



UnB

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA**

Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ)

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PARÂMETROS REACIONAIS SOBRE O
COMPORTAMENTO FOTOTÉRMICO DO ÓXIDO DE GRAFENO**

Caio César Coradi Moreira

Orientador: Leonardo G. Paterno

Brasília – DF

2018



UnB

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA**

Caio César Coradi Moreira

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PARÂMETROS REACIONAIS SOBRE O
COMPORTAMENTO FOTOTÉRMICO DO ÓXIDO DE GRAFENO**

*Dissertação de mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Química (PPGQ), IQ-UnB, como
requisito para a obtenção do título de
Mestre em Química, sob orientação do
Prof. Dr. Leonardo G. Paterno.*

Autor: Caio César Coradi Moreira

Orientador: Leonardo Giordano Paterno

Brasília – DF, Agosto de 2018

FOLHA DE APROVAÇÃO

Comunicamos a aprovação da Defesa de Dissertação do (a) aluno (a) **Caio César Coradi Moreira**, matrícula nº **16/0163269**, intitulada “**Avaliação do efeito de parâmetros reacionais sobre o comportamento fototérmico do óxido de grafeno**”, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 29 de agosto de 2018.

Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof. Dr. Mauro Francisco Pinheiro da Silva
Membro Titular (FUP)

Prof. Dr. José Roberto dos Santos Politi
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. Paulo Eduardo Narcizo de Souza
Membro Suplente (IF/UnB)

Em 29 de agosto de 2018.

AGRADECIMENTOS

Início meus agradecimentos por Deus, já que Ele me deu saúde e forças para superar as dificuldades e alcançar tudo que tenho hoje. Agradeço a todos meus professores, do fundamental ao superior, que certamente contribuíram de alguma forma para que eu pudesse realizar o meu sonho de me tornar um cientista. Entre eles, agradeço principalmente à prof. Dra. Maria Suely Pedrosa Mundim (*in memoriam*), que me acolheu em seu laboratório, no início da graduação, e acreditou no meu potencial para os primeiros passos nesta estrada tão árdua que é a de pesquisador no Brasil. Sempre paciente e disposta a ajudar com um imenso sorriso que permanecerá em minha memória.

Agradeço ao Laboratório de Pesquisa em Polímeros e Nanomateriais (LABPOLN-UnB) pelo acolhimento e pelas lições de bancada que me fizeram crescer profissionalmente, do qual eu me orgulho de fazer parte. Agradeço à CAIQ-UnB pelas análises UV-vis e análise elementar; ao Instituto de Biologia e ao LTMAC (FS-UnB) pelas análises PZ/DH; ao CNANO pelas análises FTIR-ATR; ao MSc. Ítalo A. Costa e ao prof. Dr. Sanclayton G. C. Moreira (UFPA) pelas inúmeras análises Raman; ao aluno de engenharia mecânica Carlos Adir e ao prof. Dr. Paulo Eduardo N. Souza do LSIFA (IF-UnB) pela caracterização fototérmica; ao prof. Dr. Jez Willian B. Braga pela análise por PCA e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Aos meus pais, Abrão e Sirlei, pela paciência e apoio. Aos meus avós e tios pelo apoio incondicional, especialmente ao tio Márcio e à tia Rosa, que presenciaram de perto as minhas lutas diárias durante a graduação e que contribuíram para meu desenvolvimento pessoal com seus ensinamentos. Agradeço a minha namorada Clarice Pinheiro, que me deu apoio e incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço. Meus agradecimentos aos amigos Alan Baggio, Thiago Sampaio, Priscila Rios e Jeferson Oliveira pelo companheirismo.

E por fim, agradeço imensamente ao orientador do nosso grupo de pesquisa, prof. Dr. Leonardo Paterno, pela oportunidade, apoio, paciência e suporte na elaboração deste trabalho. Obrigado pela amizade e pelos conselhos, enfim, fica aqui minha imensa gratidão e admiração. Vai, Corinthians!

LISTA DE ABREVIATURAS

OGR – óxido de grafite

OG – óxido de grafeno

OGR-HT – óxido de grafite obtido pelo método de Hummers Tradicional

OGR-HHT – óxido de grafite obtido pelo método de Hummers Duplicado

G_R-PO – grafite pré-oxidado

OGR-PO – óxido de grafite obtido pelo método de Hummers com pré-oxidação

OG-HT – óxido de grafeno HT

OG-HHT – óxido de grafeno HHT

OG-PO – óxido de grafeno PO (OGR-PO seco)

OG-POU – óxido de grafeno PO (OGR-PO úmido)

OG-COOH – óxido de grafeno carboxilado

FTIR-ATR – *Fourier transform infrared spectroscopy with Attenuated Total Reflectance*

UV-vis – Ultravioleta e visível

DH – Diâmetro hidrodinâmico

PZ – Potencial zeta

PDI – Índice de polidispersão

ϵ - Coeficiente de absorvidade

I_D/I_G – Razão entre as intensidades da banda D e G

L_a – Tamanho do cristalito

L_D – Distância entre os defeitos

NIR – *near infrared*

X_D – Posição central da banda D

X_G - Posição central da banda G

W_G – Largura à meia altura da banda G

λ_{exc} – Comprimento de onda de excitação

$\lambda_{\text{MÁX}}$ – Comprimento de onda máximo

DLS – *Dynamic light scattering*

PCA – Análise de Componentes Principais

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema representativo das conformações espaciais provenientes do grafeno (2D) para a construção de materiais com outras dimensões: empilhados (3D-grafite); embrulhados (1D-nanotubos) ou em esferas (0D-fulereno). ⁴	17
Figura 2. Estruturas propostas para o OG segundo o modelo de Lerf-Klinowski. Na estrutura superior, há grupos ácidos carboxílicos na borda da folha, enquanto na estrutura inferior esses grupos estão ausentes. ¹⁹	20
Figura 3. Número de artigos publicados com o termo “graphene oxide” nos acervos de periódicos do Science Direct e do Web of Science no período entre 2009 e 2017.....	21
Figura 4. Propriedades de nanopartículas que governam o desempenho da interação com estruturas biológicas (fator 3S). ⁹	22
Figura 5. Representação esquemática da funcionalização do nano-OG para obtenção de plataformas multifuncionais. (Adaptada da Ref. 9).....	22
Figura 6. Representação do mecanismo de ruptura das folhas de óxido de grafeno a partir da esfoliação mecânica por agitação ultrassônica, proposta pela literatura. ³¹	25
Figura 7. Representação da distribuição de cargas em uma partícula carregada negativamente circundada por contra-íons (cargas positivas) formando uma dupla camada elétrica (Stern + Difusa). O potencial é máximo na superfície da partícula e decai em função da distância. O valor de PZ é indicado como o potencial elétrico do plano de cisalhamento hidrodinâmico (Adaptado da Ref. 45).....	27
Figura 8. Sistema de micro-eletoforese composto basicamente por uma cela com eletrodos para a medição da mobilidade eletroforética e conseqüentemente do potencial zeta. (Adaptada da Ref. 45).....	27
Figura 9. Esquema simplificado das rotas de produção de OGR a partir da oxidação do grafite e sua posterior esfoliação mecânica formando o óxido de grafeno – OG.	30
Figura 10. Fluxograma da síntese do óxido de grafite pelo método de Hummers e Offeman, OGR-HT.....	31
Figura 11. Fluxograma da síntese do óxido de grafite duplicado, OGR-HHT.	33
Figura 12. Fluxograma da síntese do óxido de grafite com pré-oxidação, OGR-PO....	34
Figura 13. Fluxograma representando as rotas de oxidação do grafite para a síntese de OGR.	36

- Figura 14.** Esquema da reação de carboxilação de óxido de grafeno (OG-COOH): (1) desprotonação dos grupos -OH e -COOH em meio alcalino; (2) adição do grupo R:CH₂COOH nas extremidades e no plano basal da folha de OG.²⁵ 37
- Figura 15.** Fluxogramas de preparo de OG-COOH com duas condições: Fluxograma I que corresponde as etapas de preparação do OG-COOH em banho térmico (B) e o Fluxograma II consiste na reação de funcionalização acompanhada, simultaneamente, com a esfoliação mecânica (S). 38
- Figura 16.** Variação da temperatura da água de arrefecimento durante a reação de carboxilação da amostra OG-PO (1 g.L⁻¹), quando submetida a esfoliação mecânica... 40
- Figura 17.** Fluxograma da síntese do OG-PO-COOH-S a partir da funcionalização do OG-PO acompanhada, simultaneamente, com a esfoliação mecânica (S). 40
- Figura 18.** Aparato experimental para análise fototérmica. (a) imagem frontal do sistema com a presença da fonte de excitação (laser, 808 nm), termopar e coolers. (b) imagem da microplaca, em polietileno, com as amostras de OG. (c) imagem ampliada de um poço evidenciando a interação da radiação NIR com o OG enquanto o termopar, fixo, registra os valores de ΔT 42
- Figura 19.** Espectros ATR-FTIR das amostras de grafite, OGR-HT, OGR-HHT e OGR-PO, (A) entre 4000-2000 cm⁻¹, evidenciando as bandas de estiramento O-H diferentes: *livre; * ligação de hidrogênio; * água e (B) entre 2000-500 cm⁻¹, evidenciando as bandas: *1724 cm⁻¹ de estiramento C=O de ácido carboxílico; *1620 cm⁻¹ de estiramento C=C de carbono sp²; *1415 cm⁻¹ dobramento C-OH de álcool; *1222 cm⁻¹ de estiramento C-O-C de éter/epóxido e por último em *1041 cm⁻¹ o estiramento C-O de álcool. 45
- Figura 20.** Espectros Raman do (a) grafite e das amostras: (b) OGR-HT; (c) OGR-HHT e (d) OGR-PO. Condição das análises: Laser: 514 nm; lente: 20x; aquisições: 4; potência: 1,67 mW; tempo: 200 s. 48
- Figura 21.** Espectros UV-vis dos coloides de OG preparados a partir da esfoliação mecânica do seu respectivo OGR (HT, HHT ou PO), com concentração ~20µg.mL⁻¹. 51
- Figura 22.** Espectros Raman das amostras de óxido de grafeno que apresentaram as maiores razões I_D/I_G: (a) OG-HHT2; (b) OG-PO4; (c) OG-PO-1U; (d) OG-HT4. Condição das análises: Laser: 514 nm; lente: 20x; aquisições: 4; potência: 1,61-1,75 mW; tempo: 200 s. 57
- Figura 23.** Espectros ATR-FTIR dos OG's carboxilados. 59

Figura 24. Espectros Raman das amostras de óxido de grafeno carboxilado: (a) OG-HT-COOH-B; (b) OG-HT-COOH-S; (c) OG-PO-COOH-S. Condição das análises: Laser: 514nm; lente: 20x; aquisições: 4; potência: 1,61-1,68 mW; tempo: 200 s.....	61
Figura 25. Espectros UV-vis dos coloides carboxilados e de seus respectivos materiais de partida. (a) OG-PO2.5 e OG-PO-COOH-S (20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). (b) OG-HT4 e OG-HT-COOH-B/S* (20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ /*10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).....	62
Figura 26. Curvas de aquecimento dos coloides de OG (c= 112 $\mu\text{g.mL}^{-1}$): (a) lote OG-HHT; (b) lote OG-PO; (c) OG-PO2.5U/OG-PO-COOH-S; (d) OG-HT4/OG-PO-COOH-B*S. A água ultrapura foi utilizada como controle (verde escuro).	65
Figura 27. Gráfico ΔT versus [c]: 112, 56, 28, 14 e 5,6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ dos coloides de OG..	65
Figura 28. Ciclos de aquecimento e resfriamento das amostras: OG-HT-COOH-S; OG-HHT-2 e OG-PO-COOH-S, c= 112 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A janela de aquisição das curvas foi limitada a um tempo de ~10 min.....	68
Figura 29. Agrupamento das amostras de óxido de grafeno.....	70
Figura 30. Agrupamento dos parâmetros analisados.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Potenciais padrão de redução das espécies: MnO_4^- e ClO_3^- . ¹⁵	19
Tabela 2. Dados de concentração dos coloides de óxido de grafeno que foram produzidos pela esfoliação mecânica do seu respectivo OGR (HT, HHT e PO).....	36
Tabela 3. Dados de concentração e pH dos coloides de óxido de grafeno (OG-HT) funcionalizados: dentro do ultrassom (OG-HT-COOH-S) e submetido ao banho térmico (OG-HT-COOH-B).....	39
Tabela 4. Dados de transmitância das amostras de óxido de grafite e seus respectivos número de onda referentes aos principais estiramentos/dobramento e a razão das transmitâncias entre os grupos oxigenados e a banda de referência (carbono sp^2 , C=C) identificados no espectro ATR-FTIR na faixa entre 2000-500 cm^{-1}	46
Tabela 5. Dados de análise elementar (CHN) das amostras de OGR.....	47
Tabela 6. Parâmetros obtidos pela análise de distribuições Lorentzianas que simularam as bandas D e G do espectro Raman do grafite e das amostras de OGR's (HT/PO/HHT). I_D/I_G : razão entre as intensidades dos picos; L_a : tamanho do cristalito; L_D : distância entre os defeitos; W_G : largura à meia altura da banda G; $X_{G/D}$: posição do centro da banda G e D, respectivamente.	49
Tabela 7. Valores de coeficiente de absorvidade obtidos a partir da curva de calibração dos OG's.	52
Tabela 8. Valores de pH e PZ das dispersões coloidais preparadas a partir da esfoliação mecânica de OGR's (HT/HHT/PO) em água ultrapura.....	54
Tabela 9. Valores de DH e PDI das dispersões coloidais preparadas a partir da esfoliação mecânica de OGR's (HT/HHT/PO) em água ultrapura.....	55
Tabela 10. Faixa de valores de PDI via DLS para classificação em sistemas monodispersos e polidispersos. ⁴⁹	56
Tabela 11. Parâmetros obtidos pela análise de distribuições Lorentzianas que simularam as bandas D e G do espectro Raman dos filmes de OG's. I_D/I_G : razão entre as intensidades dos picos; L_a : tamanho do cristalito; L_D : distância entre os defeitos; W_G : largura à meia altura da banda G; $X_{G/D}$: posição do centro da banda G e D, respectivamente.....	57
Tabela 12. Dados das razões das absorbâncias entre as bandas dos grupos oxigenados, A(O), e o pico de referência (carbono sp^2 , C=C) identificados no espectro ATR-FTIR na faixa entre 2000-500 cm^{-1}	59

Tabela 13. Parâmetros obtidos pela análise de distribuições Lorentzianas que simularam as bandas D e G do espectro Raman dos filmes de OG-COOH. I_D/I_G : razão entre as intensidades dos picos; L_a : tamanho do cristalito; L_D : distância entre os defeitos; W_G : largura à meia altura da banda G; $X_{G/D}$: posição do centro da banda G e D, respectivamente.	60
Tabela 14. Valores de absorvidades obtidos a partir da curva de calibração dos óxidos de grafeno carboxilados e de seus respectivos materiais de partida.....	62
Tabela 15. Valores de pH, potencial zeta (ζ), diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersão (PDI) dos óxidos de grafeno carboxilados e de seus respectivos materiais de partida.....	63
Tabela 16. Valores de ΔT obtidos a partir da curva de aquecimento dos coloides com $c=112 \mu\text{g.mL}^{-1}$	66

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar os efeitos de parâmetros reacionais sobre a estrutura e o comportamento fototérmico de amostras de óxido de grafeno (OG), preparadas por rotas distintas de oxidação do grafite e de esfoliação do óxido de grafite (OGR). Para tanto, foram avaliadas as amostras obtidas pelo método de Hummers, com e sem pré-oxidação, e tempos variados de esfoliação com ultrassom de alta potência. Além disso, algumas amostras foram submetidas à reação de carboxilação, com o intuito de diminuir ainda mais o tamanho das folhas de OG. A partir de dados de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier no modo de refletância total atenuada (FTIR-ATR), observa-se que as amostras mais oxidadas são aquelas obtidas após duas oxidações sucessivas do grafite, apenas pelo método de Hummers, e sem pré-oxidação. Entretanto, não se verifica uma correlação direta entre o diâmetro hidrodinâmico das amostras (medido por espalhamento dinâmico de luz) e o tempo de tratamento em ultrassom. As amostras obtidas em diferentes condições apresentam diâmetros variando entre 140 nm e 650 nm. A caracterização das amostras por espectroscopia micro Raman revela que o tamanho de cristalito e a distância entre os defeitos estruturais diminuem à medida que o grafite é oxidado e depois esfoliado até OG. Os espectros de absorção UV-vis das suspensões aquosas de OG apresentam as transições $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ esperadas para a estrutura de grafite oxidado, com coeficientes de absorvidade óptica (ϵ) entre 9 e 118 $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$. Foi observado que o efeito fototérmico das amostras de OG é proveniente da combinação de dois fatores principais: estrutura molecular e tamanho das folhas. No geral, nota-se que as amostras com os maiores valores de ϵ e $\lambda_{m\acute{a}x}$ possuem maior absorção no infravermelho próximo. Consequentemente, são as amostras que apresentam maior efeito fototérmico sob irradiação 808 nm e fluência de $230 \pm 0,5 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$.

Em particular, uma amostra de OG carboxilada, com diâmetro hidrodinâmico de 358 nm e $\epsilon = 118 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, exibiu uma variação de temperatura de 50,85°C e atingiu o máximo de 80°C num intervalo de 12 min. de irradiação. O desempenho observado é superior ao encontrado na literatura para amostras com características similares e apontam seu potencial para aplicação em terapia fototérmica.

Palavras-chaves: óxido de grafeno; terapia fototérmica; oxidação de Hummers Offeman; efeito fototérmico.

ABSTRACT

The goal of this work is to analyze the effects of reaction parameters on the structure and photothermal behavior of graphene oxide (GO) samples prepared under different oxidation routes of graphite and exfoliation of the obtained graphitic oxide (GRO). For this purpose, samples are prepared by the Hummers method, with and without pre-oxidation step, and different time periods of high power ultrasound exfoliation. Besides, some sample are submitted to carboxylation reaction to decrease further the size of GO sheets. Data from Fourier transform infrared spectroscopy with attenuated total reflectance suggest that the most oxidized samples are those obtained after two consecutive oxidations of graphite, only by the Hummers method and without pre-oxidation. Nonetheless, it is not observed a straightforward correlation between the samples hydrodynamic diameter (measured by dynamic light scattering) and length of the ultrasound treatment. Samples prepared under different conditions exhibit diameters that span from 140 nm to 650 nm. Characterization performed by micro Raman spectroscopy reveals that the crystallite size and distance between structural defects decrease as graphite is oxidized and afterwards exfoliated to GO. UV-vis absorption spectra of GO aqueous suspensions show the $n \rightarrow \pi^*$ a $\pi \rightarrow \pi^*$ transitions, which are expected for an oxidized graphite structure, with optical absorption coefficients (ϵ) between 9 and 118 $\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. It was observed that the photothermal effect of OG samples comes from the combination of two main factors: morphology and molecular structure. In general, it is observed that samples with higher values of ϵ and $\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$ have higher absorption in the near infrared. Consequently, those are the samples that show the most significant photothermal effect under 808 nm irradiation and fluency of $230 \pm 0,5 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$.

In particular, a carboxylated GO sample, with a hydrodynamic diameter of 358 nm and $\epsilon=118 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, shows a temperature variation of $50,85^\circ\text{C}$ and reaches a maximum of 80°C after 12 min. of irradiation. The performance is superior to that found in the literature for samples with similar structural features. This observation points out their potential for application in photothermal therapy.

Keywords: graphene oxide; photothermal therapy; oxidation of Hummers Offeman; photothermal effect.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	14
INTRODUÇÃO.....	14
OBJETIVOS.....	16
CAPÍTULO 2	17
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 Óxido de Grafeno (OG).....	17
2.2 Aplicações Biomédicas do Óxido de Grafeno.....	21
2.3 Esfoliação Mecânica	24
2.4 Propriedades Coloidais.....	26
CAPÍTULO 3	29
MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1 Materiais.....	29
3.2 Métodos para síntese de OGR	30
3.2.1 Hummers Tradicional.....	30
3.2.2 Hummers Duplicado.....	32
3.2.3 Hummers com Pré-Oxidação.....	33
3.3 Óxido de Grafeno Carboxilado: OG-COOH.....	37
3.3.1 Síntese de OG-HT-COOH.....	37
3.3.2 Síntese de OG-PO-COOH	39
3.4 Instrumentação.....	41
CAPÍTULO 4	44
RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1 Caracterização Estrutural e Nível de Oxidação das amostras de OGR	44
4.1.1 Raman – OGR.....	47
4.2 Caracterização das amostras de OG.....	50
4.2.1 Espectros UV-vis	51
4.2.2 Propriedades coloidais: PZ e DLS	53
4.3 Raman – OG.....	56
4.4. Caracterização Estrutural e Nível de Oxidação das amostras de OG-COOH.....	58
4.5 Caracterização OG-COOH: UV-vis, PZ e DLS	61
4.6 Caracterização Fototérmica.....	64
4.7 Análise Multivariada: PCA	69
CAPÍTULO 5	72
5.1 Conclusões.....	72
5.2 Perspectivas	74

BIBLIOGRAFIA	75
ANEXO 1	80
i) Curvas de Calibração (UV-vis) das amostras de OG's preparadas a partir da esfoliação mecânica do seu respectivo OGR (HT, HHT ou PO) ou funcionalização (OG-COOH):	80
ii) Ensaio fototérmico com concentrações: 112, 56, 28, 14 e 5,6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, para os coloides que exibiram os maiores valores de ΔT :	85

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Há uma grande variedade de compostos orgânicos presentes em nosso cotidiano que podem ser identificados desde o campo macroscópico, como o carvão no setor energético, até em sistemas de baixa dimensionalidade, como moléculas de monossacarídeos e aminoácidos em meio biológico. Em virtude disso, é possível inferir que o carbono colabora de várias maneiras para a manutenção da vida na terra.¹

Entre os alótropos de carbono, destaca-se o grafeno que consiste em um cristal atômico bidimensional (2D), uma folha isolada de átomos de carbono com hibridização do tipo sp^2 e, portanto, com espessura atômica.² Andre K. Geim e Konstantin S. Novoselov, da Universidade de Manchester (Reino Unido), foram laureados com o Prêmio Nobel de Física em 2010 por suas contribuições à produção, isolamento, identificação e caracterização das propriedades do grafeno.³ A alteração de sua conformação espacial pode gerar outras estruturas, como o grafite (3D), os nanotubos de carbono (1D) e o fulereno (0D), que são exemplos de alótropos do carbono oriundos deste bloco de construção elementar.⁴ O grafite, por exemplo, consiste em várias folhas de grafeno empilhadas e unidas por meio de interações intermoleculares de van der Waals.⁵

As metodologias *top down*, que partem do grafite (3D), são atualmente as mais empregadas para a produção de folhas isoladas de grafeno (2D) com baixo custo e alto rendimento.⁶ Em geral, essas envolvem duas etapas, primeiramente a produção de óxido de grafite (OGR) seguida da esfoliação mecânica pela ação do ultrassom a alta potência. O método de Hummers e Offeman para a oxidação do grafite com íons permanganato em meio fortemente ácido é o mais difundido para obtenção do OGR.⁷ O grafeno assim obtido, muitas vezes chamado de grafeno quimicamente modificado ou óxido de grafeno (OG) pode ser utilizado em várias aplicações, tais como dispositivos biomédicos para terapias fototérmica/fotodinâmica, em sensores eletroquímicos para monitoramento ambiental e controle de qualidade de alimentos e bebidas, dispositivos optoeletrônicos para conversão e armazenamento de energia, remediação ambiental, entre outras.⁸ Dentre estas aplicações mencionadas destaca-se a capacidade do OG em absorver fótons de baixa energia, especialmente na região do infravermelho próximo (NIR), para aumentar a temperatura do coloide pelo efeito fototérmico.⁹ Com uma grande área superficial,

presença de grupos hidrofílicos e tamanho controlado, este material possui um potencial para construção de plataformas multifuncionais de terapia e diagnóstico capaz de combinar, além do efeito fototérmico, várias técnicas em um mesmo sistema molecular, tais como: entrega de fármacos, bioimageamento e reconhecimento celular.⁹ A construção de dispositivos terapêuticos a partir deste material possui um baixo custo quando comparado a nanomateriais de ouro e a nanotubos de carbono.¹⁰

O interesse deste trabalho é avaliar a influência de parâmetros reacionais no comportamento fototérmico do OG para sua futura aplicação em dispositivos para indução de hipertermia celular ou fotohipertermia. Cada rota descrita resultou em um OGR diferente que foi caracterizado a partir das espectroscopias FTIR-ATR e Raman e sua composição por meio da análise elementar (CHNS). A estrutura eletrônica e as propriedades coloidais dos OG's obtidos por diferentes tempos de dispersão ultrassônica ou funcionalização (carboxilação) foram determinadas por espectroscopia de absorção UV-vis, medidas de espalhamento dinâmico de luz e fotohipertermia.

OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo geral avaliar a influência de parâmetros reacionais no comportamento fototérmico do OG. Os objetivos específicos são:

- i) Obtenção de amostras de OG a partir da esfoliação mecânica do OGR obtido por diferentes rotas de oxidação;
- ii) Avaliação da influência da estrutura molecular e do tamanho das folhas de OG obtidas sobre o comportamento fototérmico de suas dispersões coloidais.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Óxido de Grafeno (OG)

O grafeno consiste em um cristal atômico bidimensional (2D), com átomos de carbono com hibridização do tipo sp^2 organizados numa cela primitiva tetragonal.³ As contribuições das ligações σ e π entre os átomos da folha conferem um comprimento médio de ligação C-C igual a 0,144 nm.¹¹ A combinação de orbitais atômicos p_x e p_y forma orbitais moleculares simétricos (sp^2), restando um orbital p_z perpendicular à folha com um elétron desemparelhado, cuja mobilidade é maior que no silício intrínseco. A conformação espacial desta folha gera materiais com outras dimensões, como pode ser observado na Figura 1 onde é apresentado alótropos de carbono que são provenientes deste bloco de construção elementar.^{4,12}

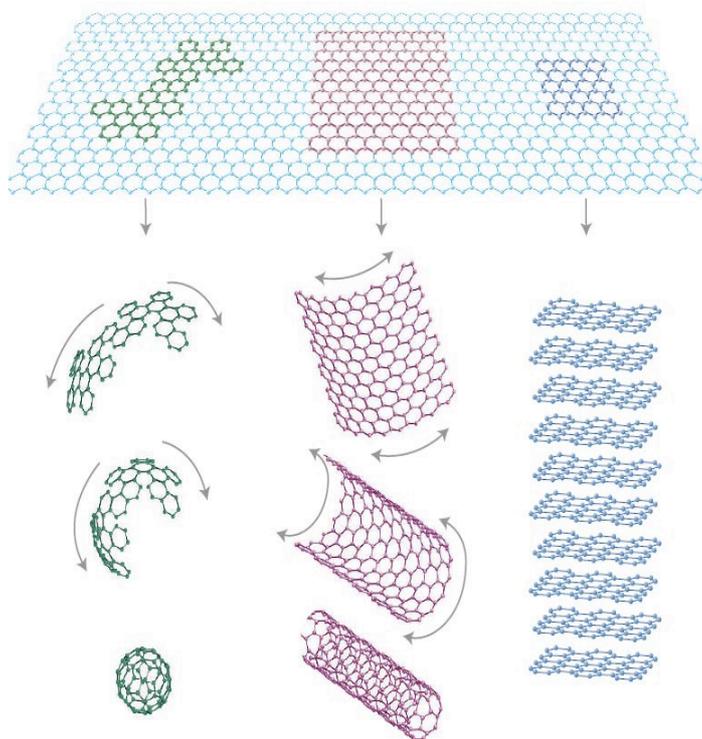


Figura 1. Esquema representativo das conformações espaciais provenientes do grafeno (2D) para a construção de materiais com outras dimensões: empilhados (3D-grafite); embrulhados (1D-nanotubos) ou em esferas (0D-fulereno).⁴

Estratégias que visam à síntese de grafeno processável são objetos de estudos, posto que é um material que possui características ímpares, mas sua obtenção e processamento dependem de infraestrutura de alto custo (por exemplo, plasma-CVD, crescimento epitaxial, etc).⁶ Já o grafeno modificado quimicamente, ou óxido de grafeno (OG), tem como vantagem a solubilidade em solventes comuns, até mesmo água. Isso facilita a deposição de filmes, funcionalização, preparação de nanocompósitos, entre outros, com custo bem menor. Os grupos funcionais introduzidos impedem a aglomeração das folhas e dão origem a alta estabilidade dos coloides a base de OG, assegurada por repulsão eletrostática. O OG é amplamente aplicado como material de partida para materiais de grafeno processável.¹²

A funcionalização da superfície do grafeno pode ser dividida em dois grupos: modificação covalente (i) e não covalente (ii):¹²

- (i) Covalente – substituição nucleofílica; adição eletrofílica; condensação e adição. Pode ocorrer na superfície ou nas extremidades da folha. A hibridização dos átomos de carbono de algumas regiões é alterada para sp^3 concomitantemente com a perda da conjugação eletrônica.
- (ii) Não covalente – fisissorção de moléculas: interações com polímeros e biomoléculas (DNA, peptídeos); adsorção de surfactantes. Natureza eletrostática.

