

1

Introdução

1.1

O Íon Cromo(III): Importância Biológica e Características

Há cerca de cinquenta anos, o cromo foi considerado como um elemento traço essencial aos mamíferos. No entanto, sua forma de atuação ainda não é de todo esclarecida. Mas, graças aos avanços das pesquisas científicas nesse âmbito, hoje se sabe, certamente, que sua essencialidade está vinculada ao metabolismo de glicose, lipídeos e carboidratos; e, ainda, que uma deficiência desse elemento pode ocasionar ao indivíduo sintomas semelhantes aos do diabetes.^{1,2}

Uma das características químicas mais marcantes do cromo é a sua grande variedade de estados de oxidação, que se estendem desde o $N_{OX} -2$ até o $+6$; porém, desses, os mais comuns são o 0, $+2$, $+3$ e $+6$.³

Nos organismos, em geral, encontra-se sob a forma trivalente complexada. Investigações *in vitro* e *in vivo* mostram que a proteína transportadora do íon ferro(III), conhecida como transferrina, também é o principal transportador do íon cromo(III) no meio fisiológico.⁴

Neste estado de oxidação, $+3$, o cromo possui três elétrons ocupando os orbitais t_{2g} , e nenhum elétron nos orbitais e_g , para uma configuração com geometria octaédrica, que é característica desse íon. Esse fato confere ao íon trivalente grande estabilidade, sendo considerado, por este motivo, o seu estado redox mais estável. Contudo, do ponto de vista cinético, seus complexos são considerados quase inertes devido à lenta reação de troca dos ligantes.⁵

Segundo a classificação feita por Gray e Langford,⁶ os íons metálicos podem ser separados em categorias, de acordo com a velocidade de troca de uma molécula de água coordenada, ou seja, íons metálicos classificados como I, II ou III formam complexos do tipo lábil, cujas constantes de velocidade são de 1 s^{-1} ou superiores. Por sua vez, os classificados como de categoria IV são os que possuem constantes de velocidade inferiores a 1 s^{-1} sendo considerados inertes. De maneira

mais simples, Henry Taube⁷ definiu íons inertes como aqueles que possuem tempo de meia-vida para substituição de um ligante suficientemente alto de tal modo que podem ser calculados por métodos clássicos. Para o caso dos íons Cr(III) e Co(III), por exemplo, seus tempos de meia-vida para troca de ligantes podem variar de horas até semanas. Em consequência, o processo de síntese de complexos de Cr(III), não ocorre de maneira trivial e direta como para outros íons de metais de transição.

1.2

O Ácido Etilenodiaminotetraacético Dissódico (Na₂EDTA)

1.2.1

Aspectos Físicos e Químicos

O ácido etilenodiaminotetraacético dissódico é, à temperatura ambiente, um sólido branco solúvel em água, cuja estrutura é formada por um grupamento etilenodiamino (C₂H₄N₂) ligado a quatro grupos carboxílicos, sendo dois deles protonados e os outros dois, desprotonados, como mostra a Figura 1.

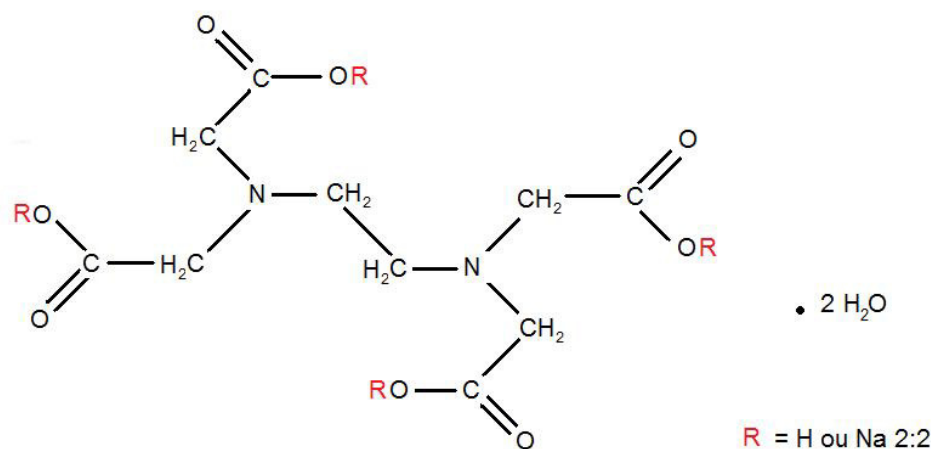


Figura 1: Estrutura do Ácido Etilenodiaminotetraacético Dissódico (Na₂EDTA).

É comumente abreviado como H₄Y, para sua forma tetraprotonada, ou, para o sal dissódico diidratado, Na₂H₂Y·2H₂O.

