

3 Parte Experimental

3.1 Reagentes Utilizados

Os reagentes utilizados neste trabalho foram obtidos de fonte comercial e usados sem qualquer tipo de purificação prévia. Deste modo, foram utilizados: metanol PA, cloreto de cromo(III) hexaidratado, ácido etilenodiaminotetraacético dissódico diidratado, hidróxido de potássio e ouro metálico PA.

Todas as etapas foram feitas em meio aquoso. No entanto, para a síntese do complexo, utilizou-se água destilada do laboratório LABSO-BIO e, para de síntese das AuNps, a água utilizada foi ultra-pura a fim de minimizar o teor de possíveis interferentes que pudessem ser adsorvidos na superfície do ouro.

3.2 Metodologia e Instrumentação

3.2.1 Balança Analítica

Para pesagem das amostras e preparo de todas as soluções feitas neste trabalho, foi utilizada uma balança analítica com sensibilidade de quatro casas decimais da BioPrecisa, modelo FA2104N.

3.2.2 Análise Elementar de CHN

A análise e determinação dos teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio presentes no complexo formado entre cromo(III) e EDTA foi feita através de um aparelho da Thermo Electron Corporation, modelo Flash EA 1112, no Laboratório de Caracterização Química – Departamento de Química – PUC-Rio.

3.2.3

Espectroscopia Vibracional de Infravermelho

Os espectros de IV médio foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin Elmer do Brasil LTDA, modelo Spectrum 100 FT-IR, no Laboratório de Caracterização Química – Departamento de Química – PUC-Rio. As amostras sólidas foram analisadas em pastilha de polietileno (grau espectroscópico).

3.2.4

Análise do Teor de Metal

Para verificação do percentual em massa do íon metálico Cr(III) existente no complexo sintetizado, foi feita uma análise de absorção atômica no LAATOM – Departamento de Química – PUC-Rio.

As soluções analisadas foram preparadas em duplicata com 2,5 mg do complexo cristalino solubilizado e avolumado para 50 mL de água ultra-pura.

3.2.5

Modelagem Computacional

Foram realizados cálculos teóricos baseados no método quântico da Teoria do Funcional de Densidade (DFT), em fase gás. Isto foi feito com o auxílio do programa GaussView, para a montagem das estruturas, seguido do programa Gaussian 03 (otimização das geometrias e cálculo das frequências vibracionais).

O procedimento foi realizado em um computador Intel Core; CPU 2,67 GHz; 3,22 GB RAM, Windows XP e foram utilizadas funções de base B3LYP/6-31G (com fator de correção 0,962 para os cálculos vibracionais).

3.2.6

Espectroscopia de Absorção e Extinção no UV-Visível

As medidas do espectro de Extinção/Absorção, tanto do complexo quanto das suspensões de Nps, foram realizadas em aparelho da Perkin Elmer Lambda 950 – do Laboratório de Caracterização Espectrofotométrica – Departamento de Física – PUC-Rio.

3.2.7

Espectroscopia RAMAN e SERS

Os espectros Raman do ligante e do complexo e os espectros SERS para os sistemas de nanopartículas foram medidos em um aparelho de microscopia Raman da Renishaw, nos comprimentos de onda de 514 e 647 nm, com potência do feixe laser de aproximadamente 50 mW e filtro atenuador de 1%. Estes experimentos foram realizados no Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro), em colaboração com o pesquisador-tecnologista Erlon Henrique Martins Ferreira, PhD, no Laboratório de Difração e Espectroscopia (Lades) – Divisão de Metrologia e de Materiais (Dimat), Diretoria de Metrologia Científica e Industrial (Dimic)

3.2.8

Q-Switched Laser

Para síntese das suspensões coloidais de ouro (AuNps) foi utilizado um laser Nd:YAG – BIG SKY LASER da Quantel, operado em comprimento de onda 532 nm e 10 Hz, no Laboratório de Plasmônica e Optoeletrônica Molecular – Departamento de Física – PUC-Rio.