A investigação da separação das folhas de grafite pela instauração de defeitos na rede, a partir da ação de um agente oxidante, teve início com o químico B. C. Brodie. Este cientista britânico observou um aumento da massa de flóculos de grafite, quando este era misturado com clorato de potássio ($KClO_3$) e ácido nítrico (HNO_3) fumegante. O produto final era solúvel em meio aquoso e alcalino, no entanto este comportamento não se repetia em meio ácido. Em virtude disso, ele denominou este material como “ácido grafítico”. Depois de 40 anos, L. Staudenmaier aperfeiçoou o método de Brodie por meio de uma rota sintética em que adicionava $KClO_3$ e H_2SO_4 em pequenas quantidades, durante a reação, ao invés de uma única adição.^{8,13}

Após 60 anos, Hummers e Offeman propuseram um método de oxidação do grafite utilizando permanganato de potássio ($KMnO_4$) na presença de nitrato de sódio ($NaNO_3$), com ácido sulfúrico concentrado.^{7,8} Logo depois, o óxido de grafite (OGR) é

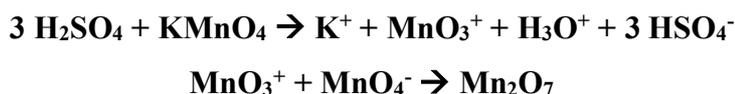
submetido a uma esfoliação mecânica pela ação do ultrassom para o aumento da população de folhas isoladas.

O potencial padrão de redução em meio ácido do permanganato e do clorato são bem próximos, como pode-se observar na Tabela 1. Nota-se que as condições para a preparação de OGR, por estes métodos, envolvem a geração de compostos de natureza tóxica, tais como: NO_2 , N_2O_4 e/ou ClO_2 .^{8,14}

Semi-reação	Potencial Padrão (Volts)
$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	1,51
$\text{ClO}_3^- + 6\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightleftharpoons 1/2 \text{Cl}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$	1,47

Tabela 1. Potenciais padrão de redução das espécies: MnO_4^- e ClO_3^- .¹⁵

No método de Hummers e Offeman, a mistura reacional possui o permanganato de potássio como agente oxidante, todavia a espécie ativa que leva a cabo a reação é o heptóxido de manganês (Mn_2O_7). As reações que demonstram sua formação estão representadas abaixo (Esquema 1). Esta espécie química é mais reativa que o permanganato e quando submetida a uma temperatura superior a 55°C é responsável pela quebra de compostos orgânicos e pode reagir, seletivamente, nas ligações duplas em aromáticos.⁸



Esquema 1. Reações de formação do heptóxido de manganês (Adaptada da ref. 16).

Como já mencionado, o OG pode ser produzido por esfoliação de OGR com agitação ultrassônica de alta potência. As folhas de OG assim obtidas são compostas de regiões com carbonos sp^2 remanescentes do grafite e grupos oxigenados de vários tipos: álcool, carboxila, epóxido, diol, cetona, lactona, entre outros. As estruturas moleculares do OG propostas segundo o modelo de Lef-Klinowski são apresentadas na Figura 2. Nelas, observa-se a presença dos grupos oxigenados no plano grafitico, com e sem os grupos carboxílicos.^{8,12}

Os grupos oxigenados são responsáveis pelo caráter hidrofílico do OG. A distribuição desses grupos rege as interações intermoleculares do OG e conferem solubilidade em meio aquoso e em solventes orgânicos de alta polaridade.^{6,12} Carboxilas e hidroxilas possuem pK_a , aproximadamente, iguais a 4 e 16, respectivamente. Portanto, podem ser desprotonados em meio alcalino e, nessas condições, as dispersões coloidais de OG podem ser preparadas em meio aquoso, com estabilidade eletrostática assegurada pela repulsão entre os grupos superficiais com carga negativa. As vantagens que dizem respeito à produção de grafeno a partir de OGR são o alto rendimento, custo baixo e produção de folhas isoladas que podem ser depositados em uma variedade de substratos.^{20,34}

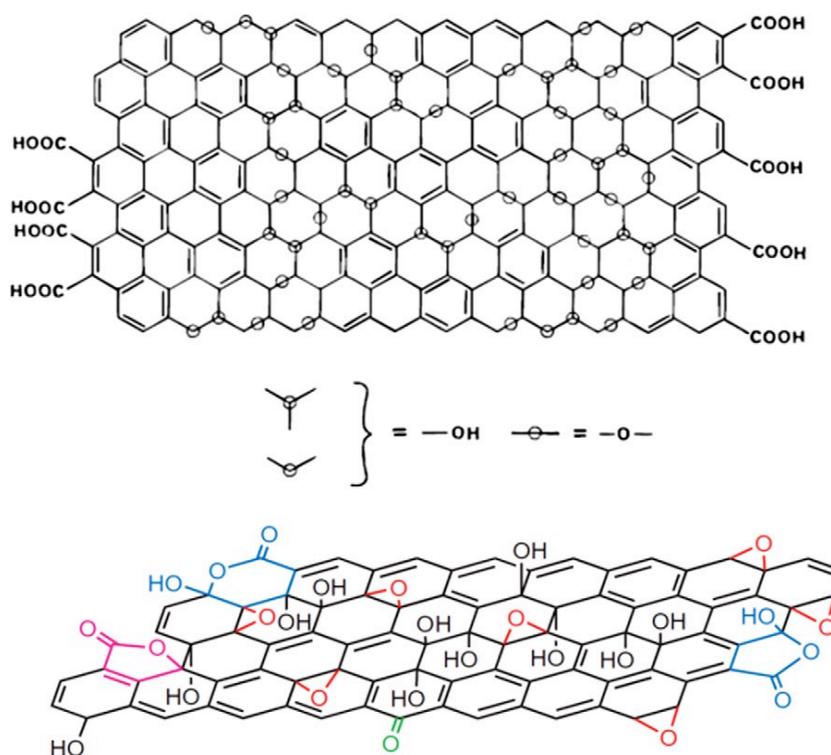


Figura 2. Estruturas propostas para o OG segundo o modelo de Lerf-Klinowski. Na estrutura superior, há grupos ácidos carboxílicos na borda da folha, enquanto na estrutura inferior esses grupos estão ausentes.¹⁹

O emprego deste material está presente em diversos estudos desde a confecção de filmes ultrafinos para produção de dispositivos eletrônicos, até seu uso no desenvolvimento de estratégias para o controle de agentes patogênicos bacterianos.²¹ Ou seja, o OG possui uma extensa aplicabilidade que o torna um material a base de carbono

promissor para aplicações em várias áreas como é observado no número de publicações, com este material, nestes últimos anos. Na Figura 3, é apresentado um gráfico em barras que corresponde a uma pesquisa do termo “*graphene oxide*” nos periódicos publicados no *Science Direct* e no *Web of Science* entre os anos de 2009 e 2017.²² Observa-se que, a cada período, o número de publicações nestas plataformas de circulação de material de cunho científico vem aumentando exponencialmente.

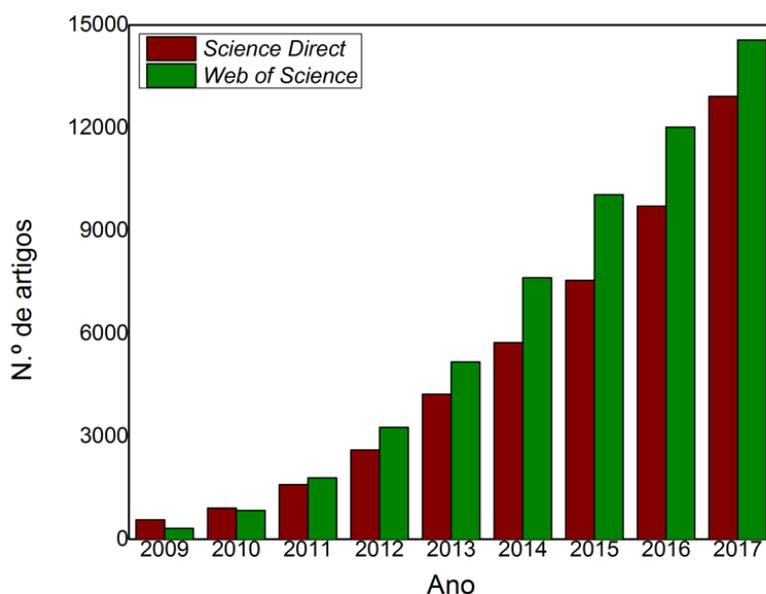


Figura 3. Número de artigos publicados com o termo “*graphene oxide*” nos acervos de periódicos do *Science Direct* e do *Web of Science* no período entre 2009 e 2017.

2.2 Aplicações Biomédicas do Óxido de Grafeno

O OG como mencionado anteriormente consiste em uma folha bidimensional com domínios grafíticos e porções de diversos grupos oxigenados em sua composição. Sua estrutura química, além de conferir uma solubilidade intrínseca em meios polares, também possibilita a ancoragem por meio de seus sítios reativos com outros aglomerados moleculares por ligação química ou por adsorção eletrostática. Esta versatilidade do OG o torna um candidato promissor no desenvolvimento de plataformas com alto potencial em aplicações biomédicas.^{9,10,23}

O OG possui propriedades fundamentais que influenciam no desempenho das interações deste material com estruturas biológicas tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Estas

características são resumidas fundamentalmente em três fatores: tamanho, forma e química de superfície (Figura 4). Sua funcionalização é maximizada por ter uma elevada área superficial atuando como uma plataforma multifuncional de terapia e diagnóstico capaz de combinar várias técnicas em um mesmo sistema molecular, tais como: entrega de fármacos, bioimageamento e reconhecimento celular (Figura 5).⁹

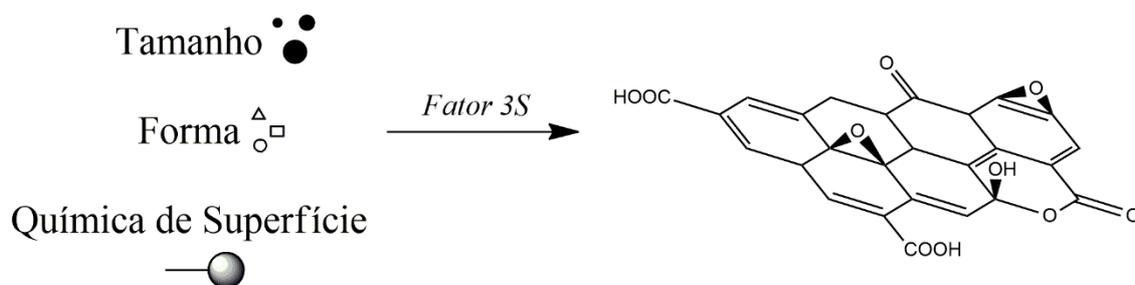


Figura 4. Propriedades de nanopartículas que governam o desempenho da interação com estruturas biológicas (fator 3S).⁹

O OG obtido pelas rotas descritas anteriormente é formado de folhas individuais, estruturas de poucas folhas empilhadas e aglomerados de muitas folhas. Cada folha tem espessura entre 1,0 nm e 1,5 nm e dimensão lateral da ordem de alguns micrometros. Folhas com dimensões inferiores, especialmente abaixo de 500 nm, podem ser obtidas por: agitação ultrassônica por longos períodos, reação em microondas, carboxilação e agitação ultrassônica combinadas, entre outros métodos.^{24,25,26} A esse tipo de amostras é dado o nome de nano óxido de grafeno ou nano-OG.

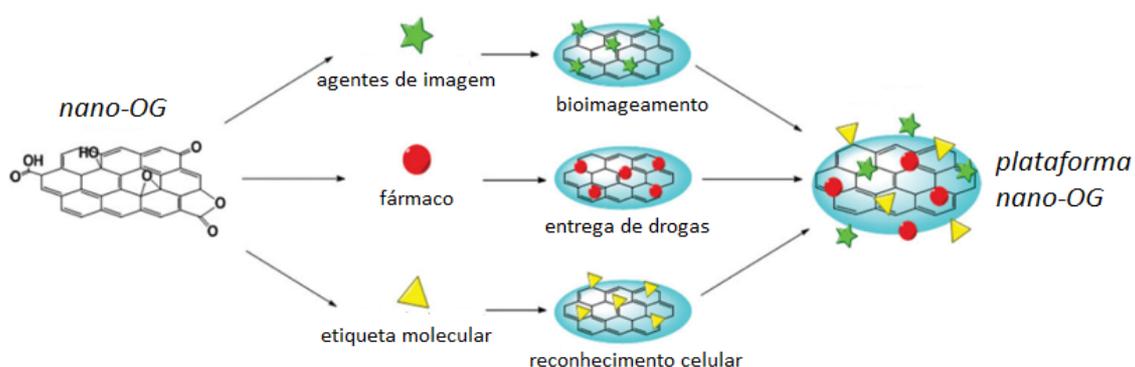


Figura 5. Representação esquemática da funcionalização do nano-OG para obtenção de plataformas multifuncionais. (Adaptada da Ref. 9)

O nano-OG apresenta forte absorção óptica na faixa do NIR que é designada comumente de janela terapêutica. Esta absorção é bastante interessante para sua aplicação na ablação de tumores por hipertemia celular, também conhecida como terapia fototérmica. A terapia fototérmica é uma técnica minimamente invasiva que pode atuar seletivamente em células cancerígenas, desencadeando um aumento de temperatura local e eliminando o tumor por ablação fototérmica. Logo, o nano-OG é um forte candidato para atuar como agente terapêutico antineoplásico.⁹ Um nanosistema ideal a base deste material, por exemplo, consiste em um OG funcionalizado com um fármaco de modo a obter uma combinação de terapia física (fototérmica) simultaneamente com a liberação da droga na célula cancerígena de modo a promover uma terapia mais eficaz para aplicações clínicas.²⁷

O mecanismo de fototermia de nanosistemas a base de grafeno é descrita na literatura como um processo de relaxação molecular não radioativo. Este processo ocorre a partir de excitações eletrônicas opticamente estimuladas que foram transferidas para energia de vibração molecular promovendo o aquecimento. Logo, as folhas atuam como diminutas “antenas NIR” a partir de sua internalização no meio celular.²⁸ Análises espectroscópicas sugerem que o óxido de grafeno reduzido (r-GO) possui uma absorção óptica de até seis vezes maior do que o OG na região do NIR devido à restauração de domínios aromáticos em sua estrutura. Essa característica estrutural está associada diretamente com a eficácia de seu efeito fototérmico em ensaios *in vivo* e *in vitro*.¹⁰ Outro canal de absorção NIR encontrado na literatura para o grafeno quimicamente modificado é a presença de grupos epóxidos (éteres cíclicos) nas extremidades da folha que causam uma indução ressonante pelo movimento de elétrons livres situados na vizinhança do trecho assimétrico C-O-C que representa outro modo dominante de absorção NIR.²⁹

Os grupos hidroxílicos e epóxidos localizados no plano basal bem como os carboxílicos e os cetônicos nas bordas das folhas consistem em sítios oxigenados que podem ser alvos de ancoragem para a incorporação de novos domínios moleculares. Estes sistemas híbridos, além de contribuir para o aumento da biocompatibilidade, irão governar a solubilidade da partícula no meio dispersante. A estabilidade destes materiais de fato se torna um fator essencial, visto que a suspensão coloidal de OG carece de estabilidade em pH fisiológico, para sua futura aplicação. Assim, a componente repulsiva deve preponderar em relação a atrativa para que a coagulação dessas partículas não seja atingida. A principal componente repulsiva deste material é proveniente da

ionização/dissociação de grupos superficiais dando origem à repulsão eletrostática entre partículas com cargas de mesmo sinal, evitando sua agregação.

Destaca-se neste trabalho o estudo de OG's diferentes preparados a partir da alteração de parâmetros reacionais de oxidação do grafite para análise do efeito da estrutura molecular e do tamanho das folhas na absorção da radiação NIR, para sua futura aplicação em dispositivos para indução de hipertermia celular em tratamentos de tumores.

2.3 Esfoliação Mecânica

Além de promover a separação das folhas a agitação ultrassônica também contribui para a cisão lateral do óxido de grafeno. O nível de oxidação da folha é um fator que coopera para o craqueamento destas estruturas, uma vez que a ação de energia mecânica externa resulta em uma carga de tração entre as folhas promovendo esta redução lateral de tamanho.³⁰

A redução do tamanho dessas folhas, a partir do monitoramento do tempo de agitação, pode produzir nano-OG de maneira reprodutível, com dimensão lateral controlável.³¹ Um dos mecanismos propostos na literatura para ruptura das folhas de OG por meio de agitação ultrassônica está representado na Figura 6. Observa-se que os grupos oxigenados presentes na folha são importantes para tal finalidade. Conforme o modelo propõe, a ruptura das folhas ocorre a partir de fissuras em zonas de defeito, ou seja, com carbonos sp^3 dos quais os grupos $-C-OH$ e $O-C-O$ fazem parte. Em seguida a quebra continua à medida que grupos oxigenados são eliminados, a partir da reação com radicais OH^\bullet provenientes da decomposição da água. A alta potência do ultrassom empregada promove um aumento de temperatura e pressão pelo fenômeno de cavitação que é capaz de formar esses radicais, responsáveis por converter os grupos carboxílicos e cetônicos em CO/CO_2 e H_2O . Este mecanismo é denominado de “*Confined Hot Spot Atomic Reduction of GO*” em que os “*hot spots*” são as regiões que possuem os grupos funcionais oxigenados, ou seja, os sítios de reação para o craqueamento da folha.³¹

Como mencionado, o emprego do ultrassom para a esfoliação mecânica do OGR é proveniente de um fenômeno denominado de cavitação. Este processo remete ao efeito sonoquímico que estuda a manifestação da radiação ultrassônica em líquidos.³² A propagação desta radiação promove a compressão e expansão, periódica, das espécies em suspensão. Também conhecido como cavitação, o tratamento gera, aumenta e implode

cavidades (bolhas) de vapor no líquido, cuja energia liberada é capaz de ativar reações químicas como, por exemplo, a formação de radicais hidroxila provenientes da decomposição da água. A evaporação de gases adsorvidos na interface das bolhas com o líquido resulta na expansão da cavidade. O ponto crítico dessa estrutura é atingido quando a cavidade implode despreendendo uma grande quantidade de calor acompanhada de um aumento de pressão em um curto intervalo de tempo.³³

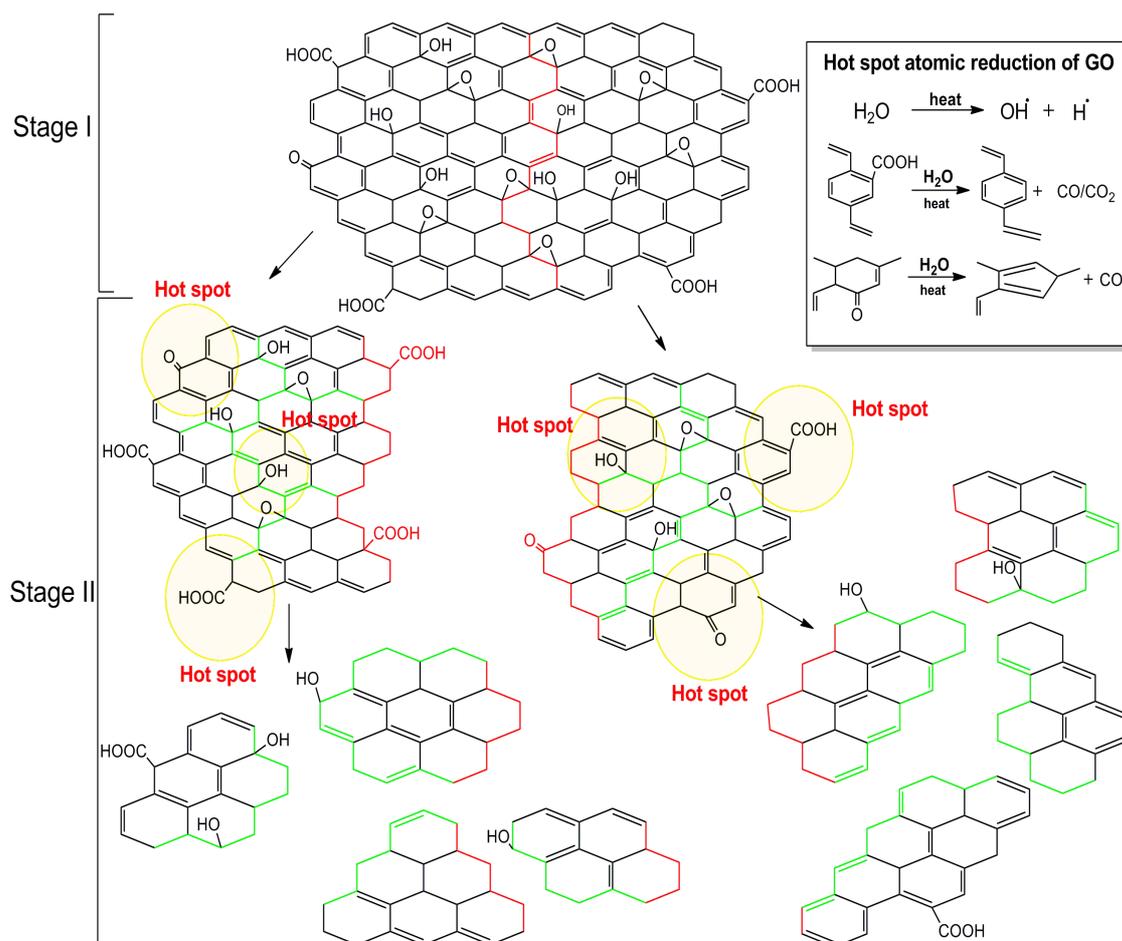


Figura 6. Representação do mecanismo de ruptura das folhas de óxido de grafeno a partir da esfoliação mecânica por agitação ultrassônica, proposta pela literatura.³¹

O aumento de temperatura causado pelo ultrassom em soluções aquosas pode desencadear a formação de radicais hidroxila (OH^\bullet) e átomos de hidrogênio (H^\bullet). O mecanismo proposto na literatura se fundamenta no consumo de OH^\bullet pelos grupos $C=O/COOH$ presentes nas bordas das folhas do OGR/OG, em que a eficiência da reação depende da população desses radicais provenientes da decomposição de moléculas de água confinadas na estrutura.^{33,34}

2.4 Propriedades Coloidais

A caracterização das propriedades coloidais é fundamental para o estudo de suspensões, pois retrata como o ambiente químico influencia na dispersão ou agregação das partículas. A incorporação de ligantes volumosos ancoradas na superfície da partícula e a alteração do pH do meio são fatores que exemplificam condições que podem promover a dispersão do sistema particulado. O óxido de grafeno, por exemplo, possui sítios terminais com grupos carboxílicos ($pK_a \sim 4$) que em regime alcalino são desprotonados dando origem ao caráter negativo da folha resultando em uma suspensão estável assegurada por repulsão eletrostática. As medidas de Potencial Zeta (*Potential Zeta* – PZ) e de Dispersão Dinâmica da Luz (*Dynamic light scattering* – DLS), também conhecida como Espectroscopia de Correlação de Fótons, fornecem dois parâmetros importantes que, ao serem investigados, fornecem informações acerca da estabilidade coloidal e da dimensão das partículas de OG em meio aquoso, respectivamente. As cargas presentes na superfície da partícula governam a distribuição de íons na região interfacial do sistema coloidal atraindo contra-íons, da vizinhança, para a proximidade superficial da espécie molecular. A camada líquida que circunda a partícula pode ser dividida em duas partes: a região interna, denominada de camada de Stern, onde os íons estão fortemente ligados e outra externa onde os contra-íons estão ligados mais fracamente (camada difusa). Logo, forma-se uma dupla camada elétrica nas proximidades de cada partícula. Quando uma espécie química se movimenta, os íons, presentes dentro de um limite de extensão, movem-se também com ela. O limite mencionado é designado como superfície de cisalhamento hidrodinâmico. O potencial elétrico que existe neste extremo é designado como *Potencial Zeta* (ζ).

O sistema descrito é ilustrado na Figura 7. O potencial zeta é determinado a partir da mobilidade eletroforética (U_E) que é medido pela ação de um campo elétrico externo aplicado em uma cubeta com eletrodos, onde se armazena o coloide (Figura 8). Esse parâmetro é utilizado na equação de Henry (Equação 1) para a determinação do Potencial Zeta (PZ).

$$U_E = \frac{2 \varepsilon z f(Ka)}{3\eta} \quad (1)$$

em que U_E é a mobilidade eletroforética; ε : constante dielétrica; η : viscosidade; z : potencial zeta e $f(Ka)$: função de Henry (geralmente é usado dois valores como

aproximações: 1.5 ou 1.0). Neste trabalho foi utilizado o modelo de Smoluchowski para as medidas de ζ , o valor de $f(Ka)$ para esta aproximação é igual a 1,5.⁴⁶

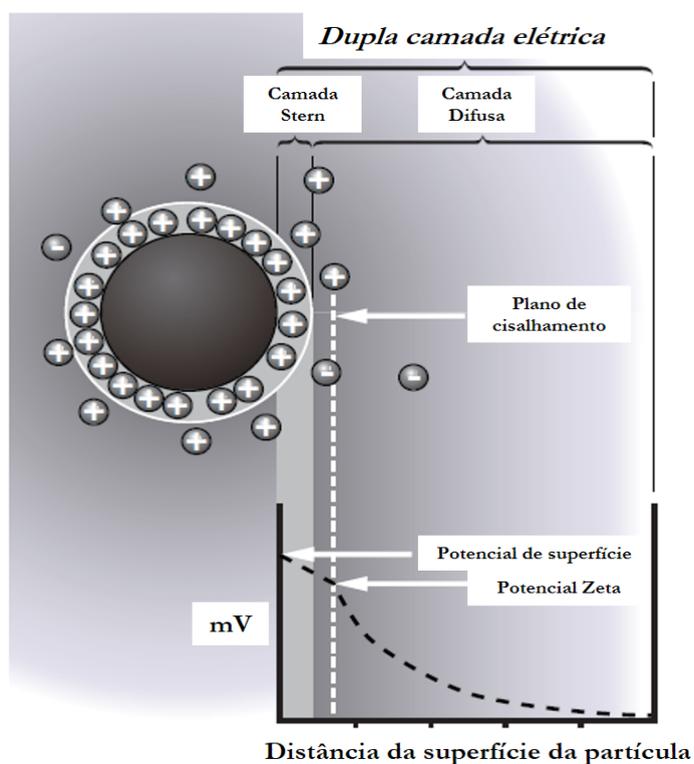


Figura 7. Representação da distribuição de cargas em uma partícula carregada negativamente circundada por contra-íons (cargas positivas) formando uma dupla camada elétrica (Stern + Difusa). O potencial é máximo na superfície da partícula e decai em função da distância. O valor de PZ é indicado como o potencial elétrico do plano de cisalhamento hidrodinâmico (Adaptado da Ref. 45)

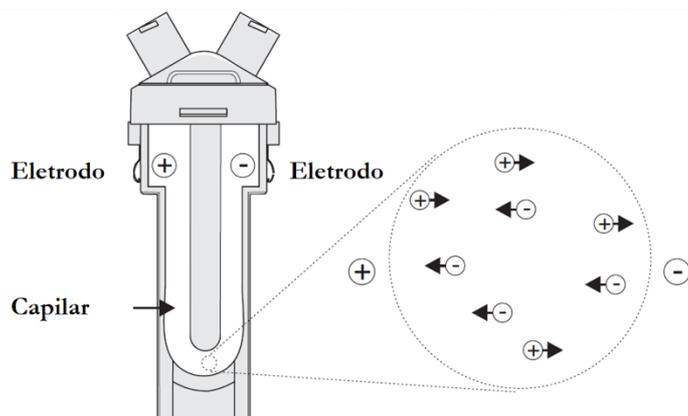


Figura 8. Sistema de micro-eletoforese composto basicamente por uma cela com eletrodos para a medição da mobilidade eletroforética e consequentemente do potencial zeta. (Adaptada da Ref. 45)

A dimensão de partículas em um sistema coloidal pode ser investigada por Espectroscopia de Correlação de Fótons – PCS que relaciona o movimento browniano (velocidade das partículas) com o seu tamanho. Este parâmetro é obtido incidindo um laser no coloide e analisando as flutuações de intensidade da luz espalhada em um certo ângulo. O valor do diâmetro hidrodinâmico (DH), ou diâmetro efetivo, leva em conta os contra-íons e a camada de hidratação que circunda a partícula. A partir da equação de Stokes-Einstein (Equação 2) é possível inferir que quanto maior for a temperatura, maior será o coeficiente de difusão translacional, em virtude do movimento browniano ser maior. Grandes partículas se movem lentamente, enquanto partículas menores se movem mais rapidamente.

$$D_T = \frac{k T}{3 \pi \eta DH} \quad (2)$$

em que D_T representa o coeficiente de difusão translacional; k : constante de Boltzmann; T : temperatura; η : viscosidade do solvente e DH : diâmetro hidrodinâmico (ou efetivo).

