

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
Programa de Pós-Graduação em Química

CLARA DE JESUS RANGEL

**Espectroscopia SERS de complexos de inclusão em  
Cucurbiturilas**

**Versão corrigida da dissertação**

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

**04/11/2021**

CLARA DE JESUS RANGEL

**Espectroscopia SERS de complexos de inclusão em  
Cucurbiturilas**

*Dissertação apresentada ao Instituto de  
Química da Universidade de São Paulo para  
obtenção do Título de Mestre em Química*

*Orientador (a): Prof. Dr. Rômulo Augusto Ando*

São Paulo

2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:  
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

R196e Rangel, Clara de Jesus  
Espectroscopia SERS de complexos de inclusão em cucurbiturilas / Clara de Jesus Rangel. - São Paulo, 2021.  
102 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.

Orientador: Ando, Rômulo Augusto

1. Raman. 2. Cucurbiturilas. 3. Nanopartículas.  
4. Complexos de inclusão. I. T. II. Ando, Rômulo Augusto, orientador.



## **AGRADECIMENTO(S)**

À minha querida família, mãe, pai e irmã por todo amor, companheirismo, dedicação e incentivo ao longo de toda minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rômulo A. Ando, por todo ensino, apoio, orientação, parceria, conselhos e amizade. Obrigada por sempre acreditar em mim e nunca me deixar desistir quando falhei.

A todos os professores do Laboratório de Espectroscopia Molecular, ao técnico Marcelo Santos e todos os colegas que sempre foram muito solícitos, ajudaram e auxiliaram quando precisei.

Aos profissionais da Central analítica, pelos experimentos realizados, e do Instituto de química da USP, em especial Milton e Vanderlei.

Aos meus amados amigos que sempre me dão forças pra continuar e razão para acreditar, Pedro, Raissa, Cris, Natany, Kevin, Camila, Jayr, Claudio, Isa Sodré, Monet, Bárbara, e Adriano, obrigada por me levantarem quando precisei.

As agências de fomento CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro.

Por fim, agradeço a Deus por me mostrar que tudo é possível através dos caminhos da fé.

**“Be the change that you wish to see in the world.”**  
Mahatma Gandhi

## RESUMO

Rangel, C.J. **Espectroscopia SERS de complexos de inclusão em cucurbiturilas**. 2021. 102p. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Este trabalho teve como foco o uso da técnica SERS para a detecção de moléculas e para o controle de reação utilizando a química de hóspede/hospedeiro em cucurbiturilas. As cucurbiturilas, além de hospedeiras, foram utilizadas para induzir a agregação das nanopartículas de forma controlada para otimizar o sinal SERS, localizando as moléculas de interesse nos denominados *hot-spots* (pontos de maior intensificação Raman). A análise de performance como substrato SERS em solução, e o monitoramento de reações químicas dentro das cucurbiturilas foram os principais objetivos desta dissertação. Foram utilizados dois analitos que possuem equilíbrio de protonação e um que apresenta fotoreação de redução quando submetido ao laser de excitação Raman em condições específicas. As reações de protonação foram inibidas com o complexo de inclusão, uma vez que o interior das cucurbiturilas é hidrofóbico. No caso da reação de fotoredução foi possível mostrar que com a formação do complexo inclusão, a reação de dimerização foi inibida em condições específicas, mas estudos mais aprofundados são necessários já que tal reação depende de outras variáveis. O método proposto se mostrou extremamente útil e eficiente pois além de promover agregação controlada, estabilidade e alta reprodutibilidade das soluções coloidais, que é de grande utilidade na intensificação do sinal Raman, foi possível controlar reações químicas com a inclusão nas cucurbiturilas e o auxílio da técnica SERS.

**Palavras-chave:** Raman, nanopartículas, plasmônica, complexos de inclusão, nanoreatores.

## Abstract

Rangel, C.J. **SERS spectroscopy of cucurbiturils inclusion complex**. 2021. 102p. Masters Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

In this work the SERS technique was used for detection of molecules and reaction control using host-guest chemistry in cucurbiturils. Besides being hosts, the cucurbiturils were used to induce controlled nanoparticles aggregation for optimized SERS signal, locating molecules of interest in *hot-spots* (Major Raman intensification points). The main objectives in this Project were the performance analysis of SERS substrate formed by addition of cucurbiturils in nanoparticles solution and then monitoring the chemical reaction inside the cucurbiturils. For that we choose two analytes with an azo group that can be protonated and one with a reduction photoreaction when submitted to Raman excitation laser under specific conditions. The protonation reactions were inhibited with the inclusion complex, since the interior of the cucurbiturils is hydrophobic. In photoreduction reaction it was possible to show that with inclusion complex the dimer formation was inhibited in specific condition, but it still needs further studies, once such a reaction depends on other variables. The proposed method for colloidal solutions aggregation proved to be extremely useful and efficient for promote controlled, stable and high reproducible aggregation. This is very useful in Raman enhancement signal; besides that it was possible to control chemical reactions with inclusion in cucurbiturils using SERS technique.

**Keywords:** Raman, nanoparticles, plasmonics, inclusion complexes, nanoreactors.



## Lista de Tabelas e Figuras

### Figuras

- 1- Diferença entre os fenômenos de absorção da radiação eletromagnética devido a transições vibracional (vermelho) e eletrônica (azul), respectivamente. As curvas ilustram a energia potencial ao longo de uma coordenada normal de vibração ( $Q_k$ ). .....17
- 2- Representação dos processos de espalhamento Rayleigh e Raman (Stokes e anti-Stokes), com radiação incidente de energia  $h\nu_0$ .....20
- 3- Parte real e parte imaginária da função dielétrica de diferentes metais em função do comprimento de onda. Figura adaptada da referência 12b.....27
- 4- Ilustração do fator de intensificação eletromagnético ( $EF_{EM}$ ) nanopartículas esféricas em (a) muito próximas (b) distância ótima e (c) isolada. Figura adaptada da referência 17.....29
- 5- Modelo de transferência de carga entre os estados do metal e da molécula adsorvida. Figura adaptada da referência 12b.....30
- 6- Exemplo de contribuição do mecanismo químico (Au) e eletromagnético (Ag) em um experimento SERS da molécula ilustrada (DNE).....32
- 7- Ilustração de uma molécula *host* (A) e diferentes moléculas *guest* (B-F) candidatas a inclusão em A. Figura adaptada da referência 20a.....33
- 8- Exemplo de exclusão eletrostática das moléculas *guest* D e E em A (*host*). Figura adaptada da referência 20a.....34
- 9- Exemplos de receptores macrocíclicos com diferentes topologias. Figura adaptada da referência 32.....36
- 10- Diferentes formas de inclusão de *guests* em uma molécula *host*.....37

11-Reação de polimerização para obtenção das cucurbiturilas 5-8 e respectivas estruturas químicas. Figura adaptada da referência 45.....	39
12- Cucurbiturila atuando como nanojunction de nanopartículas esféricas pela interação da superfície com os aros de entrada.....	42
13-Ilustração de um nanoreator obtido através da inclusão da molécula reativa na cucurbiturila e posicionado em regiões de alta intensificação SERS.....	43
14-Ilustração do comportamento dos íons na interface entre uma superfície sólida carregada e a solução em contato com a superfície contendo os íons. Adaptada da referência 60.....	46
15-Representação da energia potencial em função da distância $r$ entre as partículas, onde $\mu_R$ representa o termo repulsivo e $\mu_A$ representa o termo atrativo. Adaptada da referência 60.....	46
16-Diferentes possibilidades de estabilização dos sistemas coloidais por agentes estabilizantes.....	48
17-Espectros de extinção das nanopartículas de Au sem e com adição de CB e as respectivas fotos das cubetas utilizadas no experimento.....	52
18-Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) das nanopartículas de Au antes e após adição de CB nas diferentes magnificações indicadas.....	54
19-Espectros de extinção das soluções aquosas de coloide de Au sem agregação induzida (vermelho), com agregação induzida pela adição de CB (azul) e induzida pelo método de <i>salting-out</i> com adição de KCl (verde), nos tempos 0, 30 e 60 minutos, respectivamente.....	56

<b>20-</b> Comparação entre a variação da absorbância máxima em função do tempo para as soluções coloidais de nanopartículas agregadas com CB e KCl, respectivamente.....	57
<b>21-</b> Comparação entre a variação da frequência máxima em função do tempo para as soluções coloidais de nanopartículas agregadas com CB e KCl, respectivamente.....	58
<b>22-</b> Comparação entre a cinética de agregação das nanopartículas de Au induzida pela adição de CB (azul) e KCl(verde) e as fotos das soluções no início do experimento e no final, respectivamente.....	60
<b>23-</b> Espectros SERS do NTF em função do tempo, comparando a agregação das nanopartículas de Au induzida por CB e por KCl. [NTF]= $1 \times 10^{-5}$ M e $\lambda_0 = 633$ nm.....	62
<b>24-</b> Espectros Raman das cucurbiturilas 5-8 em estado sólido e atribuições das vibrações indicadas no gráfico interno. $\lambda_0 = 633$ nm.....	63
<b>25-</b> Espectros de infravermelho das cucurbiturilas 5-8 em estado sólido. O gráfico ao lado mostra os deslocamentos das frequências indicadas em função do número de unidades glicolurílicas.....	65
<b>26-</b> Espectros SERS das cucurbiturilas 5-7 obtidos em colóide de Au na radiação 633nm. Ao lado são indicados os principais deslocamentos de frequência observados.....	65
<b>27-</b> Espectros Raman experimental (azul) e teórico (vermelho) para o ITDM neutro e protonado, respectivamente.....	73
<b>28-</b> Espectros SERS experimental (azul) e teórico (vermelho) para o ITDM neutro e protonado, respectivamente. Obtidos em colóide de Au e radiação 633 nm.....	74

<b>29-</b> Espectros de absorção eletrônica e espectros Raman do ITDM neutro e protonado, livre e em forma de complexo de inclusão na CB7.....	76
<b>30-</b> Espectros SERS em Au do ITDM em diferentes pHs e respectiva curva de titulação obtida pela relação entre as bandas das espécies neutra(azul) e protonada(vermelho). [ITDM]= $1 \times 10^{-5}$ M e $\lambda_0 = 633$ nm.....	77
<b>31-</b> Espectros SERS em Au do ITDM neutro (azul), protonado(vermelho), da síntese do complexo de inclusão em CB7 (verde) e após acidificação do meio com o ITDM já incluído (marrom). [ITDM]= $1 \times 10^{-5}$ M e $\lambda_0 = 633$ nm.....	79
<b>32-</b> Espectros Raman experimental (azul) e teórico (vermelho) para o ADAB neutro e protonado, respectivamente.....	80
<b>33-</b> Espectros SERS experimental (azul) e teórico (vermelho) para o ADAB neutro e protonado, respectivamente. Obtidos em colóide de Au e radiação 633 nm.....	81
<b>34-</b> Espectros de absorção eletrônica e espectros Raman do ADAB neutro e protonado, livre e em forma de complexo de inclusão na CB7.....	83
<b>35-</b> Espectros SERS em Au do ADAB neutro (azul), protonado (vermelho), da síntese do complexo de inclusão (verde) e após acidificação do meio com o ADAB já incluído em CB6 (marrom) e após acidificação do meio com o ADAB já incluído em CB7 (preto). [ADAB]= $1 \times 10^{-5}$ M e $\lambda_0 = 633$ nm.....	84
<b>36-</b> Espectros Raman e SERS experimental (azul) e teórico (vermelho) para o NTF. Obtidos em colóide de Au e radiação 633 nm.....	86
<b>37-(a)</b> Espectros SERS em Au e meio redutor do NTF em função do tempo de exposição à radiação UV. [NTF]= $1 \times 10^{-5}$ M e $\lambda_0 = 633$ nm. <b>(b)</b> Espectro SERS do NTF antes e após a síntese do complexo de inclusão em CB6.....	87

<b>38-</b> Representação esquemática da reação de redução do NTF para PATP seguida da dimerização de duas moléculas de PATP, formando o DMAB.....	89
<b>39-</b> Espectros SERS em Au do NTF (azul), da síntese do complexo de inclusão (vermelho) e após submeter o sistema completo às condições favoráveis para a fotoreação ocorrer(preto), em CB5 e CB7, respectivamente.....	90

## **Tabelas**

<b>1</b> – Seção de choque e fenômenos associados para diferentes técnicas de espectroscopia vibracional.....	23
<b>2</b> – Dimensões internas e externas das cucurbit-n-urilas, n=5-8.....	41
<b>3</b> – Comparação entre os coeficientes dados pelas retas de variação da absorbância máxima em função do tempo para as soluções coloidais de nanopartículas agregadas com CB e KCl, respectivamente.....	58
<b>4</b> – Comparação entre os coeficientes dados pelas curvas de variação da frequência máxima em função do tempo para as soluções coloidais de nanopartículas agregadas com CB e KCl, respectivamente.....	59

## Lista de notações

$\lambda_0$  - radiação eletromagnética incidente

$\mu$  - momento de dipolo elétrico

$\Delta\nu$  - diferença entre níveis vibracionais

$P$  - momento de dipolo induzido

$\vec{E}$  - vetor campo elétrico

$\alpha$  - polarizabilidade eletrônica

$k$  e  $m$  - modos de vibração

$Q_k$  - coordenada normal de vibração

$\nu$  - frequência da radiação incidente

$\nu_k$  - frequência vibracional

$i$  e  $j$  são os componentes  $x$ ,  $y$  e  $z$  - eixos do sistema de coordenadas fixado na molécula

$p$  - momento dipolo de transição

$i$  - estado virtual

$g$  - estado vibracional inicial

$e$  - estado vibracional final

$h\nu_0$  - fóton de energia

$\psi$  - funções de onda

$w_1$  - campo elétrico incidente de frequência

$N_p$  - nanopartículas metálicas

$w_0$  - força de restauração

$\epsilon_w$  - função dielétrica

$n$  - é o número de elétrons livres por unidade de volume

$\epsilon_0$  - constante dielétrica

$\gamma$  - o termo de amortecimento

( $EF_{EM}$ ) - fator de intensificação mecanismo eletromagnético

CB - cucurbiturilas

CB[n] - cucurbit[n]urilas

CBcAnalito - Complexo de inclusão do analito na cucurbiturila

## Sumário

<b>Capítulo 1</b>	<b>15</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
1.1 Aspectos teóricos sobre espectroscopia vibracional	15
1.1.1 Espalhamento Raman	17
1.1.2 Espalhamento Raman Intensificado por superfície (SERS)	24
1.2 Aspectos da química hóspede-hospedeiro	32
1.2.1 Complexos de Inclusão	35
1.2.2 Sobre as cucurbiturilas	38
<b>Capítulo 2</b>	<b>44</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>44</b>
2.1 Objetivo geral	44
2.2 Objetivos específicos	44
<b>Capítulo 3</b>	<b>45</b>
<b>Estudo de agregação: Formação e estabilidade de regiões de alta intensificação SERS, induzidas por cucurbiturilas</b>	<b>45</b>
3.1 Introdução	45
3.2 Parte experimental	49
3.3 Resultados e discussão	51
3.4 Conclusões parciais	66
<b>Capítulo 4</b>	<b>67</b>
<b>Complexos de inclusão: Evidências de inclusão e possíveis aplicações investigadas.</b>	<b>67</b>
4.1 Introdução	67
4.2 Parte experimental	69
4.3 Resultados e discussão	72
4.4 Conclusões parciais	91
<b>Capítulo 5</b>	<b>92</b>
<b>Conclusões e perspectivas</b>	<b>92</b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>94</b>

# Capítulo 1 - Introdução

## 1.1 Aspectos teóricos sobre espectroscopia vibracional

Diversas propriedades da matéria podem ser investigadas em nível molecular através da interação com a luz. Os diferentes fenômenos associados à interação da luz com a matéria dependem, dentre outros parâmetros, da energia da radiação utilizada para estudar o sistema molecular em questão. Podemos citar a espectroscopia no Ultravioleta-Visível (UV-Vis) para estudos relacionados a transições eletrônicas, espectroscopia de microondas para investigar níveis rotacionais, espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) que apresenta baixa energia e permite o estudo de fenômenos nucleares<sup>1</sup>, etc.