3.2.9

Evaporador Térmico

Para impedir que qualquer sinal de fluorescência oriundo do vidro viesse a interferir nas análises dos espectros SERS, foi feito um revestimento de alumínio nas placas de vidro. Este procedimento foi feito em um aparelho modelo Univex 300, sob pressão de vácuo igual a 10^{-5} Torr, corrente elétrica de 30 A e taxa de deposição de 3 \AA s^{-1} , no Laboratório de Plasmônica e Optoeletrônica Molecular – Departamento de Física – PUC-Rio.

3.2.10

MEV e MET

Para visualizarmos as nanopartículas sintetizadas, foram feitas análises MEV e MET utilizando um microscópio eletrônico de varredura com canhão de

elétrons por emissão de campo (FESEM – *Field Emission Scanning Electron Microscope*), modelo: JEOL JSM-6701F.

As imagens SEM (*Scanning Electron Microscopy*) foram feitas a 1,0 kV (tensão de aceleração dos elétrons utilizada) e as amostras foram depositadas em fita de carbono condutor e colocadas diretamente no aparelho, sem nenhum pré-tratamento. O detector utilizado foi o SEI. Já as imagens TEM foram feitas a 30 kV e foram obtidas por STEM (*Scanning Transmission Electron Microscopy*), utilizando uma grade de microscopia do tipo C-Flat Holey Carbon Films ou C-Flat Holey Carbon grids. O detector utilizado foi o LEI e a distância de trabalho foi de 6 mm. Estas medidas foram realizadas no Laboratório Van de Graaff (VDG) – Departamento de Física – PUC-Rio.

3.3 **Sínteses**

Todas as vidrarias utilizadas neste trabalho foram, em primeira instância, devidamente higienizadas de acordo com o seguinte procedimento: primeiro, lavagem com detergente; após, imersão por 15 minutos em solução 50% v/v de H₂SO₄ em água deionizada com ultrassom, seguida de enxágue; após, imersão por mais 15 minutos, também sob ultrassom, em solução alcalina de potassa alcoólica; por fim, enxágue, lavagem com água deionizada e secagem em estufa a 100 °C.

3.3.1 **Síntese do Complexo de [Cr(HEDTA)(H₂O)]**

Em um balão de reação de 25mL, foram dissolvidos, a quente, 1,5 g de Na₂EDTA·2H₂O (4,0 mmol) e 0,2 g de KOH (4,0 mmol) em 5 mL de água destilada. Em outro recipiente, foram solubilizados, em 3 mL de água destilada, 1,1 g de CrCl₃·6H₂O (4,0 mmol). O conteúdo do segundo recipiente foi vertido, gradualmente, no balão de reação contendo o ligante. O sistema foi então posto em refluxo por 2½ horas a 90 °C, em banho de óleo, e mantido sob agitação constante. Após o refluxo, a solução resultante, de coloração violeta escuro, foi transferida para um béquero de 40 mL e novamente levada ao aquecimento com agitação para reduzir o seu volume até cerca de metade do inicial. Evaporado o

excesso de solvente, foram então gotejados 20,0 mL de metanol PA gelado. Pode-se observar de imediato a formação de um precipitado roxo (Figura 12).