A flutuação na intensidade de espalhamento é analisada com base em interferências construtivas e destrutivas da luz, ou seja, à medida que as partículas se movimentam, o equipamento mede a taxa de flutuação e utiliza para calcular a distribuição de tamanho da partícula por meio de um software específico.^{45,48}

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Nitrato de sódio (NaNO_3); ácido sulfúrico ($\text{H}_2\text{SO}_4/98\%$); permanganato de potássio (KMnO_4); hidróxido de amônio ($\text{NH}_4\text{OH}/35\%$); ácido cloroacético ($\text{C}_2\text{H}_3\text{ClO}_2$) foram obtidos da Vetec-Sigma e utilizados sem purificação adicional.

Peróxido de hidrogênio ($\text{H}_2\text{O}_2/35\%$); ácido clorídrico ($\text{HCl}/38\%$) e hidróxido de sódio (NaOH) foram obtidos pela Dinâmica - Química Contemporânea. O grafite em flocos ($0,45\mu\text{m}$) e o pentóxido de fósforo (P_2O_5) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich.

O persulfato de amônio ($[\text{NH}_4]_2\text{S}_2\text{O}_8$) foi obtido pela Carlos Erba. As membranas de diálise de acetato de celulose (corte de massa molar: $12000\text{-}16000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) foram obtidas pela Interlab Distribuidora de Produtos Científicos. As suspensões de OG foram preparadas com água ultrapura com resistividade e condutividade iguais a $18,2\text{ M}\Omega\text{cm}$ e $2,1\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, respectivamente.

3.2 Métodos para síntese de OGR

Neste trabalho foram produzidos três tipos de óxido de grafite (OGR) por meio de rotas distintas de oxidação (Figura 9). O grafite, previamente macerado, foi submetido à esfoliação oxidativa em meio ácido formando, ao final do processo, uma pasta com aspecto amarronzado. As interações de van der Waals que uniam as folhas do grafite são rompidas para a introdução de grupamentos oxigenados na estrutura laminar. A pasta de OGR obtida em cada rota foi separada e lavada com HCl diluído.

Ao final, uma parte da pasta foi dispersa em água ultrapura com um auxílio de um ultrassom de ponteira (Sonifer 450, 20kHz – 400W), produzindo folhas isoladas por esfoliação mecânica. Este material formado é denominado de óxido de grafeno – OG.

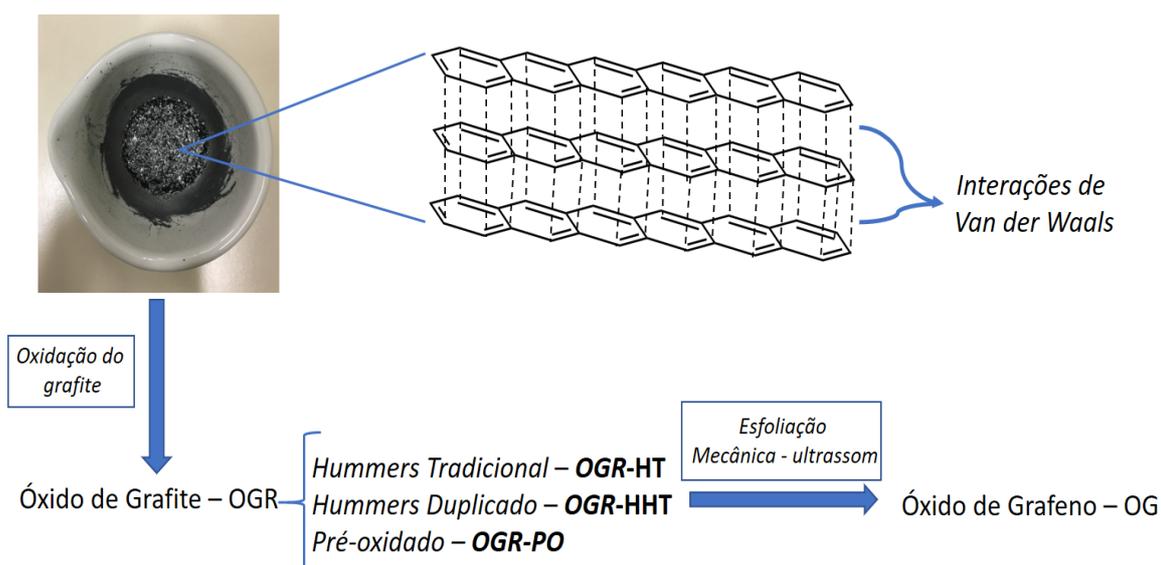


Figura 9. Esquema simplificado das rotas de produção de OGR a partir da oxidação do grafite e sua posterior esfoliação mecânica formando o óxido de grafeno – OG.

3.2.1 Hummers Tradicional

A Figura 10 apresenta o fluxograma utilizado para a síntese do óxido de grafite segundo o método de Hummers e Offeman que será identificado, neste trabalho, pela sigla OGR-HT.⁷

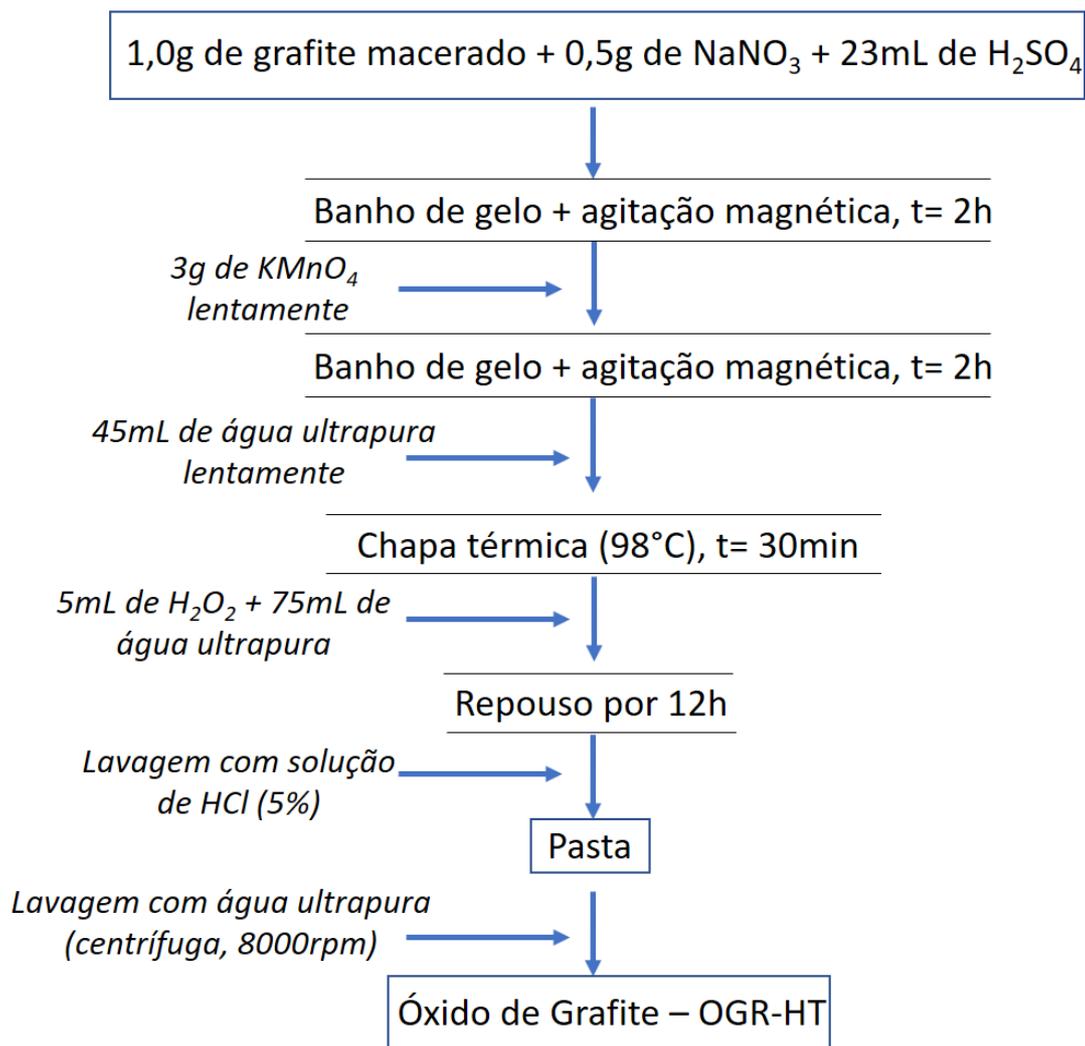


Figura 10. Fluxograma da síntese do óxido de grafite pelo método de Hummers e Offeman, OGR-HT.

Na primeira etapa, o grafite foi macerado com o auxílio de um almofariz e pistilo e em seguida misturado com NaNO₃. A mistura reacional foi transferida para um erlenmeyer e imerso em um banho de gelo. Em seguida, foi adicionado o ácido sulfúrico lentamente à mistura, mantida sob agitação magnética. Após a adição do ácido, a mistura foi conservada em banho de gelo com agitação por 2 h. Depois deste intervalo, o KMnO₄ foi adicionado, lentamente, e a mistura resultante foi mantida em banho de gelo e agitação por mais 2 h. A mistura foi então removida do banho de gelo para a adição de água ultrapura lentamente. Esta adição elevou a temperatura do sistema que foi mantida até 98°C, por mais 30 minutos, com o auxílio de uma chapa térmica. Posteriormente, foi adicionado H₂O₂ e água ultrapura. A agitação magnética foi desligada e a mistura final

reservada ao abrigo da luz por 12h. Ao final foi observado um material decantado amarronzado com consistência pastosa. O sobrenadante foi descartado e o sólido lavado com uma solução diluída de ácido clorídrico (5%). A mistura foi homogeneizada e em seguida reservada ao abrigo da luz por 24 h para a decantação natural. Depois da lavagem com ácido clorídrico, a pasta foi lavada várias vezes com água ultrapura. Quando observada a distinção de fases, o sobrenadante, amarelado, foi descartado.

Após cinco ciclos de lavagens por decantação natural, adotando o procedimento de homogeneização da mistura e espera da distinção de fases, o sólido final foi transferido para tubos tipo falcon (50 mL) com água ultrapura. Imediatamente, os lotes foram centrifugados para minimizar o tempo de decantação. A centrífuga refrigerada (HERMLE, modelo Z32HK) operou a 25°C com rotação de 8000 rpm por tempo máximo de 60 min para cada ciclo.

Uma parte desta pasta foi seca com o auxílio de uma chapa térmica e alocada, em seguida, em uma estufa (100°C) por 24h. Da massa final, do material seco, uma parte foi destinada para as caracterizações estruturais (FTIR-ATR; CHNS; Raman) e o restante para a síntese do OGR-HHT.

Uma porção da pasta úmida de óxido de grafite (OGR-HT) foi transferida para um béquer com água ultrapura (30-40 mL) para sua dispersão. O equipamento utilizado foi um ultrassom de ponteira que operou por 4 h em modo pulsado (1 s ligado/1 s desligado) com uma amplitude de 20% (80 W). Após esse tratamento, a suspensão de OG-HT foi centrifugada e o sobrenadante reservado (OG). O coloide final obtido foi transferido para sacos de diálise com o objetivo de eliminar os íons remanescentes da síntese do OGR na etapa de purificação. O material foi dialisado por sete dias com troca, a cada 24h, do meio dialisante (água destilada). A concentração da suspensão de OG-HT foi determinada, ao final, por gravimetria.

3.2.2 Hummers Duplicado

A segunda metodologia empregada para a síntese do OGR foi a oxidação com permanganato de potássio, em meio ácido, da amostra seca de OGR-HT. Nota-se que o material de partida é o OGR que foi descrito no tópico anterior. Este OGR foi denominado de Hummers Duplicado, identificado pela sigla OGR-HHT.³⁵

Optou-se por empregar a mesma relação estequiométrica de grafite/permanganato nas duas oxidações. O fluxograma apresentado na Figura 11 descreve os passos da síntese da amostra OGR-HHT.

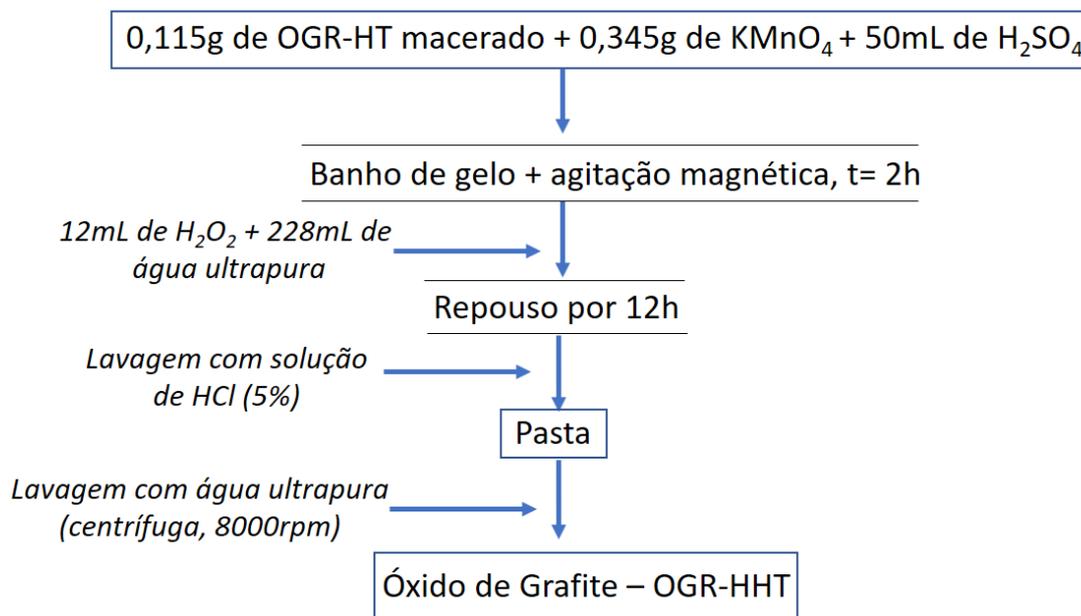


Figura 11. Fluxograma da síntese do óxido de grafite duplicado, OGR-HHT.

O OGR-HHT obtido após a segunda oxidação foi isolado e purificado (centrifugação/diálise) da mesma forma que o OGR-HT. Uma parte da pasta foi seca nas mesmas condições empregadas anteriormente. Prontamente, uma porção do material seco foi destinado para a produção de óxido de grafeno, OG-HHT, sob as mesmas condições de agitação ultrassônica anteriores, modificando apenas a amplitude para 38% (152 W). No entanto, para este OGR, foram preparadas quatro suspensões coloidais, variando-se o tempo de agitação ultrassônica (OG-HHT-1h/2h/3h/4h). A concentração final de cada suspensão de OG-HHT foi determinada também por gravimetria.

3.2.3 Hummers com Pré-Oxidação

Neste método foi empregado primeiramente uma pré-oxidação do grafite com pentóxido de fósforo (P_2O_5) e persulfato de amônio ($[NH_4]_2S_2O_8$), em meio ácido. O produto deste tratamento gerou o grafite pré-oxidado (G_R-PO) que em seguida foi utilizado como material de partida para a oxidação propriamente dita com íons

permanganato em meio ácido (método de Hummers).^{7,35} Esta amostra de OGR foi denominada de óxido de grafite pré-oxidado, identificado pela sigla OGR-PO. Esta rota foi encontrada na literatura para a produção de nano-coloides de OG.^{35,36} O fluxograma da Figura 12 ilustra as etapas de obtenção da amostra OGR-PO.

O $[\text{NH}_4]_2\text{S}_2\text{O}_8$ em uma mistura com ácido sulfúrico e anidrido de ácido fosfórico (P_2O_5) forma uma solução oxidante forte que foi responsável pela pré-oxidação do grafite.³⁷

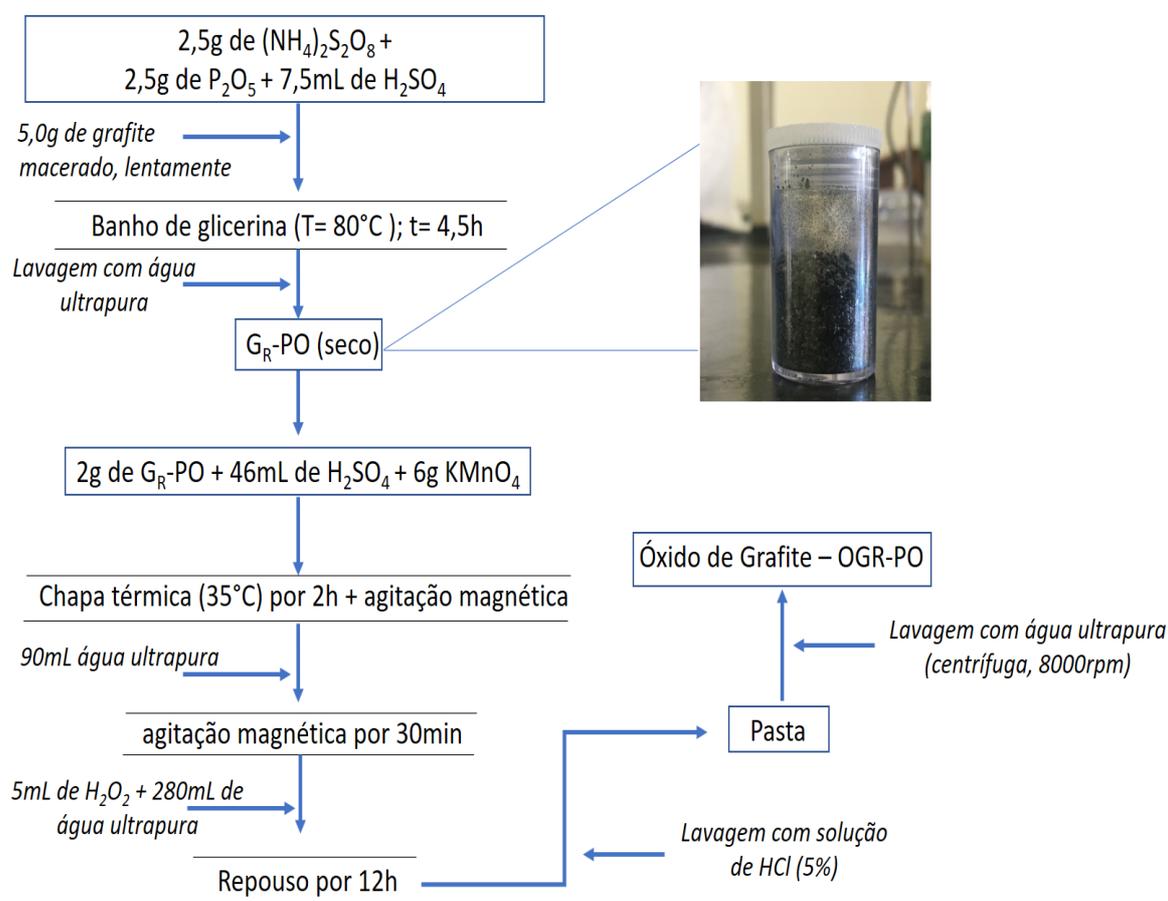


Figura 12. Fluxograma da síntese do óxido de grafite com pré-oxidação, OGR-PO.

Primeiramente, misturou-se as massas de $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ e P_2O_5 com H_2SO_4 (98%) em um erlenmeyer. O frasco com a mistura foi imerso em um banho de glicerina a uma temperatura de 80°C . Em seguida, o grafite macerado foi adicionado aos poucos. Após 4,5 h a mistura reacional foi removida da fonte de calor, cujo produto final consistiu no grafite pré-oxidado ($\text{G}_R\text{-PO}$). Este produto foi lavado com água ultrapura adotando o procedimento de homogeneização da mistura e espera da distinção de fases

líquido/sólido. O sobrenadante foi descartado, após oito ciclos de lavagem, e o sólido (G_R -PO) foi alocado em uma estufa (100°C) por 24h. Seu aspecto final está ilustrado na Figura 12. Uma parte seca do G_R -PO foi macerada e misturada com permanganato e ácido sulfúrico. A mistura reacional foi submetida a uma temperatura de 35°C por 2 h com agitação magnética. Depois deste intervalo, foi adicionado água ultrapura ao sistema na ausência da fonte de calor, permanecendo com a agitação. E, só depois de 30 min, foram adicionados o peróxido de hidrogênio e a água. Ao final, uma pasta amarronzada e típica de óxido de grafite foi obtida. A pasta foi lavada com uma solução diluída de ácido clorídrico (10%) e quando foi observado um sistema bifásico, o sobrenadante era descartado. Depois desta etapa, a pasta foi lavada exaustivamente com água.

O OGR-PO foi isolado e purificado da mesma forma que o OGR-HT. O produto final foi separado em duas partes, a primeira porção foi seca e alocada em um dessecador com sílica-gel e o restante transferido para um frasco com um pouco de água ultrapura (100 mL). O preparo do óxido de grafeno deste OGR foi realizado a partir do material seco e do sólido úmido, isto é, foram produzidos dois lotes variando-se o tempo de agitação ultrasônica: (1) a partir do material seco de OGR-PO (OG-PO-1h/2h/3h/4h); (2) e a partir da pasta úmida de OGR-PO (OG-PO-1hU/2.5hU). A concentração final de cada suspensão foi determinada por gravimetria.

A Figura 13 ilustra um fluxograma simplificado que resume as rotas de oxidação que foram adotadas para a síntese dos OGR neste trabalho. A oxidação α diz respeito ao emprego do nitrato de sódio e do permanganato de potássio como agentes oxidantes para a esfoliação química do grafite (Hummers Tradicional). Enquanto a oxidação β está relacionada apenas com o uso do permanganato de potássio, em meio ácido, conforme podemos observar nas etapas de produção de OGR pelos métodos: Hummers Duplicado (OGR-HHT) e Pré-oxidado (OGR-PO). Todos os OGR's foram dispersos em água ultrapura por meio do uso de um ultrassom de ponteira (Sonifer 450, 45kHz), com um intervalo de tempo pré-determinado, produzindo o seu respectivo óxido de grafeno (OG).

O protocolo para a oxidação do grafite possui vários parâmetros reacionais que interferem de maneira significativa na estrutura molecular do produto. A reprodutibilidade deste método fica comprometida, visto que rotas de oxidação distintas não convergem para materiais com similaridade estrutural. O simples fato de mudar a condição de alguma das etapas ou mesmo alterar a relação estequiométrica de um dos reagentes (excesso de permanganato, por exemplo) pode converter o grafite para um OGR

com propriedades distintas ao analisar materiais de diferentes bateladas. Uma evidência espectroscópica que revela a diferença estrutural de amostras de óxido de grafeno é o coeficiente de absorvidade que consiste em um parâmetro intrínseco de cada material e pode ser obtido a partir da equação de Beer-Lambert.

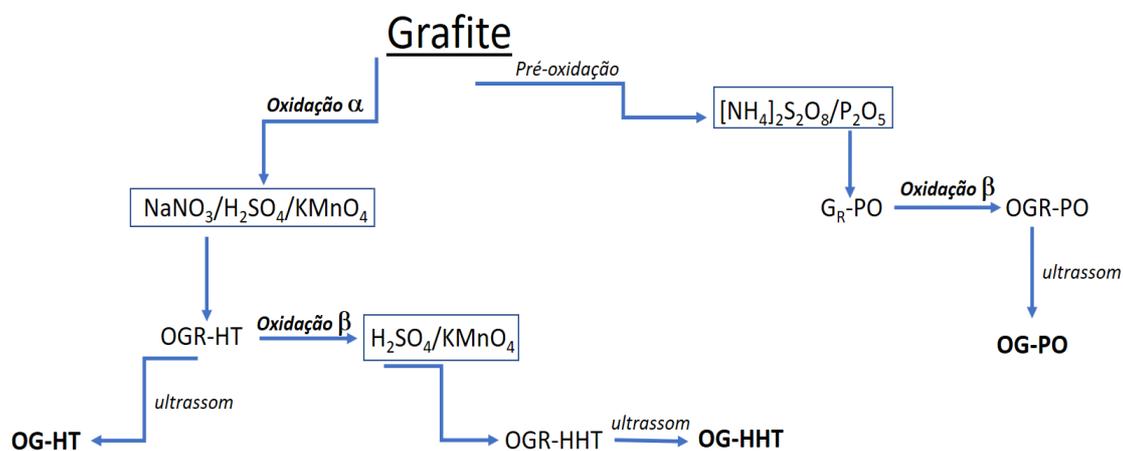


Figura 13. Fluxograma representando as rotas de oxidação do grafite para a síntese de OGR.

Os valores de concentração dos coloides de óxido de grafeno (OG) preparados pelos métodos descritos anteriormente estão expressos na Tabela 2.

Amostra	Concentração (g.L ⁻¹)
<i>OG-HT4</i>	1,00
<i>OG-HHT1</i>	0,16
<i>OG-HHT2</i>	0,18
<i>OG-HHT3</i>	0,34
<i>OG-HHT4</i>	0,42
<i>OG-PO1</i>	0,20
<i>OG-PO2</i>	0,34
<i>OG-PO3</i>	0,46
<i>OG-PO4</i>	0,32
<i>OG-PO1U</i>	0,66
<i>OG-PO2.5U</i>	2,14

Tabela 2. Dados de concentração dos coloides de óxido de grafeno que foram produzidos pela esfoliação mecânica do seu respectivo OGR (HT, HHT e PO).

3.3 Óxido de Grafeno Carboxilado: OG-COOH

Os óxidos de grafeno obtidos pelos métodos OG-HT4 e OG-PO2.5U foram funcionalizados por meio da reação com ácido cloroacético em meio alcalino. Esta rota sintética está presente na literatura para a funcionalização das folhas de OG pela introdução de mais grupos carboxílicos em sua estrutura^{25,26}. O aumento da população destes grupos funcionais promove uma superfície mais hidrofílica, capaz de ancorar outros grupamentos a partir de ligações químicas ou por interações intermoleculares (natureza eletrostática) com outros aglomerados moleculares. Esta funcionalização pode ser classificada como covalente/não-covalente, conforme foi discutido no referencial teórico, respectivamente. Um esquema simplificado desta reação, encontrado na literatura, é ilustrado na Figura 14.