Quando incidimos uma radiação com energia específica para interagir com os níveis vibracionais da matéria, podemos obter informações estruturais, sobre a composição e até mesmo informações a respeito de interações moleculares<sup>2</sup>. Isso é possível pelo fato de cada molécula apresentar um espectro vibracional único, que inclui informações sobre a força de ligação entre os átomos constituintes, relacionada com sua massa, carga, entre outras propriedades, assim como o arranjo espacial das moléculas e suas interações.

A espectroscopia vibracional tem um papel fundamental nas mais diferentes áreas, pois permite estudar sistemas complexos e em diversos casos de forma não destrutiva. As técnicas mais utilizadas são Raman e Infravermelho (IR), porém apesar de ambas estudarem níveis vibracionais, dependem de fenômenos físicos diferentes e, portanto, se complementam.<sup>1-3</sup>



A espectroscopia no IR refere-se a processos resultantes da absorção de energia, proveniente de uma radiação eletromagnética incidente, pelo sistema. Quando o valor dessa energia é igual a diferença de energia entre dois níveis vibracionais da molécula, ocorre o fenômeno de ressonância e, portanto, a absorção da radiação pelo sistema molecular. Apesar de todos os sistemas moleculares apresentarem frequências de vibrações específicas, não é possível observar todos os modos vibracionais em um espectro no IR. Os modos chamados *ativos* dependem do acoplamento entre as variações periódicas do momento de dipolo elétrico ( $\mu$ ) e a frequência da radiação incidente<sup>1</sup>.

A condição para a atividade de um modo vibracional  $k$  no IR é que haja variação do momento de dipolo elétrico da molécula com a vibração, em torno da posição de equilíbrio da coordenada normal de vibração ( $Q_k$ ):

$$\left(\frac{\partial\mu}{\partial Q_k}\right)_0 \neq 0$$

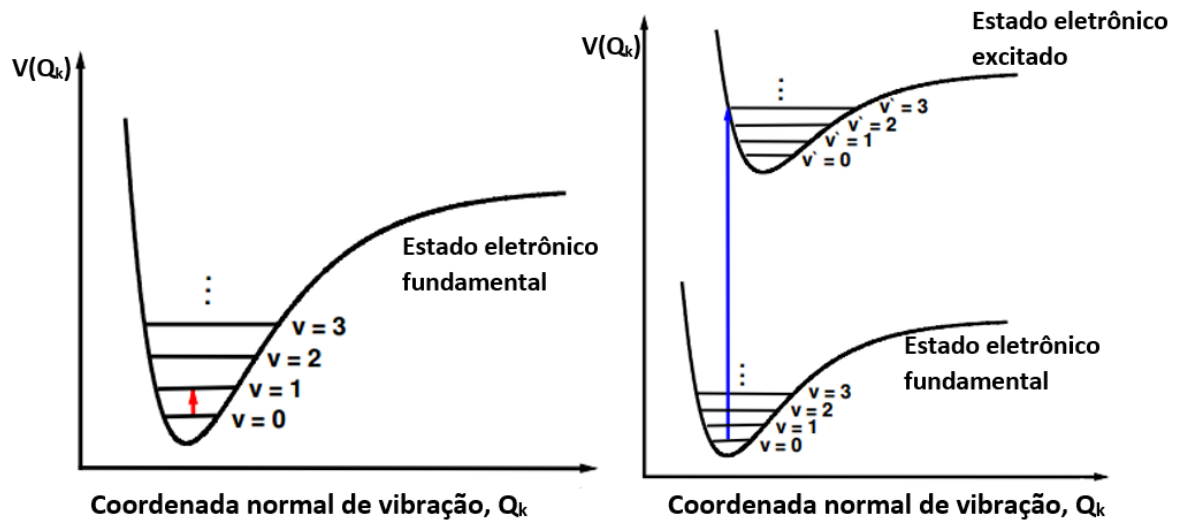
A transição entre os níveis energéticos do modo vibracional  $k$  acontece entre níveis adjacentes, então a diferença permitida entre eles seria,  $\Delta v = \pm 1$ , considerando a aproximação do oscilador harmônico, onde  $\Delta v$  é a diferença entre dois níveis do modo  $k$ .<sup>4</sup>

Existem outras técnicas que envolvem o processo de absorção da radiação, como a espectroscopia de absorção eletrônica, que ocorre na região do ultravioleta-visível (UV-VIS) e nos permite estudar transições eletrônicas das moléculas devido à ressonância entre a energia da radiação incidente e a diferença entre dois níveis eletrônicos, diferentemente das transições vibracionais citadas anteriormente que acontecem em um mesmo estado eletrônico, conforme ilustrado na Figura 1:

## Espectroscopia **Vibracional**

x

## Espectroscopia **Eletrônica**



**Figura 1**-Diferença entre os fenômenos de absorção da radiação eletromagnética devido a transições vibracional (vermelho) e eletrônica(azul), respectivamente. As curvas ilustram a energia potencial ao longo de uma coordenada normal de vibração ( $Q_k$ ).

Na espectroscopia vibracional, o Infravermelho difere do Raman pois o fenômeno envolvido não é a absorção, e sim o espalhamento da radiação eletromagnética. Esse espalhamento ocorre com energia igual a energia da radiação incidente, chamado de espalhamento elástico (Rayleigh), e em menor proporção a luz é espalhada com energia diferente da incidente, chamado espalhamento inelástico da luz (Raman). Neste último caso, a variação entre as energias incidida e espalhada corresponde à diferença de energia entre dois estados vibracionais do sistema.<sup>5</sup>

### 1.1.1 Espalhamento Raman

A radiação eletromagnética utilizada para estudar sistemas moleculares na espectroscopia Raman é uma radiação monocromática com comprimento de onda na região do ultravioleta e visível, ou seja, essa radiação monocromática possui energia capaz de interagir e perturbar a nuvem eletrônica da molécula.

A resposta a essa perturbação vai depender da facilidade de distorção dessa nuvem eletrônica molecular com a incidência de um campo elétrico, sendo a propriedade molecular relacionada a essa resposta a polarizabilidade eletrônica ( $\alpha$ ). A relação entre a polarizabilidade molecular e a resposta ao campo incidente dá origem à regra de seleção para o Raman:

$$\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q_k}\right)_0 \neq 0$$

Onde  $Q_k$  representa a coordenada normal do modo vibracional  $k$ , ou seja, é necessário que haja variação da polarizabilidade durante a vibração em torno da posição de equilíbrio para que o modo vibracional  $k$  apresente atividade Raman. O campo elétrico da radiação incidente interage com a nuvem eletrônica da molécula e induz um certo momento de dipolo ( $P$ ), que está relacionado com campo elétrico incidente ( $E$ ) através da polarizabilidade pela equação 1:

$$\vec{P} = \alpha \cdot \vec{E}$$

**Equação 1**

Onde  $\vec{P}$  é o vetor momento de dipolo induzido na molécula, pelo campo elétrico oscilante ( $\vec{E}$ ), cuja relação se dá pela polarizabilidade. Como o momento de dipolo induzido e o campo elétrico incidente são grandezas vetoriais torna-se viável a representação da equação 2 na forma matricial para visualizarmos como o tensor polarizabilidade relaciona o vetor campo elétrico incidente ao vetor momento de dipolo induzido:

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

**Equação 2**

Como a polarizabilidade é uma propriedade que depende das coordenadas nucleares do sistema molecular em questão, as vibrações moleculares causam flutuações em  $\alpha$ , considerando um modo vibracional  $k$ , podemos expandir essas flutuações no tensor de polarizabilidade como uma série de Taylor para cada componente de  $\alpha$ , sendo os eixos x, y e z representados por i e j:

$$\alpha_{ij} = (\alpha_{ij})_0 + \sum_k \left[ \left( \frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial Q_k} \right)_0 Q_k \right] + \frac{1}{2!} \sum_k \sum_m \left( \frac{\partial^2 \alpha_{ij}}{\partial Q_k \partial Q_m} \right)_0 Q_k Q_m + \dots$$

### Equação 3

Onde  $(\alpha_{ij})_0$  corresponde ao valor de  $\alpha$  da molécula na geometria de equilíbrio e os termos de segunda ordem ou maiores podem ser desprezados devido à baixa contribuição em relação ao termo de ordem 0 e de primeira ordem, então a expansão é truncada (Equação 4). Considerando uma coordenada normal de vibração ( $Q_k$ ) e as componentes do campo elétrico para o eixo x,  $E_x = E_x^0 \cos 2\pi \nu t$ , analogamente para os eixos y e z, reescrevendo a equação 1 para o momento de dipolo induzido, temos a equação 5:

$$\alpha_{ij} = (\alpha_{ij})_0 + \sum_k \left[ \left( \frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial Q_k} \right)_0 Q_k \right]$$

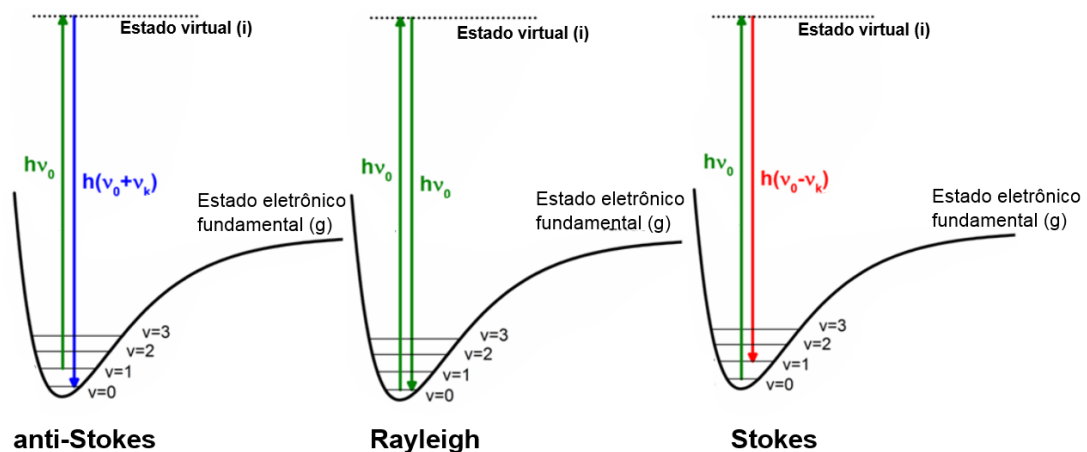
### Equação 4

$$P_i = (\alpha_{ij})_0 E_{ij}^0 \cos(2\pi \nu_0 t) + \sum_k \left[ \left( \frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial Q_k} \right)_0 E_{ij}^0 Q_k^0 \right] \times \frac{1}{2} [\cos 2\pi(\nu_0 + \nu_k)t + \cos 2\pi(\nu_0 - \nu_k)t]$$

### Equação 5

O primeiro termo contém apenas a frequência da radiação incidente  $\cos \cos (2\pi \nu_0 t)$  e corresponde ao espalhamento elástico (Rayleigh), enquanto no segundo e terceiro termo temos a contribuição de  $\nu_0 \pm \nu_k$ , onde  $\nu_k$  é a frequência

vibracional, ou seja, esses termos contém o espalhamento inelástico (Raman) e mostram que a diferença entre as frequências incidida e espalhada corresponde à diferença entre dois níveis vibracionais do modo  $k$ , em que a energia espalhada é maior  $(\nu_0 + \nu_k)t$  (anti-Stokes) e menor  $(\nu_0 - \nu_k)t$  (Stokes) que a incidente. A Figura 2 traz a ilustração dos 3 termos apresentados na equação 5:



**Figura 2**-Representação dos processos de espalhamento Rayleigh e Raman (Stokes e anti-Stokes), com radiação incidente de energia  $h\nu_0$ .

Outro ponto importante na equação 5 é o fato de que se os termos  $\left(\frac{\partial\alpha_{ij}}{\partial Q_k}\right)_0$  forem iguais a zero, o espalhamento Raman não irá contribuir para o momento de dipolo induzido, demonstrando a regra de seleção  $\left(\left(\frac{\partial\alpha}{\partial Q_k}\right)_0 \neq 0\right)$  para um modo vibracional ser ativo no Raman.

No fenômeno de absorção a relação de incerteza  $\Delta E \cdot \Delta t \geq h$  é satisfeita, a energia total do sistema é conservada e o estado resultante é um estado discreto, próprio da molécula, como mostra a Figura 1. Porém quando o fenômeno envolvido é o de espalhamento, o estado energético resultante não precisa ser um estado estacionário da molécula já que a escala de tempo envolvida no processo é na ordem de  $10^{-15}$  s. Ou seja, a radiação incidente é capaz de excitar a molécula para um estado

não discreto, um estado intermediário que existe apenas para o sistema molécula+radiação, chamado *estado virtual (i)* (Figura 2).

No espalhamento Raman a molécula no estado fundamental colide com um fóton de energia  $h\nu_0$ , proveniente da radiação incidente e após a interação com a molécula, esse fóton de energia  $h\nu_0$  é aniquilado, a molécula sofre uma perturbação em todos os seus estados de energia e decai para outro nível vibracional. Um novo fóton de energia  $h(\nu_0 \pm \nu_k)$  é espalhado e essa diferença de energia entre os dois fótons envolvidos no processo, corresponde à diferença de energia entre dois auto-estados vibracionais da molécula. Sendo que o fóton espalhado com energia maior que a incidente  $h(\nu_0 + \nu_k)$  corresponde ao anti-Stokes e o fóton com energia  $h(\nu_0 - \nu_k)$  corresponde ao Stokes, como já mencionado anteriormente.

As intensidades observadas em um espectro Raman são melhor explicadas por uma abordagem quântica, porém pode-se aproveitar a teoria vista no tratamento clássico quando um campo eletromagnético incide na molécula, sua nuvem eletrônica é alterada e polarizada de acordo com o campo incidente, induzindo um momento de dipolo. Para um tratamento quântico, os estados energéticos envolvidos serão descritos como funções de onda, considerando que a incidência de um campo eletromagnético cause uma transição entre os estados e, r e g descritos pelas funções de onda  $\Psi_e, \Psi_r, \Psi_g$ , respectivamente, o momento de dipolo induzido (P) introduzido no modelo clássico pode ser substituído por um termo que considera essa transição, chamado momento de dipolo de transição ( $p$ ).