Por possuir grupos ácidos e grupos amino em sua estrutura, quando em solução aquosa, apresenta-se como um duplo *zwitterion*, ou seja, os dois grupos carboxílicos que estão protonados se desprotonam e, por sua vez, autoprotanam os grupos amino. Desse modo, sua estrutura em solução passa a ser representada por $(^-\text{OOC}-\text{CH}_2)_2\text{NH}^+(\text{CH}_2)_2\text{NH}^+(\text{CH}_2-\text{COO}^-)_2$ ^{8,9} ou, alternativamente, como mostra a Figura 2.

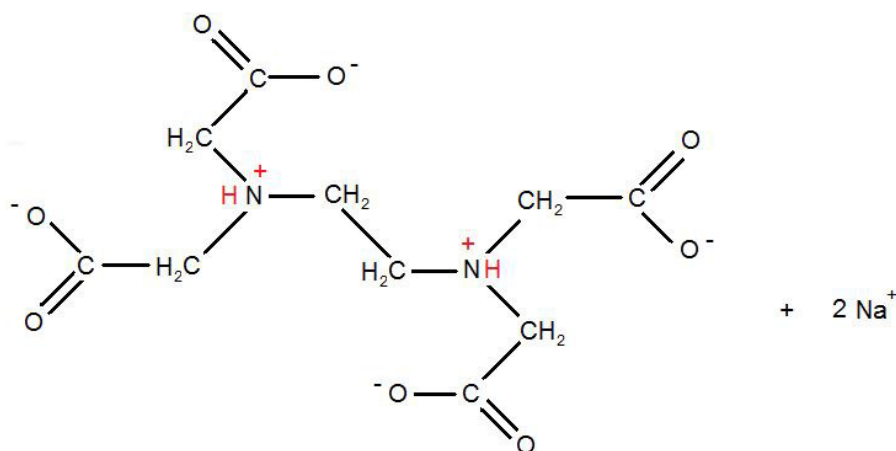


Figura 2: Ácido Etilenodiaminotetraacético Dissódico (Na_2EDTA) em solução aquosa.

Observando a carga líquida total para essa estrutura, vemos que é formada então a espécie H_2Y^{2-} e, somente após a desprotonação dos dois grupos amino, é que então temos a espécie totalmente desprotonada Y^{4-} .

Enquanto agente quelante, o EDTA é vastamente utilizado, pois possui em sua estrutura 6 sítios pelos quais pode se coordenar a um metal: 4 grupos $-\text{COO}^-$ e 2 nitrogênios amínicos, sendo, desta maneira, classificado como um ligante hexadentado. Em consequência, ao complexar-se, forma, em geral, compostos de coordenação do tipo ML (1 Metal : 1 Ligante) que possuem grande estabilidade.¹⁰

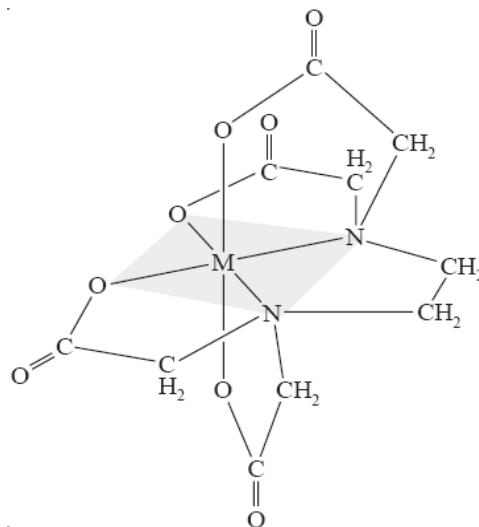


Figura 3: Coordenação Hexadentada do EDTA a um metal “M” (extraído da referência 10).

1.2.2

Utilidades Práticas do EDTA

O EDTA é amplamente encontrado em produtos cosméticos, atuando como estabilizante e/ou conservante. Sua atuação está justamente vinculada à grande propriedade quelante que possui. Considerando que íons metálicos podem entrar em uma determinada formulação de diversas maneiras (água, embalagens, etc.), e que quantidades mínimas de impurezas metálicas em produtos como corantes ou que tenham fragrâncias podem catalisar reações de oxidação, esse poderoso ligante é então inserido na formulação de maneira a evitar, ou pelo menos minimizar, os possíveis danos originários de tais impurezas.^{10,11}

Já em produtos tais como anti-transpirantes, xampus, condicionadores e alvejantes, o EDTA pode quelar íons de ferro, cálcio e magnésio, minimizando efeitos de manchas amareladas em tecidos causadas por cátions provenientes da água, e proporcionar aos cabelos mais brilho e maciez por evitar que estes íons se fixem na superfície dos fios.¹¹

Em laboratórios e indústrias, também é utilizado como reagente para titulações, por ligar-se praticamente a todos os íons metálicos (com exceção dos metais alcalinos) e fazê-lo em proporção 1:1.

Portanto, são incontáveis as diversas áreas de uso e as utilidades desse ligante, que assume, assim, uma função extremamente importante para o bom funcionamento e prolongamento de vida útil de diversos alimentos, medicamentos e até mesmo para conservar amostras de sangue, onde age como anticoagulante.