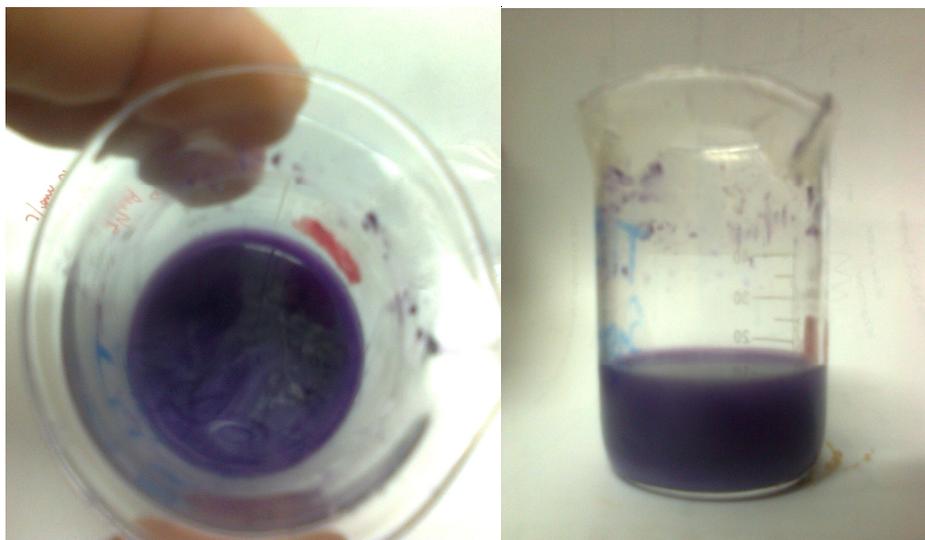


Figura 12: Formação de uma suspensão roxa com o gotejamento de metanol PA gelado.

O sistema foi então posto em repouso na geladeira por 24 horas. Passado este tempo de decantação, retirou-se o excesso de sobrenadante e acrescentou-se metanol gelado. O precipitado (Figura 13) foi então filtrado a vácuo com o auxílio de um funil de vidro sinterizado.

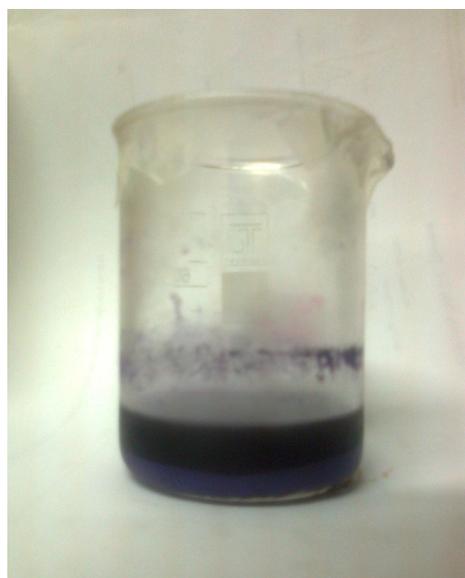


Figura 13: Após 24 h de repouso na geladeira, nota-se a formação de corpo de fundo no béquer.

Por fim, o sólido foi lavado três vezes com metanol PA gelado, obtendo-se ao final um pó roxo. Já seco, o sólido foi pesado.

Obteve-se um total de 1,1 g (3,0 mmol; rendimento de 75%; Figura 14).



Figura 14: Aspecto do sólido roxo, já seco, obtido ao final do processo de síntese.

Para obtenção da forma cristalina, o pó obtido na etapa anterior foi então ressolubilizado em um volume mínimo de água destilada (o suficiente apenas para solubilizá-lo) e posto em repouso à temperatura ambiente. Após cerca de 5 dias, foram formados cristais violeta escuro no fundo do recipiente, os quais foram analisados. Análise elementar – Porcentagens encontradas: C 32,6; H 4,7; N 7,7; Cr 14,0. Estas porcentagens estão de acordo com o valores da literatura¹² para o composto de fórmula $[\text{Cr}(\text{HEDTA})(\text{H}_2\text{O})]$: C 33,4; H 4,4; N 7,8; Cr 14,2%.

Observação: os espectros IV e Raman do complexo $[\text{Cr}(\text{HEDTA})(\text{H}_2\text{O})]$ serão apresentados e discutidos na Seção 4 – Resultados e Discussão.

3.3.2

Síntese da Suspensão de Nanopartículas de Ouro

1) Preparo da superfície metálica para ablação:

Assim como as vidrarias, a placa metálica utilizada também foi previamente higienizada, de acordo com o seguinte procedimento: primeiro, ambas as faces

foram polidas com o auxílio de lã de aço; após, a placa foi imersa em uma solução 80% v/v de H_2SO_4 em água deionizada e posta por 15 minutos em ultrassom; por fim, enxágue, lavagem com água deionizada e secagem em estufa a $100\text{ }^\circ\text{C}$.