Considerando essa transição e as componentes da polarizabilidade ( $\alpha_{ij}$ ) x, y e z (ij), temos:

$$\alpha_{ij} = \frac{1}{\hbar} \sum_{r \neq g, e} \left\{ \frac{\langle \Psi_e | \hat{p}_j | \Psi_r \rangle \langle \Psi_r | \hat{p}_j | \Psi_g \rangle}{\nu_{rg} - \nu - i\Gamma} + \frac{\langle \Psi_e | \hat{p}_j | \Psi_r \rangle \langle \Psi_r | \hat{p}_j | \Psi_g \rangle}{\nu_{re} + \nu - i\Gamma} \right\}$$

### Equação 6

Onde  $\hat{p}_j$  é a componente j do operador momento de dipolo elétrico, que atua sobre as funções de onda dos estados e, r e g. No numerador o termo  $\langle \Psi_r | \Psi_g \rangle$  representa o produto entre dois termos do momento de dipolo de transição, o primeiro entre o estado inicial g para o estado intermediário r, e o segundo do estado intermediário r para o estado final e.

Nota-se que no denominador do primeiro termo quando  $\nu_{rg} \gg \nu$ , ou seja, quando a frequência da transição for muito maior que a frequência da radiação incidente, como é o caso do Raman normal, o tensor de polarizabilidade dessa transição,  $\alpha_{ij}$  tende a diminuir.

A intensidade Raman (I) está associada ao tensor de polarizabilidade pela relação de proporcionalidade dada na equação 7:

$$I(\nu_s; \nu) \propto \nu_s^4 E_0^2 \sum_{i,j} (\hat{\alpha}_{ij})_{ge}^2$$

$$\nu_s = \nu \pm \nu_{eg}$$

### Equação 7

Em acordo com a teoria vista, a técnica Raman possui baixa probabilidade de ocorrer que pode ser descrita como seção de choque, refletindo diretamente no sinal observado, como mostra a Tabela 1 abaixo junto com as outras técnicas citadas.

**Tabela 1-** Seção de choque e fenômenos associados para diferentes técnicas de espectroscopia vibracional.

<b>Técnica</b>	<b>Seção de choque / cm<sup>2</sup></b>	<b>Fenômeno associado</b>
<b>UV-Vis</b>	10 <sup>-18</sup>	Absorção
<b>Infravermelho</b>	10 <sup>-21</sup>	Absorção
<b>Rayleigh</b>	10 <sup>-26</sup>	Espalhamento
<b>Raman</b>	10 <sup>-29</sup>	Espalhamento
<b>SERS</b>	10 <sup>-16</sup>	Espalhamento

Essa é uma das principais dificuldades enfrentadas na técnica e atualmente existem diversas frentes de estudos relacionadas com a possibilidade de intensificação do sinal Raman. Para o presente trabalho a estratégia utilizada foi a Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície, mais conhecida como SERS (*Surface Enhanced Raman Scattering*), que possui seção de choque com ordem de magnitude muito maior como pode ser observado na Tabela 1.

O efeito de intensificação SERS foi descrito em 1977 por Jeanmarie e Van Duyne<sup>6</sup> e Albrecht e Creighton<sup>7</sup>, porém foi observado pela primeira vez em 1974 por Fleischman et al.<sup>8</sup> durante um experimento Raman espectroeletróquímico com a piridina, onde foram realizados vários ciclos de redução e oxidação em um eletrodo de prata. A intenção era aumentar a superfície de contato, e de fato, foi gerada uma nanoestrutura metálica nanométrica com rugosidade em escala nanométrica. Após adicionar a piridina nessa superfície observaram uma grande intensificação do sinal Raman, que não podia ser explicada apenas pelo aumento da área superficial. Desde então, a técnica de utilizar nanosuperfícies metálicas para intensificar sinais Raman vem sendo abundantemente investigada, tanto a parte fenomenológica como as



possíveis aplicações, e é fonte de estudos em diversas áreas da ciência, como biologia, química, física, farmácia, pesquisas na indústria, etc.<sup>71</sup>

### **1.1.2 Espectroscopia Raman Intensificada por superfície - SERS**

A técnica SERS consiste em amplificar os sinais Raman através da interação eletromagnética da luz com a nanoestrutura metálica nanométrica. Devido a essa interação o campo eletromagnético da luz incidente é amplificado e, portanto, a intensidade Raman também. Esse fator de contribuição é chamado mecanismo eletromagnético de intensificação (EM) e é responsável por grande parte da intensificação SERS. Além disso, é necessário que as moléculas estejam adsorvidas ou pelo menos próximas da nanoestrutura metálica nanométrica, caso contrário o analito fica fora do alcance da amplificação do campo eletromagnético intensificado e não se observa sinal SERS, essa condição depende das propriedades moleculares das partículas envolvidas no sistema, uma vez que para se aproximarem, ou seja, para que as moléculas sejam transferidas do solvente para se fixar na nanoestrutura metálica nanométrica, é necessário que haja interação atrativa entre elas.

#### **Mecanismo eletromagnético de intensificação (EM)**

Esse mecanismo está associado com a nanoestrutura metálica nanométrica em questão, cujas propriedades vão determinar o grau de intensificação do campo eletromagnético. O efeito de intensificação da nanoestrutura metálica nanométrica varia com diversos fatores, como a natureza do metal utilizado, a morfologia da nanoestrutura metálica nanométrica, o tamanho, o estado de agregação das nanopartículas, entre outros.

Para entendermos melhor o mecanismo, vamos considerar a superfície como uma partícula metálica totalmente esférica em escala nanométrica. Por serem metais, essas partículas apresentam alta densidade de elétrons “livres” de condução em sua superfície e por estarem mais afastados do núcleo possuem maior mobilidade. Quando uma radiação incide nessa superfície, as oscilações desses elétrons livres entram em ressonância com a radiação e acontece concentração do campo elétrico na nanoestrutura metálica nanométrica e conseqüentemente uma intensificação da radiação incidente, o que está diretamente relacionado com as propriedades ópticas do metal que constitui a nanoestrutura metálica nanométrica.

Experimentos<sup>9</sup> mostram que maiores intensificações SERS acontecem quando o tamanho das nanopartículas metálicas (NP) é inferior a 100nm. Visto que o tamanho do comprimento de onda é muito maior que o da esfera metálica, quando uma radiação eletromagnética ( $\lambda_0$ ) incide nessa partícula,  $\lambda_0$  é considerado um campo elétrico constante sobre a região da nanoesfera, ou seja, pode-se aproximar que as nanopartículas (NP) estão interagindo com um campo elétrico uniforme. Esse campo uniforme da luz incidente induz uma polarização nos elétrons livres de superfície da NP, processo análogo ao de formação do momento de dipolo induzido no espalhamento elástico, explicado no item 1.1.1.

Os elétrons livres respondem coletivamente oscilando em ressonância com o campo elétrico da luz incidente, ou seja, essa nuvem eletrônica polarizada da NP é modulada pelas oscilações do campo incidente. As oscilações coletivas dos elétrons livres de superfície são chamadas de plasmons de superfície<sup>10</sup> e a ressonância do plasmon de superfície com a radiação incidente é a responsável pela grande intensificação do campo elétrico ao redor da NP e, portanto, do sinal Raman.

A resposta óptica de um elétron em um átomo ou molécula pode ser descrita pelo modelo de Lorentz para a polarizabilidade atômica, porém esse modelo leva em consideração a atração do elétron com o núcleo, introduzindo a força de restauração caracterizada por uma frequência  $\omega_0$ <sup>11</sup>. Nos metais, principalmente os metais com a camada d preenchida, considera-se que a polarização acontece devido aos elétrons livres de condução, efeito descrito pela constante dielétrica do metal ( $\epsilon_0$ ), o modelo de Drude<sup>12</sup> considera  $\omega_0=0$  e que a distribuição dos elétrons livres de superfície é uniforme e aleatória, assim a resposta óptica total pode ser dada pela soma de suas polarizabilidades individuais.

A resposta óptica dos metais frente à perturbação causada por uma radiação incidente de frequência ( $\omega$ ), é associada à sua função dielétrica ( $\epsilon_\omega$ ) através do modelo híbrido de Lorentz-Drude<sup>11</sup>:

$$\epsilon(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\omega\tau^{-1}}$$

**Equação 8**

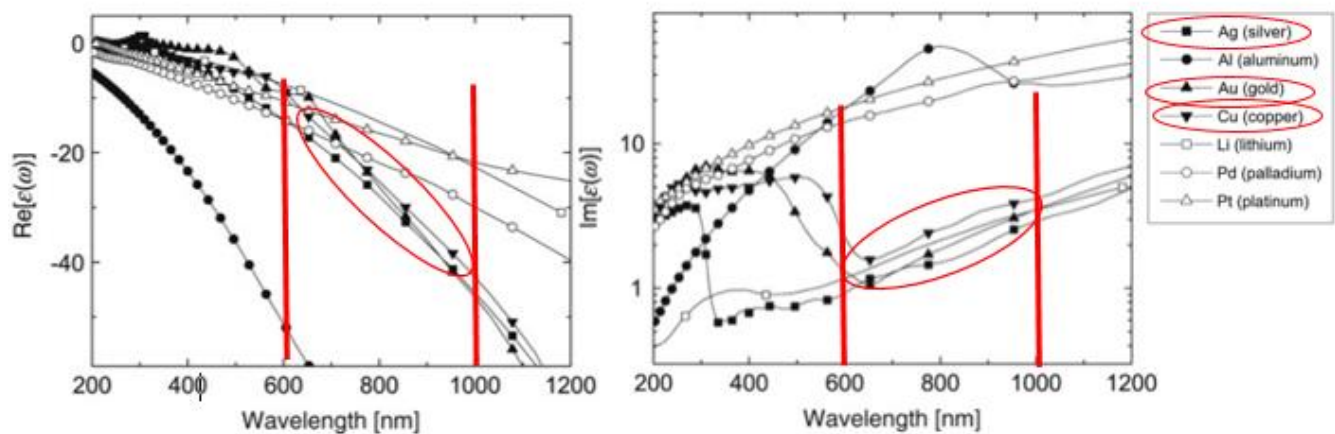
$$\omega_p^2 = \frac{ne^2}{\epsilon_0 m}$$

**Equação 9**

Onde **n** é o número de elétrons livres por unidade de volume [ $m^{-3}$ ], **m** suas respectivas massas [kg],  $\epsilon_0$  a constante dielétrica e  $\tau$  o termo de amortecimento [rad.s<sup>-1</sup>] associado à taxa de colisão dos elétrons livres, ou seja, com a resistividade elétrica.

Dois pontos importantes nas equações 8 e 9 devem ser mencionados, o primeiro é o fato de que  $\omega_p^2$  apresenta contribuições de variáveis que dependem apenas do metal envolvido e corresponde à frequência de oscilação natural dos

elétrons livres da nanoestrutura metálica nanométrica, chamado frequência de plasma, então percebe-se que sem uma perturbação externa  $\omega_p^2$  é constante e uniforme. O segundo ponto a destacar é o fato de que  $\epsilon(\omega)$  é uma função complexa, composta por uma parte imaginária (Im), que descreve o processo de absorção da luz e uma parte real (Re) associada ao espalhamento da luz, pelo metal. A Figura 3 traz a função dielétrica de diferentes metais, excitados em diferentes comprimentos de onda, separando o processo de absorção (Im) e o de espalhamento (Re):



**Figura 3-** Parte real e parte imaginária da função dielétrica de diferentes metais em função do comprimento de onda. Figura adaptada da referência 12b.<sup>1</sup>

Deve-se destacar que a parte real negativa e baixos valores na parte imaginária, ou seja, baixa absorção da luz incidente e alto fator de espalhamento, são duas condições que juntas proporcionam os efeitos ópticos mais promissores e interessantes, incluindo a ressonância dos plasmons de superfície, o que explica o fato de os metais mais utilizados em tais estudos serem Ag, Au e Cu. A resposta óptica dos elétrons livres de condução depende da função dielétrica ( $\epsilon_w$ ) de cada metal e o plasmon de superfície define as propriedades ópticas do metal em relação a absorção e ao espalhamento de luz<sup>12b</sup>.

A intensificação do sinal Raman pela técnica SERS é associada ao fator de intensificação, neste caso relacionado ao mecanismo eletromagnético ( $EF_{EM}$ ) e pode ser representado por:

$$EF_{EM} = |E_{(\omega)}|^2 |E_{(\omega')}|^2$$

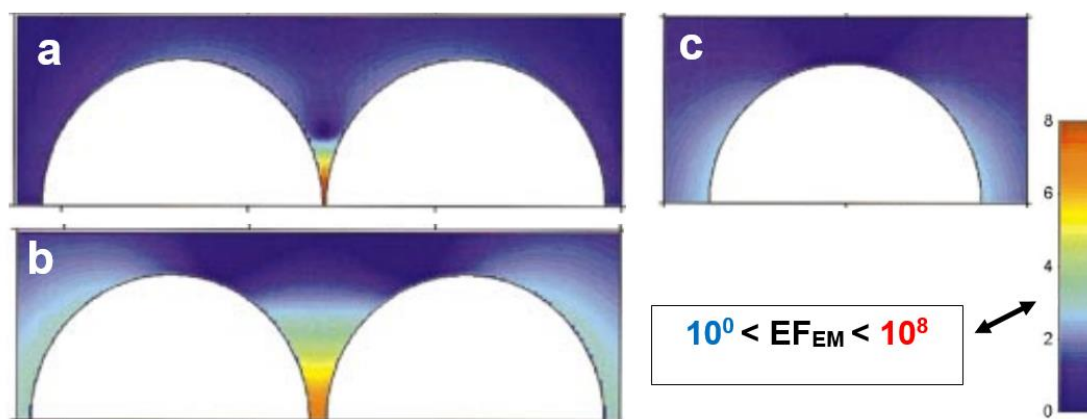
### **Equação 10**

Onde  $E_{(\omega)}$  é o fator de intensificação do campo elétrico local da radiação incidente de frequência  $\omega$  e  $E_{(\omega')}$  o fator de intensificação correspondente para a radiação espalhada de frequência  $\omega'$ .

Um sistema real é composto por diversas nanoestruturas metálicas, onde a natureza coletiva das oscilações pode ser aproximada pelo acoplamento dos plasmons de superfície individuais das NP que estão interagindo, portanto, neste caso em que duas ou mais nanopartículas se aproximam forma-se uma região em que o campo será intensificado em muitas ordens de grandeza devido a esse acoplamento, chamado *hot-spot*<sup>13</sup>. Quando um campo eletromagnético incide em uma região de *hot-spots* a intensificação pode chegar a valores na ordem de  $10^8$  ordens de grandeza e é responsável pelo sinal SERS observado. Essa super intensificação que ocorre no *hot-spot*<sup>14</sup> varia com a distância entre as NP e estudos indicam que o valor ótimo encontrado para tal intensificação é de c.a. 1nm.

Vale notar que apesar da dependência com o substrato metálico, o EM do SERS depende da ressonância entre o campo incidente e o do substrato, ou seja, se uma radiação de frequência muito distinta do plasmon incide em um substrato com alta performance SERS (metal, tamanho e geometria adequados para intensificação), ele não irá apresentar sinais de intensificação do campo. Outro fator que impede a intensificação EM do SERS é a ausência de *hot-spots*, portanto utiliza-se a algumas

técnicas<sup>15</sup> para promover uma agregação no sistema, como o *salting-out*<sup>16</sup> que através da adição de um sal a força iônica do meio é alterada e a aproximação das NPs é favorecida, criando as regiões de interesse, ilustradas na Figura 4.



**Figura 4**-Ilustração do fator de intensificação eletromagnético (EFEM) nanopartículas esféricas em (a) muito próximas (b) distância ótima e (c) isolada. Figura adaptada da referência 17.

