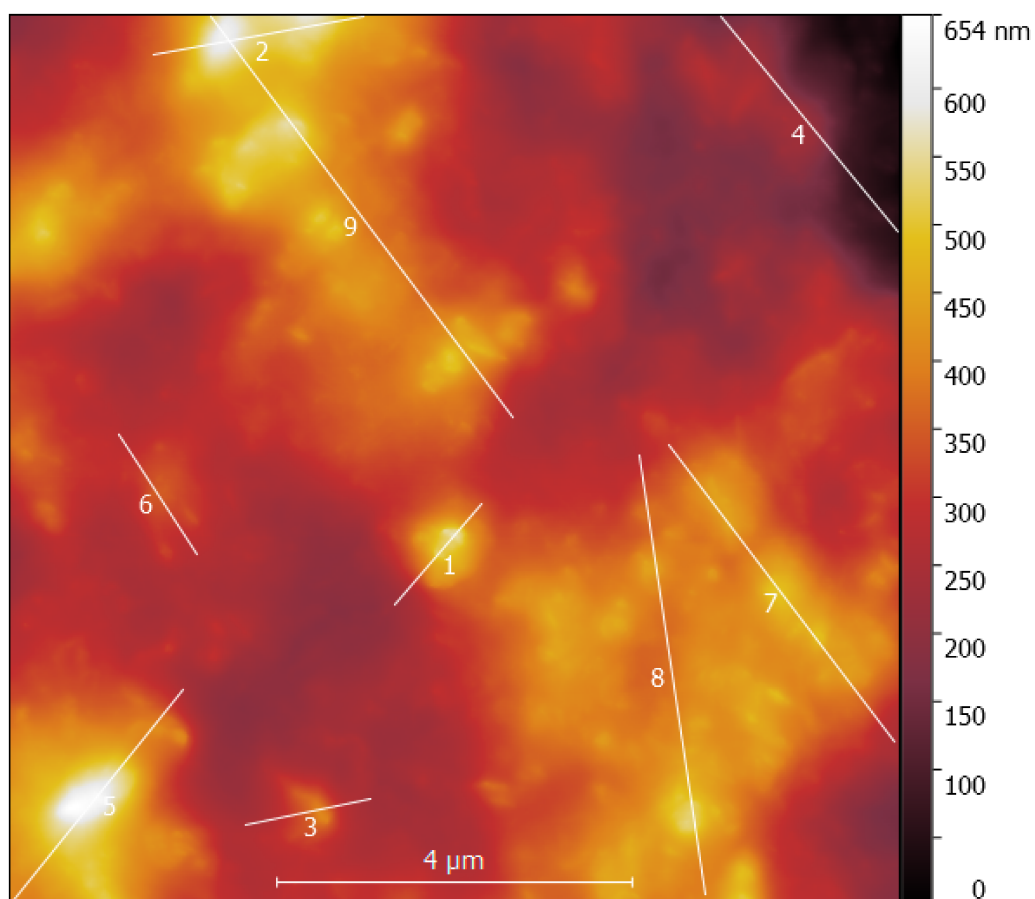
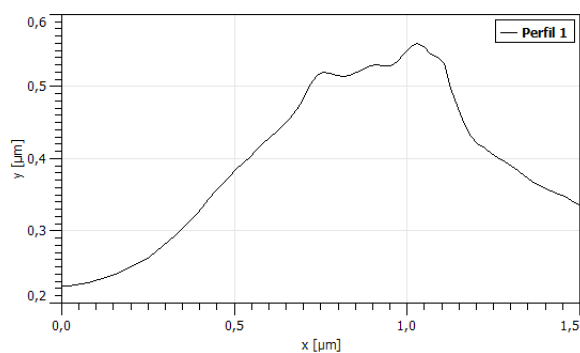
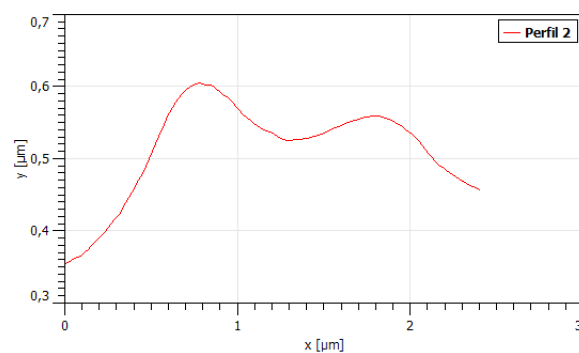


Figura 90 – Imagem de AFM do compósito GO + dTTP apresentando pontos de análise.

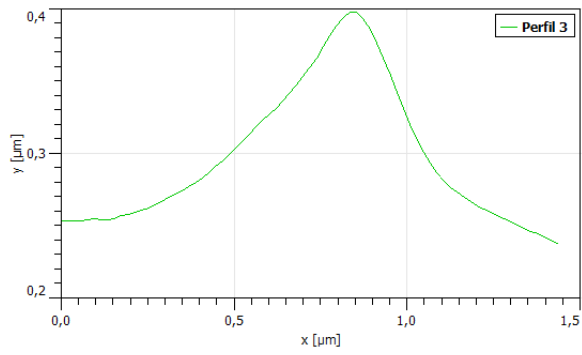
Análises de perfil relacionadas à Figura 90:



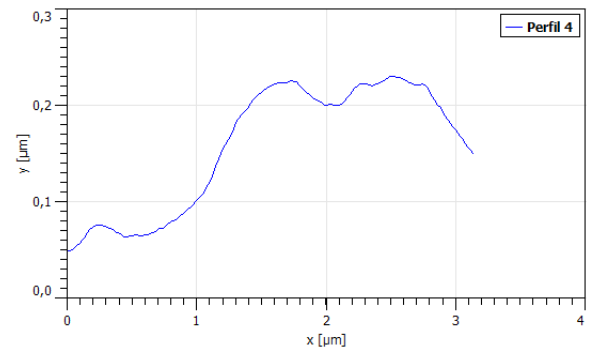
(a)



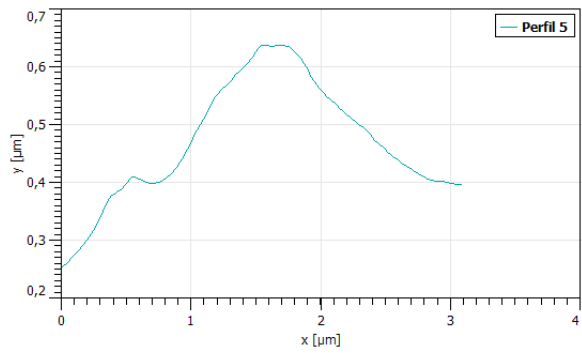
(b)