1.3

O Complexo de Cromo(III) com EDTA

O íon Cr(III) possui número de coordenação 6 (ou seja, pode ligar-se a seis átomos doadores) e, como já mencionado anteriormente, seus complexos possuem geometria octaédrica. Ao ligar-se ao quelante hexadentado EDTA, espera-se que suas seis possíveis posições de coordenação sejam preenchidas integralmente pela interação com este ligante de “seis braços”. No entanto, na prática não é isso que acontece.^{12,13,14} Em estudos feitos previamente com complexos de cromo com ácidos poliaminocarboxílicos¹⁵, foi constatado que, mesmo quando complexado com ligantes hexadentados, o íon cromo(III) interage com os mesmos através de apenas cinco sítios de coordenação, com uma molécula de água ocupando a sexta posição. A justificativa para este fato está relacionada com as características do íon metálico, ou seja, como ele possui um raio bem pequeno e uma carga positiva elevada, é dotado de um forte poder polarizante, atraindo para si a densidade eletrônica dos átomos doadores e ficando mais macio. Com isso, a sexta posição de coordenação passa a ter preferência por moléculas de água ao invés dos íons carboxilato.¹⁵

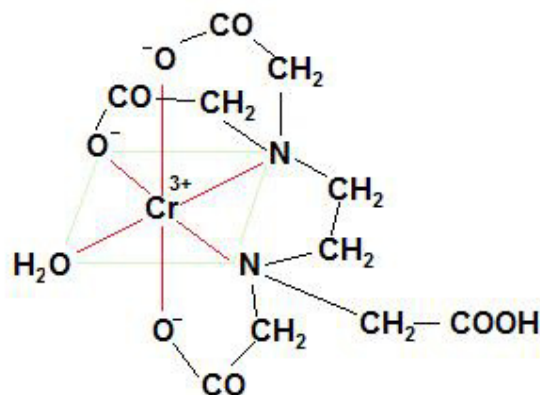


Figura 4: Coordenação pentadentada do EDTA ao íon Cr(III) com uma molécula de água ocupando a sexta posição.

Em outras pesquisas, observou-se que essa sexta posição apresentou, estranhamente, uma rápida troca de ligantes com várias espécies aniônicas^{16,17}, que passou de um tempo de meia vida de horas ou semanas para 30 milisegundos a 70 s.¹⁸ Uma possível explicação para tal fato seria que o grupo carboxilato que fica livre age como um nucleófilo, formando um intermediário heptacoordenado e levando a uma labilização da molécula de água.^{16,18}

Diversas pesquisas surgiram então e, desse modo, constatou-se que para ligantes semelhantes ao EDTA (ácidos poliaminocarboxílicos), mesmo que sejam hexadentados, a sexta posição de coordenação é ocupada por uma molécula de água e constitui uma posição lábil.¹⁵

1.3.1

Utilidades na Medicina

1.3.1.1

O CrEDTA e a Taxa de Filtração Glomerular (TFG)

A Taxa de Filtração Glomerular (TFG) é um dos parâmetros mais utilizados para verificar a função renal. Ela é dada pela medida do volume total filtrado pelos néfrons em função do tempo.¹⁹ No entanto, essa estimativa não pode ser feita diretamente, mas sim calculada com base na taxa de excreção de uma determinada substância do plasma sanguíneo. Ou seja, verifica-se o volume

extraído e o tempo (mL min^{-1}) necessário para que uma determinada substância marcadora seja completamente extraída. Para um indivíduo adulto normal, a TFG é em média 125 mL/min .²⁰

A escolha de um marcador para estimar TFG deve levar em consideração diversos fatores²¹, como:

- Estabilidade estrutural durante a passagem pelos rins;
- Ser fisiologicamente inerte;
- Ser totalmente excretado pela urina;
- Ter baixo custo, etc.

Nesse contexto, o complexo CrEDTA, formado a partir do radioisótopo cromo 51, tem sido indicado como alternativa de marcador na medicina nuclear, pois além de ser um composto de estrutura bastante estável, possui baixa toxicidade por não interagir com proteínas (ou seja, é fisiologicamente inerte) e é completamente excretado pela urina. Porém, sua disponibilidade é restrita, o que inviabiliza o seu uso na prática.^{22,23}

1.3.1.2

O CrEDTA como Contraste para Imagens por Ressonância Magnética (IRM)

A técnica da imagem por RMN é um método que utiliza as propriedades naturais dos átomos constituintes dos organismos. No entanto, para melhorar a visualização de determinadas regiões, às vezes são utilizados agentes externos denominados contrastes.²⁴

Para uma determinada substância agir como contraste, é necessário que ela possua propriedades magnéticas acentuadas com significativo tempo de relaxação, além de baixa toxicidade e rápida e total excreção.²⁵ O íon Cr(III), por exemplo, possui três elétrons desemparelhados e, ligado ao EDTA, forma um complexo que atende a esses requisitos: é paramagnético, estável, possui baixa toxicidade, como já mencionado, e é completamente excretado, como verificado pela TFG.²⁶