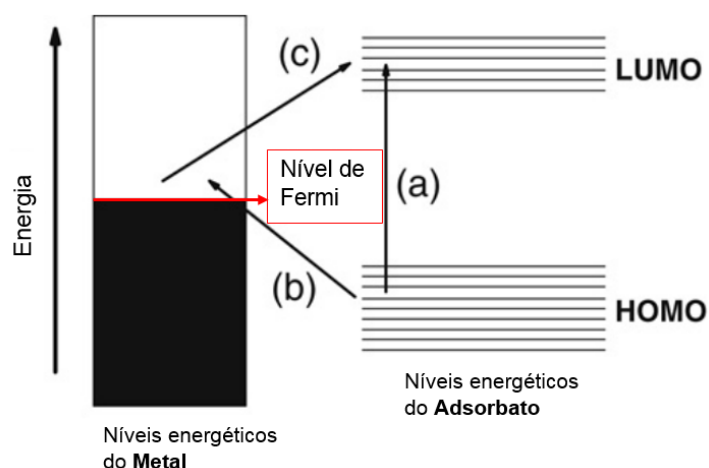
### Mecanismo Químico de intensificação (CM)

O mecanismo EM do SERS está relacionado com o metal utilizado e é responsável pela grande intensificação observada, já o mecanismo químico depende da molécula/analito de interesse, e determina o que será observado. Assim, as propriedades intrínsecas da molécula devem ser consideradas, principalmente as propriedades já mencionadas como regra de seleção para o Raman (seção 1.1.1), em princípio, moléculas que são bons espalhadores terão seu sinal amplificado no SERS.

O SERS é considerado uma técnica espectroscópica de superfície, o que impõe que as moléculas precisam estar adsorvidas ou pelo menos próximas à nanoestrutura metálica nanométrica, mais especificamente, as moléculas devem estar posicionadas em um *hot-spot* para se observar sinal Raman intensificado<sup>18</sup>. Logo deve-se considerar as interações eletrônicas entre o metal e o adsorbato e dependendo do grau essas interações atribuem diferentes características para um espectro SERS<sup>10</sup>.

Quando uma molécula se aproxima de uma nanoestrutura metálica nanométrica sua nuvem eletrônica é distorcida devido a essa interação e segundo as convenções dadas por *Moskovits*<sup>11</sup> são classificadas de acordo com o valor da energia de interação, associada à entalpia de adsorção, podendo ser uma fisissorção ou quimissorção.

Tanto a fisissorção quanto a quimissorção perturbam a nuvem eletrônica do adsorbato, porém na segunda ocorre uma distorção bastante significativa, podendo chegar em alguns casos a caracterizar ligações covalentes e transferência de carga entre o metal e a molécula adsorvida, como ilustrado na Figura 5, que traz os níveis eletrônicos do adsorbato em uma situação de quimissorção com o metal. Em níveis energéticos isso significa que podemos representar ambos orbitais com valores próximos, sendo que o nível energético do metal que irá interagir é representado pelo nível de Fermi<sup>12b</sup> (nível onde existe a maior densidade de estados de um metal) e neste caso ocorre a formação de um complexo.



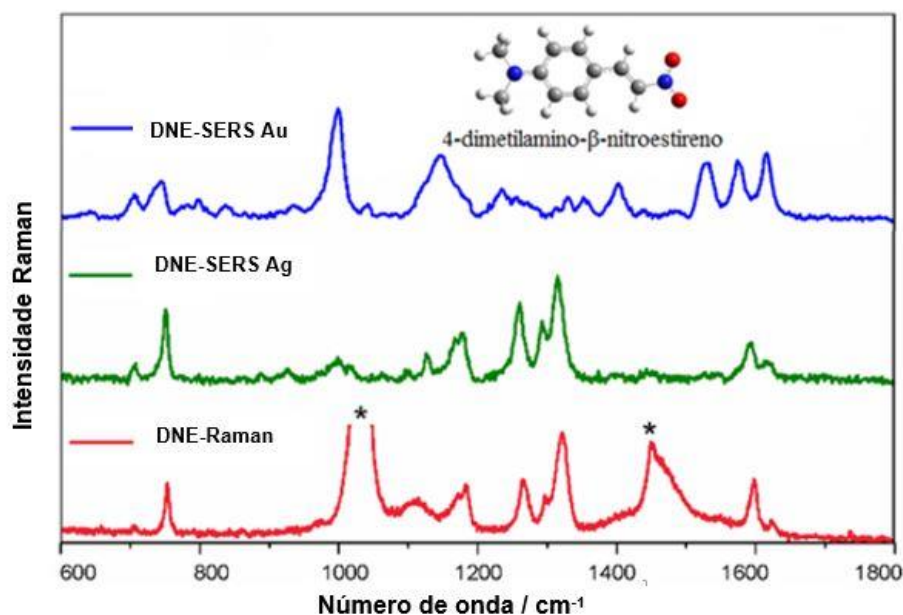
**Figura 5--** Modelo de transferência de carga entre os estados do metal e da molécula adsorvida. Figura adaptada da referência 12b.

A formação desse complexo metal-adsorbato modifica o tensor de polarizabilidade Raman da molécula adsorvida, alterando a natureza e as propriedades eletrônicas do adsorbato, o que explica o fato de observarmos, em muitos casos, um espectro SERS com frequências vibracionais bastante distintas de um espectro Raman da mesma molécula. O tensor de polarizabilidade modificado pela formação do complexo pode apresentar uma energia de ressonância mais próxima a energia da radiação incidente quando comparado a molécula isolada.

Da mesma forma que moléculas capazes de formar esses complexos apresentam seu espectro vibracional significativamente alterado, moléculas que não apresentam afinidade com a nanoestrutura metálica nanométrica podem não ser observadas em um espectro SERS, mesmo com grandes intensificações do EM. Para situações intermediárias onde existe interação, mas é fraca pode-se observar a intensificação apenas pelo efeito eletromagnético, visto que a interação não foi suficiente para alterar significativamente o tensor de polarizabilidade Raman, mas foi suficiente para manter a molécula próxima, no alcance do campo intensificado.

Para visualizar essas diferentes formas de interações, a Figura 6 mostra o espectro Raman de uma molécula chamada 4dimetilamino-*p*-nitroestireno (DNE) onde observa-se as bandas do solvente (\*) bastante intensas, e os espectros SERS em Au e Ag. A fraca interação com a Ag resulta em uma intensificação apenas EM, enquanto em Au, devido à forte interação, observa-se a formação do complexo metal-adsorbato resultando em um espectro vibracional bastante distinto.





**Figura 6-** Exemplo de contribuição do mecanismo químico (Au) e eletromagnético (Ag) em um experimento SERS da molécula ilustrada (DNE).

Em termos práticos a técnica SERS apresenta algumas limitações pois muitas vezes não possuem afinidade com a nanoestrutura metálica nanométrica e, portanto, não interagem. O transporte de moléculas de interesse de um determinado volume para a nanoestrutura metálica nanométrica, mais especificamente para uma região de *hot-spot*, é um dos desafios enfrentados no CM do SERS.

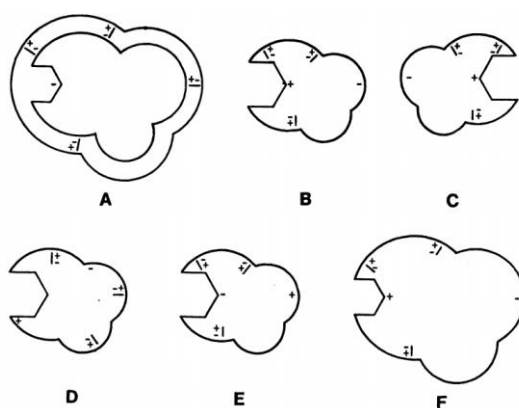
## 1.2 Aspectos da química host-guest

Os estudos pioneiros na área começaram por volta de 1967 com Charles J. Pedersen<sup>19</sup>, seguido por outras contribuições marcantes de Cram e Jane<sup>20</sup>, onde citam algumas observações motivadoras, dentre elas a habilidade excepcional de sistemas biológicos, tais como enzimas, apresentarem seletividade estrutural bastante específica para exercerem suas funções. As catálises enzimáticas eram observações experimentais da formação de complexos moleculares muito específicos, complexos em que uma espécie molecular (*hóspede*) “entra” em outra (*hospedeiro*), e assim Cram<sup>20a</sup> introduz um novo termo, a química de hóspede-hospedeiro.

O sistema apresenta esse nome pois é constituído de uma molécula hospedeiro, ou receptores moleculares que usam interações intermoleculares para se ligar a substratos específicos, geralmente são estruturas orgânicas macropolicíclicas mantidas por ligações covalentes capazes de complexar seletivamente íons ou moléculas.<sup>21</sup>

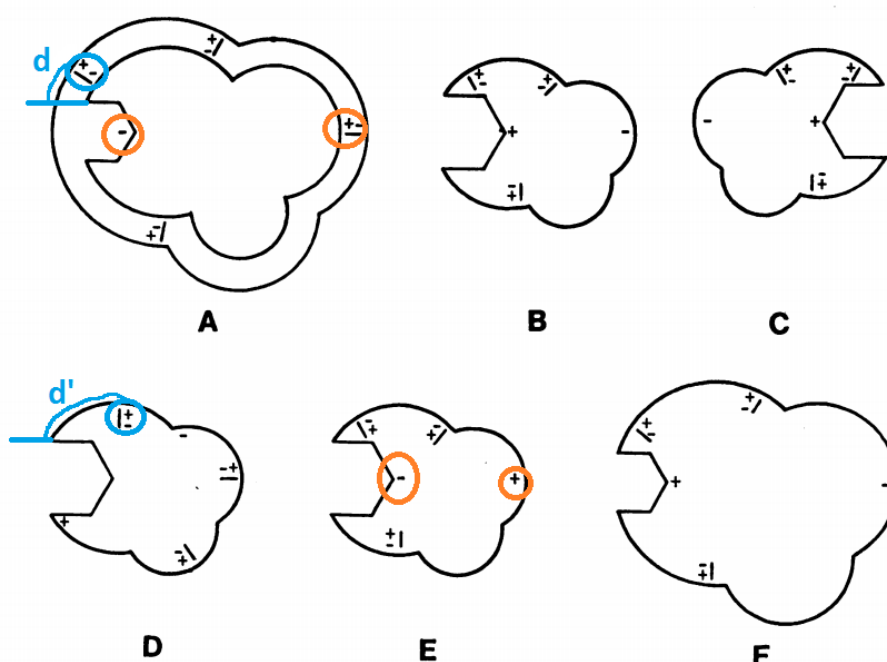
A química de hóspede-hospedeiro acontece quando a molécula hospedeiro é capaz de envolver e “selecionar” a hóspede, complexando a molécula cujas características estéricas e combinação de sítios de ligação melhor se encaixam. Cargas opostas são um exemplo de contribuição atrativa para essa combinação de sítios de ligação, assim como interações íon-dipolo, dipolo-dipolo, ligações de hidrogênio, forças de van der Waals, etc.

A Figura 7 ilustra de forma simplificada como ambas as características apresentadas acima contribuem para a formação desses complexos, onde **A** representa a molécula hospedeiro e temos as opções de **B** a **F** como candidatos a hóspede:



**Figura 7-** Ilustração de uma molécula hospedeira (A) e diferentes moléculas hóspede (B-F) candidatas a inclusão em A. Figura adaptada da referência 20a.<sup>20a</sup>

Pelo fator estérico podemos descartar as opções **C** e **F**, portanto os possíveis candidatos seriam **B**, **D** e **E**. Levando em conta a combinação dos sítios de ligação do hospedeiro e do hóspede, **E** pode ser descartado pois as cargas são iguais nos sítios de ligação correspondentes, ilustrado em vermelho na Figura 8, o descarte de **D** ocorre, pois, as densidades eletrostáticas estão deslocadas ( $d \ll d'$ ), representado em azul.



**Figura 8**-Exemplo de exclusão eletrostática das moléculas hóspede D e E em A (hospedeiro). Figura adaptada da referência 20a.

Portanto apenas o **B** poderá ser o hóspede de **A**, o que mostra que mesmo em situações bastante simplificadas existe uma seletividade e, portanto, não é trivial “encaixar” o hóspede.

Percebeu-se que para reproduzir, manipular e otimizar experimentalmente sistemas cujas moléculas envolvidas apresentem reconhecimento molecular específico, seletividade molecular, alta eficiência para processos catalíticos, entre outras características, era necessário o conhecimento de propriedades estereoquímicas e energéticas das interações intermoleculares, principalmente as

não covalentes, como interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, íon-dipolo, van der Waals, etc.

Desde então as combinações hóspede-hospedeiro vem aumentando, os sistemas são cada vez mais compreendidos afim de facilitar essa interação e diversas aplicações estão sendo encontradas, como *drug delivery*<sup>22</sup>, tratamento de água, química supramolecular<sup>23</sup>, construção de supermoléculas<sup>21</sup>, catálise, dispositivos óticos<sup>24</sup>, seletividade enantiomérica<sup>25</sup>, reconhecimento molecular<sup>26</sup>, entre outras.

As possibilidades de combinação para um sistema hóspede-hospedeiro são diversas visto que há uma gama enorme de moléculas candidatas a hóspede, cuja escolha varia de acordo com a aplicação/estudo, e algumas moléculas disponíveis para o papel de hospedeiro, tais como ciclodextrinas<sup>27</sup>, calixarenos<sup>28</sup>, ciclofanos<sup>29</sup>, cucurbiturilas<sup>30</sup>, etc., especificamente, esses exemplos anteriores possuem uma característica em comum, são classificados como endo-receptores.

Os endo-receptores geralmente são moléculas orgânicas macrocíclicas ou macropolicíclicas que contém uma cavidade rígida onde se encontram sítios de ligação que irão interagir com o substrato, ou seja, o hóspede será acomodado no interior da cavidade intramolecular, resultando em um complexo de inclusão. O *hospedeiro* também pode ser classificado como exo-receptor no caso dos sítios de interação se encontrarem na superfície exterior da molécula e são bastante utilizados na química supramolecular.<sup>31</sup>

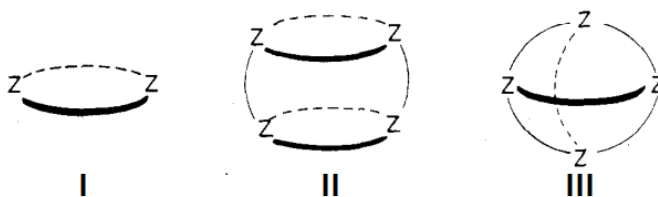
### **1.2.1 Complexos de inclusão**

Essa é uma área bastante extensa que envolve desde conhecimentos da química orgânica, como inorgânica e físico-química. O desafio de sintetizar receptores macropolicíclicos, assim como modular propriedades resultantes das possíveis variações estruturais das moléculas formadoras, são exemplos de obstáculos

encontrados na química orgânica. Como ligantes que apresentam uma cavidade intramolecular, que deve ser projetada para otimizar a formação e as propriedades de complexos de inclusão de interesse, são fonte de estudos na área da química inorgânica. E na físico-química, a área de maior interesse neste trabalho, que investiga características como alta seletividade, estabilidade do complexo, topologia, entre outras.