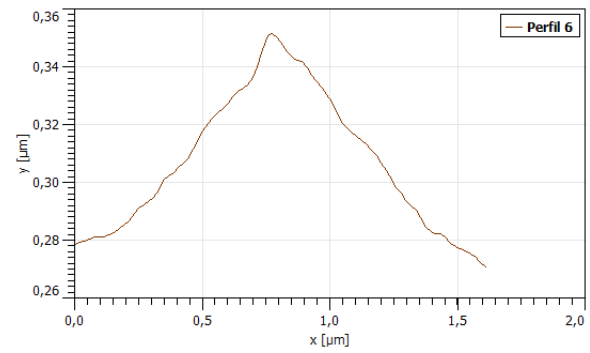
(c)



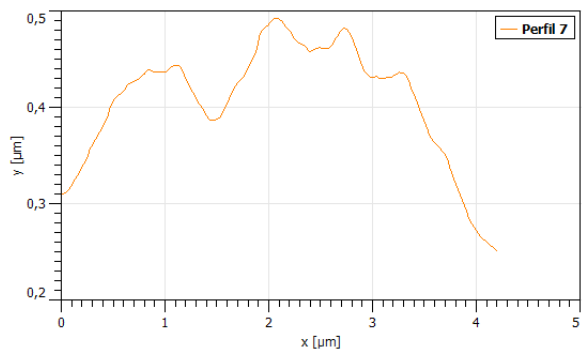
(d)



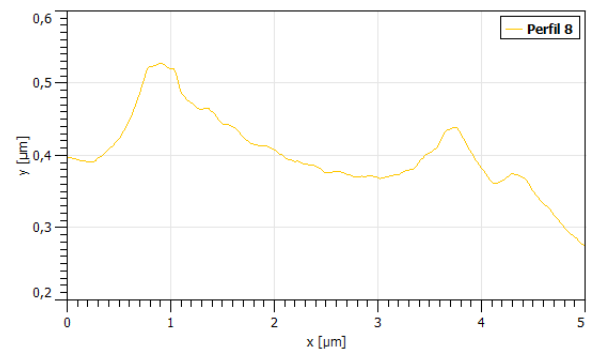
(e)



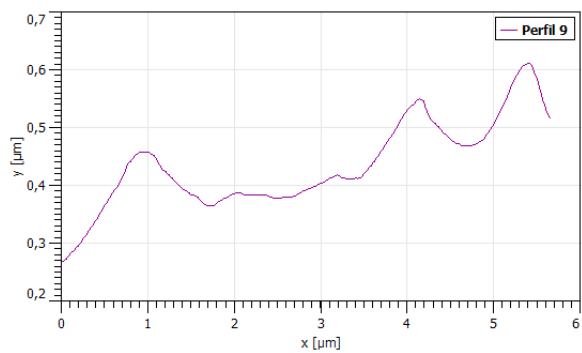
(f)



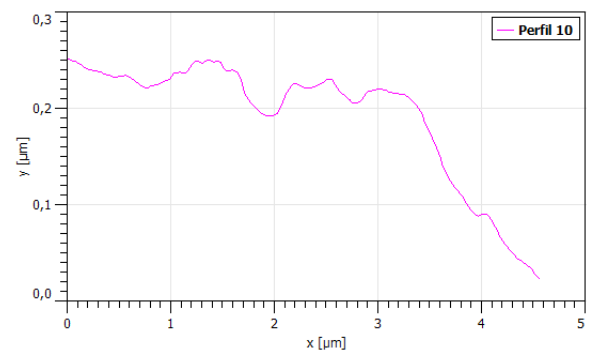
(g)



(h)



(i)



(j)

C.3 IMAGENS ANALISADAS DOS COMPÓSITOS PÓS LAVAGEM

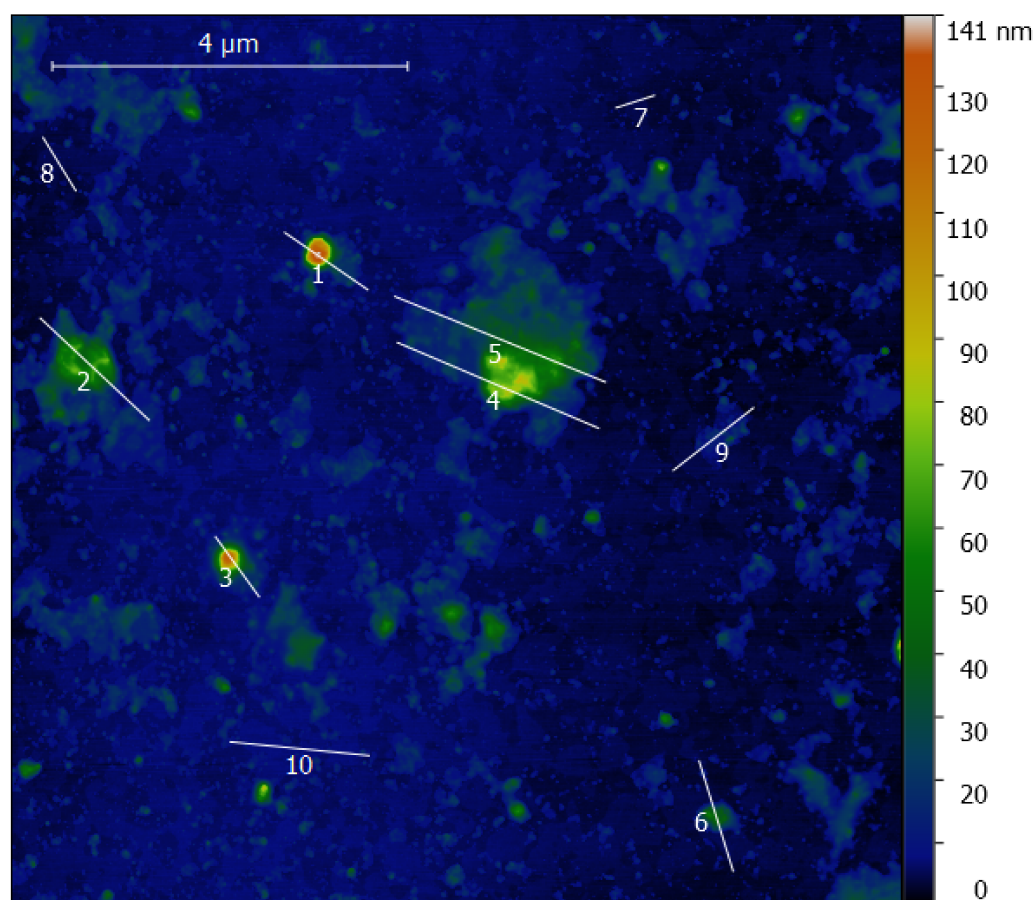
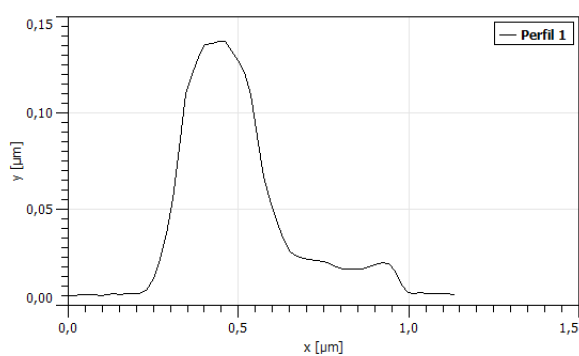
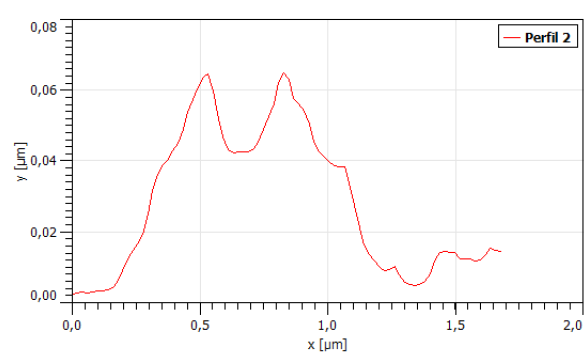