Em pesquisas feitas previamente, foi possível verificar a eficiência do complexo CrEDTA como agente de contraste intravenoso para identificar tecidos neoplásicos no cérebro e no estudo de determinadas nefropatias.^{25,26}

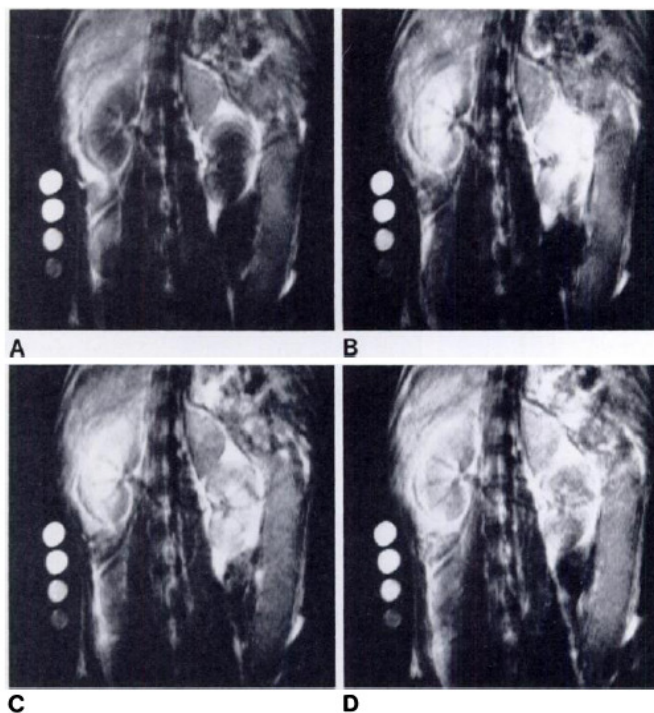


Figura 5: Imagem de RMN dos rins de um indivíduo A) antes a aplicação do contraste CrEDTA B) 4 minutos C) 25 minutos e D) 57 minutos após a aplicação (extraído da referência 26).

1.4

Nanopartículas de Ouro

No ano de 1857, o cientista Michael Faraday ²⁷ foi o primeiro a observar e estudar sistemas em escala nanométrica. Ele conseguiu sintetizar uma suspensão coloidal de ouro a partir de uma reação de oxi-redução do ânion $[\text{AuCl}_4]^-$. Após esse feito, houve um grande período de estagnação de pesquisas nesse âmbito.

Porém, de maneira extraordinária, nas últimas duas décadas, ocorreu um rápido e importante avanço das pesquisas em nanotecnologia. Particularmente no caso das nanopartículas de ouro, as quais se tornaram o foco de inúmeros estudos por possuírem características e propriedades ópticas, eletrônicas e magnéticas peculiares. ^{28, 29, 30}

1.4.1

O Fenômeno da Ressonância Plasmônica

Essas importantes propriedades que tanto chamaram a atenção têm origem no movimento dos elétrons da superfície da nanopartícula metálica. Ou seja, para partículas metálicas que tenham tamanho menor do que o comprimento de onda de uma luz sobre elas incidente, o campo elétrico regente provoca uma oscilação coletiva dos elétrons, de tal modo que, por uma rápida fração de tempo, ocorre uma separação dipolar das cargas na superfície das nanopartículas,^{28,30,31,32} como pode ser visto na Figura 6.

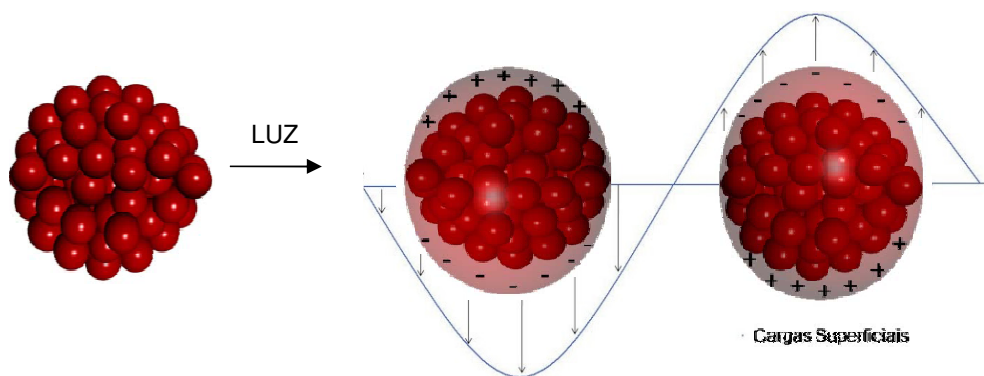


Figura 6: Representação do Fenômeno da Ressonância Plasmônica.