Essas investigações são realizadas através do estudo das interações intra e intermoleculares das moléculas livres, do complexo de inclusão, e se possível durante a formação desse complexo. Para tais estudos, é necessário fazer uso de técnicas moleculares, cujos resultados obtidos nos dá informações acerca dessas interações a nível molecular, conceitos discutidos na seção 1.1.

A arquitetura molecular, construída por  $n$  monômeros ou unidades moleculares, define a topologia da cavidade do hospedeiro, como mostra a Figura 9, enquanto as propriedades dos sítios de ligação como quantidade, composição e arranjo espacial determinam as características energéticas e de reconhecimento da interação hóspede-hospedeiro no complexo de inclusão.

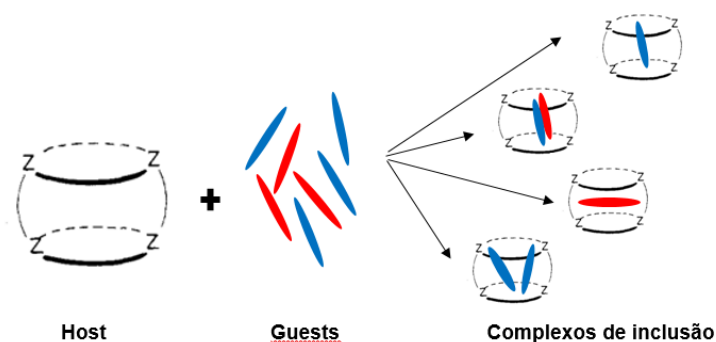


**Figura 9**-Exemplos de receptores macrocíclicos com diferentes topologias. Figura adaptada da referência 32.<sup>32</sup>

A Figura 9 mostra alguns exemplos de receptores macrocíclicos onde a topologia pode ser bidimensional (I), tridimensional cilíndrico (II) e tridimensional esferoidal (III) e cada um irá acomodar melhor um certo tipo de hóspede, logo a

estabilidade do complexo de inclusão está relacionada com a sua seletividade tanto para o hospedeiro, como para o hóspede.<sup>32</sup> A manipulação correta e adequada de todas as variáveis já mencionadas e outras não mencionadas é bastante complexa, porém pode levar a formação de sistemas estáveis, bastante eficientes e promissores para uma ampla gama de aplicações comerciais.

A Figura 10 a seguir ilustra algumas possibilidades de formação de complexo de inclusão:



**Figura 10-** Diferentes formas de inclusão de hóspedes em uma molécula hospedeiro.

Como já mencionado, diversos receptores (hospedeiro) vêm sendo estudados de acordo com a área de interesse, como receptores de baixo peso molecular, oligômeros e polímeros funcionais, materiais no estado sólido,<sup>19d, 20c, 29, 33</sup> etc., que buscam otimizar a afinidade e seletividade da interação com o hóspede. Neste quesito foram construídas moléculas hospedeiro, como as ciclodextrinas, calixarenos, coroas de éter, etc., cujas propriedades de reconhecimento variam com diversos fatores. Mesmo com uma grande variedade de opções disponíveis, as ciclodextrinas são as mais utilizadas devido ao seu baixo custo de produção e alta disponibilidade comercial.

Apesar de serem uma boa opção em termos gerais, as ciclodextrinas apresentam algumas limitações como baixa afinidade e baixa seletividade, por

possuírem aro de entrada bastante largo. Afim de otimizar ainda mais a relação entre seletividade molecular e disponibilidade comercial, por volta dos anos 1980 alguns trabalhos pioneiros de Mock *et al.*<sup>34</sup> começam a investigar uma nova classe de moléculas promissoras, as cucurbiturilas.<sup>35</sup>

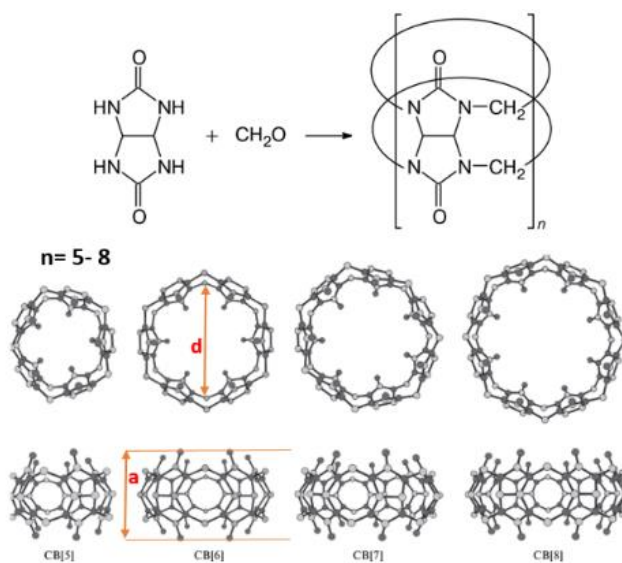
As pesquisas envolvendo as cucurbiturilas (CB) vêm crescendo desde então e já foram comprovadas aplicações de sucesso em diversas áreas mencionadas, como transporte de moléculas, *drug delivery*,<sup>36</sup> dinâmica de reconhecimento molecular,<sup>37</sup> catálise<sup>38</sup>, tratamento de águas residuais, aplicações quirais,<sup>39</sup> química supramolecular<sup>40</sup> e estudos fundamentais a nível molecular, uma vez que o hóspede acomodado no interior da cavidade da CB poderá ser investigado através de técnicas moleculares, como a espectroscopia Raman e SERS (seção 1.1.2).

### 1.2.1 Cucurbiturilas

As cucurbiturilas são moléculas orgânicas, simétricas e macrocíclicas formadas por  $n$  unidades glicolurílicas ligadas por grupos  $\text{CH}_2\text{O}$ . As possíveis rotas sintéticas para as cucurbiturilas são diversas, mas não serão abordadas neste trabalho, portanto, a Figura 11 mostra de forma simplificada a obtenção das cucurbiturilas, sem mencionar demais reagentes/rotas para tal formação.

As cucurbiturilas foram descobertas<sup>41</sup> em 1905, porém os estudos apenas se intensificaram<sup>35a, 42</sup> por volta de 1981. No ano 2000 descobriu-se<sup>43</sup> que as cucurbiturilas apresentavam homólogos de diferentes tamanhos, e desde então tornou-se fonte de diversos estudos. Atualmente, esses homólogos são representados pela letra  $n$ , que indica a quantidade de unidades glicolurílicas formadoras da cucurbit[n]urila, ou CB[n], cujo nome é dado devido a sua semelhança com uma abóbora. Como algumas características diferiam das moléculas receptoras utilizadas

até então, surgiu um interesse especial nessa nova classe de moléculas hospedeiro, a estabilidade de alguns complexos de inclusão formados com CBs apresentam constantes de formação muito maiores quando comparadas a calixarenos e ciclodextrinas, por exemplo<sup>30b, 44</sup>.



**Figura 11**-Reação de polimerização para obtenção das cucurbiturilas 5-8 e respectivas estruturas químicas. Figura adaptada da referência 45.<sup>45</sup>

Como pode ser visto na Figura 11, a unidade glicolurílica possui carbonilas nas suas extremidades e o produto formado após a reação é um hexâmero macrocíclico cujos aros superior e inferior apresentam átomos de oxigênio das carbonilas, bastante polarizados, formando um “portal” com alta densidade negativa, arranjo que concede às cucurbiturilas propriedades bastante singulares. Já a região central interna tem caráter hidrofóbico favorecendo a inclusão de espécies apolares ou pouco polares e possui diâmetro  $d$  que varia com  $n$ , assim cada cucurbiturila irá acomodar diferentes tamanhos de hóspedes, entretanto a altura das  $CB[n]$ , representada por  $a$  na Figura 11, não varia. Na  $CB[6]$ , por exemplo, são 12 carbonilas no total, sendo 6 no aro inferior e 6 no superior, atribuindo às extremidades um caráter básico de Lewis e na



sua cavidade interna é possível incluir até três moléculas de água, que ficam incluídas devido às ligações de hidrogênio<sup>46</sup>.

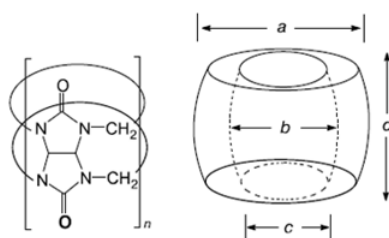
As CB[5] e CB[7] possuem boa solubilidade em água enquanto as CB[6] e CB[8] são insolúveis, o que ajuda no processo de separação das espécies, para aumentar a solubilidade das cucurbiturilas em água, estratégias como adição de alguns sais ou ácidos são utilizadas<sup>47</sup>. Relata-se<sup>40b, 48</sup> que o CB[7] é estável até 370 °C enquanto os CB[5,6,8] apresentam estabilidade térmica até 420 °C. Outro aspecto interessante nas cucurbiturilas é o fato de serem macromoléculas rígidas, ou seja, sua estrutura não é alterada quando há a inclusão de moléculas, o que os torna bastante seletivos.

A estrutura das CB pode ser caracterizada através de métodos como espectroscopia de massas, ressonância magnética nuclear, difração de raios-X, entre outros<sup>43</sup>. As pesquisas envolvendo CB vão desde chaveadores moleculares, *drug delivery*, tratamento de água residual, modificadores de colunas cromatográficas, rolamentos moleculares, dispositivos optoeletrônicos, sensores moleculares, construção de supermoléculas, compostos de coordenação, seletividade estérica e enantiomérica, catálise, nanotecnologia e os complexos de inclusão.<sup>36a, b, 39, 40e, f, 49</sup>

Na química dos complexos de inclusão das cucurbiturilas deve-se levar em consideração as interações não covalentes do hóspede com o hospedeiro, neste caso com os aros carregados negativamente e com o interior da cavidade hidrofóbica. Alguns fatores que podem ser citados neste tipo de interação são interações: de van der Waals, íon-dipolo considerando a interação de cátions com as carbonilas glicolurílicas, ligações de hidrogênio tanto com o oxigênio nos aros quanto com o N nas cavidades, liberação da água de alta energia contida na cavidade quando o hóspede é incluído, interações solvofóbicas considerando o caráter hidrofóbico no

interior da cavidade que irá preferencialmente acomodar moléculas também hidrofóbicas, interações solvente-soluto que devem favorecer o transporte do hóspede contido na solução para dentro da cavidade e por fim, fatores estéricos visto que as CB[n] apresentam diâmetros diferentes, apresentados na Tabela 2:

**Tabela 2**-Dimensões internas e externas das cucurbit-n-urilas, n=5-8.<sup>48</sup>



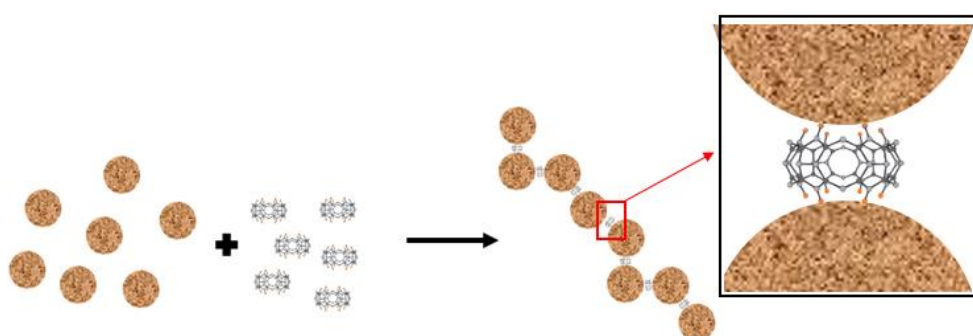
Parâmetro/CB[n]	CB[5]	CB[6]	CB[7]	CB[8]
Diâmetro externo, a/Å	13.1	14.4	16.0	17.5
Tamanho da cavidade :				
b/Å	4.4	5.8	7.3	8.8
c/Å	2.4	3.9	5.4	6.9
Altura, d/Å	9.1	9.1	9.1	9.1
Volume da cavidade / Å <sup>3</sup>	82	164	279	479

As moléculas hóspede dos complexos de inclusão das cucurbiturilas também variam de acordo com o interesse de estudo e abrem possibilidade para diversos campos, para citar alguns exemplos:

- Na área de química ambiental é possível a detecção de pesticidas hidrofóbicos pela técnica SERS, uma vez que o caráter hidrofóbico das cavidades favorece essa interação;
- Na área da inorgânica existe a catálise assistida. Como alguns processos catalíticos são favorecidos com os complexos de inclusão, existem estudos para monitorar mudanças a nível molecular com o auxílio da espectroscopia SERS;
- Na área de físico-química torna-se bastante interessante investigar o controle de reações com a espectroscopia SERS, uma vez que se pode modular quantas moléculas irão incluir nas CB[n] e assim favorecer a reação entre 2, 3, 4 moléculas ou

estudar o sistema livre de interações intermoleculares no caso da inclusão de apenas uma molécula. Ainda nessa área vale mencionar a possibilidade de alterar o  $pK_a$  de moléculas através da inclusão, o que será comentado com maiores detalhes no capítulo 5 dessa dissertação.

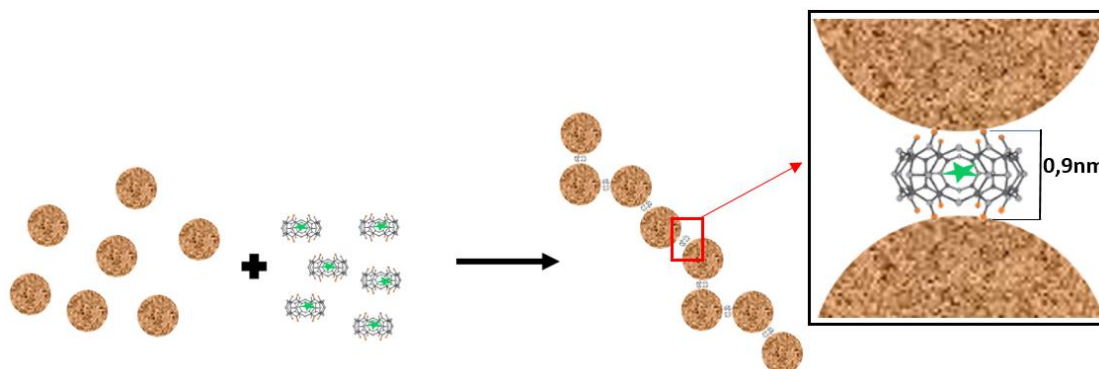
Foi dito na seção 1.1.2 que um dos problemas enfrentados na área do SERS é a dificuldade em se obter *hot-spots* reproduzíveis e estáveis por um certo período de tempo. Visto que os sinais intensificados provêm das moléculas que se encontram nos *hot-spots*, torna-se essencial investigar os fatores que possam contribuir para o cenário de um *hot-spot* de bom desempenho, caracterizado por alta estabilidade e reprodutibilidade dos sinais obtidos. Recentemente começaram investigações que conectam três pontos importantes, a dificuldade em se obter *hot-spots* adequados na espectroscopia SERS, a capacidade de interação dos aros das cucurbiturilas<sup>50</sup>, carregados negativamente, com os cátions metálicos presentes na nanoestrutura metálica nanométrica da nanopartícula utilizada no SERS (Figura 12) e a capacidade de formação de complexos de inclusão das cucurbiturilas (Figura 10)



**Figura 12**-Cucurbiturila atuando como nanojunction de nanopartículas esféricas pela interação da superfície com os aros de entrada.