Figura 92 – Imagem de AFM do composto GO + dATP pós lavagem apresentando pontos de análise.

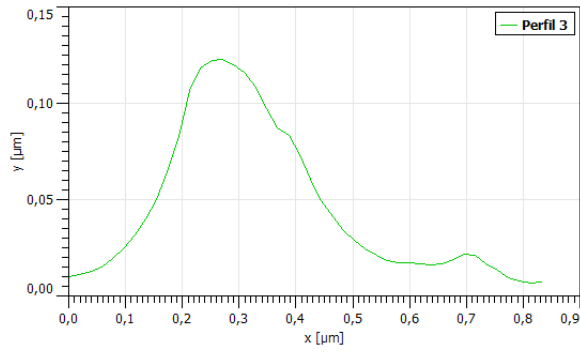
Análises de perfil relacionadas à Figura 92:



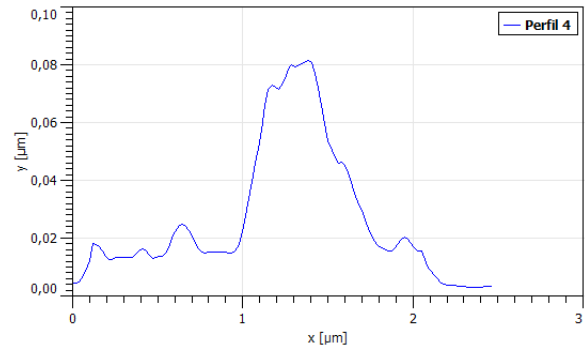
(a)



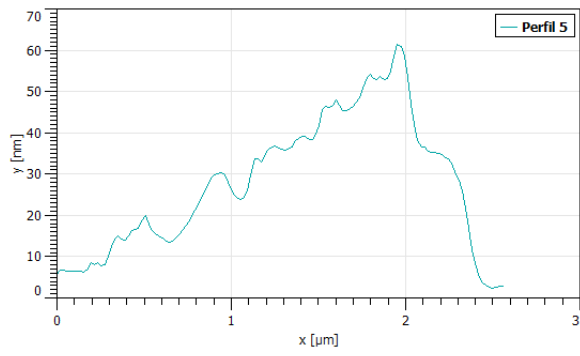
(b)



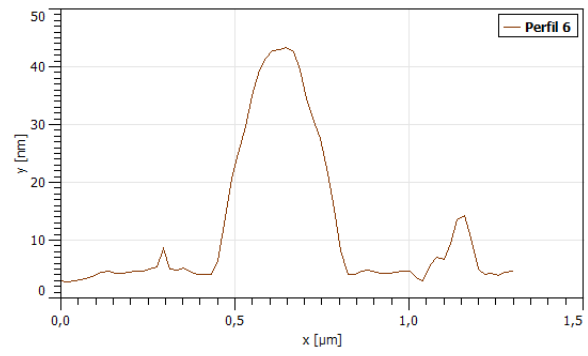
(c)



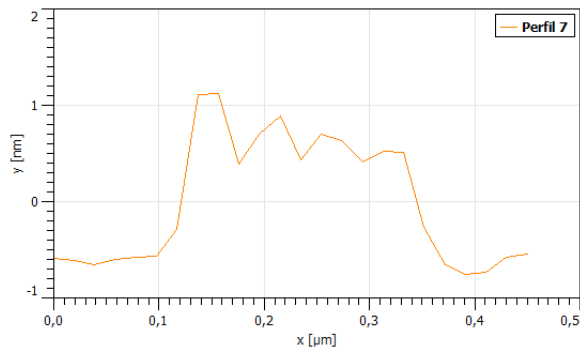
(d)



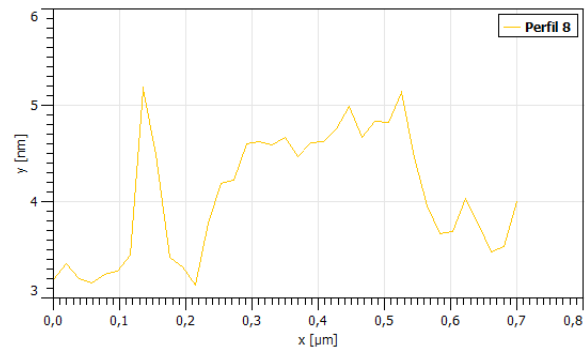
(e)