2) Síntese da suspensão coloidal por ablação a laser:

Em um béquer de 10 mL, foram adicionados 2 mL de água ultra pura (cujo pH medido era de aproximadamente 6,0). Uma pequena placa de ouro com dimensões $8 \times 5 \times 1\text{ mm}$ foi imersa neste solvente.

Utilizando-se um prisma e uma lente biconvexa, o laser pulsado foi então focalizado sobre a superfície da placa de ouro como mostra a Figura 15.

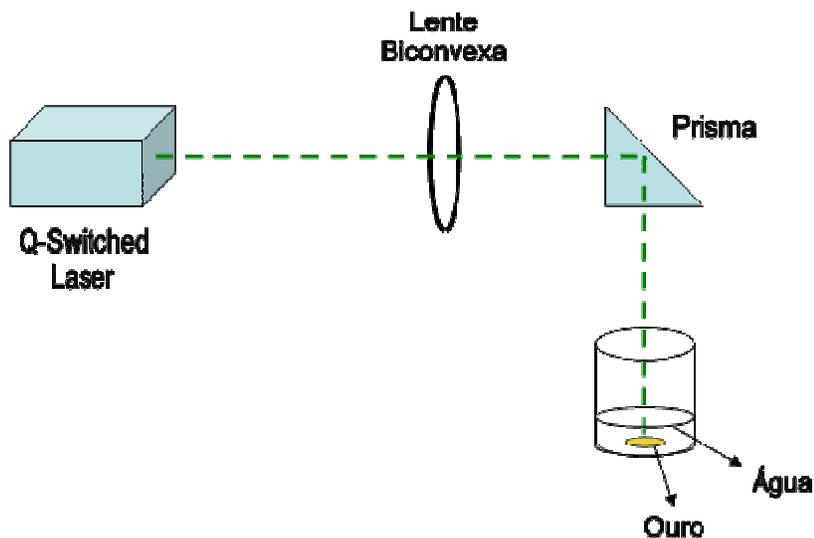


Figura 15: Esboço da aparelhagem experimental para síntese de nanopartículas via ablação a laser.

A distância focal da lente foi de 165 mm e o caminho ótico lente-alvo metálico foi de 175 mm. O diâmetro do feixe de luz antes da lente media 2 mm e a taxa de repetição utilizada foi de 10 Hz.

A energia do pulso laser (dada em mJ) possuía até 10 níveis de aumento, como pode ser verificado na Tabela 1. Em nossas sínteses, o nível laser adotado foi 9 e a fluência calculada para este nível de energia foi de 70 mJ cm^{-2} .

Tabela 1: Correlação entre o nível do laser especificado no instrumento e a respectiva energia do pulso laser (apenas os níveis de 5 a 10 são mostrados)

Nível do Botão Laser	Energia (mJ)
5	4,3
6	5,8
7	7,3
8	9,0
9	10,5
10	12,0

Após 10 minutos de ablação, já foi possível ver mudança na coloração da água, que passou a apresentar um tom róseo. A fim de se obter uma concentração maior de Nps, a ablação foi monitorada observando-se a cor a cada 10 minutos e verificando, após 45 minutos, a taxa de extinção no espectrômetro UV-Visível. Este processo dura, ao todo, de 45 a 60 minutos. Ao término deste, obteve-se uma suspensão de coloração vermelha, como mostrado na Figura 16.