Sob essa polarização induzida, os elétrons, por sua vez, encontram-se em um estado energético desfavorável pela diminuição da entropia do sistema e, portanto, tendem a retornar ao seu estado inicial. Desse modo, surge então uma força restauradora, que tenta recombinar essas cargas gerando uma movimentação eletrônica com uma frequência de oscilação própria, chamada frequência de ressonância plasmônica. Esta, por sua vez, depende do meio externo, do material e do tamanho da nanopartícula.³³

Quando a onda eletromagnética externa tem frequência igual à frequência de ressonância plasmônica, a amplitude das oscilações de carga na nanopartícula e a polarizabilidade dela são amplificadas.^{28, 30, 31, 32}

Para nanopartículas esféricas de metais nobres, a consequência desse fenômeno descrito é o surgimento de uma banda na região do visível que, no caso de partículas esféricas de ouro (AuNps) com diâmetro de 3 a 30 nm, possui seu

máximo centrado em torno de 520 nm,³⁴ proporcionando à suspensão a clássica coloração vermelha. Já em suspensões muito concentradas, pode ocorrer a formação de aglomerados de partículas. Neste último caso, a proximidade entre as partículas leva a um acoplamento plasmônico com um estado de ressonância de menor energia, promovendo o aparecimento de uma banda de extinção em comprimentos de onda maiores (entre 650 e 750 nm) e, visualmente, dando à suspensão uma coloração escurecida em tom violeta ou azul.^{28,30,31,32} (Figura 7).

Diferentemente de compostos moleculares, em que denominamos as bandas observadas em espectros UV-Visível como bandas de absorção; para suspensões de nanopartículas, elas são chamadas de bandas de extinção. Como observado por Mie³⁵ ao solucionar as equações de Maxwell para sistemas nanométricos de partículas esféricas, a dissipação de energia proveniente de sistemas coloidais de nanopartículas se dá através de duas componentes: absorção e espalhamento da luz. Assim, os espectros UV-Vis para esses tipos de sistemas são denominados de espectros de extinção.

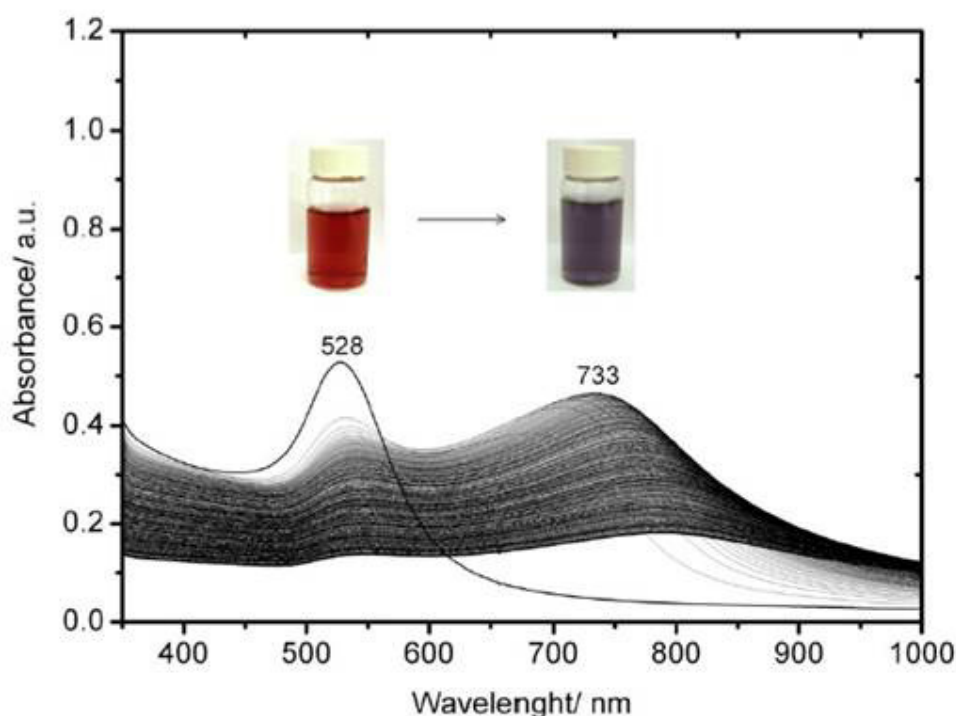


Figura 7: Espectro de extinção de nanopartículas individuais com máximo em 528 nm (solução vermelha) e diminuição dessa banda com surgimento de outra banda com máximo em 733 nm (solução roxa) devido ao acoplamento plasmônico provocado pela formação de aglomerados (extraído da referência 32).