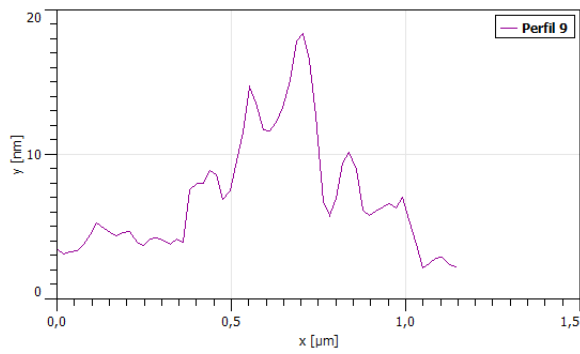
(f)



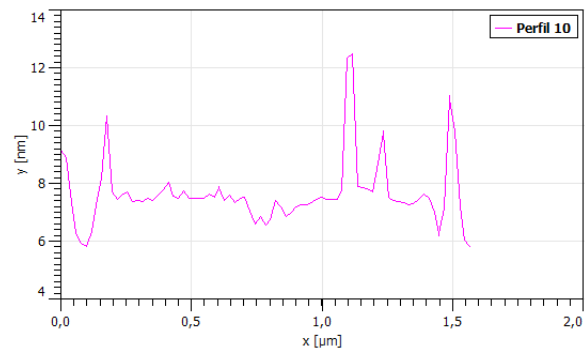
(g)



(h)



(i)



(j)

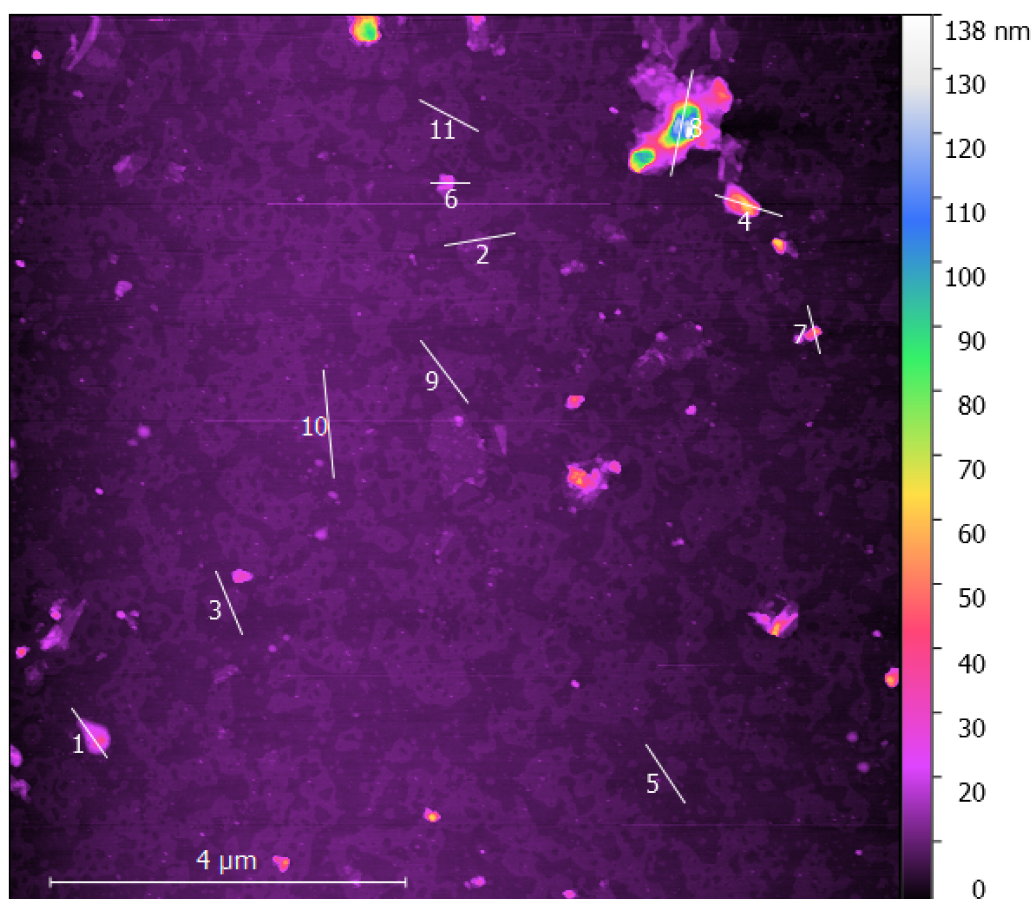
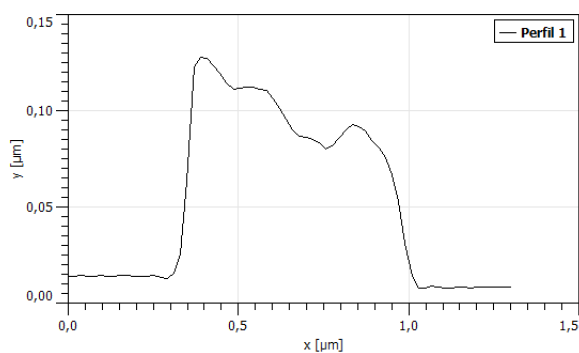
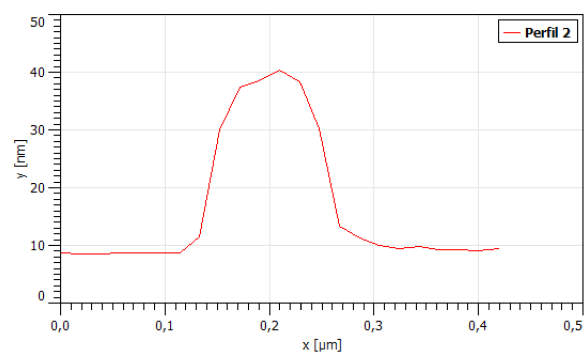


Figura 94 – Imagem de AFM do compósito GO + dCTP pós lavagem apresentando pontos de análise.