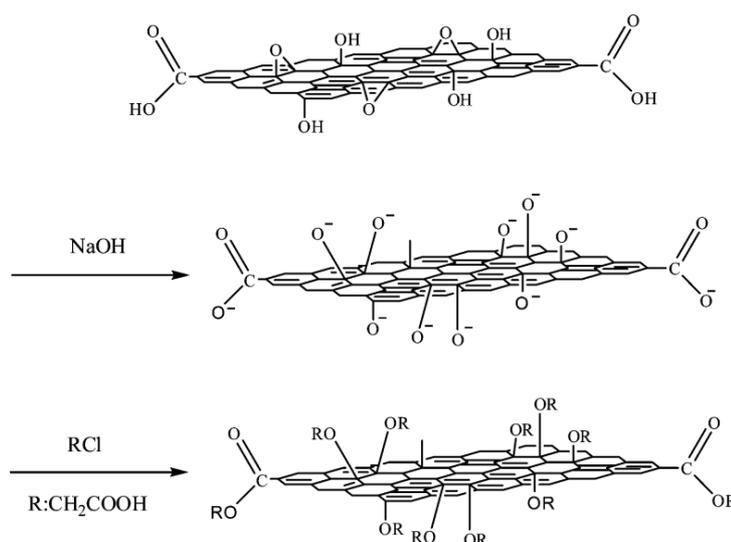


Figura 14. Esquema da reação de carboxilação de óxido de grafeno (OG-COOH): (1) desprotonação dos grupos -OH e -COOH em meio alcalino; (2) adição do grupo R:CH₂COOH nas extremidades e no plano basal da folha de OG.²⁵

3.3.1 Síntese de OG-HT-COOH

O primeiro material de partida para a funcionalização consistiu em um coloide do tipo OG-HT4 (1,0 g.L⁻¹). Este OG foi escolhido, pois consiste no coloide proveniente da metodologia mais simples de OGR preparado neste trabalho (HT) e que apresentou uma

alta estabilidade, avaliada a partir do potencial zeta. O volume de OG-HT foi dividido em duas porções. A primeira porção foi funcionalizada a quente em banho de glicerina ($T \approx 45^\circ\text{C}/t = 4\text{ h}$), enquanto a segunda porção foi funcionalizada com o emprego do ultrassom de ponteira que operou por 2 h em modo pulsado (2 s ligado/2 s desligado) com uma amplitude de 70%. Após as 4 h de reação em banho térmico o produto foi submetido a agitação ultrassônica.

Ao final ambas amostras foram purificadas por meio de diálise durante sete dias, com troca do meio dialisante (água destilada) a cada 24 h. O protocolo da síntese dos produtos está ilustrado na Figura 15. As concentrações das amostras OG-HT-COOH-B (banho térmico) e OG-HT-COOH-S (agitação ultrassônica simultânea) foram determinadas por gravimetria (Tabela 3). As quantidades utilizadas são diferentes para cada fluxograma devido à praticidade do tratamento de um maior volume na agitação ultrassônica.

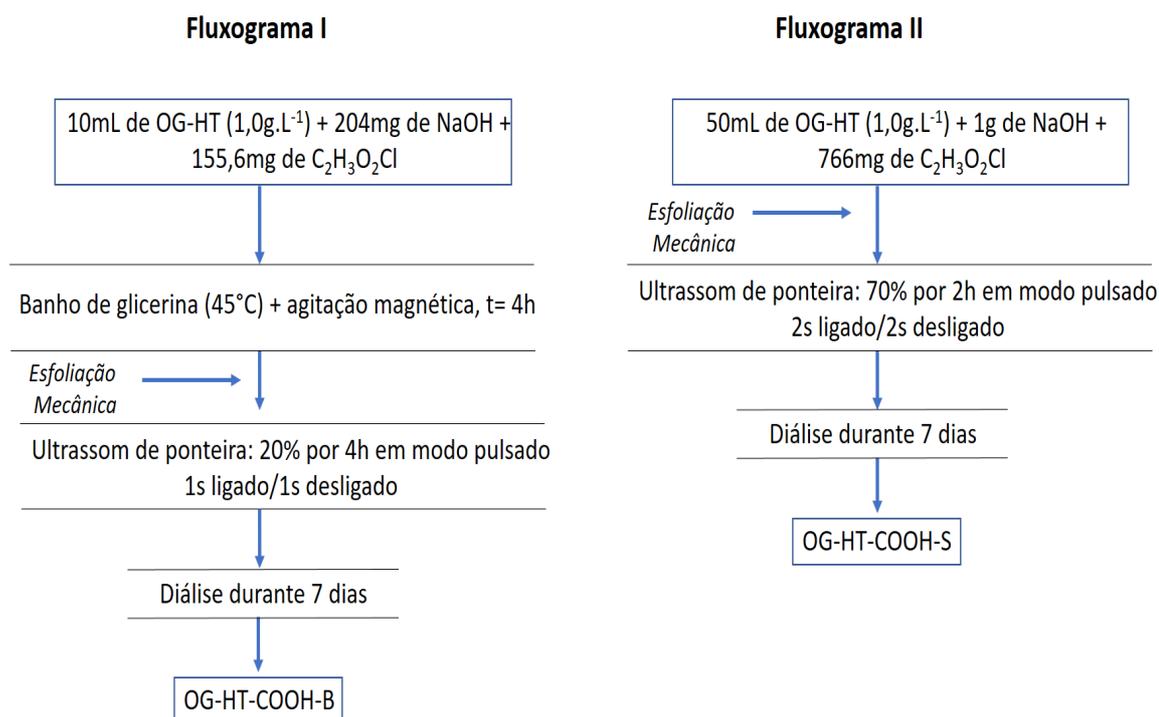


Figura 15. Fluxogramas de preparo de OG-COOH com duas condições: Fluxograma I que corresponde as etapas de preparação do OG-COOH em banho térmico (B) e o Fluxograma II consiste na reação de funcionalização acompanhada, simultaneamente, com a esfoliação mecânica (S).

AMOSTRA	Concentração (g.L ⁻¹)	pH (± 0,01) T= 25°C
<i>OG-HT-COOH-S</i>	0,50	4,14
<i>OG-HT-COOH-B</i>	0,86	4,85

Tabela 3. Dados de concentração e pH dos coloides de óxido de grafeno (OG-HT) funcionalizados: dentro do ultrassom (OG-HT-COOH-S) e submetido ao banho térmico (OG-HT-COOH-B).

3.3.2 Síntese de OG-PO-COOH

O segundo material de partida utilizado para a preparação do OG-COOH consistiu em um óxido de grafeno pré-oxidado (OG-PO). Neste caso, a amostra OG-PO-2.5U foi escolhida, pois, além de ser proveniente do OGR que possui apenas uma etapa de oxidação com permanganato, o seu coloide exibiu uma alta estabilidade.

A funcionalização deste OG foi conduzida apenas pela condição mencionada no Fluxograma II (Figura 15). Ou seja, neste método foi aplicada exclusivamente a reação de carboxilação acompanhada, simultaneamente, com a esfoliação mecânica (OG-PO-COOH-S). Observou-se que ao decorrer da síntese, a temperatura da água de arrefecimento estava próxima à condição empregada no banho de glicerina, isto é, aproximadamente 45°C. Este monitoramento foi realizado registrando a temperatura em um intervalo de tempo fixo com o auxílio de um termômetro digital.

A Figura 16 ilustra o gráfico deste monitoramento, com dois ciclos de 30 minutos de agitação ultrassônica (70%/280 W). O ciclo 1 está relacionado aos valores de temperatura da água de arrefecimento na janela de 0-30 min. (vermelho) e o ciclo 2 corresponde aos 30 min. restantes (verde). Nota-se que o gráfico apresenta um comportamento assintótico para um valor de T ~ 45°C. Foi realizada uma pausa de cinco minutos durante o tratamento ultrassônico devido o superaquecimento e a possível degradação da ponteira da sonda durante o uso prolongado com uma alta potência.

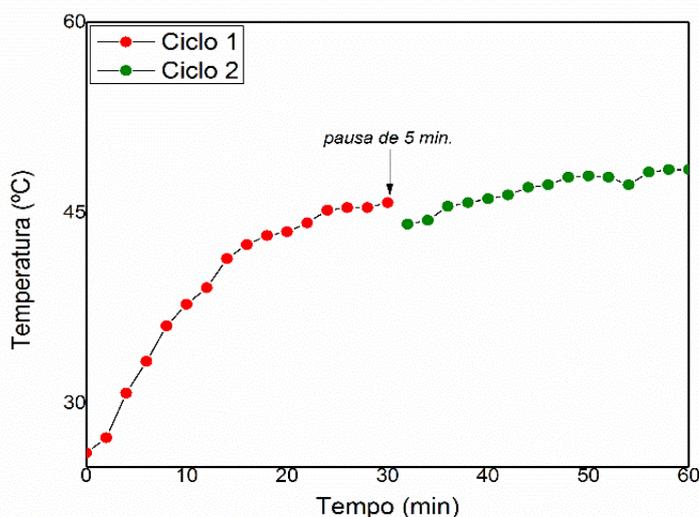


Figura 16. Variação da temperatura da água de arrefecimento durante a reação de carboxilação da amostra OG-PO (1 g.L^{-1}), quando submetida a esfoliação mecânica.

A amostra OG-PO-2.5U foi transferida para um béquer juntamente com o hidróxido de sódio e o ácido cloroacético. A mistura reacional foi submetida à agitação ultrassônica durante 1 h em modo pulsado (2 s ligado/2 s desligado) com uma amplitude de 70%. A Figura 17 ilustra o fluxograma para a síntese da amostra OG-PO-COOH-S. Sua concentração final, determinada por gravimetria, foi de $1,06 \text{ g.L}^{-1}$, com $\text{pH} = 4$.

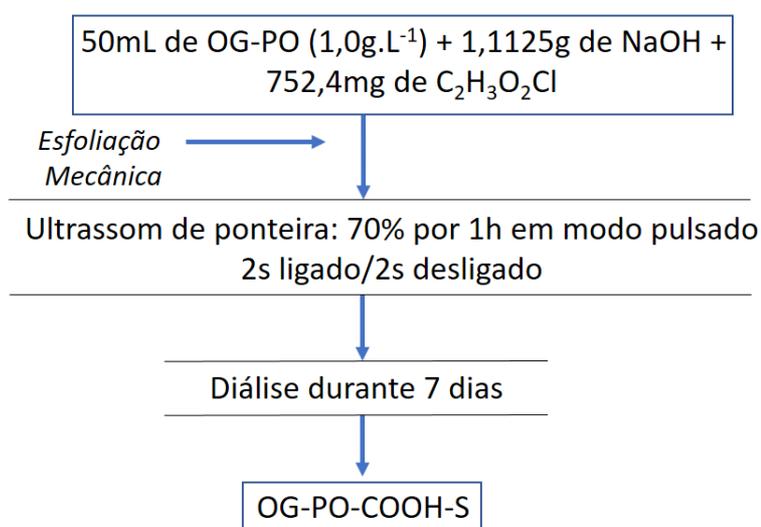


Figura 17. Fluxograma da síntese do OG-PO-COOH-S a partir da funcionalização do OG-PO acompanhada, simultaneamente, com a esfoliação mecânica (S).

3.4 Instrumentação

Os equipamentos empregados para as caracterizações coloidal, fototérmica e coloidal dos materiais obtidos são listados abaixo:

- A caracterização fototérmica de todos os coloides preparados neste trabalho foi realizada num sistema construído em laboratório, localizado no Laboratório de Instrumentação em Física Aplicada do Instituto de Física da UnB (LSIFA/IF-UnB). Basicamente, esse sistema consiste na incidência de fótons de baixa energia (laser, 808 nm) direcionada para a suspensão coloidal de OG e um termopar imerso para o registro de ΔT , conforme mostrado na Figura 18. Nota-se que, na parte superior da Figura 18, encontra-se um retrato frontal do equipamento utilizado para aquisição das curvas de temperatura indicando as posições do laser, do termopar e o sistema de coolers para o arrefecimento da fonte de excitação (a). Enquanto que, na parte inferior, há uma ampliação da imagem, que evidencia a microplaca contendo as amostras (b) e a suspensão submetida à radiação eletromagnética, emitida pelo laser (c). O registro de temperatura detectado pelo termopar é automatizado por um software específico. O laser foi ligado em uma fonte externa que operou com um potencial de 5,73 V e uma corrente de 2,36 A, aproximadamente.

Este estudo preliminar teve como objetivo verificar se as amostras preparadas apresentavam algum potencial em terapia fototérmica. Logo foi empregado um comprimento de onda de excitação na faixa do infravermelho próximo (NIR) que é designado, comumente, na literatura como janela terapêutica em estudo de materiais, a base de carbono, para este tipo de aplicação biomédica.

Alíquotas de 200 μL de cada suspensão foram transferidas para uma microplaca de 96 poços e, então, irradiadas com laser com uma fluência de $230 \pm 0,5 \text{ mW.cm}^{-2}$ que foi medido previamente com um auxílio de um *power meter*. Cada poço foi irradiado por um tempo determinado e a variação de temperatura induzida foi monitorada a cada 3 segundos por meio de um termopar tipo K imerso na suspensão, totalizando ao final da aquisição, 210 pontos. As medidas foram realizadas em duplicata e, ao final, foi extraída a média dos valores. A amostra ficou a uma distância de 160mm do laser. O termopar foi direcionado longe do ponto de incidência do laser para minimizar erros no registro da temperatura proveniente do aquecimento do fio (Figura 18-c). A água ultrapura foi utilizada como controle e apresentou uma condutividade e resistividade iguais a 2,1 $\mu\text{S.cm}^{-1}$ e 18,2 $\text{M}\Omega\text{cm}$, respectivamente.

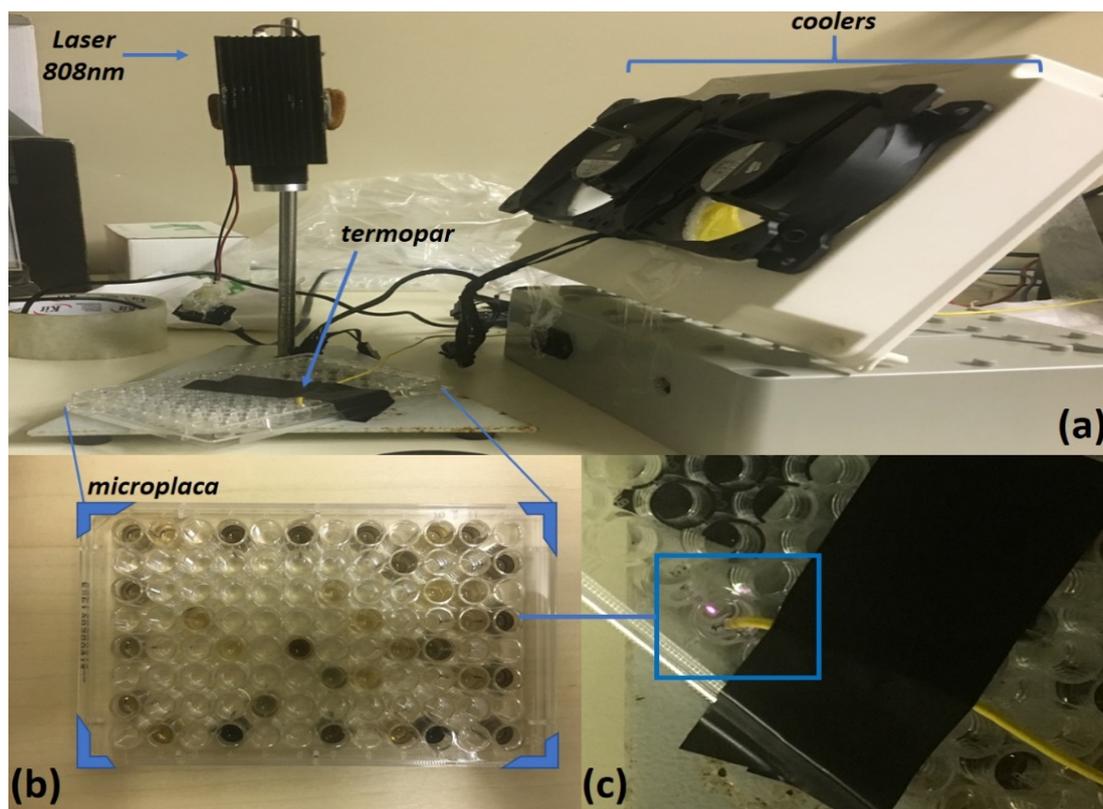


Figura 18. Aparato experimental para análise fototérmica. (a) imagem frontal do sistema com a presença da fonte de excitação (laser, 808 nm), termopar e coolers. (b) imagem da microplaca, em polietileno, com as amostras de OG. (c) imagem ampliada de um poço evidenciando a interação da radiação NIR com o OG enquanto o termopar, fixo, registra os valores de ΔT .

Os coloides preparados para estes ensaios de fototerapia possuem concentrações entre $5,6-112\mu\text{g.mL}^{-1}$, este intervalo se encontra dentro das concentrações que a literatura aborda para estudos de curvas de aquecimento com materiais a base de óxido de grafeno.^{9,10,23}

- Zeta/Sizer. Marca: Malvern. Modelo: Nano – ZS90. O potencial zeta (ζ) foi determinado utilizando o modelo de Smoluchowski, em modo automático, com no máximo 100 corridas para cada medida (3) empregando inicialmente um tempo de 60 segundos para estabilização do equipamento. As medidas de DH seguiram as mesmas condições de aquisição descritas anteriormente, com um detector responsável por medir a luz espalhada localizado a 90° da amostra (ZS90), com $\lambda = 633 \text{ nm}$.

- Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier, modo de reflexão total atenuada (ATR-FTIR) (IV-FT). Marca: Bruker. Modelo: Vertex 70V. Janela de aquisição de $4000-900 \text{ cm}^{-1}$. Resolução: 1 cm^{-1} . 48 scans por amostra.

- Espectrômetro micro Raman Jobin Ivon, T64000. Comprimento de onda de excitação do laser: 514 nm. Janela de aquisição de 1000-3000 cm^{-1} . Lente: 20x. Aquisições: 4. Potência: 1,67 mW. Tempo: 200 s. Resolução: 0,1 cm^{-1}
- Analisador elementar (CHNS). Marca: Perkin Elmer. Modelo: EA 2400 Series II.
- Espectrofotômetro ultravioleta-visível e infravermelho próximo (UV-vis-NIR). Marca: Varian. Modelo: Cary 5000. Janela de aquisição de 200-800 nm (feixe duplo). Resolução: 0,05 nm; velocidade de varredura= 10 $\text{nm}\cdot\text{s}^{-1}$
- Purificador de água Mili-Q. Marca: Merck Milipore. Modelo: Direct 8.
- Ultrassom de ponteira. Marca: Branson. Modelo: Sonifer 450 (400 W). Operando em modo pulsado (1-2s ligado/desligado), com uma amplitude entre 20-70% da potência máxima do equipamento.
- Centrífuga refrigerada. Marca: LOBOV. Modelo: Z 32 HK. O equipamento foi utilizado com as seguintes condições: $T= 25^{\circ}\text{C}$; 8000 rpm.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E NÍVEL DE OXIDAÇÃO DAS AMOSTRAS DE OGR

Neste tópico serão apresentados e discutidos os espectros de ATR-FTIR e análise elementar das amostras de óxido de grafite (OGR): OGR-HT, OGR-HHT e OGR-PO. O ATR-FTIR fornecerá informações sobre os grupos oxigenados introduzidos pela oxidação e dados quantitativos podem ser extraídos para estimar o nível de oxidação que os métodos empregados atingiram.

Os espectros de ATR-FTIR das amostras mencionadas são apresentados na Figura 19, divididos em duas regiões de interesse, entre 4000 – 2000 cm^{-1} , Figura 19-A e entre 2000 – 500 cm^{-1} , Figura 19-B. Em ambos intervalos analisados, o grafite não apresentou nenhuma banda característica, como esperado, em virtude de consistir em uma matriz carbônica que não possui dipolo permanente em sua estrutura molecular e, portanto, inativo no infravermelho. Observa-se nos espectros da Figura 19-A a presença marcante da banda característica do estiramento O-H nas amostras de OGR. Percebe-se que este pico é proveniente da contribuição de três tipos diferentes de O-H. A banda em aproximadamente em 3600 cm^{-1} é atribuída ao estiramento de O-H livre (*), enquanto em 3400 cm^{-1} corresponde ao estiramento de grupo O-H que efetua ligação de hidrogênio (*) e, por fim, em 3200 cm^{-1} , o estiramento O-H da água (*). A ligação de hidrogênio enfraquece a ligação O-H, contribuindo para o deslocamento da banda para regiões de menor energia (número de onda menor).³⁸ A presença de água na estrutura se deve ao fato do OGR ser muito hidrofílico por causa dos seus grupos oxigenados. Na Figura 19-B, são apresentados os espectros FTIR-ATR na região entre 2000-500 cm^{-1} , que merece destaque, devido à expressão das bandas de grupos funcionais característicos da amostra de OGR: em 1724 cm^{-1} , estiramento de C=O de ácido carboxílico (1750-1650 cm^{-1}); em 1620 cm^{-1} estiramento C=C (1660-1600 cm^{-1}); em 1415 cm^{-1} dobramento C-OH de álcool (1440-1220 cm^{-1}); em 1222 cm^{-1} C-O-C de éter/epóxido (1300-1000 cm^{-1}); em 1041 cm^{-1} estiramento C-O de álcool (1260-1000 cm^{-1}).^{29,38}

Com o objetivo de estimar quantitativamente o nível de oxidação das folhas de OGR obtidas pelos três diferentes métodos, a intensidade das bandas dos grupos oxigenados foi comparada em relação à intensidade da banda de estiramento C=C em 1620cm^{-1} . A razão das intensidades, $T\%(\text{O}) / T\%(\text{C}=\text{C})$, é listada na última coluna da Tabela 4. Quanto menor for essa razão, mais oxigenado é o OGR obtido.

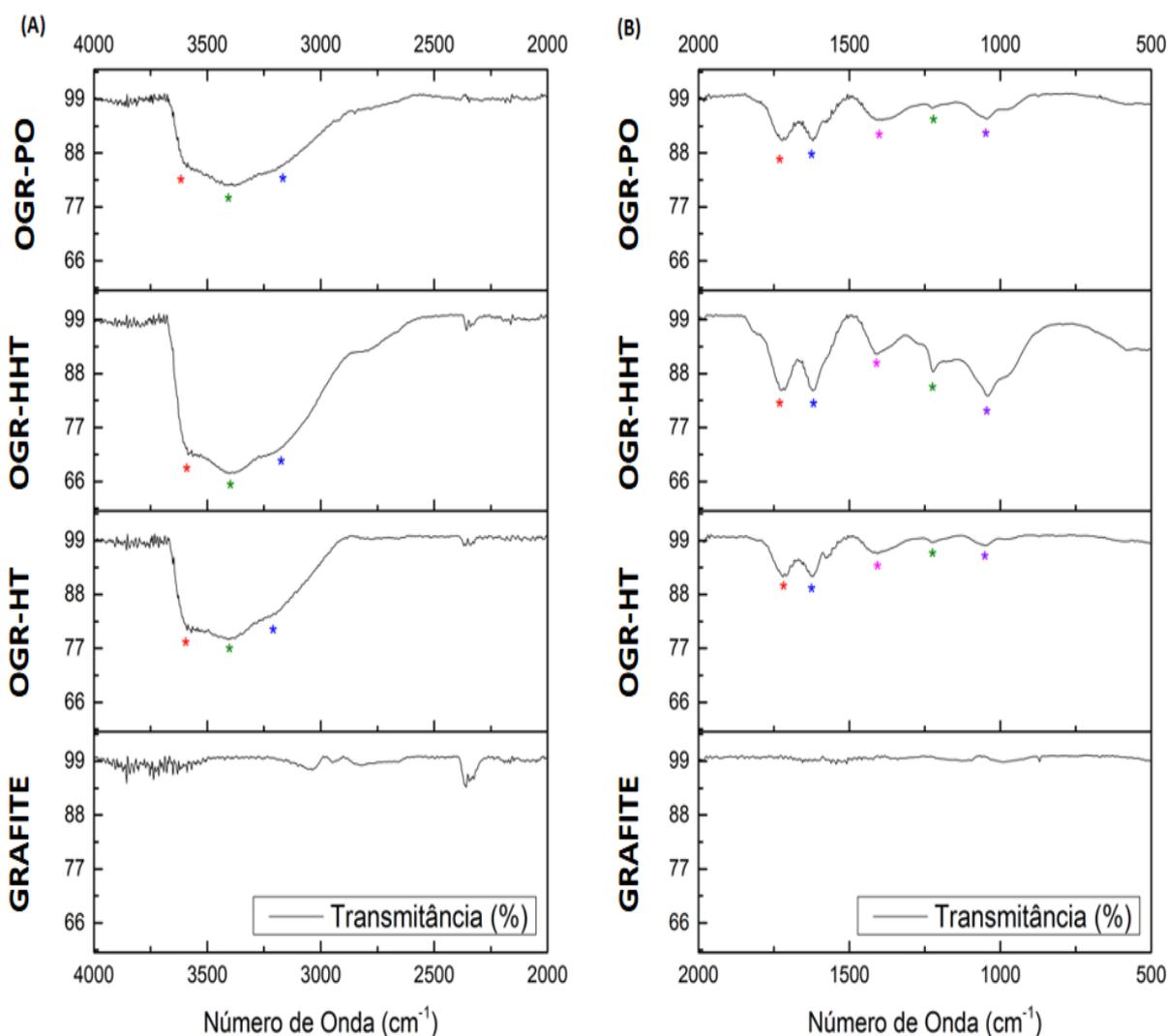


Figura 19. Espectros ATR-FTIR das amostras de grafite, OGR-HT, OGR-HHT e OGR-PO, (A) entre $4000\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$, evidenciando as bandas de estiramento O-H diferentes: *livre; * ligação de hidrogênio; * água e (B) entre $2000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$, evidenciando as bandas: * 1724 cm^{-1} de estiramento C=O de ácido carboxílico; * 1620 cm^{-1} de estiramento C=C de carbono sp^2 ; * 1415 cm^{-1} dobramento C-OH de álcool; * 1222 cm^{-1} de estiramento C-O-C de éter/epóxico e por último em * 1041 cm^{-1} o estiramento C-O de álcool.

Amostras	Transmitância das bandas características (%)					T(O) /
	1620cm ⁻¹ (C=C)	1724cm ⁻¹ (COOH)	1415cm ⁻¹ (C-OH)	1222cm ⁻¹ (C-O-C)	1041cm ⁻¹ (C-O)	T(C=C)
OGR-HT	91,71	91,91	96,69	98,67	98,14	1,00 (COOH) 1,05 (C-OH) 1,08 (C-O-C) 1,07 (C-O)
OGR-HHT	84,53	84,59	92,12	88,34	83,47	1,00 (COOH) 1,09 (C-OH) 1,05 (C-O-C) 0,987 (C-O)
OGR-PO	90,45	90,74	94,86	97,23	95,08	1,00 (COOH) 1,05 (C-OH) 1,07 (C-O-C) 1,05 (C-O)

Tabela 4. Dados de transmitância das amostras de óxido de grafite e seus respectivos número de onda referentes aos principais estiramentos/dobramento e a razão das transmitâncias entre os grupos oxigenados e a banda de referência (carbono sp², C=C) identificados no espectro ATR-FTIR na faixa entre 2000-500 cm⁻¹.

A partir da análise dos dados dessa coluna, conclui-se que o óxido de grafite mais oxidado é o OGR-HHT. O nível de oxidação a respeito das amostras foi verificado da seguinte maneira: transmitância e absorvância são parâmetros inversamente proporcionais, logo, quanto menor é a razão T% (O) / T% (C=C) mais oxigenada é a folha de óxido de grafite, pois quanto menor a transmitância do grupo oxigenado, menor será a razão. Observa-se que as razões presentes na última coluna não correspondem sempre à amostra OGR-HHT como a mais oxidada, como por exemplo, o estiramento C-OH revela que as amostras OGR-HT e OGR-PO são as mais oxidadas. Todavia, todas as razões foram analisadas e a amostra de OGR que possuiu maior contribuição com as maiores razões foi o OGR-HHT.