Nessa área de estudo as cucurbiturilas são chamadas de *nanojunctions*<sup>49e, 51</sup> por favorecer a formação de *hot-spots*, conectado a área em que são chamadas de *nanocontainers*<sup>49f, 52</sup>, pela capacidade de incluir moléculas de interesse, emerge uma

área em que é possível estudar moléculas de interesse “presas” na CB, através da espectroscopia SERS, que irá apresentar alto desempenho devido a formação de *hot-spots* pela adição das cucurbiturilas.



**Figura 13-** Ilustração de um nanoreator obtido através da inclusão da molécula reativa na cucurbiturila e posicionado em regiões de alta intensificação SERS.

## Capítulo 2 - Objetivos

### 2.1 Geral

Investigar a formação de complexos de inclusão de moléculas orgânicas em cucurbiturilas de diferentes tamanhos e aplicar a espectroscopia SERS para a detecção, caracterização, controle de agregação e controle de reatividade.

### 2.2 Específicos

- ✓ Investigar a agregação de nanopartículas de Au induzida pela interação com as cucurbiturilas;
- ✓ Caracterizar via espectroscopia SERS a interação das cucurbiturilas com a nanoestrutura metálica nanométrica através das análises dos espectros;
- ✓ Investigar a estabilidade dos agregados de nanopartículas e a reprodutibilidade dos espectros SERS, das nanopartículas agregadas com CB em comparação a outro método convencional de agregação, o *salting-out*;
- ✓ Caracterizar as espécies envolvidas no estudo de forma sistemática e detalhar a atribuição vibracional com foco nos grupos reativos;
- ✓ Investigar a formação de complexos de inclusão em solução utilizando a espectroscopia de absorção eletrônica e a espectroscopia vibracional;
- ✓ Testar a viabilidade de controle de reação em cucurbiturilas utilizando duas reações de protonação de uma de redução;
- ✓ Realizar cálculos baseados na teoria do funcional da densidade (DFT) para auxiliar na atribuição das vibrações observadas nos espectros experimentais e na geometria otimizada.

## Capítulo 3- Estudo de agregação: Formação e estabilidade de regiões de alta intensificação SERS, induzidas por cucurbiturilas

### 3.1 Introdução

Atualmente uma das teorias mais utilizada para estudar a estabilidade de sistemas coloidais é a teoria DLVO, proposta independentemente por Derjaguin e Landau<sup>58</sup> em 1941 e Verwey e Overbeek<sup>59</sup> em 1948. Segundo essa teoria, para sistemas coloidais em um meio dielétrico, existe um balanço entre as forças atrativas de van der Waals e as forças repulsivas devido a dupla camada elétrica, em que a energia potencial total é dada pela equação 11.<sup>60</sup>

$$U_{DLVO} = \mu_a(r) + \mu_R(r)$$

#### Equação 11

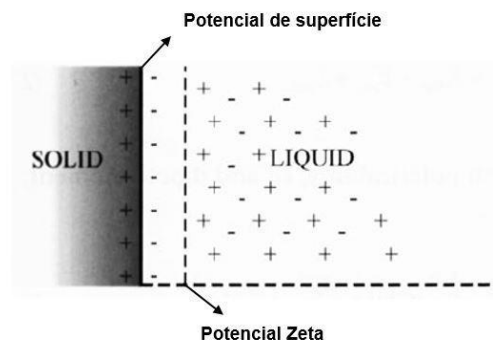
Onde ambos os termos estão em função da distância  $r$  entre as duas nanopartículas. A parte atrativa refere-se as forças de dispersão e é descrita por:

$$\mu_a(r) = \frac{-A}{12} \left[ \frac{D^2}{r^2 - D^2} + \frac{D^2}{r^2} + 2 \ln \left( 1 - \frac{D^2}{r^2} \right) \right] \quad \text{Eq. 2}$$

#### Equação 12

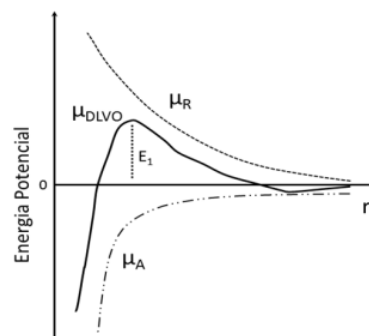
Onde **A**, chamada constante de Hamaker, é o coeficiente que relaciona a energia de van der Waals com a distância de separação entre as partículas e **D** é a dimensão da partícula. Percebe-se que a equação é válida para dois corpos idênticos e quanto menor a distância entre as partículas, maior será a energia de atração. Como **A** está relacionado da natureza do metal, o termo atrativo depende do metal utilizado, do tamanho da partícula e da distância entre elas, no entanto não leva em consideração a distribuição das cargas, a concentração das cargas e nem mesmo a presença delas.

O termo repulsivo origina-se pela repulsão eletrostática causada entre as partículas pela formação da dupla camada elétrica dos íons e contra-íons existentes em solução, ilustrada na Figura 14 (adaptada referência 60), e depende do potencial elétrico da partícula, da constante dielétrica do meio, da valência e densidade de carga de todas as espécies carregadas no meio e da dimensão da partícula e distância entre elas.



**Figura 14**-Ilustração do comportamento dos íons na interface entre uma superfície sólida carregada e a solução em contato com a superfície contendo os íons. Adaptada da referência 60

O comportamento do potencial total dado pela equação 13 na teoria DLVO, pode ser representado graficamente, como mostra a Figura 15.



**Figura 15**-Representação da energia potencial em função da distância  $r$  entre as partículas, onde  $\mu_r$  representa o termo repulsivo e  $\mu_A$  representa o termo atrativo. Adaptada da referência 60

Com a aproximação de duas partículas esféricas e idênticas a contribuição das forças de van der Waals começa a aparecer até atingir um mínimo de energia, quando

estão mais próximas as forças de repulsão começam a aparecer e crescem exponencialmente criando um máximo de repulsão eletrostática devido a dupla camada elétrica, caso essa barreira de potencial for vencida, ao se aproximarem mais as forças de dispersão voltam a ser predominantes até que ocorra agregação irreversível e a parte coloidal precipite.

O primeiro mínimo de energia no início da aproximação se refere a uma distância cujas partículas estão estabilizadas, porém é um processo reversível cuja agregação pode ser revertida por exemplo com agitação mecânica. Em uma distância  $r$  intermediária, se  $U_r \gg U_a$ , poderá haver uma barreira de energia representada pelo máximo das forças repulsivas, que impede a aproximação entre as partículas, assim elas continuam dispersas no meio. Porém, ao vencer essa barreira de potencial, chega-se ao segundo mínimo, quando as partículas estão muito próximas e neste caso o processo de agregação é irreversível e conseqüentemente a agregação procede até à precipitação.

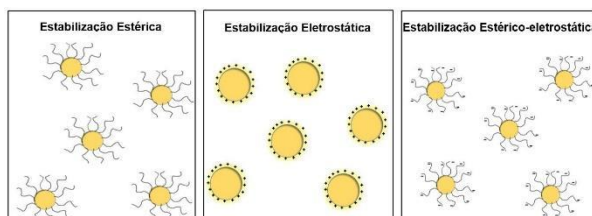
Sabe-se<sup>17,13</sup> que o sinal SERS observado se deve majoritariamente a grande intensificação eletromagnética que ocorre quando uma radiação incide em um conjunto de duas ou mais nanoestruturas plasmônicas próximas. A resposta do plasmon de superfície, presente nas nanoestruturas metálicas, envolve o deslocamento, em relação à posição de equilíbrio, da densidade de carga na superfície. Neste caso onde as partículas possuem tamanho entre 10~100nm, esse deslocamento ocorre em escala de comprimento muito menor quando comparada ao comprimento de onda da radiação de excitação (400~1000nm), como resultado áreas locais de alta intensidade do campo eletromagnético aumentam e *hot-spots* plasmônicos são formados. Como foi dito anteriormente, os sistemas coloidais



necessitam de intervenção caso o intuito seja aproximá-las e depois estabilizar o sistema.

A maneira mais utilizada na técnica SERS para promover desestabilização dos sistemas coloidais a fim de aproximar as NPs é pela variação do  $U_r$ , alterando a força iônica do meio, usualmente, com a adição de um sal, porém ao vencer a energia de potencial, inevitavelmente a termodinâmica dos coloides irá resultar em precipitação. Otimiza-se a concentração de sal para uma cinética favorável com intuito de se obter bom sinal por maiores períodos de tempo, porém com o processo de agregação iniciado o agrupamento das NPs é dinâmico, ou seja, a formação de novos *hot-spots* por partículas de tamanhos e formas variadas continua ocorrendo de forma não controlada e não constante o que resulta em um sinal Raman variável.

Além das propriedades intrínsecas do sistema coloidal formado por água + nanopartículas metálicas, existem outros fatores que dificultam a aproximação das NPs que podem ser separados em impedimento estérico, causado pela presença de agentes estabilizantes, e impedimento eletrostático originado das cargas presentes na superfície, com a possibilidade de ambos atuarem no mesmo sistema, o impedimento estérico-eletrostático representado por agentes estabilizantes que possuem carga, ilustrados na Figura 16:



**Figura 16**-Diferentes possibilidades de estabilização dos sistemas coloidais por agentes estabilizantes.

Um dos maiores desafios no desenvolvimento de substratos SERS eficientes é a construção reprodutível e estável de arquiteturas plasmônicas em nanoescala. Mesmo em substratos SERS sólidos a distribuição espacial dos *hot-spots* é aleatória, o que resulta em sinais Raman que podem variar e sofrer flutuações de intensidade, uma vez que depende das regras de seleção de superfície,<sup>61</sup> da posição do adsorbato em relação à nanoestrutura metálica nanométrica, geometria, forma e dimensão das nanopartículas, estrutura dos agregados, entre outros fatores como a polarização do campo incidente.<sup>62</sup>

A proposta neste capítulo é investigar a formação de *hot-spots* através da adição de cucurbiturilas na solução coloidal. Também serão apresentados resultados avaliando o controle e estabilidade dos *hot-spots* formados, para isso a proposta será comparada com a técnica de *salting-out*, comumente utilizada para promover a agregação em sistemas coloidais através da adição de um sal que altere a força iônica do meio. Tal proposta se mostra de extrema importância na área visto que a técnica SERS possui diversas vantagens quando comparadas a outras, mas uma das maiores limitações se encontra na dificuldade de realizar experimentos reprodutíveis e dependentes do tempo, uma vez que os *hot-spots* dinâmicos resultam em sinais variáveis.

## **3.2 Experimental**

### **Materiais**

O KCl (Cloreto de potássio P.A. – MM 74,55 g.mol<sup>-1</sup>) foi da Synth, o Citrato de sódio (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub> – MM 258.07 g.mol<sup>-1</sup>), as cucurbiturilas, e o H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> (ácido tetracloroaurico 99% - MM 339.79 g.mol<sup>-1</sup>) são da Sigma Aldrich. Todas as sínteses e soluções foram preparadas com H<sub>2</sub>O deionizada.

## **Instrumental**

Os espectros de absorção eletrônica na região de 200 a 800 nm foram obtidos em um espectrofotômetro Shimadzu UVPC-3101 em cubeta de quartzo de 1.0cm de caminho óptico utilizando o modo de transmissão. Os experimentos de cinética foram realizados no mesmo equipamento, porém com concentração menor dos KCl e CB afim de se obter informações sobre a dinâmica de agregação por um período maior de tempo.

Os espectros SERS foram obtidos no equipamento Renishaw InVia Raman Microscope, nas radiações 633 nm (Laser de He – Ne, RL633 Renishaw Class 3B), equipado com uma lente de longa distância com amplificação de de 20x. As imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) foram obtidas na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo em um equipamento JEOL JEM 2100.

Os espectros de FTIR foram obtidos com o auxílio do espectrômetro Alpha da Bruker, no acessório ATR com cristal de diamante monolítico e resolução espectral de  $2\text{cm}^{-1}$ .

## **Métodos**

### **Síntese dos colóides.**

Para a síntese dos colóides de Au<sup>72</sup>, dissolveu-se 5 mg de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> em 95 mL de H<sub>2</sub>O e colocou-se para aquecer a c.a 110°C até entrar em ebulição. Em seguida, gotejou-se 5 mL de solução de citrato de sódio a 1%, previamente preparada e aquecida. Deixa-se o sistema sob agitação magnética e temperatura constante por 30 minutos.

## **Procedimentos experimentais.**

Os espectros Raman das CBs foram obtidos com as amostras sólidas, portanto transferiu-se uma pequena porção (meia ponta de espátula) para um slide de vidro e posicionou-se no foco do laser para aquisição do espectro. E os experimentos SERS foram realizados diluindo-se 10  $\mu\text{L}$  da solução de CB[n] (para  $n=5$  e  $7$  em água, e  $n=6$  em  $\text{H}_2\text{CO}_2:\text{H}_2\text{O}$  1:1) a  $1 \times 10^{-3}$  M em 990  $\mu\text{L}$  de solução coloidal de Au descrita acima, resultando em uma concentração final de  $1 \times 10^{-5}$  M

Para todos os espectros de IR colocou-se o analito sólido sobre o cristal de diamante e obteve-se o espectro vibracional.

## **Análises TEM**

Adicionou-se 5  $\mu\text{L}$  da solução de CB5 em água a  $2 \times 10^{-3}$  M em 990  $\mu\text{L}$  da solução coloidal de Au. Lavou-se 3x a solução com água para retirar o excesso de CB5. As nanopartículas sem agregação foram utilizadas direto da síntese sem necessidade de manipulação.

## **Cinética**

A cinética de extinção foi obtida separadamente para cada uma das amostras. Posicionou-se a cubeta no equipamento e após gotejar KCl imediatamente começou-se a aquisição da intensidade de extinção em função do tempo. Repetiu-se o mesmo procedimento para a agregação induzida com CB.

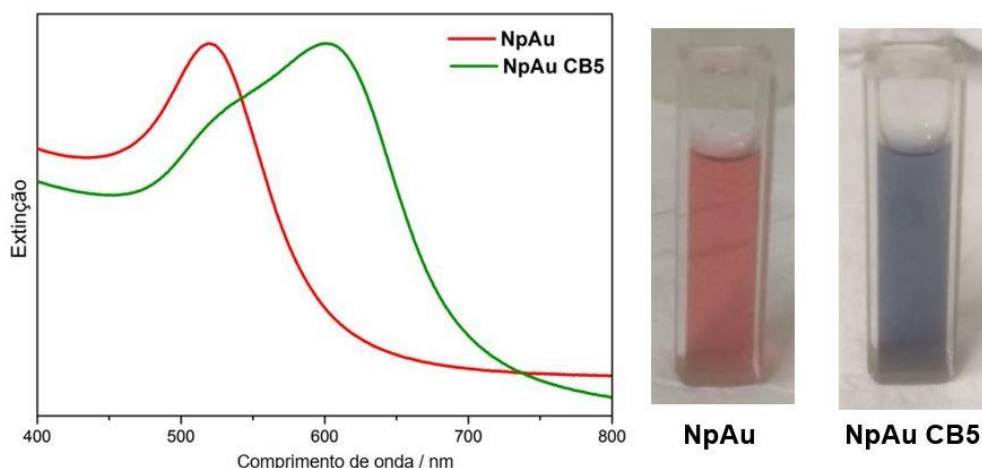
## **SERS métodos de agregação**

Para obtenção dos espectros SERS do NTF em função do tempo adicionou-se 10  $\mu\text{L}$  da solução de analito a  $2 \times 10^{-3}$  M em 990  $\mu\text{L}$  de suspensão coloidal aquosa para uma concentração final de  $1 \times 10^{-5}$  M e após agitação adicionou-se 2  $\mu\text{L}$  de KCl a  $2 \times 10^{-5}$  M

<sup>3</sup>M. No SERS com CB7 adicionou-se o 10 $\mu$ L complexo de inclusão CB7cNTF previamente preparado, descrito na Parte experimental do capítulo 5, em 990 $\mu$ L de suspensão coloidal.