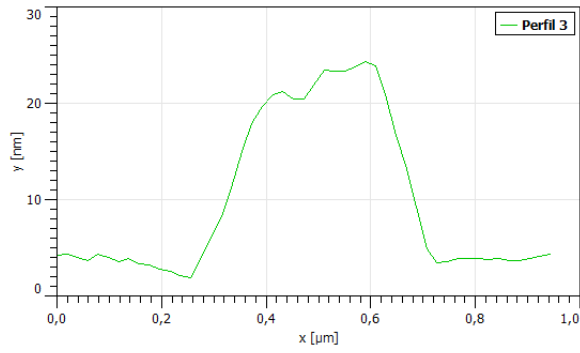
Análises de perfil relacionadas à Figura 94:



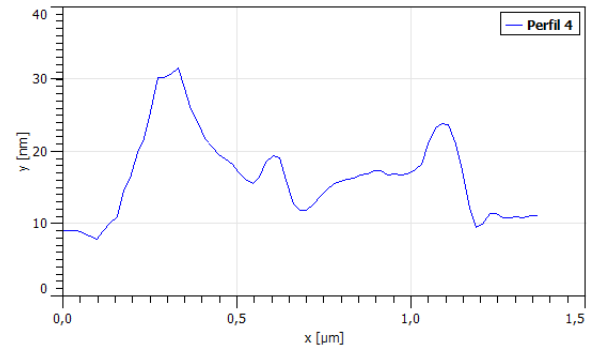
(a)



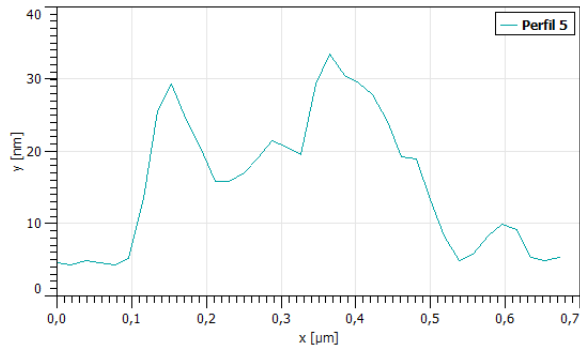
(b)



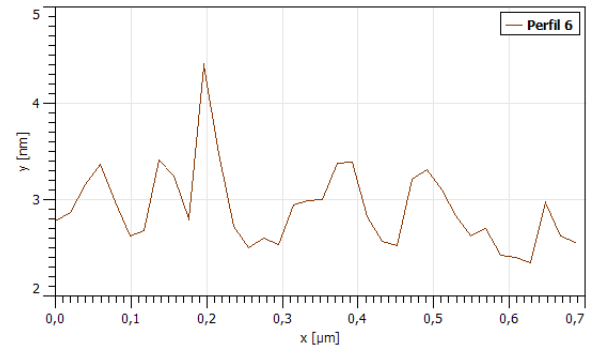
(c)



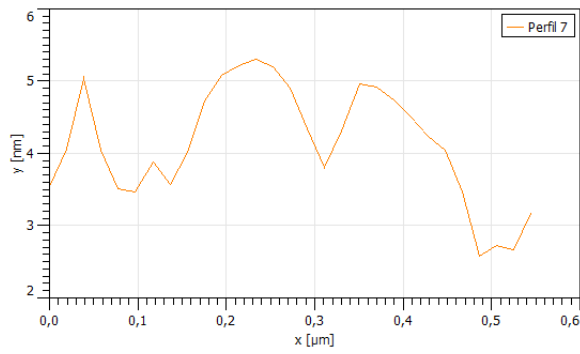
(d)



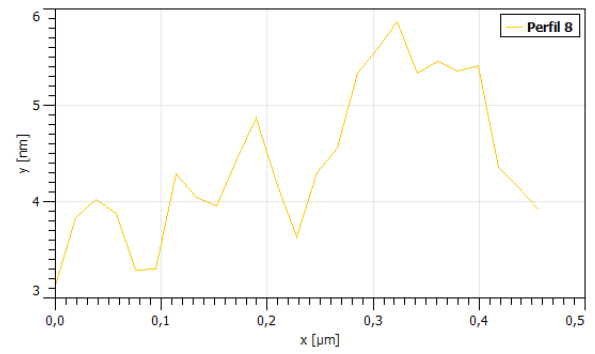
(e)



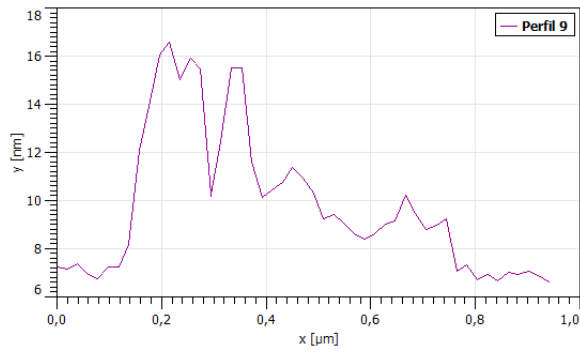
(f)



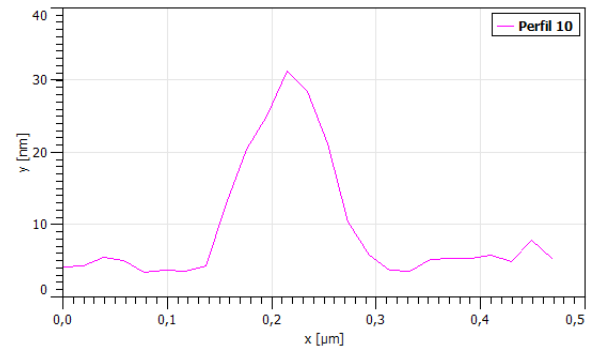
(g)



(h)



(i)



(j)