Os resultados de análise elementar são apresentados na Tabela 5. Estes resultados corroboram com a interpretação dos espectros FTIR-ATR, em virtude da amostra OGR-HHT exibir as menores razões T(O) / T(C=C) e, conseqüentemente, consistir no óxido de

grafite mais oxidado (razão C/O = 1,10). Percebe-se também que o OGR-HT exibe razão C/O= 2,22, que é próxima do valor 2,25 obtido originalmente por Hummers.⁷

Amostras	Carbono (%)	Oxigênio (%)	Razão C/O
<i>OGR-HT</i>	67,74	30,50	2,22
<i>OGR-HHT</i>	51,19	46,41	1,10
<i>OGR-PO</i>	53,67	43,96	1,22

Tabela 5. Dados de análise elementar (CHN) das amostras de OGR.

As metodologias de síntese de OG's encontradas na literatura revelam que a relação estequiométrica C/O depende do nível de oxidação. Este parâmetro é analisado pelo *Threshold Oxidation Degree – TOD* (limite do grau de oxidação) que se encontra no seguinte intervalo $1,8 < C/O < 2,5$, onde o valor mais comum é aproximadamente 2.³¹ Nota-se que as razões obtidas pelos materiais OGR-HHT e OGR-PO, presentes na Tabela 5, apresentam valores menores que 1,8 conferindo um alto grau de oxidação aos OGR's sintetizados neste trabalho.

4.1.1 Raman – OGR

Nesta seção, são apresentados os espectros Raman do grafite e das amostras: OGR-HT, OGR-HHT e OGR-PO. Para assim discutir o efeito da oxidação na instauração de defeitos na rede grafítica a partir da redução de domínios sp^2 e da introdução de grupos oxigenados. Esta técnica analítica é bastante utilizada na caracterização de materiais de carbono fornecendo informações acerca do nível de desordem da rede cristalina que pode ser relacionada com a razão das bandas D e G, tamanho do cristalito e com a distância entre os defeitos na rede, por exemplo, de tal modo a compreender as propriedades ópticas, elétricas e mecânicas do material em estudo.³⁹

Diferentemente da produção de grafeno por CVD e clivagem micromecânica, por exemplo, o OGR apresenta vários defeitos em sua rede que podem ser verificados a partir da espectroscopia Raman. Quando a radiação monocromática incide sobre amostras de grafeno quimicamente modificado observa-se três bandas características dos modos vibracionais dominantes, são elas: banda G ($\sim 1576 \text{ cm}^{-1}$) que está relacionado ao modo de vibração, de átomos de carbono (sp^2), com simetria E_{2g} que ocorre em anéis como

também em sítios sp^2 na estrutura molecular do material gráfitico; banda D ($\sim 1326\text{cm}^{-1}$) é um modo vibracional com simetria A_{1g} que não é observado em uma estrutura gráfitica perfeita e, portanto, se torna ativa apenas na presença de desordem na rede, fornece informações sobre a estrutura eletrônica e geométrica que faz referência aos defeitos instaurados; banda $G'(2D)$ em $\sim 2700\text{cm}^{-1}$ consiste em uma assinatura de materiais gráfiticos (sp^2) juntamente com a banda G e pode ser relacionada com o número de camadas empilhadas de grafeno a partir da quantidade de funções Lorentzianas capazes de simular o pico de origem.^{12,40,44}

Na Figura 20 são apresentados os espectros Raman do grafite e dos óxidos de grafite sintetizados (OGR: HT/PO/HHT). A análise dos picos destes espectros revela justamente a presença das bandas características mencionadas anteriormente: banda D em $\sim 1350\text{ cm}^{-1}$; banda G em $\sim 1580\text{ cm}^{-1}$ e G' em $\sim 2700\text{ cm}^{-1}$.

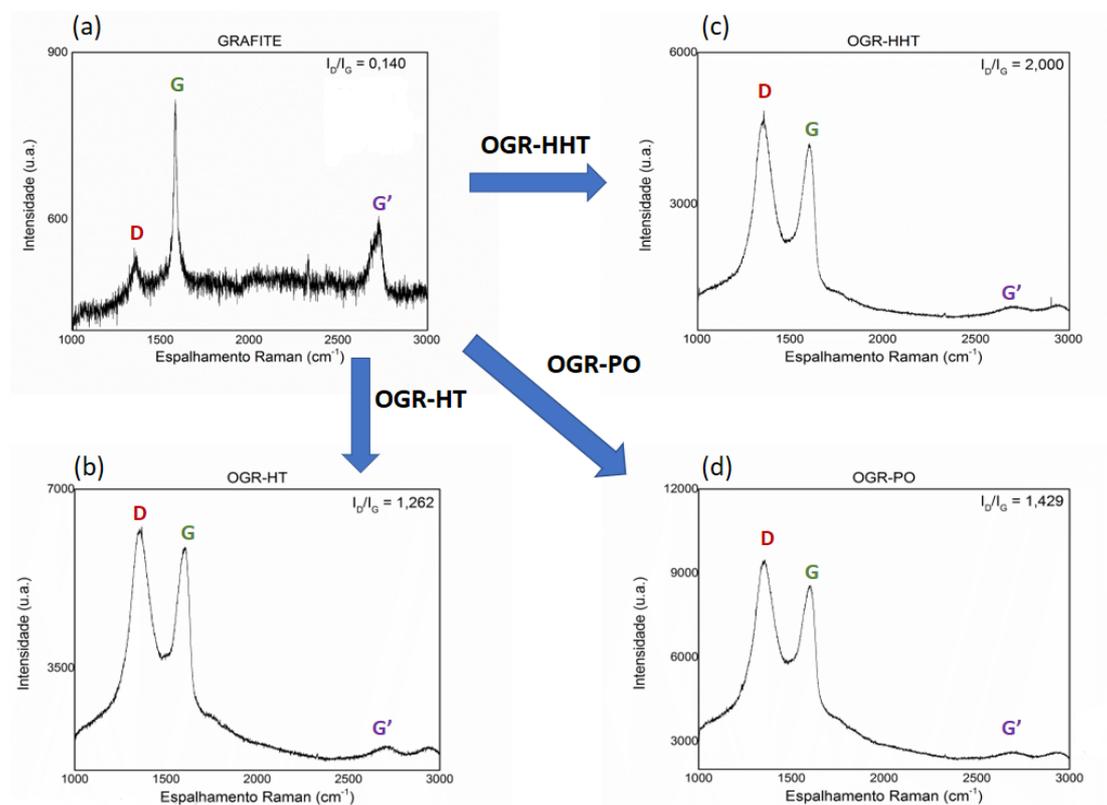


Figura 20. Espectros Raman do (a) grafite e das amostras: (b) OGR-HT; (c) OGR-HHT e (d) OGR-PO. Condição das análises: Laser: 514 nm; lente: 20x; aquisições: 4; potência: 1,67 mW; tempo: 200 s.

Destaca-se para a banda D no grafite que é uma evidência que antes mesmo da esfoliação oxidativa já apresentava defeitos em sua rede cristalina. A razão das intensidades dos picos D e G é descrito comumente na literatura para quantificar o nível

de defeitos em materiais a base de carbono que pode ser relacionado com o efeito da esfoliação/funcionalização do grafeno quimicamente modificado.^{40,41,42,53} Logo, foi realizada a deconvolução destes picos, utilizando três distribuições Lorentzianas para simular esta região característica do espectro. Os dados forneceram a altura da função Lorentziana que mais contribui para o pico de origem. A partir da razão das intensidades (I_D/I_G) foram determinados o tamanho do cristalito (L_a) e a distância entre os defeitos (L_D) utilizando as equações (3) e (4):^{41,42}

$$L_a \text{ (nm)} = (2,4 \times 10^{-10}) (\lambda_l)^4 \left(\frac{I_D}{I_G}\right)^{-1} \quad (3)$$

$$L_D^2 \text{ (nm)} = (1,8 \pm 0,5) \times 10^{-9} (\lambda_l)^4 \left(\frac{I_D}{I_G}\right)^{-1} \quad (4)$$

em que λ_l corresponde ao comprimento de onda de excitação (514 nm). Além destes parâmetros mencionados foram analisados, a partir das distribuições Lorentzianas, as posições dos centros das bandas G e D ($X_{G/D}$) bem como a largura à meia altura da banda G (W_G). Todos estes resultados estão reunidos na Tabela 6.

Sólido	I_D/I_G	L_a (nm)	L_D (nm)	W_G (cm^{-1})	X_G (cm^{-1})	X_D (cm^{-1})
Grafite	0,14	119,7	30,0	23,1	1581,0	1356,6
OGR-HT	1,26	13,3	10,0	89,8	1601,4	1354,8
OGR-PO	1,43	11,7	9,4	90,2	1600,5	1351,6
OGR-HHT	2,00	8,4	7,9	98,7	1581,6	1353,9

Tabela 6. Parâmetros obtidos pela análise de distribuições Lorentzianas que simularam as bandas D e G do espectro Raman do grafite e das amostras de OGR's (HT/PO/HHT). I_D/I_G : razão entre as intensidades dos picos; L_a : tamanho do cristalito; L_D : distância entre os defeitos; W_G : largura à meia altura da banda G; $X_{G/D}$: posição do centro da banda G e D, respectivamente.

Nota-se que a razão I_D/I_G aumenta depois da esfoliação química do grafite. O aumento da intensidade da banda D revela a instauração de defeitos na rede que ocorre

pela presença de grupos oxigenados na matriz ligada a carbonos sp^3 . A amostra que apresentou a maior razão I_D/I_G foi o OGR-HHT, o que corrobora com os resultados obtidos por FTIR-ATR e análise elementar sobre o nível de oxidação das amostras. O tamanho do cristalito (L_a) é inversamente proporcional à razão I_D/I_G , logo o OGR mais oxidado apresentou a menor dimensão em nanômetros. A distância entre os defeitos (L_D) é uma medida da quantidade de desordem e, portanto, consequência da esfoliação oxidativa, visto que valores pequenos de L_D apontam que a extensão de domínios sp^2 é mais limitada em função da proximidade de defeitos na rede. Observa-se que os valores de L_D diminuem à medida que o grau de oxidação do grafite aumenta.

A largura à meia altura da banda G (W_G) dos OGR's, quando comparada com aquela do grafite, aumenta devido à perda de cristalinidade do sistema, porque quanto maior o grau de esfoliação mais amorfo é o material. Esta desordem estrutural é um reflexo da mudança nos ângulos e comprimentos das ligações C-C. O valor de W_G é considerado um dos principais parâmetros para a identificação de desordem estrutural em materiais grafiticos.⁴³ Além do aumento de W_G foi observado um pequeno deslocamento do centro da banda G (X_G , $\Delta \approx 20 \text{ cm}^{-1}$) quando foi confrontado o valor de X_G do grafite e das amostras OGR-HT/PO. Este deslocamento está associado a uma desordem topológica que se manifesta com a extensão e distribuição de aglomerados sp^2 . No entanto, a amostra mais oxidada não apresentou significativa mudança no valor de X_G . O centro da banda D (X_D) também não exibiu um deslocamento expressivo.^{43,44}

Os resultados do FTIR-ATR, análise elementar e Raman demonstraram que a preparação dos OGR's segundo as rotas de oxidação descritas neste trabalho conduziu a produtos satisfatórios com similaridade estrutural com os presentes na literatura.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE OG

Nesta seção, são apresentados e discutidos os espectros de absorção no UV-vis e propriedades coloidais das amostras de óxido de grafeno (OG), ou seja, óxidos de grafite obtidos pelas quatro diferentes rotas suspensos em água, por agitação ultrassônica. Para cada suspensão coloidal preparada foi determinado o coeficiente de absorvidade óptica (ϵ) por meio de curvas de calibração com suspensões de diferentes concentrações de OG. O tamanho hidrodinâmico das folhas isoladas de OG foi determinado por espalhamento

dinâmico de luz, também conhecida como Espectroscopia de Correlação de Fótons e a carga superficial efetiva a partir do Potencial Zeta (ζ).

4.2.1 Espectros UV-vis

Observa-se que nos espectros de todas essas amostras (Figura 21) estão presentes duas bandas de absorção características: uma em 230 nm que corresponde à transição eletrônica $\pi \rightarrow \pi^*$ de carbono sp^2 (C=C) e outra, fraca, em 300 nm, correspondente à transição $n \rightarrow \pi^*$ da carbonila (C=O), conforme descrito na literatura.¹⁴ A baixa intensidade desta banda é o reflexo da transição eletrônica ser proibida.³⁸ Quanto maior a extensão da conjugação, as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ ocorrerão sob menor energia, o que desloca o $\lambda_{MÁX}$ para maiores valores.¹⁴ Isso ocorre devido a presença de ligações duplas alternadas promoverem uma aproximação nos níveis eletrônicos.³⁸

Nota-se nos valores da Tabela 7 que há um pequeno deslocamento, na região em 230 nm, para maiores valores de comprimento de onda das amostras OG-HHT em relação ao lote OG-PO e a amostra OG-HT4. O lote OG-HHT possui um $\lambda_{MÁX}$ na faixa de 236-240 nm, enquanto o lote OG-PO possui um $\lambda_{MÁX} \approx 227$ nm e a amostra OG-HT4 com um $\lambda_{MÁX} \approx 232$ nm, caracterizando um deslocamento batocrômico para os coloides provenientes do OGR mais oxidado (HHT).

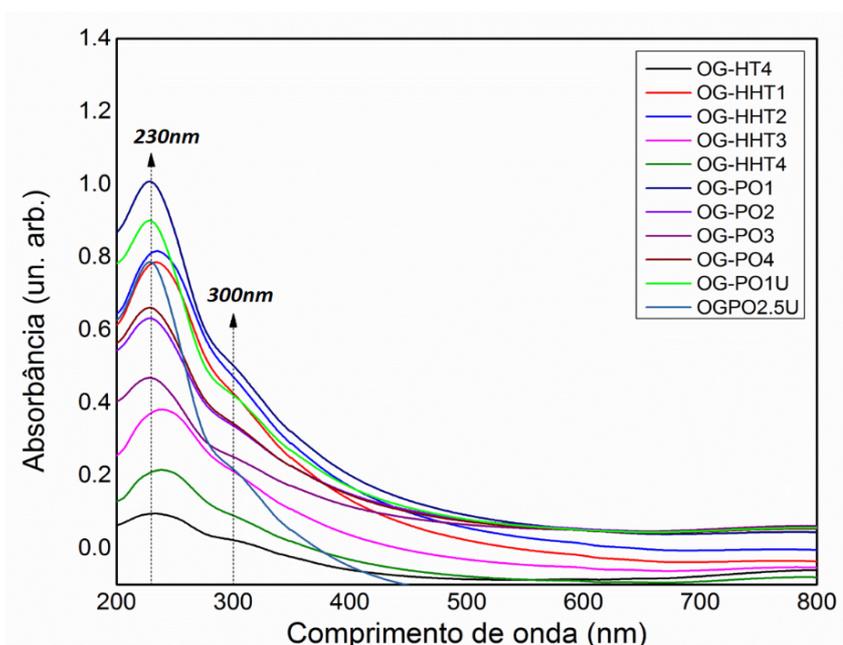


Figura 21. Espectros UV-vis dos coloides de OG preparados a partir da esfoliação mecânica do seu respectivo OGR (HT, HHT ou PO), com concentração $\sim 20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

As curvas de calibração foram obtidas com os dados de absorvância máxima versus a concentração das dispersões coloidais. Inicialmente, a concentração da suspensão mãe foi determinada por gravimetria, conforme descrito na seção *Materiais e Métodos*. O coeficiente angular da reta obtida fornece o coeficiente de absorvância ϵ ($\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$) do OG preparado, que por fim se relaciona com a concentração da amostra e a absorvância pela lei de Beer-Lambert (Equação 5):

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (5)$$

em que A é a absorvância em unidades arbitrárias, c é a concentração do material em g.L^{-1} e b é o caminho óptico (em cm) da cubeta de medida e ϵ é o coeficiente de absorvância. Os valores encontrados para ϵ em $\text{L.g}^{-1}\text{cm}^{-1}$, extraídos do parâmetro angular, estão expressos na Tabela 7. O valor de ϵ fornece informações acerca da estrutura eletrônica das folhas de OG, pois consiste em um parâmetro intrínseco de cada material. Os gráficos das curvas de calibração se encontram no Anexo 1(i) deste trabalho.

Amostra	$\lambda_{\text{MÁX}}$ (nm)	R^2	ϵ ($\text{L.g}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
<i>OG-HT-4</i>	232	0,99989	9,3
<i>OG-HHT1</i>	236	0,99991	54,1
<i>OG-HHT2</i>	238	0,99993	54,9
<i>OG-HHT3</i>	240	0,99975	27,4
<i>OG-HHT4</i>	238	0,99987	22,9
<i>OG-PO1</i>	225	0,99947	51,9
<i>OG-PO2</i>	227	0,99959	32,5
<i>OG-PO3</i>	227	0,99981	23,4
<i>OG-PO4</i>	227	0,99922	33,4
<i>OG-PO-1-U</i>	227	0,99989	44,5
<i>OG-PO-2.5-U</i>	227	0,99994	49,5

Tabela 7. Valores de coeficiente de absorvância obtidos a partir da curva de calibração dos OG's.

Os valores obtidos do coeficiente de absorvância revelam que os produtos preparados (OG's) possuem uma heterogeneidade eletrônica que é uma evidência espectroscópica que rotas distintas de oxidação bem como a mudança no tempo de

agitação ultrassônica, em um mesmo lote, levam a materiais com características diferentes. Como foi descrito no referencial teórico, a energia mecânica propagada pela ação do ultrassom leva à eliminação de alguns grupos oxigenados que é um dos fatores que contribuem para a mudança estrutural de cada OG preparado. Para o lote OG-HHT, foi observada uma tendência nos valores de ϵ . As primeiras amostras apresentaram uma similaridade eletrônica (HHT1/2h) com valores bem próximos de absorvidade e com o aumento do tempo de agitação os valores de ϵ diminuíram (HHT3/4h). No entanto, não foi observado este comportamento nos valores de ϵ para as dispersões provenientes do OGR-PO com o aumento do tempo de agitação ou mesmo com o estado inicial do material partida (sólido ou pasta). A amostra que apresentou o menor valor de absorvidade foi OG-HT4 ($\epsilon= 9,27 \text{ L.g}^{-1}\text{cm}^{-1}$) enquanto a que apresentou maior valor foi OG-HHT2 ($\epsilon= 55,14 \text{ L.g}^{-1}\text{cm}^{-1}$). A suspensão coloidal que apresentou maior absorvidade, que as demais amostras, sugere que para uma mesma quantidade de óxido de grafeno a amostra OG-HHT2 tem mais domínios aromáticos isolados intactos.¹⁴ Os coloides provenientes dos OGR's mais oxidados apresentaram os maiores valores de coeficiente de ϵ (HHT/PO).

4.2.2 Propriedades coloidais: PZ e DLS

Na Tabela 8 estão reunidos os valores de potencial zeta e pH dos coloides preparados a partir da esfoliação mecânica dos OGR's: HT, HHT e PO. As condições de agitação ultrassônica empregadas, para cada material, estão descritas no capítulo *Materiais e Métodos*.

O potencial zeta é um parâmetro que fornece diretamente a carga superficial que circunda as partículas em suspensão a partir do balanço das interações de van der Waals e de forças coulombianas. Quanto maior for esse potencial elétrico, em módulo, maior será a estabilidade coloidal em virtude da força repulsiva entre cargas de mesmo sinal. Essa repulsão eletrostática vence a agregação do sistema particulado indicando uma menor coagulação.⁴⁷ Um valor de PZ maior que 30 mV, em módulo, evidencia uma suspensão estável. Observa-se na Tabela 8 que todos os coloides preparados apresentam valores de PZ negativo e próximos ou maiores a 30 mV configurando suspensões estáveis no pH apresentado.

Amostra	pH ($\pm 0,01$)	ζ (mV)
	T= 24,4°C	
<i>OG-HT4</i>	6,14	-46,57 \pm 1,10
<i>OG-HHT1</i>	6,33	-25,50 \pm 0,36
<i>OG-HHT2</i>	6,27	-28,60 \pm 0,30
<i>OG-HHT3</i>	6,93	-30,67 \pm 0,82
<i>OG-HHT4</i>	6,93	-31,00 \pm 0,36
<i>OG-PO1</i>	5,76	-26,8 \pm 1,76
<i>OG-PO2</i>	6,11	-28,53 \pm 0,55
<i>OG-PO3</i>	6,80	-30,90 \pm 1,06
<i>OG-PO4</i>	5,72	-27,87 \pm 0,32
<i>OG-PO1U</i>	6,30	-25,2 \pm 0,17
<i>OG-PO2.5U</i>	5,58	-45,03 \pm 3,50

Tabela 8. Valores de pH e PZ das dispersões coloidais preparadas a partir da esfoliação mecânica de OGR's (HT/HHT/PO) em água ultrapura.

O ambiente químico que circunda a partícula é um fator que possui um peso bastante importante para a interpretação do PZ, pois a natureza eletrostática do coloide é avaliada com base nas cargas que são geradas no sistema particulado. As cargas provenientes das folhas isoladas de OG são derivadas da ionização/dissociação de grupos superficiais, como por exemplo, grupos COOH/OH presentes nas extremidades e no plano basal destas estruturas. No entanto, analisando o pK_a destes grupos e comparando com o regime de pH da Tabela 8, infere-se que as hidroxilas estão protonadas ($pK_a \sim 16$) e que os ácidos carboxílicos estão desprotonados ($pK_a \sim 4$) formando sua respectiva base conjugada (carboxilato) na forma aniônica. O grupo COOH ligado diretamente a um anel aromático ou a carbonos sp^2 isolados contribuem para o aumento da acidez e, portanto, para a origem de cargas negativas no OG, devido ao efeito da estabilidade da base conjugada por ressonância e pelo efeito indutivo decorrente da presença de um carbono mais eletronegativo, respectivamente. Os valores de DH e de PDI (índice de polidispersão) dos OG's preparados, que foram obtidos a partir da Espectroscopia de Correlação de Fótons, estão reunidos na Tabela 9.

Para o lote OG-HHT foi observada uma tendência nos valores de DH. À medida que as amostras foram submetidas a um tempo maior de agitação ultrassônica a cisão das

folhas se tornou mais efetiva reduzindo a dimensão das partículas ($DH_{HHT4} < DH_{HHT3} < DH_{HHT2} < DH_{HHT1}$). Todavia este comportamento não se reproduziu para o lote OG-PO, proveniente da esfoliação do OGR seco, onde possuiu variações nos valores de DH. As amostras que alcançaram os menores tamanhos foram as dispersões coloidais provenientes da esfoliação do OGR-PO úmido (OG-PO1U/2.5U). O estudo da redispersão do OG é encontrado na literatura com a produção de coloides menos dispersos devido a desidroxilação parcial do material seco que ocorre pelo aquecimento.⁵¹ Este fato também pode ser aplicado ao OGR, pois com sua secagem a redução na população de grupamentos hidroxílicos irá diminuir as interações intermoleculares com a água. E, conseqüentemente, influenciará a esfoliação mecânica pela ação do ultrassom e sua cisão lateral a partir do mecanismo descrito no referencial teórico. Outro fato que exemplifica o valor da dispersão do OGR úmido ao invés do seco é que para um mesmo tempo, utilizando potências diferentes, o OG-HT4 (80 W) apresentou um diâmetro hidrodinâmico semelhante ao OG-HHT4 (152 W).

Amostra	DH (nm)	PDI
<i>OG-HT4</i>	451,2 ± 15,54	0,378 ± 0,047
<i>OG-HHT1</i>	657,7 ± 28,5	0,85 ± 0,06
<i>OG-HHT2</i>	534,8 ± 13,47	0,682 ± 0,027
<i>OG-HHT3</i>	440,0 ± 11,46	0,654 ± 0,058
<i>OG-HHT4</i>	432,3 ± 52,94	0,701 ± 0,015
<i>OG-PO1</i>	346,0 ± 27	0,65 ± 0,04
<i>OG-PO2</i>	382,0 ± 19	0,69 ± 0,02
<i>OG-PO3</i>	313,0 ± 17	0,75 ± 0,05
<i>OG-PO4</i>	375,0 ± 18	0,65 ± 0,02
<i>OG-PO1U</i>	147,7 ± 5,736	0,234 ± 0,016
<i>OG-PO2.5U</i>	141,8 ± 6,823	0,346 ± 0,013

Tabela 9. Valores de DH e PDI das dispersões coloidais preparadas a partir da esfoliação mecânica de OGR's (HT/HHT/PO) em água ultrapura.

O valor do índice de polidispersão (PDI) é um parâmetro que indica a distribuição de tamanho das partículas dispersas em um solvente. Esta distribuição fornece o quão

monodisperso é o sistema, para uma amostra perfeitamente uniforme o PDI é nulo. Na Tabela 10 encontram-se os valores de PDI, provenientes da técnica DLS, para classificação de sistemas monodispersos e polidispersos.⁴⁹

Parâmetro	Tipo de Distribuição	
	Monodisperso	Polidisperso
PDI (DLS)	Uniforme/Estreita	Intermediário / Extenso
	0.0 / 0.0-0.1	0.1-0.4 / > 0.4

Tabela 10. Faixa de valores de PDI via DLS para classificação em sistemas monodispersos e polidispersos.⁴⁹

Ao comparar os valores de PDI dos coloides com o intervalo de valores encontrados na literatura (Tabela 10), conclui-se que a maioria das dispersões são polidispersas ($PDI > 0.4$), ou seja, apresentam uma distribuição de tamanhos variados. As amostras OG-HT4, OG-PO1U/2.5U exibiram PDI entre 0.1-0.4 caracterizando uma distribuição de tamanho intermediária e, portanto, moderadamente polidispersa. Os OG's que apresentaram menor PDI foram justamente aqueles que foram preparados a partir do OGR úmido.

4.3 RAMAN – OG

Nesta seção, são apresentados os parâmetros obtidos pelos espectros Raman dos OG's que foram caracterizados a partir da deposição dos coloides em placas de silício e armazenados em um dessecador a vácuo para a secagem. Igualmente a análise dos picos característicos dos OGR's, foram extraídos, com duas distribuições Lorentzianas, os seguintes parâmetros para os OG's: razão I_D/I_G ; tamanho do cristalito (L_a); distância entre os defeitos (L_d); posição da banda D e G ($X_{D/G}$); largura à meia altura da banda G (W_G). Estes dados estão reunidos na Tabela 11.

Os espectros das amostras que apresentaram os maiores valores de I_D/I_G se encontram na Figura 22.

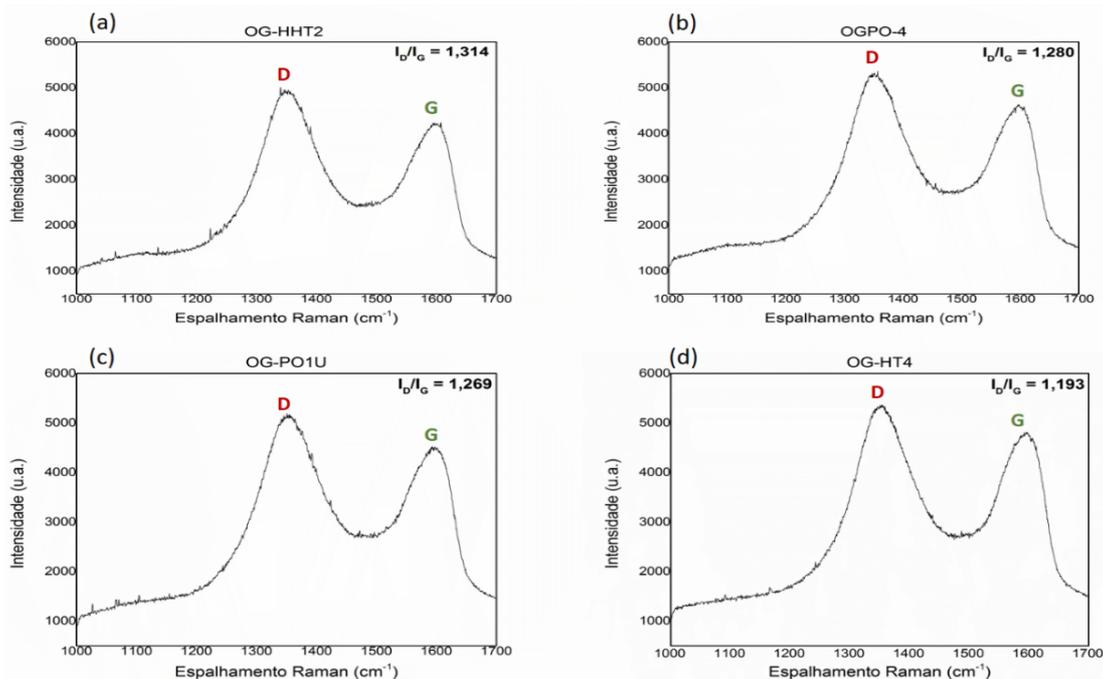


Figura 22. Espectros Raman das amostras de óxido de grafeno que apresentaram as maiores razões I_D/I_G : (a) OG-HHT2; (b) OG-PO4; (c) OG-PO-1U; (d) OG-HT4. Condição das análises: Laser: 514 nm; lente: 20x; aquisições: 4; potência: 1,61-1,75 mW; tempo: 200 s.