Atualmente, devido a essas propriedades já descritas, as nanopartículas vêm sendo utilizadas em diversas áreas científicas como fotônica, opto-eletrônica, técnicas de imagem e de sensoriamento de analitos. As técnicas de imagem e o sensoriamento de analitos desfrutam do fenômeno conhecido comumente como Espectroscopia Amplificada por Superfície (ou, no inglês, *Surface Enhanced Spectroscopy*), ou seja, a amplificação da emissão espontânea de luminescência estimulada e do espalhamento de radiação eletromagnética das moléculas adsorvidas ou ligadas quimicamente sobre nanoestruturas metálicas^{36, 37}. Entre as espectroscopias amplificadas, podemos destacar o SERS: *Espalhamento Raman Amplificado por Superfície* (do inglês, *Surface Enhanced Raman Scattering*), amplamente utilizado hoje para detecção de diferentes substâncias químicas.^{38, 39}

1.4.2

Espectroscopia Raman Amplificada por Superfície (SERS)

Para compreender melhor o fenômeno SERS, retomemos brevemente as espectroscopias vibracionais de Infravermelho e Raman.

O método espectroscópico vibracional de infravermelho (IV) é comumente utilizado por químicos orgânicos e inorgânicos para a identificação dos compostos por eles sintetizados porque a radiação na região entre 4000 e 400 cm^{-1} excita os movimentos (modos) vibracionais intrínsecos de moléculas e íons, o que permite a identificação dos grupos químicos presentes em sua composição.

Assim, podemos ter, genericamente, dois tipos distintos de vibração, que denominamos de deformação axial (ou estiramento) e deformação angular. O primeiro consiste na movimentação rítmica ao longo da ligação interatômica, em que os átomos ligados se aproximam e se afastam de maneira alternada, com certa frequência. Já a deformação angular corresponde a uma variação no ângulo entre as ligações. No entanto, esses movimentos de oscilação não ocorrem de maneira independente, ou seja, há um acoplamento mecânico entre eles. Além disso, somente os movimentos que promovem uma modificação no momento de dipolo da molécula são detectados no Infravermelho. Deste modo, quando a frequência da radiação eletromagnética incidente é ressonante com os modos vibracionais da molécula / íon, há absorção de energia. A frequência da radiação eletromagnética

em que ocorre este fenômeno ressonante depende da massa dos átomos, da constante de força das ligações e da geometria da molécula/íon.⁴⁰

O espalhamento Raman, por sua vez, foi observado pela primeira vez pelo físico indiano C. V. Raman.⁴¹ Ele percebeu que, quando um feixe de radiação eletromagnética monocromática incide sobre um material, uma parte da radiação espalhada tem frequência diferente da radiação incidente. Como a espectroscopia IV, a técnica de espectroscopia Raman fornece informações importantes a respeito de um determinado composto a partir das vibrações dos grupos moleculares nele existentes. Ambas as técnicas diferem apenas pela natureza dos processos de excitação vibracional. De fato, as vibrações com atividade Raman podem não induzir variação de momento de dipolo na molécula, mas são caracterizadas por levar a uma variação da polarizabilidade. Neste sentido, pode-se dizer que as espectroscopias IV e Raman são técnicas complementares, nas quais uma mesma transição vibracional é promovida através de diferentes mecanismos de excitação (absorção vs. espalhamento inelástico). Assim, as frequências associadas a um determinado modo vibracional devem ser, a rigor, idênticas (pequenas diferenças podem ser observadas em virtude de erros instrumentais). As intensidades das bandas, entretanto, são totalmente diferentes. A intensidade da resposta Raman é proporcional ao quadrado do campo elétrico da onda eletromagnética que incide sobre a amostra, embora o espalhamento Raman se manifeste através de uma radiação eletromagnética com um comprimento de onda diferente (*Stokes shift*).⁴²

O fenômeno SERS irá ocorrer quando uma molécula ou íon estiverem adsorvidos ou ligados na superfície da nanopartícula metálica, onde a amplitude do campo elétrico local pode ser amplificada por um fator de até 10^2 . Neste caso, a presença de nanopartículas metálicas pode amplificar o campo elétrico incidente junto com o campo elétrico espalhado, com subsequente amplificação da intensidade Raman de um fator de até 10^8 .^{42, 43} Porém, não somente os fatores eletromagnéticos são responsáveis pela amplificação do espalhamento Raman, mas fatores químicos como as transferências de carga locais existentes entre a nanopartícula e a molécula adsorvida tem um papel importante neste contexto.⁴² A espectroscopia SERS permitiu aos cientistas não só estudar os modos de coordenação de moléculas e íons em superfícies metálicas, mas também a fabricação de sensores altamente sensíveis.^{44, 45, 46, 47}

1.4.3

Aplicações das Nanopartículas de Ouro (AuNps)

Dentre as diversas pesquisas tecnológicas em nanociência e nanomateriais, uma das áreas que tem dado mais atenção para a nanotecnologia é a biomedicina.

Atualmente, o câncer (neoplasia) é uma das maiores causas de morte no mundo, ficando atrás apenas de problemas cardiovasculares.