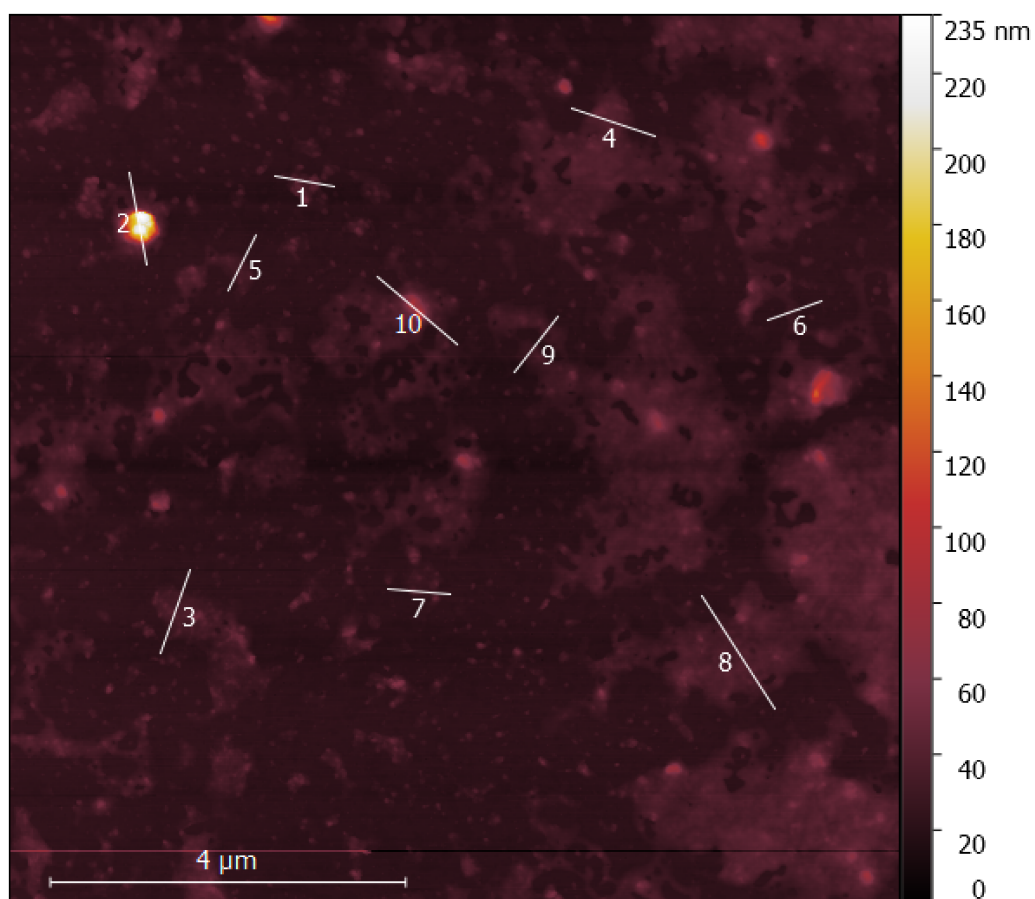
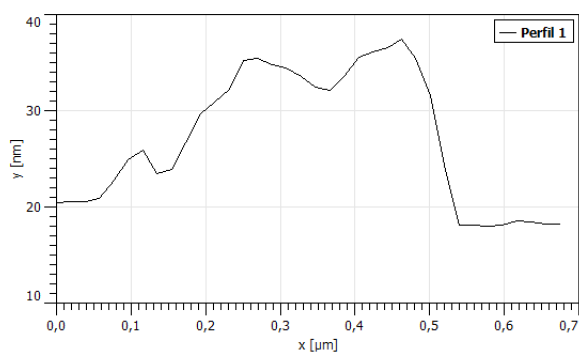
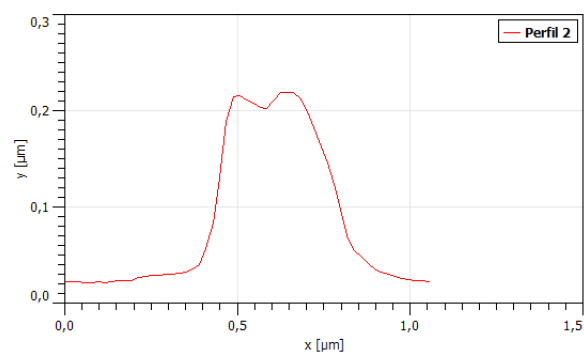


Figura 96 – Imagem de AFM do composto GO + dGTP pós lavagem apresentando pontos de análise.

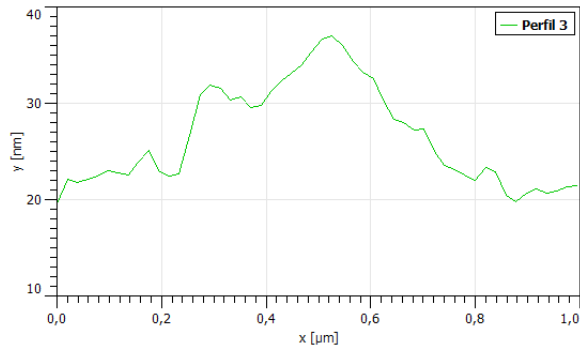
Análises de perfil relacionadas à Figura 96:



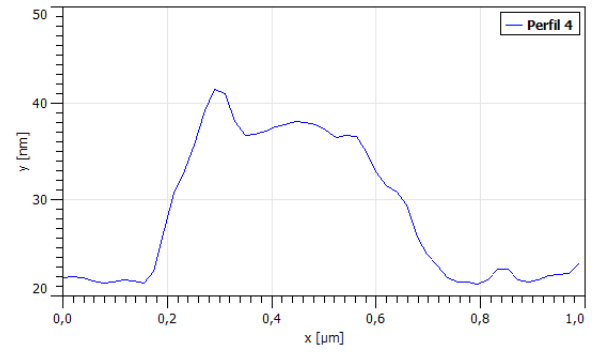
(a)



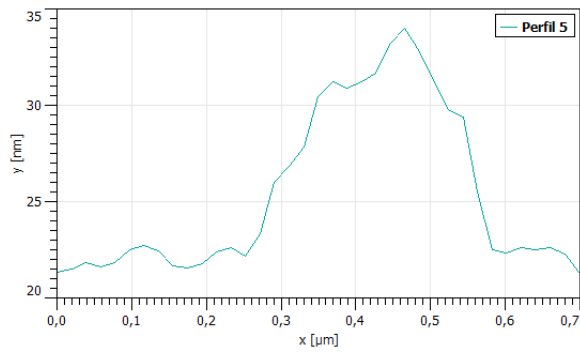
(b)



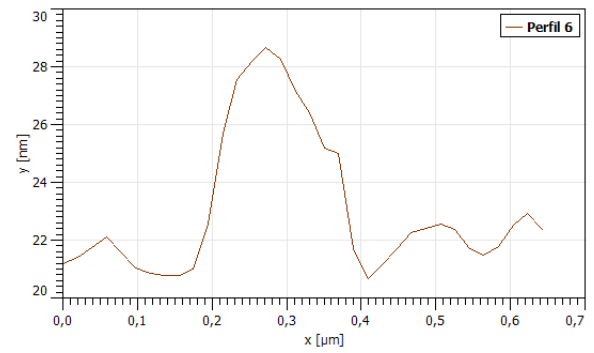
(c)