OG	I_D/I_G	L_a (nm)	L_D (nm)	X_G (cm^{-1})	W_G (cm^{-1})	X_D (cm^{-1})
OG-HT4	1,19	14,0	10,3	1589,5	99,6	1353,4
OG-HHT1	1,27	13,2	10,0	1591,2	99,5	1353,8
OG-HHT2	1,31	12,7	9,8	1591,9	97,9	1353,6
OG-HHT3	1,30	12,9	9,8	1592,1	95,8	1353,5
OG-HHT4	1,30	12,9	9,8	1592,3	95,5	1353,4
OG-PO1	1,17	14,3	10,4	1591,1	101,4	1355,6
OG-PO2	1,25	13,4	10,0	1591,7	100,4	1355,5
OG-PO3	1,25	13,3	10,0	1593,3	92,0	1352,3
OG-PO4	1,28	13,1	9,9	1591,5	98,4	1354,4
OG-PO1U	1,27	13,2	9,9	1591,0	103,3	1355,6
OG-PO2.5U	1,25	13,4	10,0	1591,3	104,3	1356,3

Tabela 11. Parâmetros obtidos pela análise de distribuições Lorentzianas que simularam as bandas D e G do espectro Raman dos filmes de OG's. I_D/I_G : razão entre as intensidades dos picos; L_a : tamanho do cristalito; L_D : distância entre os defeitos; W_G : largura à meia altura da banda G; $X_{G/D}$: posição do centro da banda G e D, respectivamente.

Nota-se a partir da Figura 22 e dos resultados da Tabela 11 que as amostras que apresentaram as maiores razões (I_D/I_G) são provenientes, em ordem crescente, dos OGR's mais oxidados. Ao analisar os lotes individuais para a avaliação do efeito no número de horas de agitação ultrassônica sobre os defeitos na rede foi identificada uma pequena tendência para os valores de I_D/I_G do lote OG-PO que aumentaram com o tempo de agitação. Este comportamento não foi reproduzido para os lotes OG-HHT e OG-POU. O tamanho do cristalito (L_a) e a distância entre os defeitos (L_D) são parâmetros inversamente proporcionais à razão I_D/I_G . Logo, os OG's que apresentaram menor dimensão e maior proximidade entre os defeitos são as amostras representadas na Figura 22. A posição central do pico G (X_G), que está associada com a desordem topológica, não muda significativamente ao confrontar amostras de um mesmo lote. O mesmo comportamento se reproduz para a desordem estrutural das folhas de OG relacionada com largura à meia altura do pico G (W_G). O centro da banda D (X_D) também não exibiu um deslocamento expressivo.

4.4. CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E NÍVEL DE OXIDAÇÃO DAS AMOSTRAS DE OG-COOH

Nesta seção, são apresentados e discutidos os espectros de ATR-FTIR das amostras de óxido de grafeno funcionalizado: OG-PO-COOHS, OG-HT-COOHB e OG-HT-COOHS. Na Figura 23, estão reunidos os espectros ATR-FTIR dos OG's funcionalizados destacando as principais bandas dos grupos presentes na estrutura do OG-COOH. Os dados obtidos por espectroscopia no infravermelho fornecerão informações sobre o grau de carboxilação e dados qualitativos podem ser extraídos para estimar o nível de oxidação das estruturas dos OG's. Os espectros Raman irão contribuir para o estudo da desordem estrutural e topológica a partir dos parâmetros obtidos da análise dos picos D e G com distribuições Lorentzianas. Na Figura 23 é apresentado o espectro FTIR-ATR na região entre 4000-500 cm^{-1} na qual se percebe a presença das bandas de grupos funcionais característicos da amostra de OG: em 1714 cm^{-1} , estiramento de C=O de ácido carboxílico (1750-1650 cm^{-1}); em 1568 cm^{-1} estiramento C=C (1660-1600 cm^{-1}) que possuiu uma frequência de vibração mais baixa devido o efeito de conjugação que aumenta o caráter simples da ligação; em 1355 cm^{-1} dobramento C-OH

de álcool ($1440-1220\text{ cm}^{-1}$); em 1219 cm^{-1} C-O-C de éter/epóxido ($1300-1000\text{ cm}^{-1}$); em 1022 cm^{-1} estiramento C-O de álcool ($1260-1000\text{ cm}^{-1}$).^{29,38}

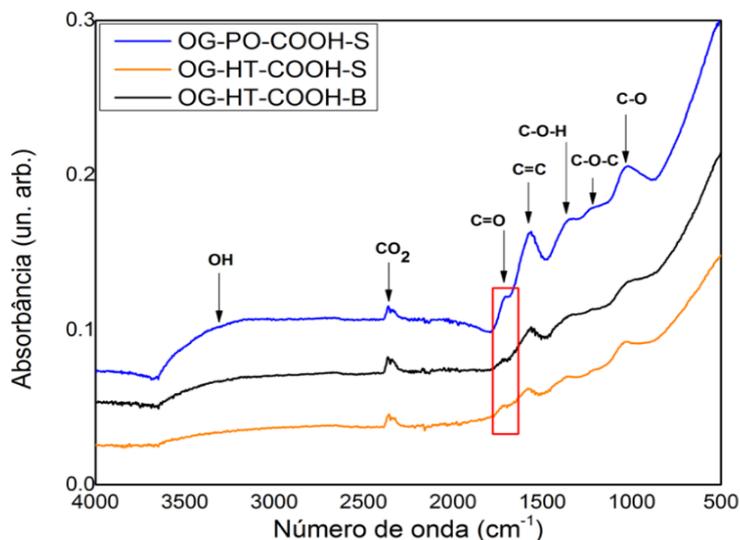


Figura 23. Espectros ATR-FTIR dos OG's carboxilados.

Foram registradas as absorvâncias das bandas características, no intervalo $2000-500\text{ cm}^{-1}$, com o objetivo de efetuar a análise do nível de oxidação dos OG's como foi realizado anteriormente com os OGR's. Na Tabela 12 estão reunidas as razões da absorvância do grupo oxigenado pela absorvância do pico padrão (C=C).

Número de Onda (cm^{-1})	1714	1355	1219	1022
	$A(\text{O})/A(\text{C}=\text{C})$			
Amostra				
<i>OG-PO-COOH-S</i>	0,738	1,050	1,099	1,265
<i>OG-HT-COOH-S</i>	0,822	1,136	1,200	1,500
<i>OG-HT-COOH-B</i>	0,794	1,082	1,129	1,302

Tabela 12. Dados das razões das absorvâncias entre as bandas dos grupos oxigenados, $A(\text{O})$, e o pico de referência (carbono sp^2 , C=C) identificados no espectro ATR-FTIR na faixa entre $2000-500\text{ cm}^{-1}$.

Conclui-se a partir dos resultados da Tabela 12 que o OG funcionalizado mais oxidado é a amostra OG-HT-COOH-S como também a que possui maior grau de

carboxilação. Todavia, as razões publicadas, mesmo com a reação de funcionalização, correspondem a valores inferiores do que os exibidos na Tabela 4 das amostras de OGR's. Uma explicação para uma baixa taxa de carboxilação é que as amostras foram submetidas, durante ou depois da reação, à ação do ultrassom. Como foi descrito no referencial teórico, a propagação dessa energia mecânica é responsável por consumir grupos C=O/COOH eliminando-os na forma de CO₂/CO e, conseqüentemente, reduzindo a população desses grupos funcionais nas folhas de OG.

Nesta seção, também serão apresentados os parâmetros obtidos pelos espectros Raman dos OG's funcionalizados que foram caracterizados com o mesmo tratamento descrito anteriormente para esta análise. Os dados extraídos das Lorentzianas estão reunidos na Tabela 13 e os espectros das amostras estão apresentados na Figura 24.

As amostras OG-HT-COOH-S/B apresentaram os maiores graus de oxidação como foi observado na Tabela 13 e, portanto, exibiram as maiores razões I_D/I_G que são reflexo da coleção de defeitos em suas estruturas. Os menores valores de L_a e L_D corresponderam às amostras mais oxidadas, visto que estes dois parâmetros estão diretamente relacionados (Equações 3 e 4). Ao confrontar os valores de X_G, X_D e W_G das amostras que deram origem aos respectivos OG-COOH que estão enunciados na Tabela 11, nota-se que não há uma variação expressiva nestes parâmetros. Ou seja, infere-se que não houve alteração significativa nos níveis de desordem estrutural e topológica após a carboxilação, que é uma evidência que o grau de funcionalização não foi satisfatório, pois o emprego da esfoliação mecânica acabou eliminando estes grupos funcionais durante a ação do ultrassom.

OG-COOH	I_D/I_G	L_a (nm)	L_D (nm)	X_G (cm⁻¹)	W_G (cm⁻¹)	X_D (cm⁻¹)
<i>OG-PO-COOH-S</i>	1,19	14,1	10,3	1592,4	94,9	1351,4
<i>OG-HT-COOH-S</i>	1,21	13,8	10,2	1593,9	93,7	1353,7
<i>OG-HT-COOH-B</i>	1,36	12,3	9,6	1592,7	92,9	1350,6

Tabela 13. Parâmetros obtidos pela análise de distribuições Lorentzianas que simularam as bandas D e G do espectro Raman dos filmes de OG-COOH. I_D/I_G: razão entre as intensidades dos picos; L_a: tamanho do cristalito; L_D: distância entre os defeitos; W_G: largura à meia altura da banda G; X_{G/D}: posição do centro da banda G e D, respectivamente.

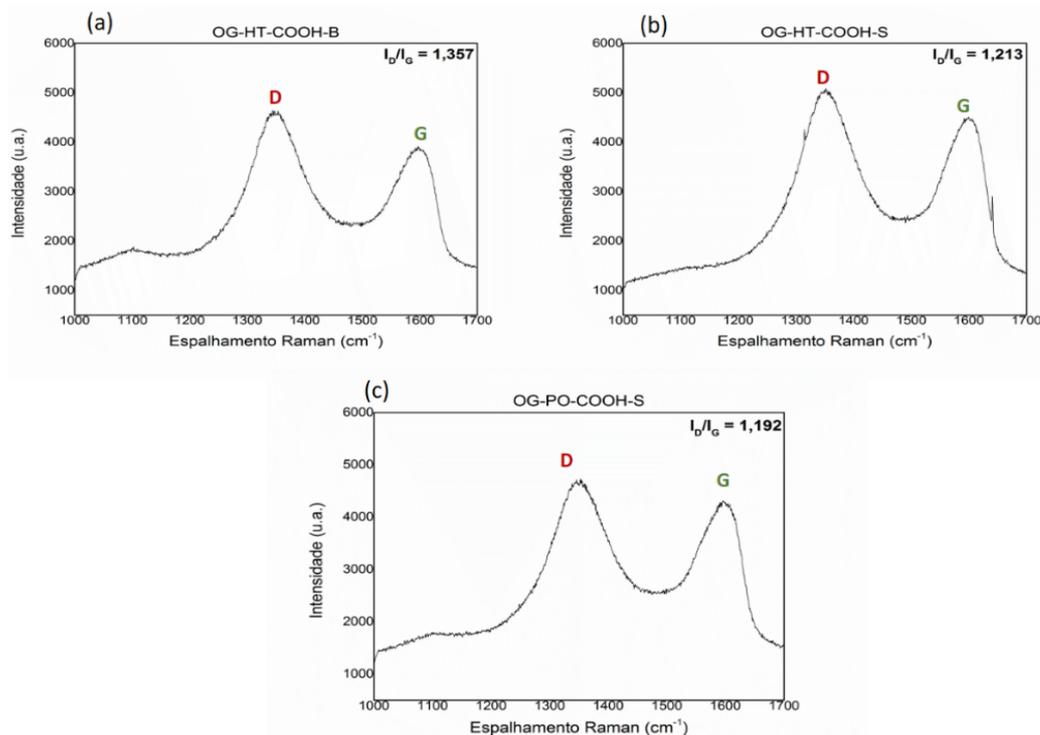


Figura 24. Espectros Raman das amostras de óxido de grafeno carboxilado: (a) OG-HT-COOH-B; (b) OG-HT-COOH-S; (c) OG-PO-COOH-S. Condição das análises: Laser: 514nm; lente: 20x; aquisições: 4; potência: 1,61-1,68 mW; tempo: 200 s.

4.5 CARACTERIZAÇÃO OG-COOH: UV-VIS, PZ E DLS

Nesta seção serão apresentados e discutidos os resultados de espectroscopia de absorção no UV-vis e as propriedades coloidais das amostras de óxido de grafeno carboxilado (OG-COOH).

Os espectros UV-vis das suspensões dos OG-COOH e dos OG de partida estão reunidos na Figura 25. O OG-HT4 consiste no material de partida para a síntese das amostras OG-HT-COOH-B/S e OG-PO2.5 para o OG-PO-COOH-S. Os valores de absorvidade (ϵ) extraídos do coeficiente angular das curvas de calibração e o λ_{MAX} utilizado para a curva se encontram na Tabela 14.

Observa-se que nos espectros de todas as amostras (Figura 25 a-b) estão presentes uma banda na região de 230 nm que corresponde à transição eletrônica $\pi \rightarrow \pi^*$ de carbono sp^2 (C=C) e outra, fraca, em 300 nm, relativa à transição $n \rightarrow \pi^*$ da carbonila (C=O). No entanto, os espectros das amostras carboxiladas não exibiram de forma nítida esta banda. Este comportamento é reflexo do forte deslocamento da linha de base mascarando a presença desta transição eletrônica.

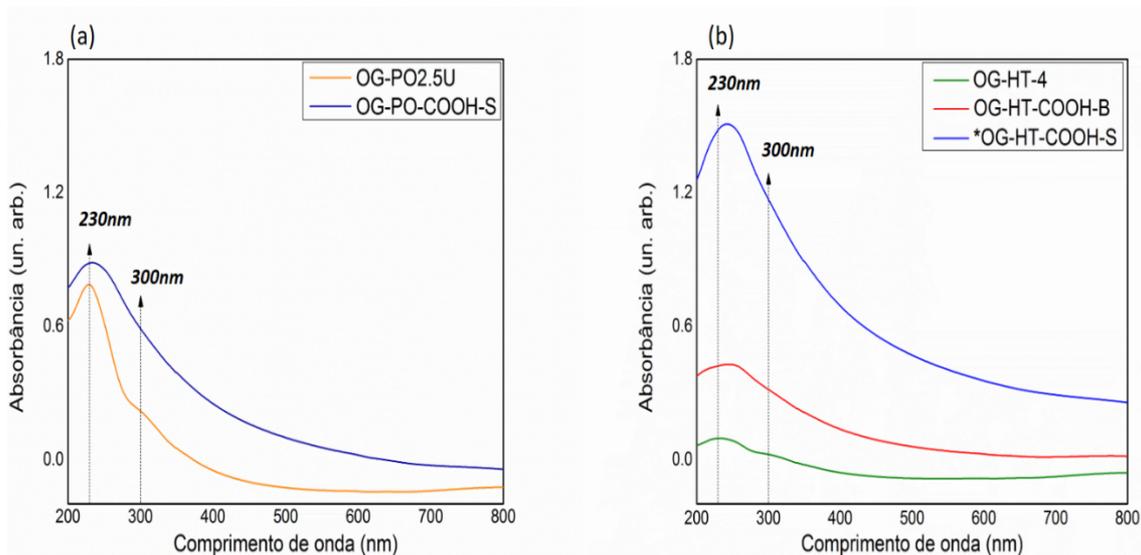


Figura 25. Espectros UV-vis dos coloides carboxilados e de seus respectivos materiais de partida. (a) OG-PO2.5 e OG-PO-COOH-S ($20 \mu\text{g.mL}^{-1}$). (b) OG-HT4 e OG-HT-COOH-B/S* ($20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ /* $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

Os valores de $\lambda_{\text{MÁX}}$ empregados para a extração do coeficiente angular revelam um deslocamento batocrômico ao confrontar os dados do OG de partida e seu respectivo(s) carboxilado(s), ou seja, as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ ocorrem em energia menor, o que desloca o $\lambda_{\text{MÁX}}$ para maiores valores. As suspensões coloidais OG-HT-COOH-B/S foram as que apresentaram os maiores valores de $\lambda_{\text{MÁX}}$.

Amostra	$\lambda_{\text{MÁX}}$ (nm)	R^2	ϵ ($\text{L.g}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
<i>OG-PO2.5</i>	227	0,99994	49,5
<i>OG-PO-COOH-S</i>	230	0,99981	50,8
<i>OG-HT4</i>	232	0,99989	9,3
<i>OG-HT-COOH-B</i>	244	0,99813	28,2
<i>OG-HT-COOH-S</i>	243	0,99958	118,9

Tabela 14. Valores de absorvidades obtidos a partir da curva de calibração dos óxidos de grafeno carboxilados e de seus respectivos materiais de partida.

Os valores encontrados para ϵ em $\text{L.g}^{-1}\text{cm}^{-1}$ apontam que a amostra OG-HT-COOH-S possui a maior absorvidade e, assim, sugere que este OG possua mais domínios aromáticos que as demais amostras. Além do elevado ϵ , nota-se que este material obteve também um dos maiores $\lambda_{\text{MÁX}}$, o que corrobora com o efeito da

conjugação das ligações. Destaca-se para a pronunciada absorvância do OG-HT-COOH-S com a metade da concentração ($10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) em relação aos demais coloides preparados neste trabalho (Figuras 21 e 25 a-b). Os gráficos das curvas de calibração se encontram no Anexo 1(i) deste trabalho.

Os parâmetros obtidos a partir da caracterização coloidal (PZ, DH e PDI) destes materiais estão reunidos na Tabela 15.

Amostra	pH ($\pm 0,01$)	ζ (mV)	DH (nm)	PDI
	T= 24,4°C			
<i>OG-PO2.5</i>	5,58	$-45,03 \pm 3,47$	$141,8 \pm 6,823$	$0,346 \pm 0,013$
<i>OG-PO-COOH-S</i>	5,75	$-34,33 \pm 1,07$	$158,4 \pm 2,290$	$0,321 \pm 0,038$
<i>OG-HT4</i>	6,14	$-46,57 \pm 1,10$	$451,2 \pm 15,54$	$0,378 \pm 0,047$
<i>OG-HT-COOH-B</i>	6,45	$-29,20 \pm 0,72$	$324,0 \pm 21,37$	$0,514 \pm 0,036$
<i>OG-HT-COOH-S</i>	5,71	$-42,60 \pm 0,46$	$358,4 \pm 2,511$	$0,274 \pm 0,009$

Tabela 15. Valores de pH, potencial zeta (ζ), diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersão (PDI) dos óxidos de grafeno carboxilados e de seus respectivos materiais de partida.

O PZ dos coloides funcionalizados apresentou valor negativo e próximo/superior a 30 mV, o que os configura como suspensões estáveis no regime de pH apresentado na Tabela 15. Conforme discutido na seção anterior, as cargas geradas no OG são provenientes da ionização/dissociação de grupos superficiais da estrutura molecular do óxido de grafeno. Estas cargas negativas são influenciadas pelo ambiente químico que circunda a partícula. Os grupos COOH ($\text{pK}_a \sim 4$) quando dissociados governam a repulsão de natureza eletrostática do sistema particulado a partir da formação da sua base conjugada.

Os valores de DH das amostras OG-PO2.5 e OG-PO-COOH-S são bem próximos e evidenciam um nível baixo de carboxilação. Isso se deve, possivelmente, à eliminação dos grupos COOH na forma de CO_2/CO pela ação do ultrassom, conforme o mecanismo elucidado no referencial teórico. As amostras funcionalizadas preparadas a partir do OG-HT4 exibiram valores de DH menores do que seu respectivo material de partida, pois

foram submetidas a tempos maiores de agitação ultrassônica aumentando a probabilidade de cisão das folhas de OG.

Ao comparar os valores de PDI dos OG's funcionalizados com o intervalo de valores encontrados na literatura (Tabela 10), conclui-se que a maioria das dispersões possui uma distribuição de tamanho intermediária e, portanto, moderadamente polidispersa, pois apresentam PDI entre 0.1-0.4. Somente a amostra OG-HT-COOH-B indicou um PDI > 0.4, o que a caracteriza como um sistema coloidal bastante polidisperso. O óxido de grafeno que apresentou menor PDI foi a amostra OG-HT-COOH-S, que consiste no óxido de grafeno que exibiu o maior coeficiente de absortividade.

4.6 CARACTERIZAÇÃO FOTOTÉRMICA

Primeiramente foi realizado testes preliminares para todas as amostras de OG provenientes da esfoliação mecânica do seu respectivo OGR (HT/HHT/PO) para análise do comportamento fototérmico de OG's do mesmo lote, e, também, o confronto de amostras funcionalizadas (-COOH) com o seu material de partida. Todos com a mesma concentração ($112 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$).

As curvas de aumento da temperatura em função do tempo de irradiação (curvas de aquecimento) estão reunidas na Figura 26, com um tempo de irradiação de aproximadamente 12 minutos. Os valores de ΔT obtidos para cada amostra, de mesma concentração, estão registrados na Tabela 16.

Observa-se que todas as amostras apresentaram uma variação assintótica da temperatura com o tempo de irradiação. Contudo, algumas amostras mostraram taxas dT/dt maiores que outras. Destaca-se para a curva de aquecimento da água ultrapura que não apresentou uma variação pronunciada com o tempo de exposição indicando que o efeito fototérmico é proveniente exclusivamente do óxido de grafeno. As amostras que obtiveram a maior variação de temperatura podem ser observadas a partir dos dados de ΔT reunidos na Tabela 16. Das quatorze amostras preparadas, foram selecionadas as seis amostras que apresentaram os maiores valores de ΔT para os testes de concentração.

As concentrações empregadas para o preparo das diluições foram: 112, 56, 28, 14 e $5,6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. As curvas de aquecimento para cada amostra estão apresentadas no Anexo 1 (ii) deste trabalho. Para observar melhor o comportamento fototérmico em função da concentração de cada amostra, na Figura 27 é apresentado um gráfico de ΔT versus [c].

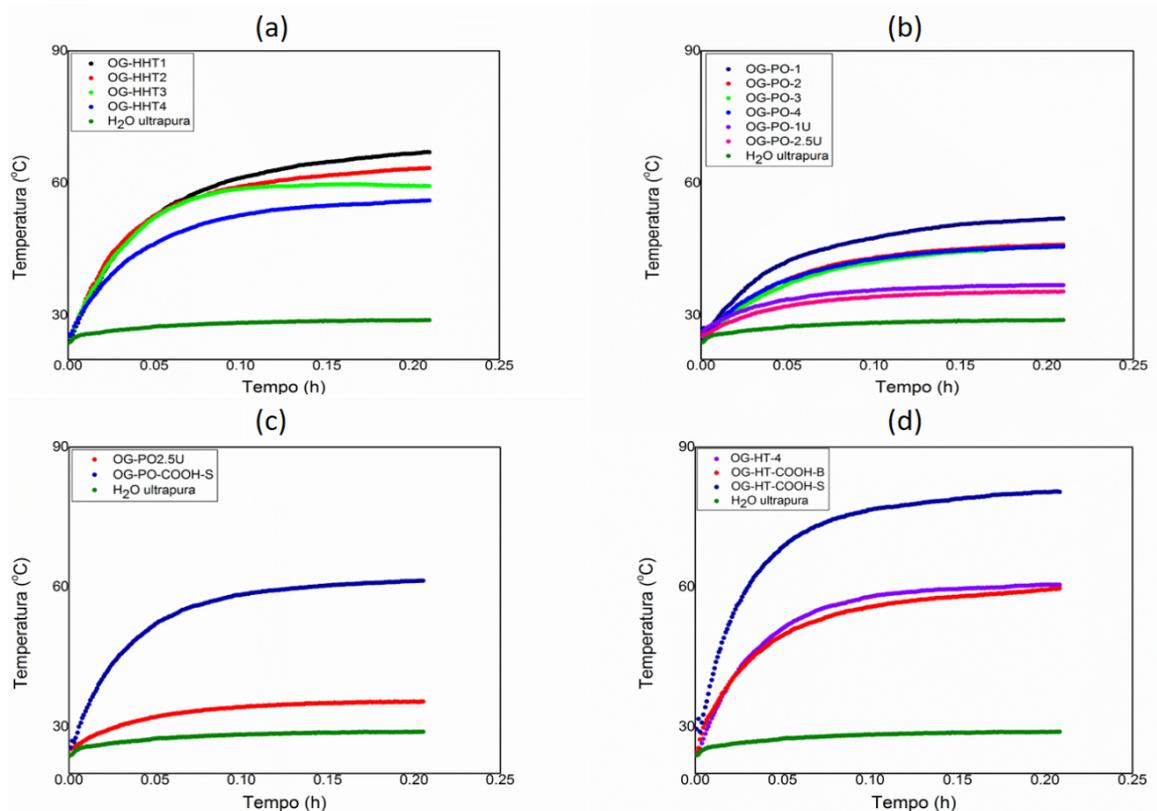


Figura 26. Curvas de aquecimento dos coloides de OG ($c = 112 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$): (a) lote OG-HHT; (b) lote OG-PO; (c) OG-PO2.5U/OG-PO-COOH-S; (d) OG-HT4/OG-PO-COOH-B*S. A água ultrapura foi utilizada como controle (verde escuro).

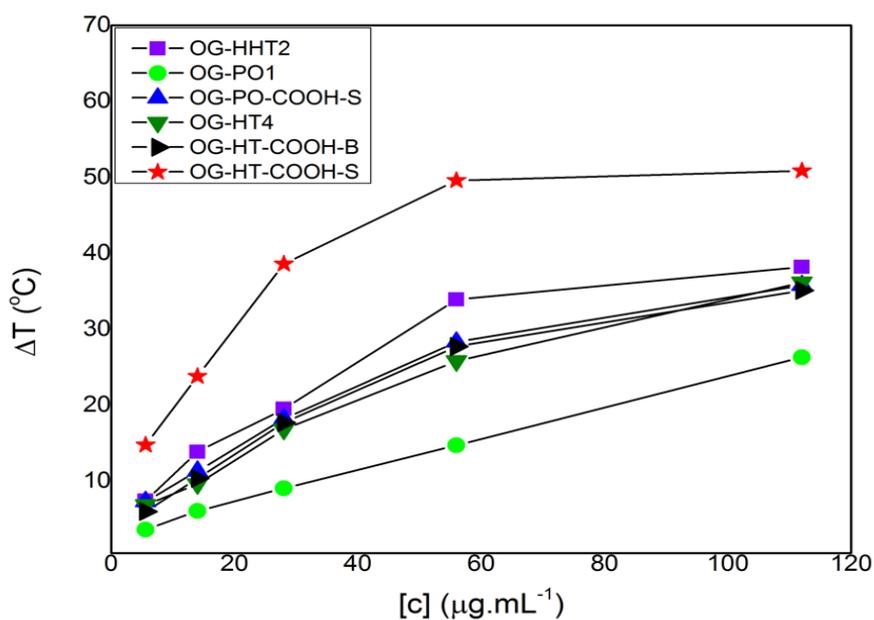


Figura 27. Gráfico ΔT versus $[c]$: 112, 56, 28, 14 e $5,6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dos coloides de OG.