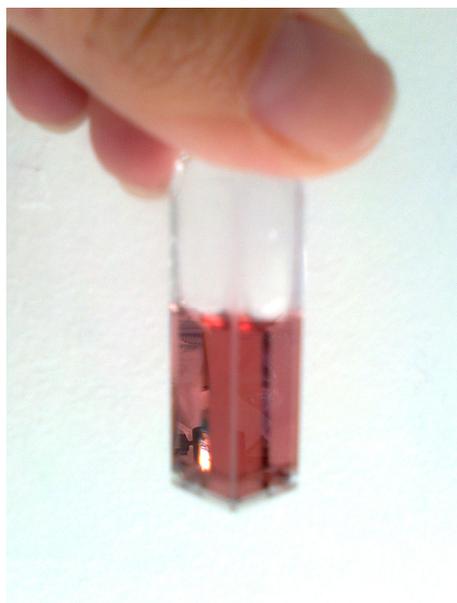


Figura 16: Suspensão de AuNps em água, obtida através do procedimento sintético descrito acima.

3.3.3

Preparação das Suspensões de AuNps com EDTA e com o Complexo de Coordenação CrEDTA

A fim de que as quantidades de EDTA e [Cr(HEDTA)(H₂O)] dentro das suspensões de AuNps tivessem concentração de 10^{-5} mol L⁻¹, foram preparadas soluções mais concentradas de maneira que, ao serem gotejadas na suspensão, sofressem uma diluição adquirindo a concentração final desejada.

Deste modo, foram preparadas soluções $1,1 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de EDTA e de seu complexo. Assim, cada gota (~50 μL) dessas soluções, quando adicionada a 0,5 mL de suspensão de AuNps, proporciona ao sistema final um volume igual a 0,55 mL e concentração de 10^{-5} mol L⁻¹ do composto de interesse.

3.3.4

Fabricação dos Substratos de Alumínio

Primeiramente, foi feita a higienização de uma plaquinha de vidro de dimensões 2,5 x 9,0 cm (como já descrito para as vidrarias). Depois de limpa e seca em estufa a 100 °C, a placa de vidro foi revestida por uma camada de aproximadamente 120 nm de espessura de alumínio metálico, com o auxílio do Evaporador Térmico a vácuo.

Sobre este substrato de alumínio, então, foram gotejadas as suspensões de AuNps, AuNps + EDTA 10^{-5} mol L⁻¹ e AuNps + CrEDTA 10^{-5} mol L⁻¹, as quais foram previamente preparadas. O sistema foi posto em uma estufa a 50 °C para auxiliar na evaporação do solvente. Quando quase secas, adicionava-se outra gota por cima da primeira e o processo de secagem era repetido. Ao todo, foram sobrepostas de 7 a 8 gotas de cada amostra em partes distintas do substrato, como pode ser observado na Figura 17.

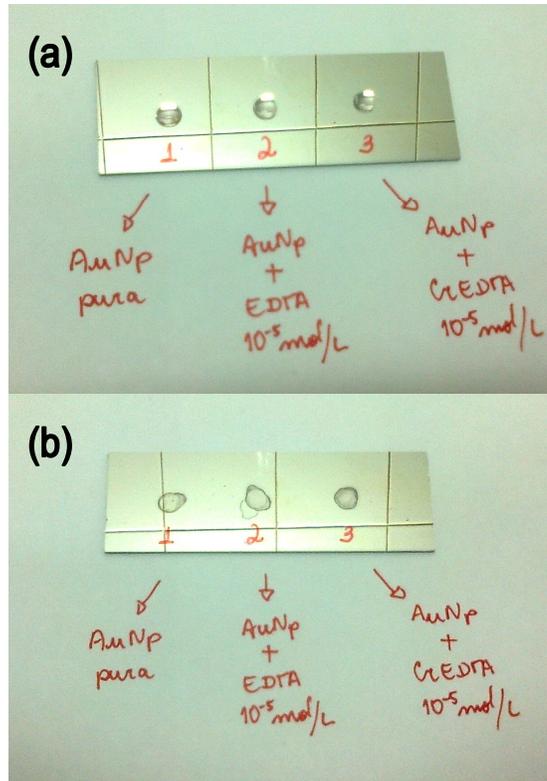


Figura 17: A) gotas das suspensões de AuNps recém depositadas e B) após secagem a 50 °C.