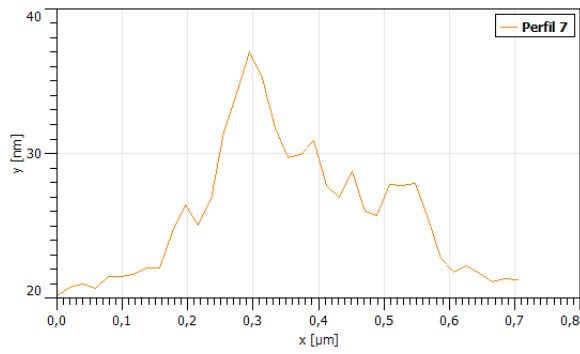
(d)



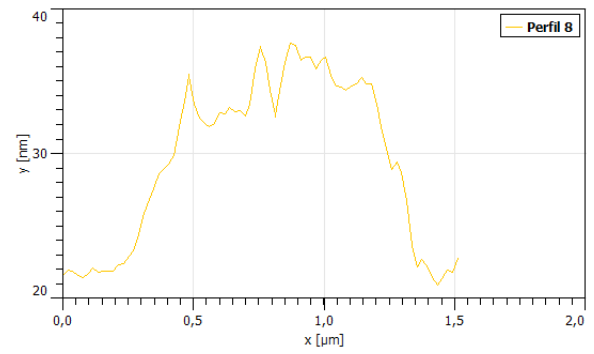
(e)



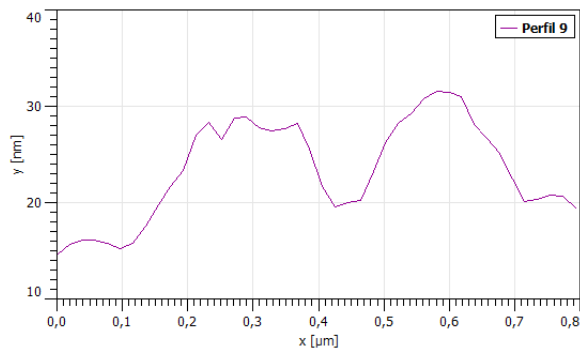
(f)



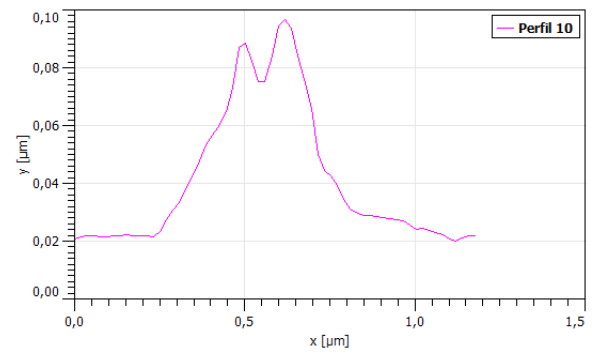
(g)



(h)



(i)



(j)

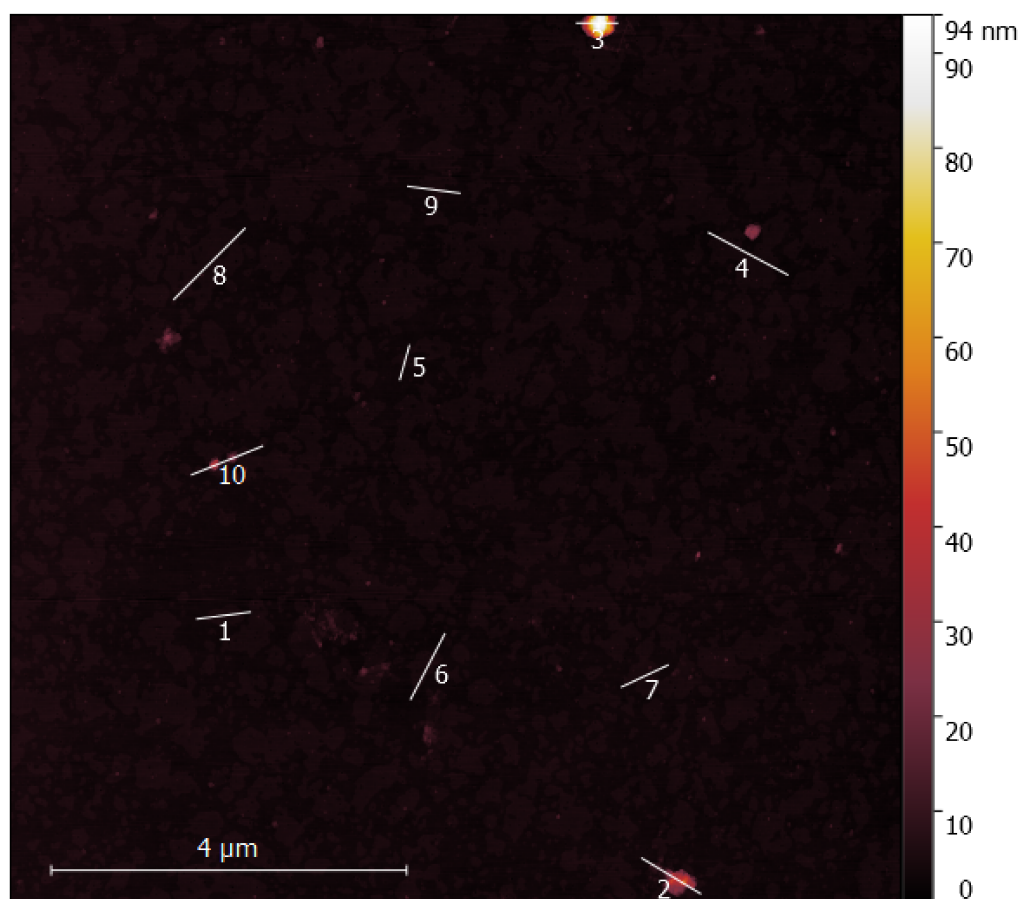
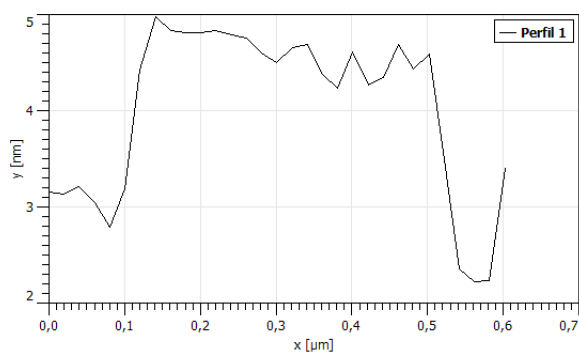
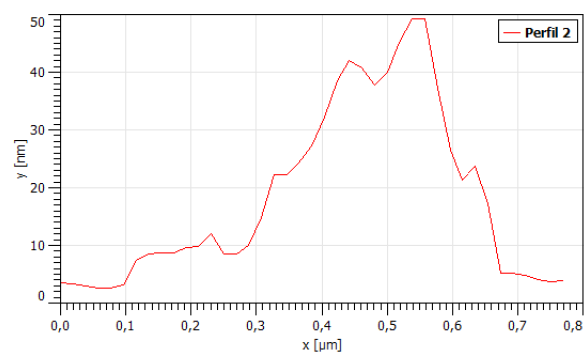


Figura 98 – Imagem de AFM do compósito GO + dTTP pós lavagem apresentando pontos de análise.