### 3.3 Resultados e discussão

O primeiro aspecto a ser investigado é a formação das regiões espectrais de alta intensificação através da adição das cucurbiturilas, para isso a Figura 17 apresenta os espectros de extinção da solução coloidal de nanopartículas de ouro e da mesma solução com adição de CB5.



**Figura 17**-Espectros de extinção das nanopartículas de Au sem e com adição de CB e as respectivas fotos das cubetas utilizadas no experimento.

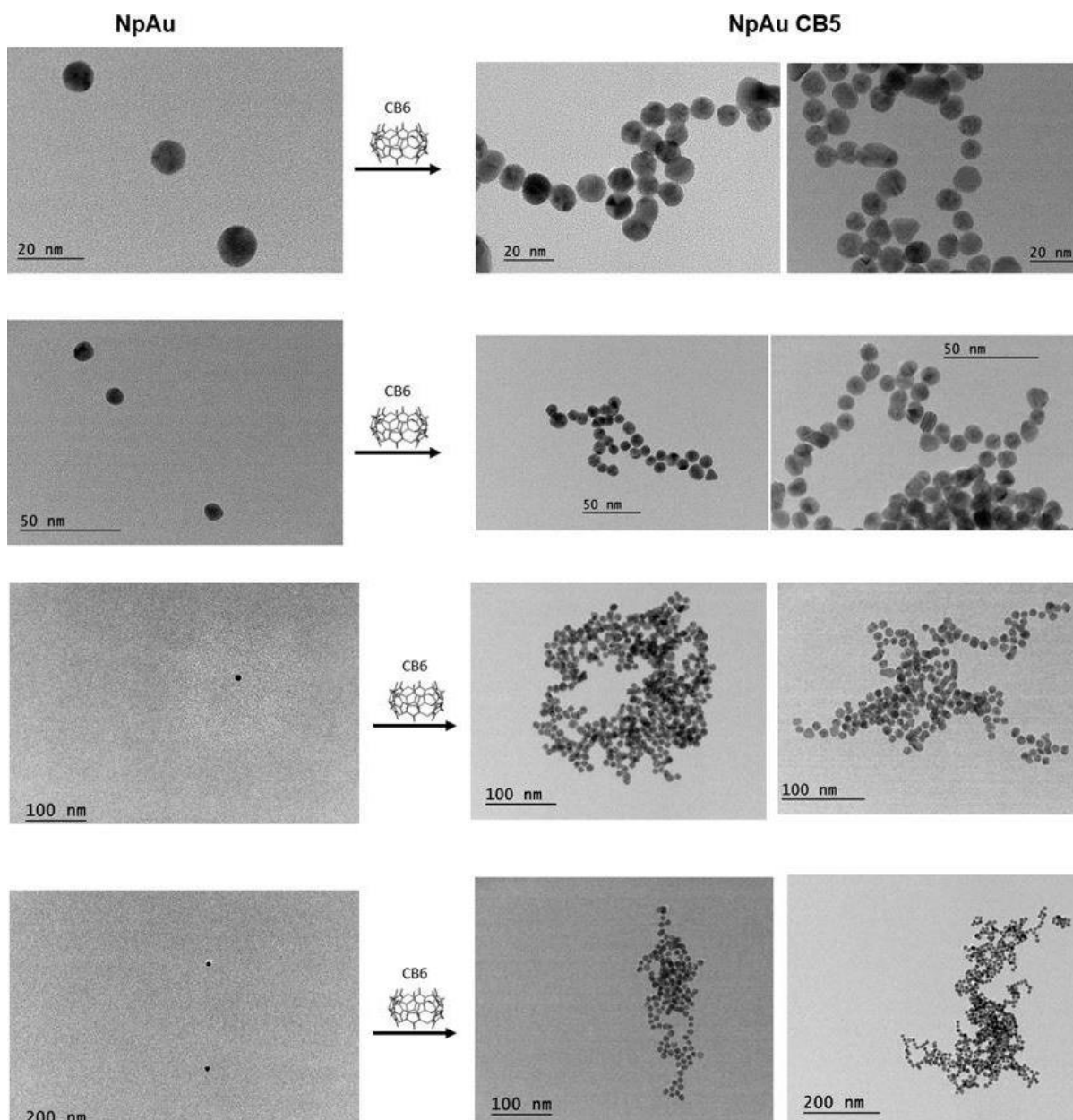
O CB5 foi utilizado nesse experimento pela alta solubilidade em água, visto que a solução coloidal também está suspensa em água infere-se que a interação observada seja majoritariamente das duas espécies de interesse, as NP e as CB5, além disso, como as cucurbiturilas interagem pelos aros com alta densidade de carga<sup>63</sup> a dimensão de maior interesse é a altura e não a cavidade de entrada (Tabela 2), portanto o CB5 se mostrou um bom parâmetro para tal investigação.

Duas principais análises podem ser feitas através da comparação dos espectros de extinção, a solução de NPAu obtida através da síntese de Lee e Meisel apresenta menor largura da banda, um indicativo de maior homogeneidade no tamanho das NP que compõem o sistema e a extinção máxima em 520 nm que indica um tamanho médio das NP de cerca de 10 nm

Quando comparado ao espectro de extinção após a adição de CB5, observa-se um deslocamento de quase 100nm dessa frequência para maior comprimento de onda, que corresponde à formação de agregados das NP presentes, induzidos pela interação das carbonilas com as superfícies metálicas. Como a absorção do plasmon (extinção) é a soma dos plasmons individuais de cada NP que compõe o agregado, o resultado é uma absorção em maior comprimento de onda devido a um aumento no tamanho médio das partículas. A largura da banda é maior e junto com a forma indica a presença de dois máximos de extinção, o de maior intensidade em 610 nm e o de menor intensidade em 520 nm relacionados aos agregados formados e às NP que não interagiram com as CB5, respectivamente, portanto essa solução contém maior heterogeneidade no tamanho das partículas.

Para melhor visualização dos sistemas coloidais a Figura 18 mostra as imagens de microscopia eletrônica de transmissão das duas amostras descritas acima. Suportando os dados observados no experimento anterior, a solução coloidal de NP apresenta nanoesferas de Au pequenas (~15nm) e isoladas, sem a presença das regiões de alta intensificação formadas entre as partículas, além disso possuem forma e tamanho semelhantes. Quando o CB5 é adicionado, as nanoesferas de Au se aproximam e formam cadeias com distância semelhante entre as NP que compõem as cadeias, contudo observa-se agregados com tamanhos e formas variados, com cerca de 100 nm e agregados maiores que 200 nm. O fato de os agregados estarem

separados uns dos outros sugere uma agregação estável e controlada uma vez que a aproximação é induzida devido a interação de duas nanopartículas com a mesma macromolécula de CB, portanto a quantidade controlada de indutor de agregação auxilia no controle da mesma. Tal agregação induzida (Figura 18) é responsável pela criação dos *hot-spots*.



**Figura 18**-Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) das nanopartículas de Au antes e após adição de CB nas diferentes magnificações indicadas.

A síntese de substratos SERS realizada consiste em um processo bastante simples, rápido e prático, porém que não apresenta boa intensificação do sinal SERS por serem pequenas e pela ausência da proximidade entre elas, de forma que a ressonância com o laser incidente não é alcançada e a soma entre os campos também não pode ser obtida. Experimentalmente, o intuito de criar os *hot-spots* torna-se essencial em uma análise cujo substrato é simples, já que para substratos mais complexos e elaborados, como nanoesferas crescidas, eletrodos com aplicação de



potencial, nanoestruturas com formas variadas, etc, as variações estruturais e energéticas podem causar flutuações nas intensidades SERS, além disso o agente estabilizante pode impedir a aproximação do analito que se deseja obter o espectro SERS, e demandam maior quantidade de reagentes na síntese e também tempo de preparo.

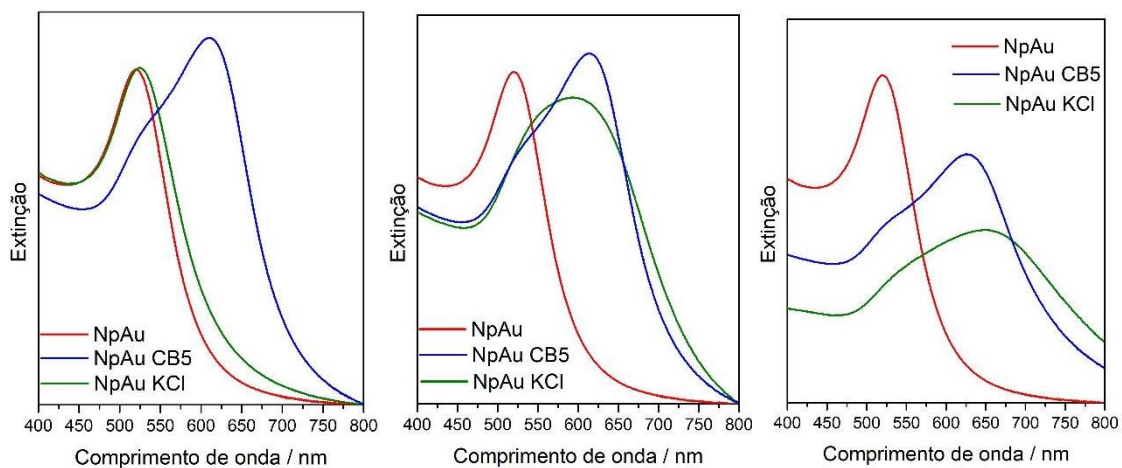
A seguir, serão apresentados os resultados das investigações sobre a cinética, dinâmica e estabilidade de agregação. Para tal estudo iremos comparar o método proposto com outro método de indução de agregação.

Como já dito anteriormente, uma das técnicas mais comuns e utilizadas para induzir a formação de *hot-spots* nos estudos SERS, é o *salting out*,<sup>16, 64</sup> no qual é adicionado um sal (KCl, NaCl) para promover aumento da força iônica e diminuir a solvatação nas nanopartículas, possibilitando a aproximação entre elas e a formação dos *hot-spots*, essa relação pode ser explicada pelo aumento da energia coesiva na solução aquosa, devido à forte interação dos íons que compõem o sal com os dipolos da molécula de água. Esse aumento na energia coesiva leva a um aumento do custo energético na formação da cavidade quando uma molécula de soluto é transferida para a solução aquosa, o que causa uma menor partição das NPs na solução aquosa.

Porém, após a adição do sal, ao longo do tempo a agregação procede até que as nanopartículas precipitam e perdem sua propriedade de intensificação do sinal SERS, o que está diretamente relacionado com falta de reprodutibilidade experimental e perda de informações importantes com o tempo, em suspensões coloidais.

O sal escolhido para tal comparação foi o KCl devido a menor higroscopicidade e conseqüentemente menor probabilidade de contaminação, a Figura 19 apresenta os espectros de extinção em diferentes tempos para as seguintes soluções:

Nanopartículas de Au obtidas através da síntese de Lee e Meisel (NpAu), NpAu com adição de CB5 (NpAu CB5) e NpAu com adição de KCl.

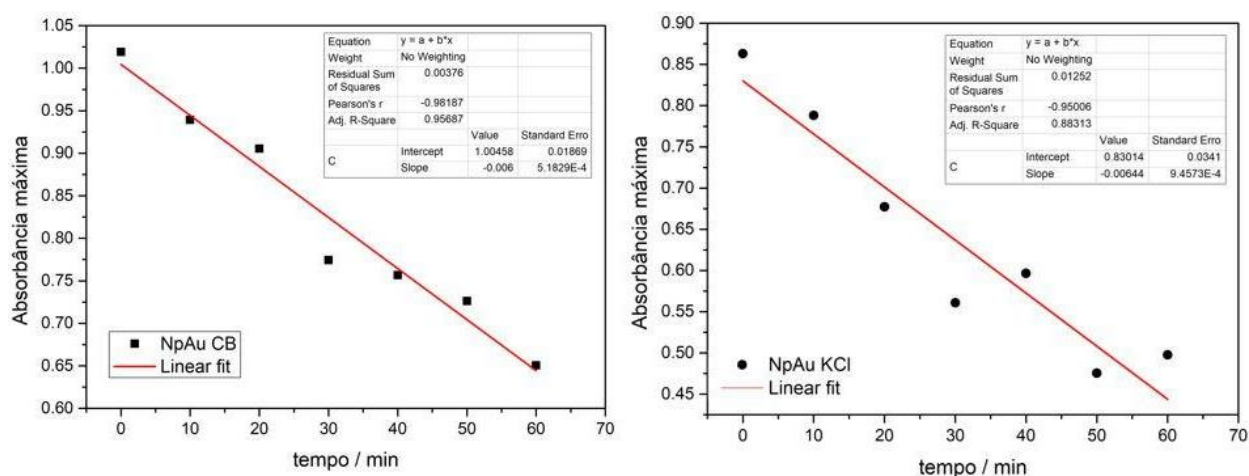


**Figura 19**-Espectros de extinção das soluções aquosas de coloide de Au sem agregação induzida (vermelho), com agregação induzida pela adição de CB (azul) e induzida pelo método de *salting-out* com adição de KCl (verde), nos tempos 0, 30 e 60 minutos, respectivamente.

Como já discutido anteriormente, o comprimento de onda do máximo de absorção do plasmon está relacionada com o tamanho médio das partículas, ou aglomerado de partículas, que compõem o sistema coloidal e que são responsáveis pelo plasmon da respectiva amostra. É possível observar um deslocamento contínuo para menores frequências em função do tempo, indicando aumento contínuo no tamanho das partículas da solução devido a aproximação e aglomeração entre as NpAu da solução original. Apesar de observarmos esse comportamento em ambas as amostras com agregação induzida, a amostra de NpAu com KCl apresenta maior deslocamento no mesmo período de tempo, indicando que a agregação procede até os aglomerados não apresentarem mais propriedades óticas de partículas nanométricas.

Em comparação à solução agregada com CB observa-se que o ombro referente às NP não agregadas não sofreu mudanças com o tempo, mostrando que a agregação dessas não ocorre, o que foi atribuído ao fato de essas não estarem em contato com as cucurbiturilas, no entanto, houve um pequeno deslocamento de cerca de 20 nm da

banda de maior absorção que permaneceu estável, sugerindo um equilíbrio entre as NP que apresentam CB5 adsorvidas e que a agregação não procede após as cucurbiturilas estarem em contato com as NP. Através da variação decrescente na extinção da solução com KCl, observamos a diminuição da intensidade do plasmon de superfície por não ser possível interromper a agregação uma vez que os indutores são adicionados. Apesar da intensidade também diminuir na solução com CB5, ainda continua com o dobro da absorção da solução com KCl e contribui com um bom sinal SERS. Para tratar separadamente os deslocamentos de frequência e a variação de intensidade do plasmon, as Tabelas 3, 4, e Figuras 20 e 21 mostram os dados referentes aos espectros de extinção obtidos em função dos tempos indicados para ambas as amostras.