Nessa conjuntura, as Nps trouxeram uma revolução nas pesquisas para a detecção e o tratamento de células cancerosas, pois, devido ao tamanho reduzido, as Nps são capazes de penetrar no interior das células e interagir com diversas enzimas, receptores e anticorpos. As Nps de ouro, em especial, poderiam atuar como uma plataforma seletiva intracelular, levando a medicação apenas para as células-alvo (previamente sinalizadas através de algum ligante a elas acoplado). Deste modo, essas partículas têm se mostrado um potencial método não invasivo para o tratamento do câncer, por atingir apenas células malignas (Figura 8).^{48,49,50}

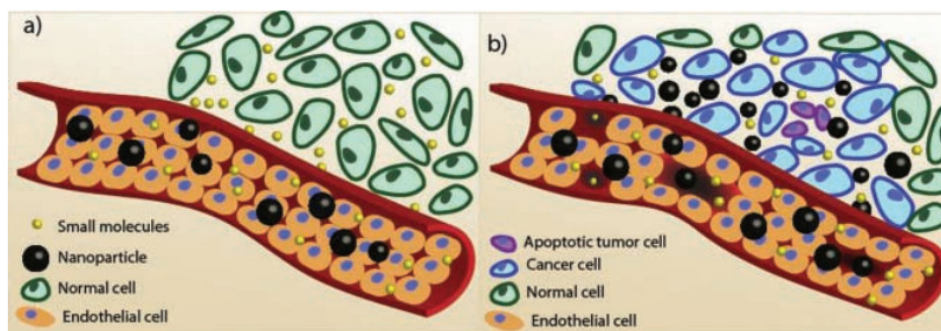


Figura 8: Representação da atuação das Nps dentro do organismo A) frente a tecidos normais, onde somente moléculas menores podem atravessar os vasos sanguíneos e ser difundidas para o interior dos tecidos e B) na presença de tecido neoplásico, onde as nanopartículas e também macromoléculas conseguem atravessar a parede dos vasos sanguíneos e, assim, se alojar no tecido tumoral (extraído da referência 50).

Outro potencial modo de atuação está associado às propriedades de amplificação da fluorescência que AuNps apresentam, que permite a localização dessas células tumorais. Porém, cientistas também pesquisam nanopartículas com propriedades magnéticas, a fim de conseguir desenvolver contrastes para imagens por ressonância magnética.⁴⁸ Já outros pesquisadores verificaram que a resposta

SERS apresentada por moléculas ligadas a AuNps pode ser estrategicamente utilizada na formação de imagens. Neste caso, a luz espalhada no processo Raman pode ser analisada através de microscópios, utilizando baixíssimas concentrações de ligantes ($\sim 10^{-12}$ mol L⁻¹), demonstrando a alta sensibilidade desta técnica.⁵¹ (Figura 9).

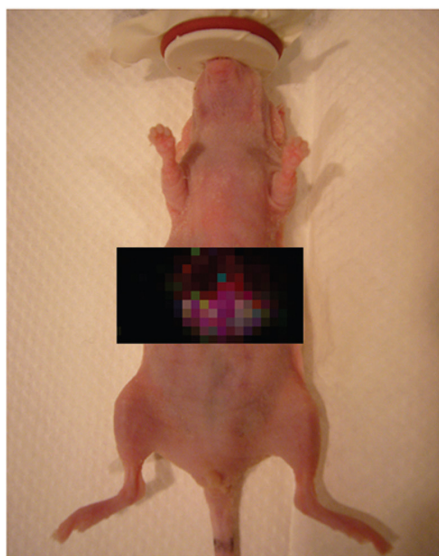


Figura 9: Imagem por SERS do tecido tumoral do fígado de um rato após 24 horas de injeção de nanopartículas de ouro previamente sinalizadas (extraído da referência 51).

1.4.4

Síntese de Nanopartículas por Ablação a Laser

Suspensões coloidais de AuNps podem ser sintetizadas genericamente por dois processos: através de via química, como já citado²⁷, ou através de um método físico chamado ablação por laser pulsado.⁵² Ambos os métodos possuem suas vantagens e desvantagens.

Através de métodos químicos, as nanopartículas são formadas por meio de reações de oxi-redução, que utilizam, em geral, citrato de sódio ou boroidreto de sódio como agentes redutores e HAuCl₄ como fonte do metal.^{53, 54, 55} É um método que produz Nps com dimensões mais homogêneas e pouco dispersas. No entanto, por se originar de um processo reacional, a suspensão resultante possui também outras espécies químicas decorrentes dos reagentes utilizados.⁵⁵

Já no processo de geração de nanopartículas de ouro (AuNps) por ablação a laser pulsado, pulsos de radiação eletromagnética amplificada são focalizados sobre a superfície de uma placa de ouro imersa em um solvente adequado.⁵⁶ A energia do pulso de luz laser promove a vaporização do material alvo (superfície metálica) que, por sua vez, ao estar imerso em um líquido, fica confinado gerando uma região de alta pressão e temperatura que dá origem a uma pluma de plasma logo acima da superfície-alvo. A recombinação do plasma culminará na formação das nanopartículas.⁵⁷ Na Figura 10, podemos verificar um esboço de como se dá a formação das nanopartículas via ablação a laser.