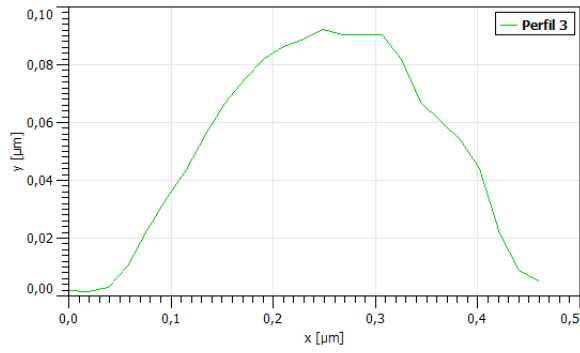
Análises de perfil relacionadas à Figura 98:



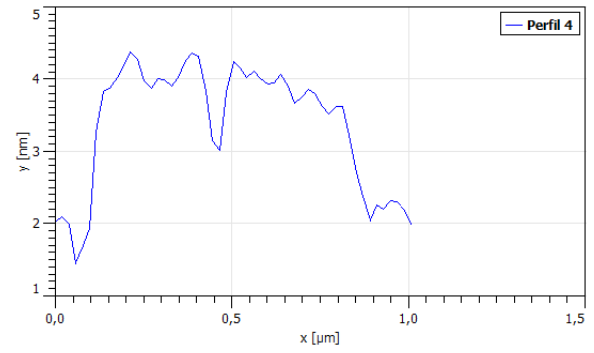
(a)



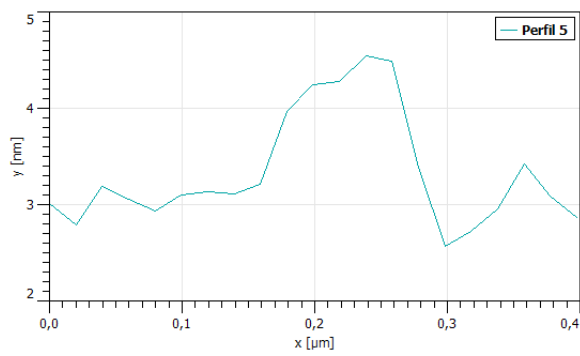
(b)



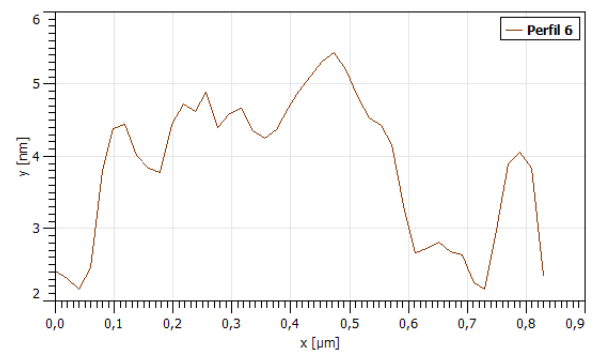
(c)



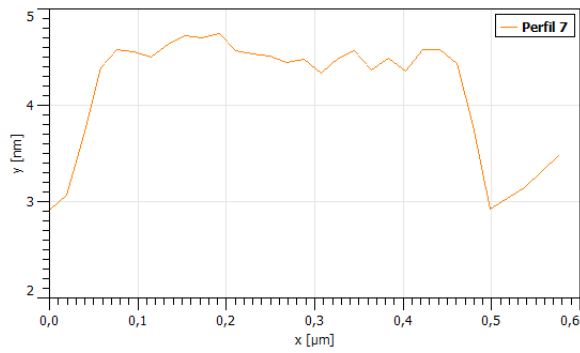
(d)



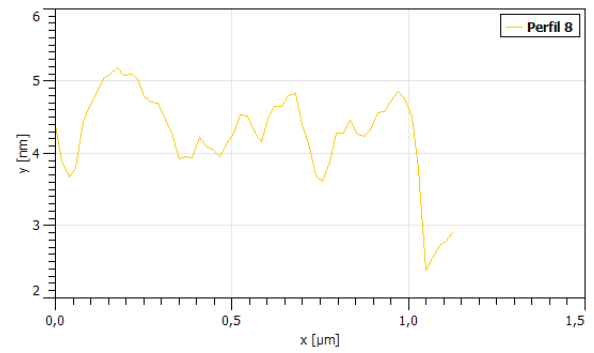
(e)



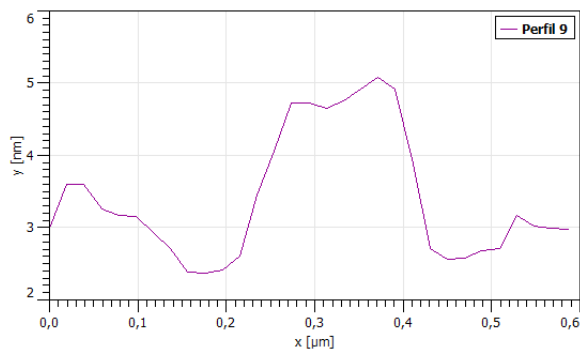
(f)



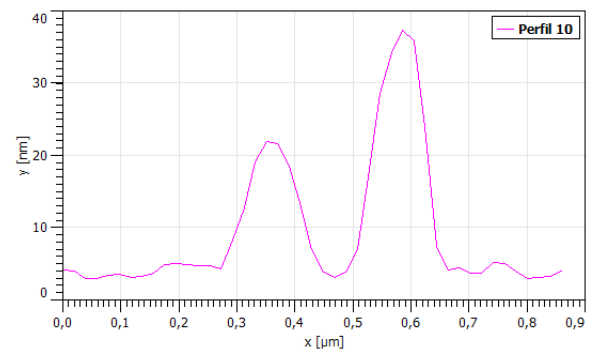
(g)



(h)



(i)



(j)