Amostra	ΔT ($^{\circ}\text{C}$) \pm 0,5
<i>OG-HT4</i>	36,15
<i>OG-HHT1</i>	43,40
<i>OG-HHT2</i>	38,20
<i>OG-HHT3</i>	34,30
<i>OG-HHT4</i>	30,80
<i>OG-PO1</i>	26,30
<i>OG-PO2</i>	21,05
<i>OG-PO3</i>	21,05
<i>OG-PO4</i>	21,05
<i>OG-PO1U</i>	10,70
<i>OG-PO2.5U</i>	10,20
<i>OG-PO-COOHS</i>	35,75
<i>OG-HT-COOH-B</i>	35,10
<i>OG-HT-COOH-S</i>	50,85

Tabela 16. Valores de ΔT obtidos a partir da curva de aquecimento dos coloides com $c=112 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Infere-se a partir dos resultados da Figura 27 que o efeito fototérmico é dependente da concentração do OG. O valor de ΔT aumenta de forma assintótica com a concentração do material absorvente. A amostra OG-HT-COOH-S foi a mais promissora entre todas sintetizadas, pois foi a que apresentou o maior valor de ΔT . Este resultado corrobora com seu espectro UV-vis (Figura 25-b) que obteve um grande deslocamento da linha de base na região do infravermelho próximo, ou seja, evidenciando sua absorção nesta faixa de comprimento de onda. Além desta característica, a amostra OG-HT-COOH-S apresenta o maior grau de oxidação entre as demais amostras carboxiladas, como também o maior coeficiente de absorvidade ($118,94 \text{ L. g}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). O elevado valor de ϵ caracteriza folhas com mais domínios aromáticos, o que contribui para o efeito fototérmico conforme o mecanismo elucidado no referencial teórico.

Confrontando os resultados de ΔT das amostras da Figura 27 observa-se que o OG-HT-COOH-S apresenta as maiores temperaturas em quaisquer concentrações, ou seja, esta amostra tem um grande potencial para a construção de plataformas multifuncionais minimizando a quantidade de material e alcançando um efeito fototérmico satisfatório. A maioria das amostras apresentou um comportamento assintótico com o aumento da concentração de material absorvente caracterizando

sistemas que saturam a partir de uma concentração ótima. O efeito da concentração pode interferir na medição de ΔT visto que os fótons podem ser absorvidos, em amostras concentradas, apenas pelas folhas de OG que se encontram na superfície do coloide impedindo que a radiação alcance o seio da suspensão e, assim, interferindo no registro de ΔT pelo termopar. O índice de polidispersão (PDI) do OG-HT-COOH-S apresentou um dos menores valores ao comparar com os dados dos demais coloides. A avaliação deste parâmetro indica que a distribuição de tamanho também é um fator que coopera para o efeito fototérmico, uma amostra mais polidispersa consiste em um sistema particulado mais complexo, isto é, os efeitos de fototermia podem ser pronunciados em alguns tamanhos e não ser em outros.

As amostras OG-HHT2 e OG-PO-COOH-S foram as que apresentaram, depois do OG-HT-COOH-S, os maiores valores de ΔT . Ambas possuem coeficientes de absorvidades próximas. A primeira é proveniente da esfoliação mecânica do OGR mais oxidado e a segunda pela carboxilação da amostra OG-PO2.5. Os valores de diâmetro hidrodinâmico (DH) indicam que estas amostras possuem dimensões bastante distintas uma com 534 nm (HHT2) e outra com 158 nm (PO-COOH-S) e, mesmo assim, apresentam efeitos semelhantes ao serem irradiados com o laser. Todavia, o PDI destas amostras indica que OG-HHT2 é mais polidisperso do que OG-PO-COOH-S que exibiu uma distribuição de tamanho intermediária e, assim, moderadamente polidispersa. Pode-se supor que a maioria da população de partículas da amostra funcionalizada participa de maneira eficiente na conversão de irradiação NIR em calor, enquanto o OG-HHT2, que é um sistema mais polidisperso, possui uma coleção mais limitada de tamanhos que contribuem para a relaxação molecular térmica. Ao confrontar os valores de I_D/I_G , L_D e W_G do espectro Raman destes dois coloides, percebe-se que a coleção de defeitos se sobressai para a amostra OG-HHT2, devido apresentar a maior razão e uma maior proximidade entre os defeitos como também exibir uma maior desordem estrutural.^{43,44}

Ao final foi realizado um último teste para avaliar a reversibilidade do comportamento fototérmico a partir do levantamento de curvas de aquecimento e resfriamento sucessivas e com tempo fixo de irradiação (~10min). Com esse experimento é também possível avaliar a degradação do material a partir da identificação de um comportamento atípico dos valores de temperatura máxima e mínima ao decorrer dos ciclos. Os resultados do teste mencionado estão representados graficamente na Figura 28.

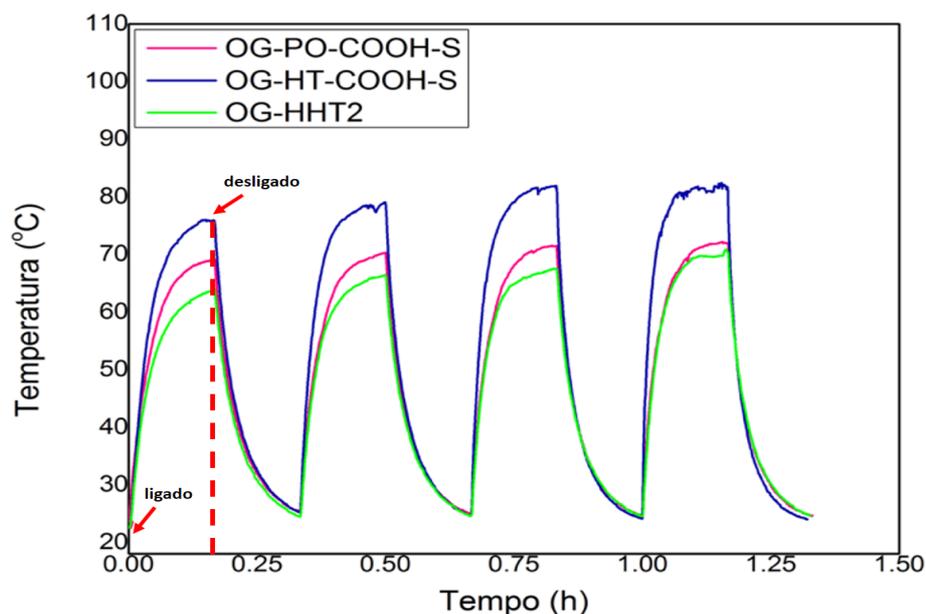


Figura 28. Ciclos de aquecimento e resfriamento das amostras: OG-HT-COOH-S; OG-HHT-2 e OG-PO-COOH-S, $c = 112 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. A janela de aquisição das curvas foi limitada a um tempo de ~ 10 min.

Observa-se o mesmo comportamento fototérmico para todas as amostras quando foram irradiadas sucessivamente pela radiação monocromática ($\lambda_{\text{exc}} = 808 \text{ nm}$) durante quatro ciclos de aquecimento/resfriamento. Houve apenas uma pequena diferença nos valores de temperatura máxima, pois ao decorrer dos ciclos uma porção da amostra evaporava aumentando a sua concentração e, portanto, atingindo um valor de T cada vez maior. Estes materiais, então, podem ser reutilizados, pois possuirão o mesmo comportamento fototérmico de outrora.

Ao comparar a estrutura molecular dos materiais preparados neste trabalho com os presentes na literatura, é observado que, frequentemente, os artigos empregam o r-OG (óxido de grafeno reduzido) ao invés de OG para este tipo de aplicação. Análises espectroscópicas apontam que o r-OG possui uma absorção óptica de até seis vezes maior do que o OG na região NIR devido à restauração de domínios aromáticos em sua estrutura aumentando assim o seu efeito fototérmico.^{9,10,14} Todavia, o r-OG possui uma limitação importante que consiste em sua solubilidade em meio fisiológico, pois depois da sua redução (química, térmica ou fotoquímica) muitos grupos oxigenados são eliminados da estrutura diminuindo, assim, sua hidrofiliabilidade. Um dos métodos utilizados para aumentar a sua biocompatibilidade é funcionalizar o r-OG com polietilenoglicol (PEG), que é um polímero biocompatível e hidrossolúvel.^{9,25,26}

Amostras de nano-OG com concentração de $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ao serem irradiadas por um laser 808nm ($5,52 \text{ kJ.cm}^{-2}$), durante 10 minutos, alcançam um ΔT máximo de 40°C .⁵⁰ Coloides de r-OG funcionalizados com PEG ($c \sim 20 \text{ mg.L}^{-1}$) atingem nos primeiros cinco minutos de irradiação temperaturas acima de 50°C utilizando como fonte de excitação um laser 808nm ($0,6 \text{ W.cm}^{-2}$).¹⁰

A amostra OG-HT-COOH-S preparada neste trabalho apresentou uma variação de temperatura na ordem de $50,85^\circ\text{C}$ com uma concentração de $112 \mu\text{g.mL}^{-1}$ utilizando uma fluência de $230 \pm 0,5 \text{ mW.cm}^{-2}$. E nos primeiros cinco minutos chegou a uma temperatura de $55,8^\circ\text{C}$ com concentração próxima a 20 mg.L^{-1} . Ou seja, a amostra mais promissora preparada neste trabalho apresentou um ΔT superior ao nano-OG com a metade da concentração, além de exibir um comportamento muito similar ao r-OG relatado na literatura utilizando a mesma concentração e com uma fluência menor. As amostras OG-HHT2 e OG-PO-COOH-S também são promissoras, pois chegaram a uma temperatura superior ao limite de fotoablação (50°C).¹⁰

Logo, as suspensões coloidais preparadas são fortes pretendentes para a construção de plataformas multifuncionais para o emprego em terapia fototérmica, pois além de exibirem características similares, com os agentes fototérmicos presentes na literatura, são produzidas sob baixo custo quando comparado aos nanomateriais de ouro e nanotubos de carbono.^{10,27} A estrutura molecular do OG pode ainda ser aperfeiçoada para aumentar a eficácia terapêutica por meio da ancoragem de fármacos em sua superfície que são liberados a partir de um estímulo externo, por exemplo.

4.7 ANÁLISE MULTIVARIADA: PCA

Nesta seção, são apresentados os resultados da análise multivariada que foi realizada utilizando PCA (Análise de Componentes Principais) para avaliar os principais parâmetros que contribuem para o efeito fototérmico. Esta técnica da estatística multivariada utiliza transformação ortogonal para converter um conjunto de variáveis originais, possivelmente correlacionadas, em um novo conjunto de valores, de mesma dimensão, de variáveis lineares não correlacionadas, denominadas de componentes principais. A matriz de dados inicial é reduzida para uma matriz menor (Z) que é obtida através da matriz de variância e covariância (S). Com base na matriz S é possível calcular os autovalores (λ) e a matriz de autovalores (U). O λ representa a variância de cada

componente principal (CP) e é expresso em porcentagem, quanto maior o valor, maior a importância da CP. O resultado de um PCA é um gráfico, de 2 e/ou 3 dimensões, onde os eixos representam as PC's e os dados são as pontuações das componentes. Cada ponto carrega o peso de cada variável original padronizada. Este tipo de análise de discriminação agrupa as “amostras” com base na variação de suas características.^{53,54}

Destaca-se, neste trabalho, para os seguintes parâmetros de cada amostra de óxido de grafeno: razão I_D/I_G ; L_a ; L_D ; DH; PDI; ΔT ; ϵ ; pH e $\lambda_{MÁX}$. Logo, a matriz inicial de dados consistiu na junção destas 9 variáveis para cada OG preparado. O resultado do PCA é ilustrado nas Figuras 29 e 30. Primeiramente observa-se quatro grupos de amostras, onde os coloides de um mesmo grupo possuem similaridade em relação ao conjunto de variáveis analisado (Fig. 29). Destaca-se para a amostra OG-HT-COOH-S que pertence a um grupo isolado. Ou seja, ela possui características distintas das demais suspensões que corrobora com a caracterização fototérmica visto que é a amostra que possui o maior valor de ΔT e, portanto, a mais promissora. A distância euclidiana é utilizada para medir o grau de proximidade entre os pontos no PCA, logo nota-se que as variáveis ϵ , $\lambda_{MÁX}$ e DH correspondem aos parâmetros que estão mais perto do parâmetro principal ΔT , ou seja, são as variáveis que mais contribuem para o efeito fototérmico.

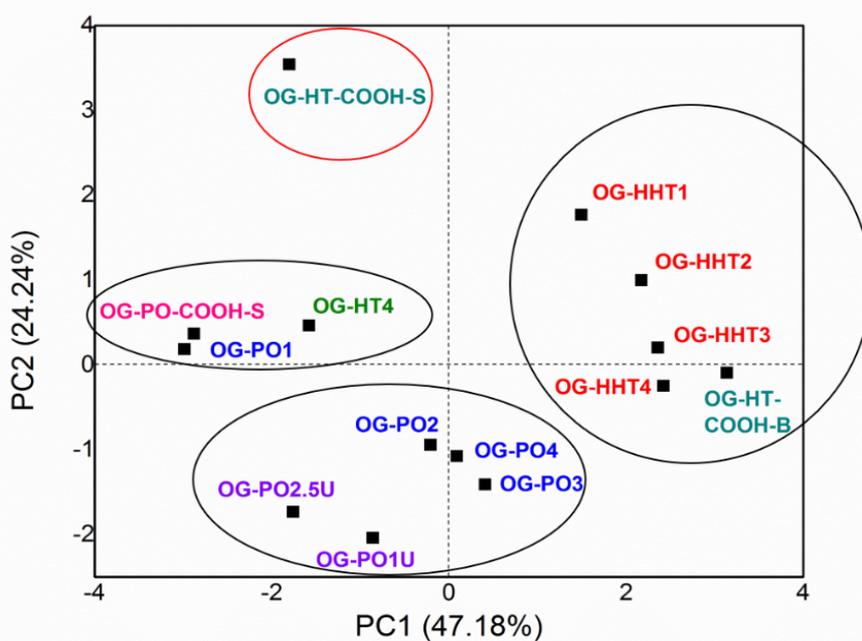


Figura 29. Agrupamento das amostras de óxido de grafeno.

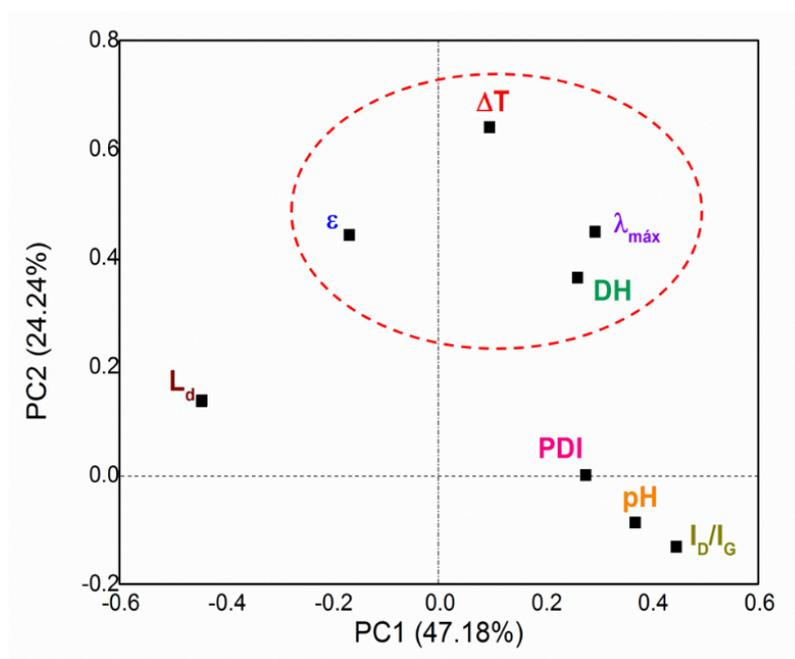


Figura 30. Agrupamento dos parâmetros analisados.

Conclui-se, então, que o efeito fototérmico das amostras de OG é influenciado principalmente pelo tamanho (DH) e pela química de superfície do material (ϵ , $\lambda_{\text{MÁX}}$). Ou seja, a absorção óptica do OG é extremamente dependente de sua estrutura molecular e da morfologia de suas folhas.^{31,52}

CAPÍTULO 5

5.1 CONCLUSÕES

As amostras de óxido de grafite (OGR) e de óxido de grafeno (OG) foram obtidas com estrutura molecular e tamanho compatível com aqueles encontrados na literatura, para amostras obtidas por rotas similares às empregadas nesse trabalho.

O grau de oxidação do OGR foi um dos primeiros parâmetros investigados. A partir da análise por FTIR-ATR conclui-se que o OGR-HHT apresentou o maior nível de oxidação comparado às demais amostras. A análise elementar corroborou com os resultados de FTIR-ATR, pois aponta uma menor razão C/O para a amostra HHT. Ao comparar os valores de C/O com o *Threshold Oxidation Degree – TOD* (limite do grau de oxidação) que se encontra comumente no seguinte intervalo $1,8 < C/O < 2,5$, nota-se que as razões obtidas pelos materiais OGR's, sintetizados neste trabalho, apresentam um alto grau de oxidação. Destaca-se que o OGR-HT exibiu uma razão C/O= 2,22, que é próxima do valor 2,25 obtido originalmente por Hummers e Offeman. E, por fim, as amostras de OGR foram caracterizadas por espectroscopia Raman. Foi observado a presença das bandas dos modos vibracionais dominantes D, G e G'(2D), que estão presentes em nanomateriais de carbono quimicamente modificados encontrados na literatura. Nota-se que a razão I_D/I_G aumenta depois da esfoliação química do grafite, ou seja, o nível de oxidação contribui para a presença de carbonos sp^3 (defeitos) na rede grafítica. Os resultados obtidos por esta técnica espectroscópica apontaram que o OGR-HHT é o material mais rico em defeitos por exibir: a maior razão I_D/I_G , maior proximidade entre os defeitos (L_D) e uma maior desordem estrutural, que foi avaliada a partir da largura à meia altura da banda G.

As suspensões coloidais de OG foram separadas basicamente em dois conjuntos de amostras, o primeiro está relacionado aos OG's provenientes da esfoliação do OGR por tempos variados de agitação ultrassônica, e o segundo conjunto consiste na funcionalização por carboxilação. A análise dos espectros de absorção UV-vis revelou um deslocamento batocrômico para as suspensões provenientes do OGR mais oxidado (HHT). Estas amostras exibiram os maiores valores de absorvidade (ϵ). Portanto, para uma mesma quantidade de óxido de grafeno a amostra que apresenta o maior valor de ϵ possui mais domínios aromáticos isolados. Os valores de absorvidade revelam que os coloides possuem uma heterogeneidade eletrônica que é uma evidência espectroscópica

que a modificação de parâmetros reacionais na oxidação do grafite bem como a alteração no tempo de agitação ultrassônica, para um mesmo lote, conduz a materiais com características diferentes. Destaca-se para a amostra funcionalizada OG-HT-COOH-S que entre as suspensões funcionalizadas apresentou o maior grau de oxidação e exibiu o maior valor de ϵ ($118,9 \text{ L.g}^{-1}\text{cm}^{-1}$) ao confrontar os valores de absorvidade de todas as amostras preparadas. A variação no tempo de agitação ultrassônica para o lote OG-PO, submetida a uma mesma potência, não mostrou uma tendência para a obtenção de folhas menores, este resultado pode estar relacionado diretamente com o funcionamento do ultrassom que não está atingindo, com eficiência, a potência exigida e a estrutura molecular de materiais distintos. Todos os OG's preparados apresentaram PZ negativo e próximos ou maiores a 30 mV, o que sugere que as suspensões são estabilizadas por repulsão eletrostática, no pH apresentado. A análise dos espectros Raman dos filmes de OG também corrobora com a análise do grau de oxidação do seu respectivo OGR ou do OG-COOH, para os óxidos de grafeno funcionalizados.

O OG possui uma forte absorção óptica na faixa do NIR, e, portanto, bastante interessante para sua aplicação na ablação de tumores por hipertemia celular. O resultado da caracterização fototérmica dos coloides de OG revelou um conjunto de amostras que chegaram a uma temperatura superior ao limite de fotoablação (50°C). Infere-se a partir dos resultados que o efeito fototérmico é dependente da concentração do OG e que o valor de ΔT aumenta de forma assintótica com a concentração. Além disso, estes materiais podem ser reutilizados, pois possuirão o mesmo comportamento fototérmico de outrora. Este comportamento foi observado a partir do levantamento de curvas de aquecimento e resfriamento sucessivas com tempo fixo de irradiação. As amostras mais promissoras foram: OG-HT-COOH-S, OG-HHT2 e OG-PO-COOH-S, que exibiram características similares a de agentes fototérmicos presentes na literatura, apesar de serem produzidas sob baixo custo quando comparado aos nanomateriais de ouro e nanotubos de carbono. O PCA revelou que as variáveis que mais contribuem para o efeito fototérmico são: coeficiente de absorvidade (ϵ), o λ_{MAX} e o diâmetro hidrodinâmico (DH).

Os desafios que foram encontrados durante o levantamento bibliográfico para a síntese do OG consistiram na falta de clareza e/ou ausência de informações sobre: a potência utilizada na agitação ultrassônica; a possível contaminação da amostra devida à degradação da ponteira da sonda de ultrassom durante o uso prolongado; o uso de sistema

de arrefecimento da amostra durante a esfoliação mecânica utilizando uma potência alta no tratamento de um pequeno volume.

Com base nas limitações encontradas durante a pesquisa, optou-se por trabalhar com uma potência baixa/média. Essa medida foi tomada para evitar a degradação repentina da ponteira e a dilatação brusca do recipiente que comportava a amostra durante a agitação ultrassônica.

5.2 PERSPECTIVAS

1. Caracterizar a morfologia dos materiais por microscopia eletrônica de varredura (MEV), transmissão (MET) e de força atômica (AFM).
2. Preparar amostras de r-OG a partir das amostras OG-HT-COOH-S, OG-HHT-2 e OG-PO-COOH-S para investigar se há um aumento na absorção óptica NIR sobre a taxa de aquecimento.
3. Ancorar agentes fotossensibilizantes e quantificar a produção de espécies reativas de oxigênio visando à elaboração de plataformas para terapias fototérmica e fotodinâmica combinadas.

BIBLIOGRAFIA

1. Disponível em:

<<https://www.greenme.com.br/informar-se/ambiente/1199-a-importancia-do-carbono-para-manutencao-da-vida-na-terra>>, acesso em 20 de setembro de 2017.

2. Novoselov, K. S. *et al.* A roadmap for graphene. *Nature* 490, 192–200 (2012).
3. Royal, T. H. E., Academy, S. & Sciences, O. F. Scientific Background on the Nobel Prize in Physics 2010. *R. Swedish Acad. Sci.* 50005, 0–10 (2010).
4. Andre Geim, K. N. The Rise of Graphene. *Nat. Mater* 6, 1–14 (2007).
5. Aliofkhazraei, M.; Ali, N.; Milne, W. I.; Ozkan, C. S.; Mitura, S.; Gervasoni, J. L. Graphene Science Handbook – Fabrication Methods. CRC Press – Taylor & Francis Group by 2016. P.: ix
6. Aliofkhazraei, M.; Ali, N.; Milne, W. I.; Ozkan, C. S.; Mitura, S.; Gervasoni, J. L. Graphene Science Handbook – Fabrication Methods. Chapter 3: Synthesis Methods for Graphene. CRC Press – Taylor & Francis Group by 2016. P.:
7. Hummers, William S. Jr., and Offeman, R. E. Preparation of Graphitic Oxide. *J. Am. Chem. Soc.* 1939 (1957).
8. Dreyer, D. R., Park, S., Bielawski, C. W. & Ruoff, R. S. The chemistry of graphene oxide. *Chem. Soc. Rev.* 39, 228–240 (2009).
9. Gonçalves, G. *et al.* Nano-Graphene Oxide: A Potential Multifunctional Platform for Cancer Therapy. *Adv. Healthc. Mater.* 2, 1–19 (2014).
10. Robinson, J. T. *et al.* Ultra-Small Reduced Graphene Oxide with High Near-Infrared Absorbance for Photothermal Therapy. *J. Am. Chem. Soc.* 133, 6825–6831 (2011).
11. Enoki, T. & Ando, T. *Physics and Chemistry of Graphene.* (Pan Stanford Publishing, 2014).
12. Kuila, T. *et al.* Chemical functionalization of graphene and its applications. *Prog. Mater. Sci.* 57, 1061–1105 (2012)
13. Brodie, B. C. XIII. On the Atomic Weight of Graphite. *Philos. Trans.* 149, 249–259 (1859).
14. Marcano, D. C. D. *et al.* Improved Synthesis of Graphene Oxide. *ACS Nano* 4, 4806–4814 (2010).
15. Baccan, N.; Andrade, J. C.; Godinho, O. E. S. e Barone, J. S. Química Analítica Quantitativa Elementar. 2ª Edição. Campinas: Editora Edgard Blucher Ltda, 1979.

16. Zhong, Y. L., Tian, Z., Simon, G. P. & Li, D. Scalable production of graphene via wet chemistry: progress and challenges. *Mater. Today* 18, 73–78 (2015).
17. Lerf, A., He, H., Forster, M. & Klinowski, J. Structure of Graphite Oxide Revisited ¹. *J. Phys. Chem. B* 102, 4477–4482 (1998).
18. Gao, W., Alemany, L. B., Ci, L. & Ajayan, P. M. New insights into the structure and reduction of graphite oxide. *Nat. Chem.* 1, 403–408 (2009).
19. Yang, K. *et al.* Graphene in mice: Ultrahigh in Vivo Tumor Uptake and Efficient Photothermal Therapy. *Nano Lett.* 10, 3318–3323 (2010)
20. Aliofkhaezai, M.; Ali, N.; Milne, W. I.; Ozkan, C. S.; Mitura, S.; Gervasoni, J. L. Graphene Science Handbook – Size-Dependent Properties. Chapter 6: Synthesis Strategies for Graphene. CRC Press – Taylor & Francis Group by 2016.
21. Chen, J. *et al.* Graphene oxide exhibits broad-spectrum antimicrobial activity against bacterial phytopathogens and fungal conidia by intertwining and membrane perturbation. *Nanoscale* 6, 1879–1889 (2014)
22. Disponível em:
<http://www.periodicos.capes.gov.br/index.php?option=com_pcollection>, acesso 22 de junho 2018.
23. Ma, X. *et al.* A Functionalized Graphene Oxide-Iron Oxide Nanocomposite for Magnetically Targeted Drug Delivery, Photothermal Therapy, and Magnetic Resonance Imaging. *Nano Res.* 5, 199–212 (2012)
24. Patel, M. A. *et al.* Direct Production of Graphene Nanosheets for Near Infrared Photoacoustic Imaging. *ACS Nano* 7, 8147–8157 (2013)
25. Wang, X. *et al.* Antibacterial and anticoagulation properties of carboxylated graphene oxide-lanthanum complexes. *J. Mater. Chem.* 22, 1673–1678 (2012).
26. Sahu, A., Choi, W. Il, Lee, J. H. & Tae, G. Graphene oxide mediated delivery of methylene blue for combined photodynamic and photothermal therapy. *Biomaterials* 34, 6239–6248 (2013)
27. Chen, Y. W., Su, Y. L., Hu, S. H. & Chen, S. Y. Functionalized graphene nanocomposites for enhancing photothermal therapy in tumor treatment. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 105, 190–204 (2016).