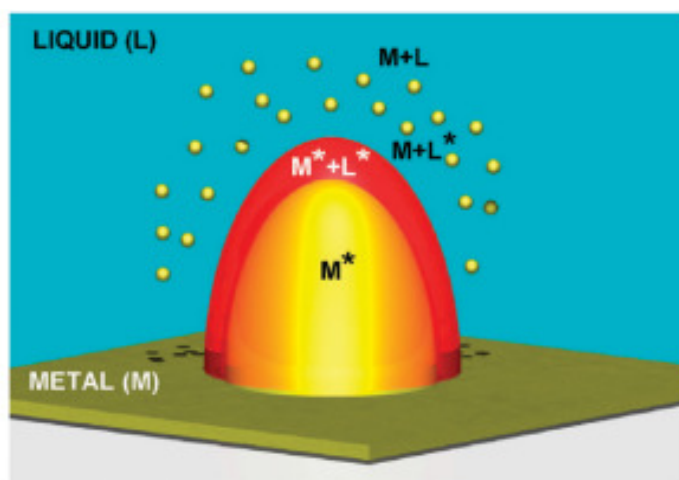


Figura 10: Esboço da formação do plasma acima do alvo na placa metálica, * representa espécies excitadas e/ou íons formados (extraído da referência 57).

A partir desse esquema, podemos identificar genericamente quatro etapas no processo: vaporização, nucleação, crescimento e coalescência e, finalmente, formação das nanopartículas. Estas fases são visualizadas na Figura 11.

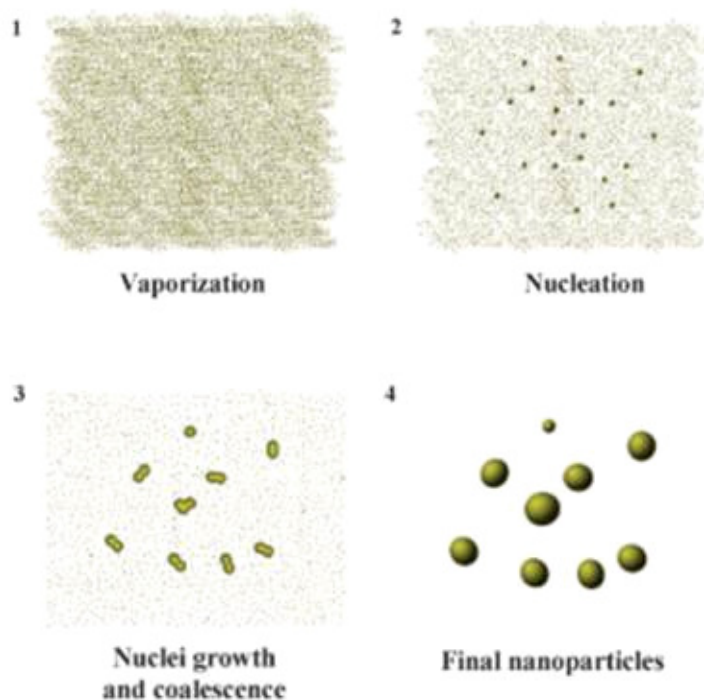


Figura 11: Fases da formação das nanopartículas via ablação a laser (extraído da referência 57).

No entanto, alguns fatores experimentais podem influenciar a morfologia das nanopartículas sintetizadas, como, por exemplo, a energia do laser e o seu comprimento de onda, junto ao tempo de duração do pulso.^{52,56,58} Quando uma placa metálica é atingida por pulsos laser com irradiação maior que $0,9 \text{ GW cm}^{-2}$, gera-se na proximidade da placa uma pluma de átomos neutros e plasma que recombina-se na forma de Nps.⁵⁹ Estudos feitos com um laser pulsado em regime temporal de nanossegundos e com comprimento de onda de 532 nm ⁵⁸ revelam que, para fluências ópticas do pulso laser até 400 J cm^{-2} , as AuNps são geradas junto com fragmentos micrométricos de ouro. Aumentando a fluência do pulso laser se chega à formação de uma suspensão coloidal de nanopartículas.

Por outro lado, sabendo que as nanopartículas de ouro possuem uma banda de extinção em torno de 520 nm , o uso de um laser com comprimento de onda de 532 nm , por exemplo, proporciona a formação de nanopartículas menores. Isso ocorre porque, nesse comprimento de onda, as partículas que já estão suspensas em água absorvem fótons e acabam sofrendo uma foto fragmentação, resultando na diminuição do seu diâmetro.^{60,61,62}

Contudo, devido ao fato de que a irradiação de energia não se dá de maneira homogênea em todos os pontos do alvo,⁵⁷ esta técnica não permite ótimo controle na distribuição do tamanho das partículas, além de também não ser possível para solventes orgânicos, uma vez que pode ocorrer a degradação das moléculas com a subsequente formação de subprodutos e contaminação da Np. No caso do uso da água como solvente, também há contaminação parcial, com formação de oxo- e carboespécies (as últimas em presença de ar atmosférico).^{57,63}