28. Shi Kam, N. W., O'Connell, M., Wisdom, J. A. & Dai, H. Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 11600–11605 (2005)
29. Acik, M. *et al.* Unusual infrared-absorption mechanism in thermally reduced graphene oxide. *Nat. Mater.* 9, 840–845 (2010)
30. Pan, S. & Aksay, I. A. Factors Controlling the Size of Graphene Oxide Sheets Produced via the Graphite Oxide Route. *ACS Nano* 5, 4073–4083 (2011).
31. Gonçalves, G. *et al.* Breakdown into nanoscale of graphene oxide: Confined hot spot atomic reduction and fragmentation. *Sci. Rep.* 4, 1–8 (2014)
32. Disponível em: < https://www.hielscher.com/pt/sonochem_01.htm>, acesso em: 22 de setembro de 2017.
33. Martines, M. A. U., Davolos, M. R. & Júnior, M. J. O Efeito do Ultra-Som em Reações Químicas. *Quim. Nova* 23, 251–256 (2000)
34. Acik, M. *et al.* The Role of Oxygen during Thermal Reduction of Graphene Oxide Studied by Infrared Absorption Spectroscopy. *J. Phys. Chem. C* 115, 19761–19781 (2011).
35. Kim, H., Moon, G., Monllor-Satoca, D., Park, Y. & Choi, W. Solar Photoconversion Using Graphene/TiO₂ Composites: Nanographene Shell on TiO₂ Core versus TiO₂ Nanoparticles on Graphene Sheet. *J. Phys. Chem. C* 116, 1535–1543 (2012).
36. Luo, J. *et al.* Graphene Oxide Nanocolloids. *J. Am. Chem. Soc.* 132, 17667–17669 (2010).
37. Disponível em: <<http://cloud.cnpqg.embrapa.br/wp-content/igu/fispq/laboratorios/Persulfato%20de%20am%C3%B4nio.pdf>>, acesso em: 20 de setembro de 2017.
38. Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S. e Vyvyan, J. R. Introdução à Espectroscopia. Tradução da 4ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2010.
39. Disponível em: <<http://mtc-m16c.sid.inpe.br/col/sid.inpe.br/yolanda/2004/12.08.13.44/doc/v1.pdf>>, acesso em: 20 de setembro de 2017.
40. Dresselhaus, M. S., Jorio, A., Hofmann, M., Dresselhaus, G. & Saito, R. Perspectives on Carbon Nanotubes and Graphene Raman Spectroscopy. *Nano Lett.* 10, 751–758 (2010).

41. Caçado, L. G. *et al.* General equation for the determination of the crystallite size L_a of nanographite by Raman spectroscopy. *Appl. Phys. Lett.* 88, 1–4 (2006).
42. Caçado, L. G. *et al.* Quantifying Defects in Graphene via Raman Spectroscopy at Different Excitation Energies. *Nano Lett.* 11, 3190–3196 (2011)
43. Casiraghi, C., Ferrari, A. C. & Robertson, J. Raman spectroscopy of hydrogenated amorphous carbons. *Phys. Rev. B - Cover. Condens. Matter Mater. Phys.* 72, 1–14 (2005).
44. Ferrari, A. C. & Robertson, J. Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon. *Phys. Rev. B - Cover. Condens. Matter Mater. Phys.* 61, 1–13 (2000)
45. Disponível em:
<<https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Malvern%20Zetasizer%20ZS%20DLS%20user%20manual.pdf>>, acesso em 6 de abril de 2018.
46. Material do Minicurso: Potencial Zeta e Estabilidade de Nanocoloides, que foi ministrado pelo prof. Doutor Alex Fabiano C. Campos do Grupo de fluidos complexos da UnB. I Simpósio de Nanotecnologia do Distrito Federal (6-8 de junho de 2018)
47. Disponível em:
<http://www.retsus.fiocruz.br/sites/default/files/publicacoes/arquivos/livro_conceitos_basicos_e_aplicados_em_imuno-hematologia.pdf>, acesso em 21 de maio de 2018.
48. Disponível em:
<https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/374074/mod_resource/content/1/DLS.pdf>, acesso em 17 de julho de 2018.
49. Disponível em: <<http://www.materials-talks.com/blog/2014/10/23/polydispersity-what-does-it-mean-for-dls-and-chromatography/>>, acesso em 18 de julho de 2018.
50. dos Santos, M. S. C. *et al.* Nanographene oxide-methylene blue as phototherapies platform for breast tumor ablation and metastasis prevention in a syngeneic orthotopic murine model. *J. Nanobiotechnology* 16, 1–17 (2018).
51. Mehl, H., Matos, C. F., Neiva, E. G. C., Domingues, S. H. & Zarbin, A. J. G. Efeito da variação de parâmetros reacionais na preparação de grafeno via oxidação e redução do grafite. 37, 1639–1645 (2014).
52. Loh, K. P., Bao, Q., Eda, G. & Chhowalla, M. Graphene oxide as a chemically tunable platform for optical applications. *Nat. Chem.* 2, 1015–1024 (2010).
53. Braga, G.S., Paterno, L.G., Fonseca, F.J. Performance of an electronic tongue during monitoring 2-methylisoborneol and geosmin in water samples. *Sensors and Actuators. B, Chemical*, 171 (2012), 181–189.

54. Beebe, K.R., Peel R., M.B. Seasholtz, in Chemometrics: A Practical Guide, John Wiley and Sons, New York, 1998.

ANEXO 1

i) **Curvas de Calibração (UV-vis) das amostras de OG's preparadas a partir da esfoliação mecânica do seu respectivo OGR (HT, HHT ou PO) ou funcionalização (OG-COOH):**

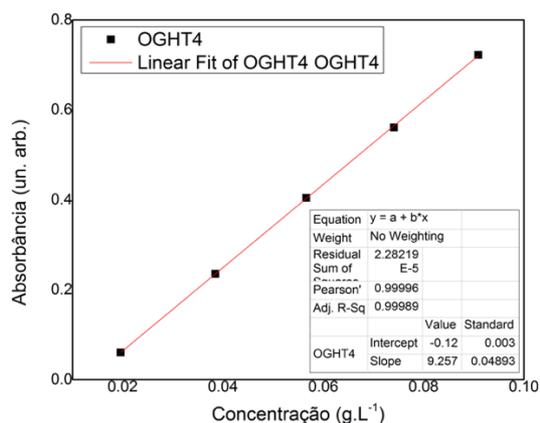


Figura 1.1: curva de calibração para amostra OG-HT4.

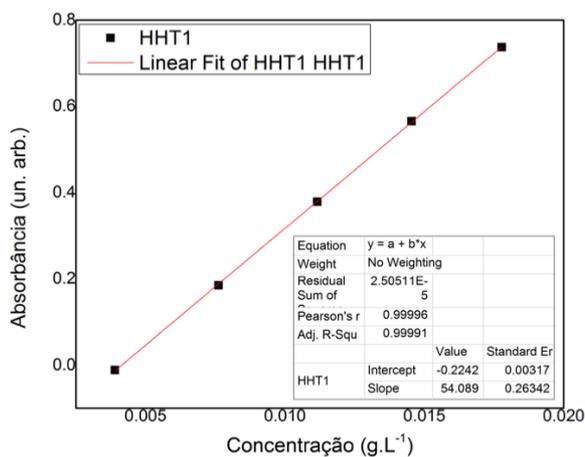


Figura 1.2: curva de calibração para amostra OG-HHT1.

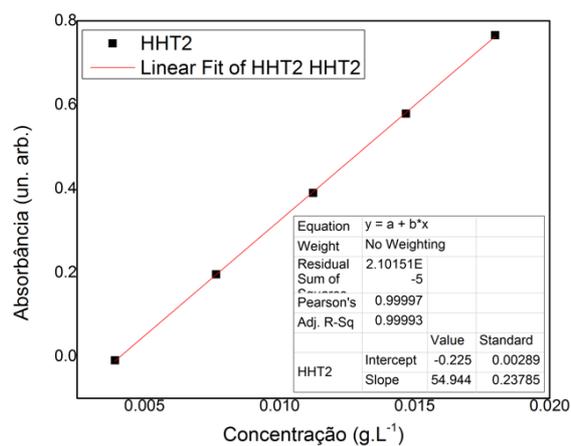


Figura 1.3: curva de calibração para amostra OG-HHT2.

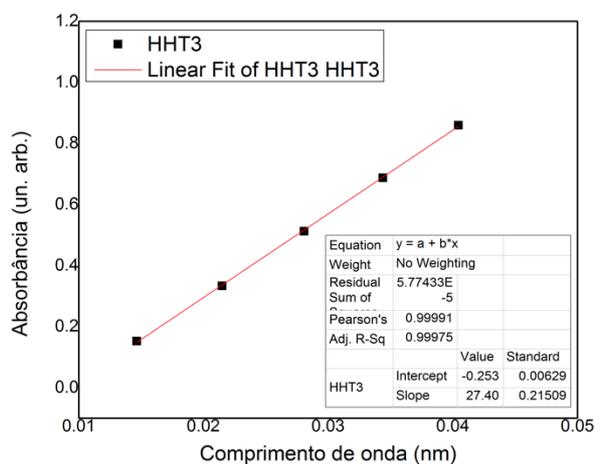


Figura 1.4: curva de calibração para amostra OG-HHT3.

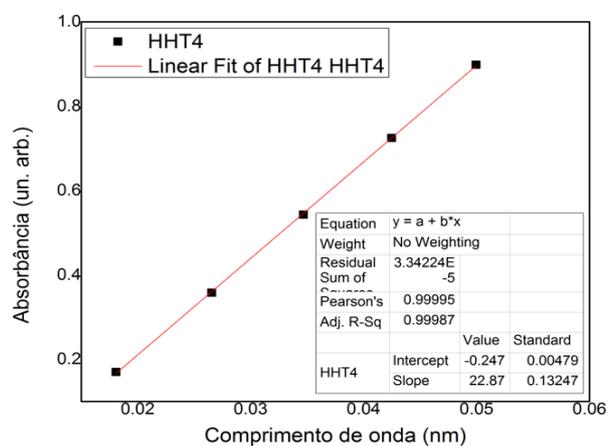


Figura 1.5: curva de calibração para amostra OG-HHT4.

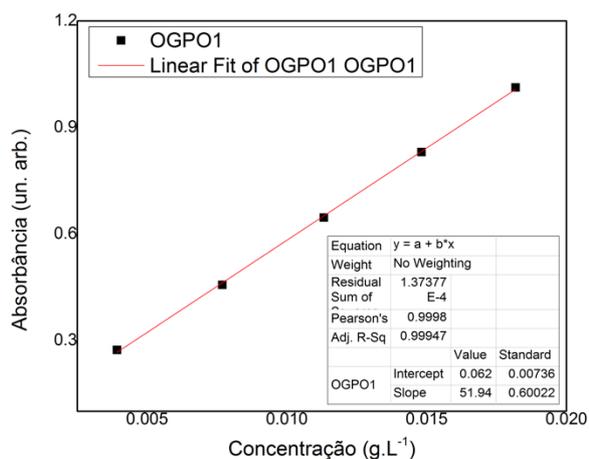


Figura 1.6: curva de calibração para amostra OG-PO1.

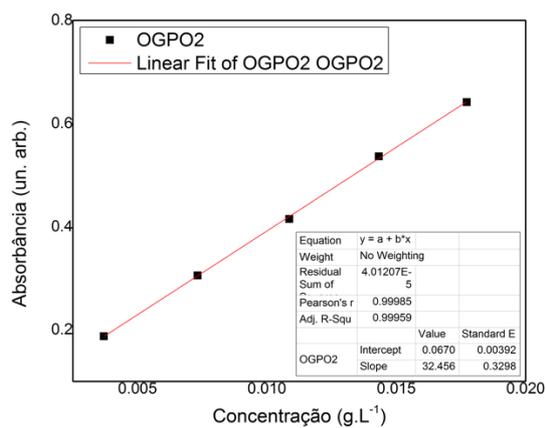


Figura 1.7: curva de calibração para amostra OG-PO2.

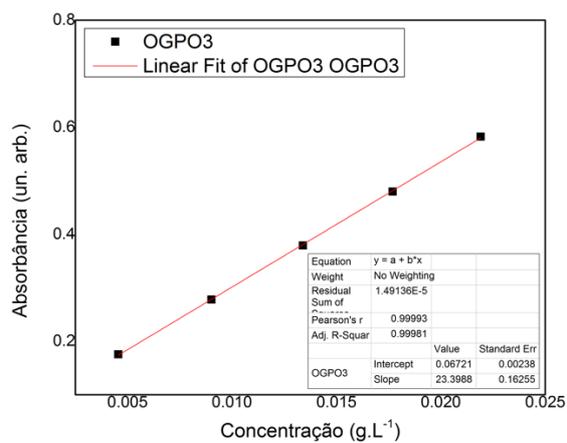


Figura 1.8: curva de calibração para amostra OG-PO3.

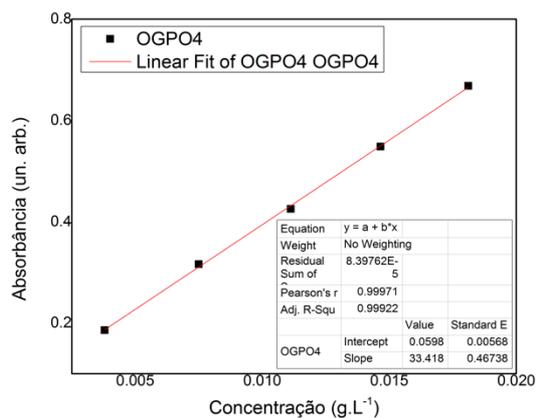


Figura 1.9: curva de calibração para amostra OG-PO4.

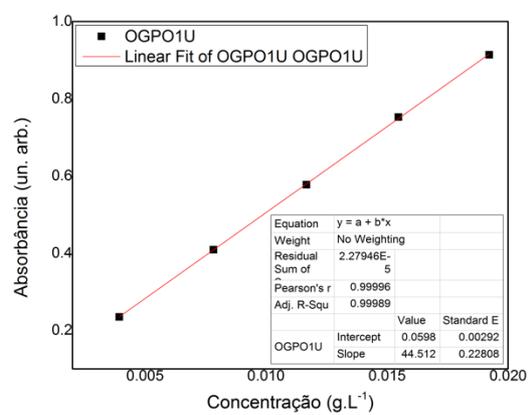


Figura 1.10: curva de calibração para amostra OG-PO1U.

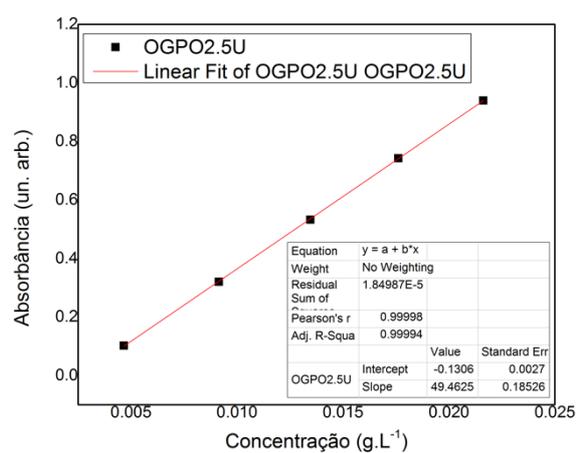


Figura 1.11: curva de calibração para amostra OG-PO2.5U.

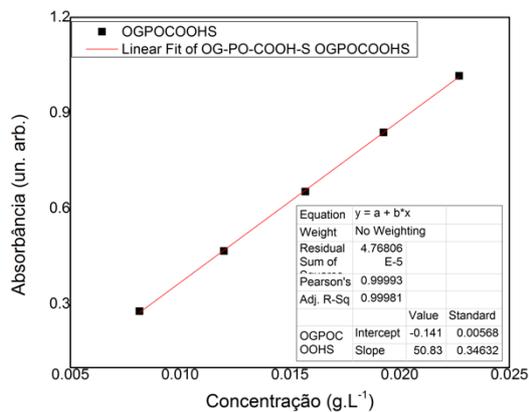


Figura 1.12: curva de calibração para amostra OG-PO-COOH-S.

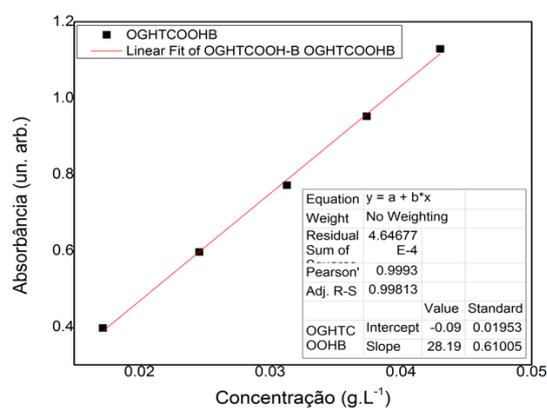


Figura 1.13: curva de calibração para amostra OG-HT-COOH-B.

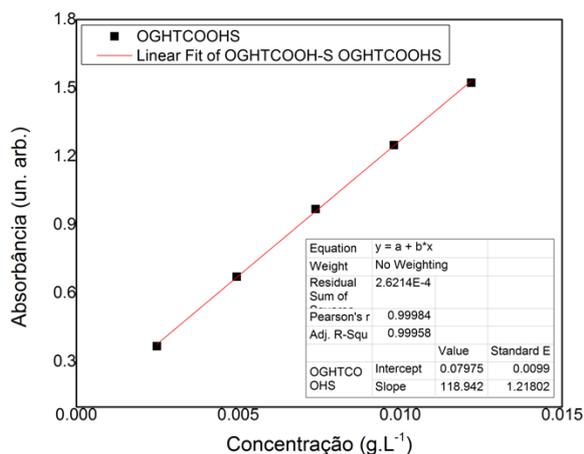


Figura 1.14: curva de calibração para amostra OG-HT-COOH-S.

ii) Ensaio fototérmico com concentrações: 112, 56, 28, 14 e 5,6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, para os coloides que exibiram os maiores valores de ΔT :

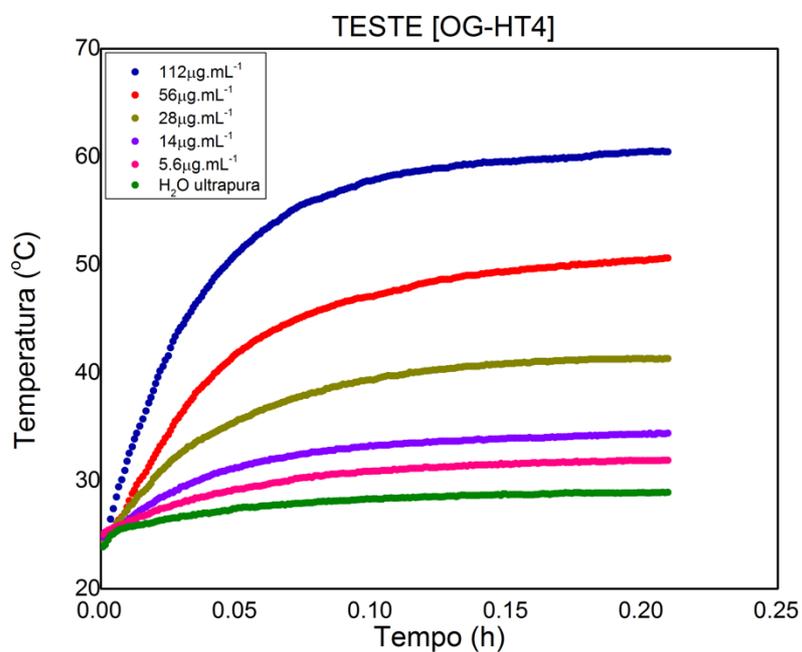


Figura 2.1: Curvas de aquecimento OG-HT4.

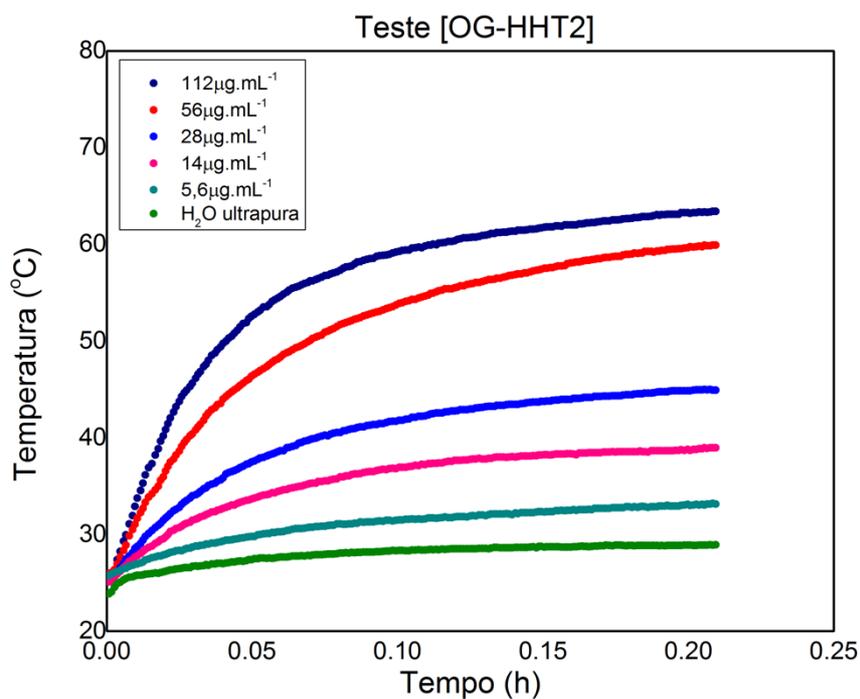


Figura 2.2: Curvas de aquecimento OG-HHT2.

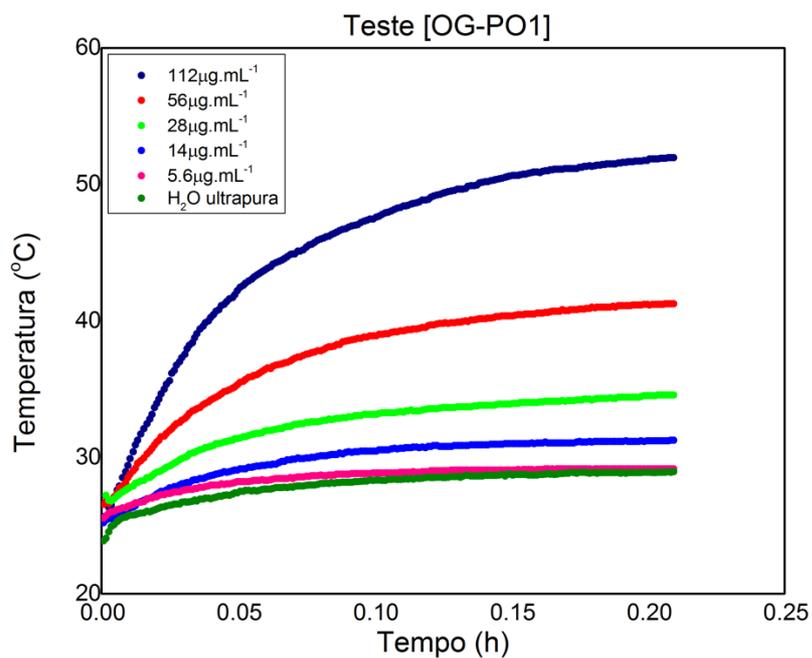


Figura 2.3: Curvas de aquecimento OG-PO1.

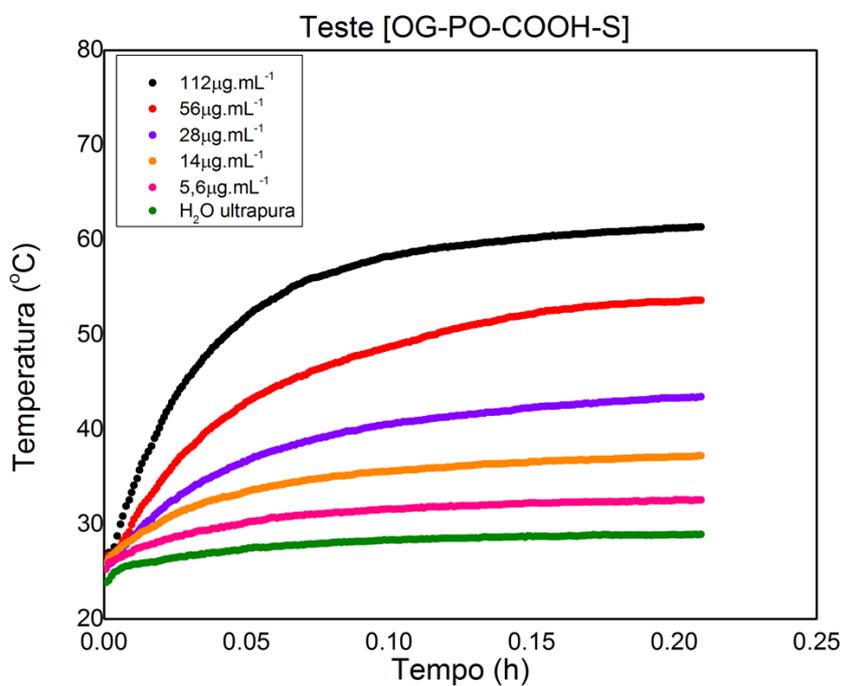


Figura 2.4: Curvas de aquecimento OG-PO-COOH-S.

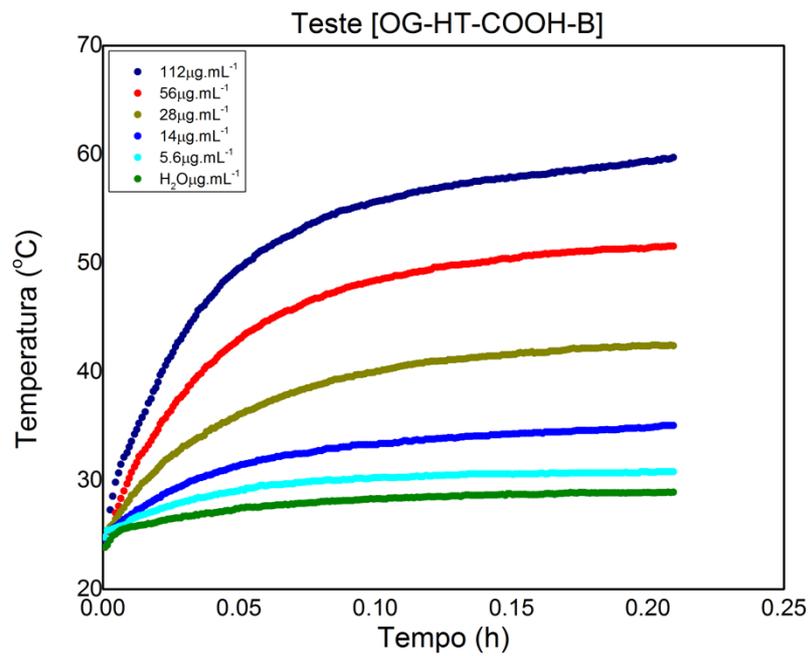


Figura 2.5: Curvas de aquecimento OG-HT-COOH-B.

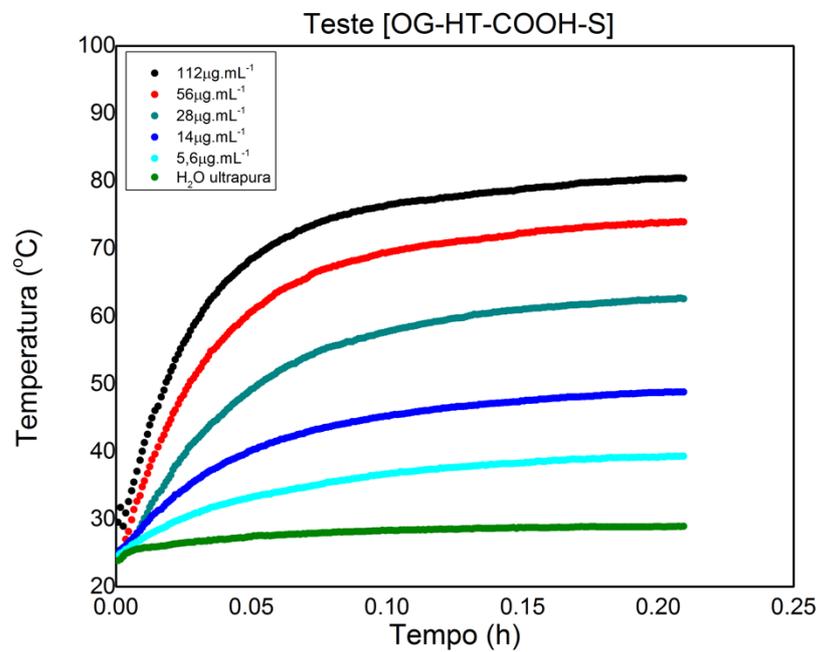


Figura 2.6: Curvas de aquecimento OG-HT-COOH-S.