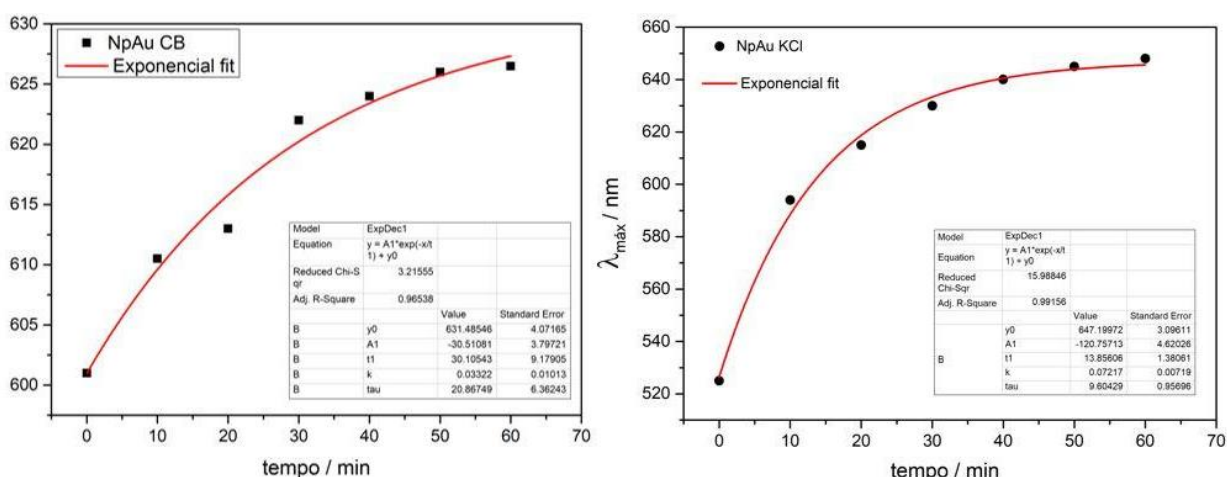
**Figura 20-** Comparação entre a variação da absorbância máxima em função do tempo para as soluções coloidais de nanopartículas agregadas com CB e KCl, respectivamente.  $\lambda=520\text{nm}$

**Tabela 3-** Comparação entre os coeficientes dados pelas retas de variação da absorbância máxima em função do tempo para as soluções coloidais de nanopartículas agregadas com CB e KCl, respectivamente.

Variação da Absorbância máxima com o tempo		
	CB	KCl
<b>Coefficiente Linear</b>	1.00458 ± 0.01869	0.83014 ± 0.0341

<b>Coefficiente Angular</b>	$-0.006 \pm 0.000519$	$-0.00644 \pm 0.000946$
<b>R<sup>2</sup></b>	0.95687	0.88313

As variações de absorvância com o tempo resultam em uma reta com coeficientes distintos, neste caso o coeficiente angular indica uma menor taxa de variação da absorvância com o tempo para as NPs agregadas com CB. O coeficiente linear mostra que a absorvância resultante terá, em média, maior intensidade. Os valores de R<sup>2</sup> permitem concluir uma menor flutuação na dinâmica de agregação, além disso os erros associados à reta das cucurbiturilas são menores, indicando um sistema mais constante e estável em relação a intensidade da absorvância com o tempo.



**Figura 21-** Comparação entre a variação do comprimento de onda máximo em função do tempo para as soluções coloidais de nanopartículas agregadas com CB e KCl, respectivamente.

**Tabela 4-** Comparação entre os coeficientes dados pelas curvas de variação da frequência máxima em função do tempo para as soluções coloidais de nanopartículas agregadas com CB e KCl, respectivamente.

<b>Varição da Frequência máxima com o tempo</b>		
<b><math>y = A1 \cdot \exp(-x/t1) + y0</math></b>		
	<b>CB</b>	<b>KCl</b>
<b>A1</b>	$-30.51081 \pm 3.79721$	$-120.75713 \pm 4.62028$
<b>Y0</b>	$631.48546 \pm 4.07165$	$647.19972 \pm 3.09611$

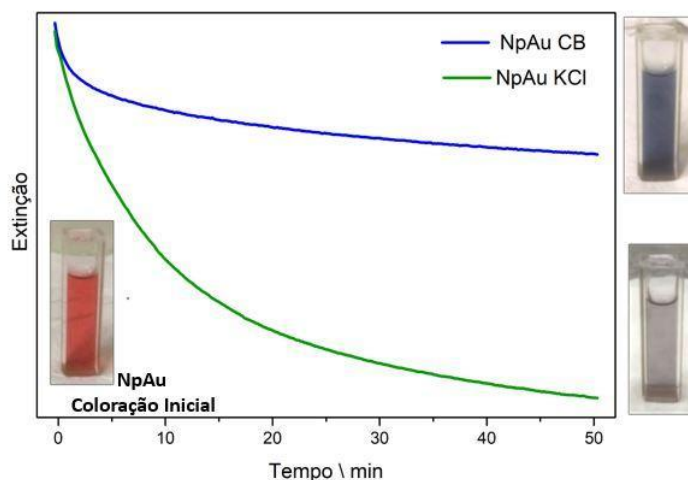
<b>T1</b>	30.10543 ± 9.17905	13.85606 ± 1.38061
<b>R<sup>2</sup></b>	0.96538	0.99156

As curvas apresentadas nos gráficos da Figura 21 foram obtidas levando-se em conta os valores máximos de absorção da banda mais intensa, ou seja, acompanhou-se a intensidade do plasmon de superfície dos aglomerados formados após agregação (independentemente do tamanho), responsáveis pela grande intensificação do campo elétrico.

Nota-se que o valor de  $y_0$  é semelhante para ambas as curvas, porém para as variáveis dependentes do tempo os valores se tornam bastante discrepantes, isso ocorre pois no caso do CB o gráfico se assemelha melhor a uma reta e para o KCl deve-se tratar como uma curva. O aumento da energia coesiva dificulta a solvatação das nanopartículas em ambos os casos, porém a adição de CB parece alterar de forma menos significativa essa energia pela interação estável com as NPAu, de forma que o processo de agregação torna-se mais controlado e atinge um máximo em que essa energia não é mais alterada, por isso pode ser tratado como uma reta, ao contrário do KCl que por não interagir com as nanopartículas e sim com as moléculas de água, continuam alterando essa força até que seja mais favorável a aproximação de todas as NPAu do meio coloidal.

Para comparação da cinética de agregação em relação ao estado inicial da solução, o comprimento de onda da banda inicial (520nm) foi fixada e após adição de KCl e CB acompanhou-se a variação da extinção em função do tempo nessa frequência.

As curvas de extinção assistidas durante 1h estão apresentadas na Figura 22, as fotos das cubetas utilizadas para cada solução foram obtidas no final do experimento e estão mostradas logo abaixo, assim como a foto da solução inicial:



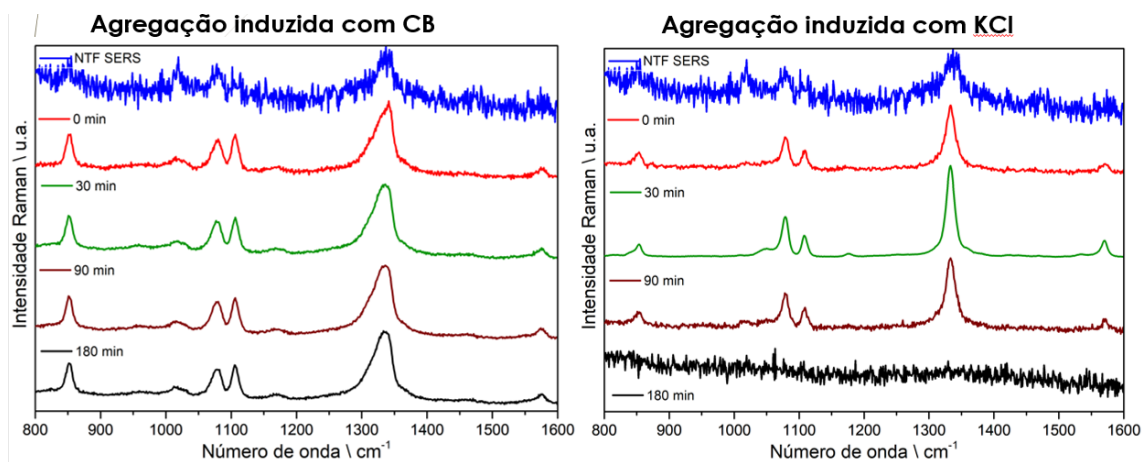
**Figura 22**-Comparação entre a cinética de agregação das nanopartículas de Au induzida pela adição de CB (azul) e KCl(verde) e as fotos das soluções no início do experimento e no final, respectivamente.  $\lambda=520\text{nm}$

A curva bastante acentuada representada pela solução com KCl mostra que logo após a adição do sal as partículas começam a se aproximar e a mudança brusca na força iônica do meio induz o processo de agregação entre as NP de Au, esse processo ocorre rápido alcançando seu máximo de sinal poucos minutos após o início e alcança metade da sua extinção cerca de 5 minutos após adição. Depois disso a agregação ocorre de forma mais lenta, mas seu sinal já está bastante fraco aos 20 minutos, o que dificulta na obtenção de bons espectros e em conseguir informações estruturais em função do tempo. Após 1h do início do processo as NP já estão precipitadas, o que é ilustrado na foto da cubeta no final do experimento, em que a solução já está translúcida, sem partículas coloidais em suspensão.

A curva apresentada em azul, referente a cinética de agregação da solução de NP em que adicionou-se cucurbiturilas, também cai pela metade até 5 minutos após o início da adição mesmo assim apresenta alta intensidade do plasmon. Após os 10

primeiros minutos sua extinção continua praticamente constante, como um equilíbrio bem estabelecido entre as partículas que se aproximaram e as que estão sem CB adsorvido, com uma pequena perda de intensidade, que provavelmente não irá interferir no seu desempenho SERS, pois ainda se mantém intensa por períodos maiores que 1h. A foto da cubeta no final do experimento mostra a solução ainda com coloração azul, indicando nanopartículas maiores, ou agregados de pequenas nanopartículas, que compõem a solução inicial apresentada, onde observa-se a coloração vermelha. Comparando ambas as cinéticas, é nítida a grande diferença entre as extinções finais das soluções.

Experimentalmente, a ausência ou falta de estabilidade da suspensão coloidal afeta diretamente no sinal SERS observado e está relacionada com o aumento do ruído de fundo, diminuição da intensidade Raman, flutuação de perfis espectrais e consequente perda de informações vibracionais com o tempo. Como um dos principais objetivos é conseguir espectros SERS confiáveis com o tempo, foram obtidos 2 conjuntos de espectros SERS com o tempo, para isso foi utilizado como modelo o analito 4-nitrofenol (NTF) incluído em CB6, em comparação a ele livre com agregação das NPs promovida através da adição de KCl. Tal analito será apresentado e caracterizado no Capítulo 4 desta dissertação, porém para investigar a agregação induzida pelas CBs esse dado será previamente apresentado na Figura 23.



**Figura 23-** Espectros SERS do NTF em função do tempo, comparando a agregação das nanopartículas de Au induzida por CB e por KCl. [NTF]= $1 \times 10^{-5}$ M e  $\lambda_0 = 633$ nm

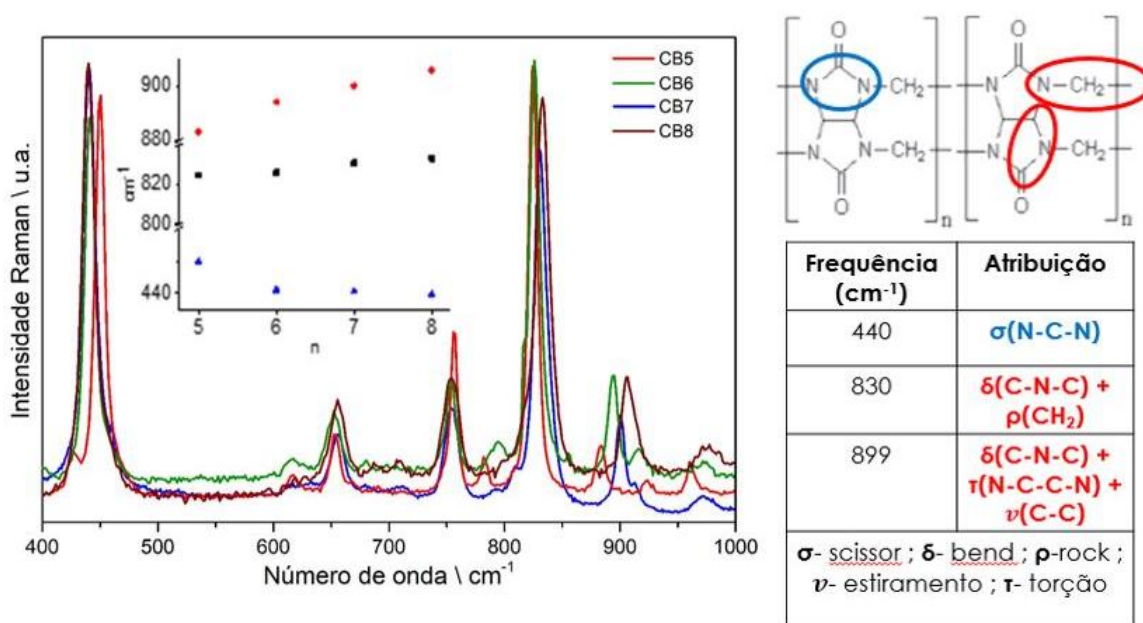
O conjunto de espectros SERS obtidos com as NP agregadas com KCl apresentam boa definição ainda com baixa intensidade devido ao tempo necessário para as NP começarem a agregar e as moléculas nos *hot-spots* começarem a contribuir com o sinal. Após esse tempo a agregação atinge seu máximo de sinal e apesar de bastante intenso, mesmo com uma molécula pequena de espectro SERS bastante conhecido e reportado na literatura, é possível notar flutuações tanto na relação sinal/ruído, como na intensidade das bandas e nas intensidades relativas, o que nos leva a acreditar que para sistemas maiores e desconhecidos é uma técnica passível de erros relacionados ao processo de agregação. No segundo conjunto de espectros, até os 90 min a relação sinal/ruído é menor quando comparado ao KCl, porém é nitidamente mais reprodutível e com menores variações dos aspectos analisados para os espectros com KCl, além disso não há perda de sinal SERS por longos períodos de tempo, a agregação com CB se mostrou estável após o tempo necessário para atingir o equilíbrio entre as cucurbiturilas e as NP, possibilitando estudos SERS com boa qualidade e confiáveis, em função do tempo.

Como as cucurbiturilas fazem parte do sistema estudado e interagem com as nanopartículas, é essencial caracterizá-las a fim de entender seu perfil vibracional e



qual será a influência dessas espécies quando estão presentes no meio. Dessa forma a Figura 24 apresenta os espectros vibracionais das cucurbiturilas com  $n=5,6,7$  e  $8$ .

O gráfico interno mostra os deslocamentos na frequência de alguns modos vibracionais em função do tamanho da cadeia glicolúrica, tanto para maior quanto para menor energia, dependendo da atribuição do modo.



**Figura 24**-Espectros Raman das cucurbiturilas 5-8 em estado sólido e atribuições das vibrações indicadas no gráfico interno.  $\lambda_0 = 633\text{nm}$ .

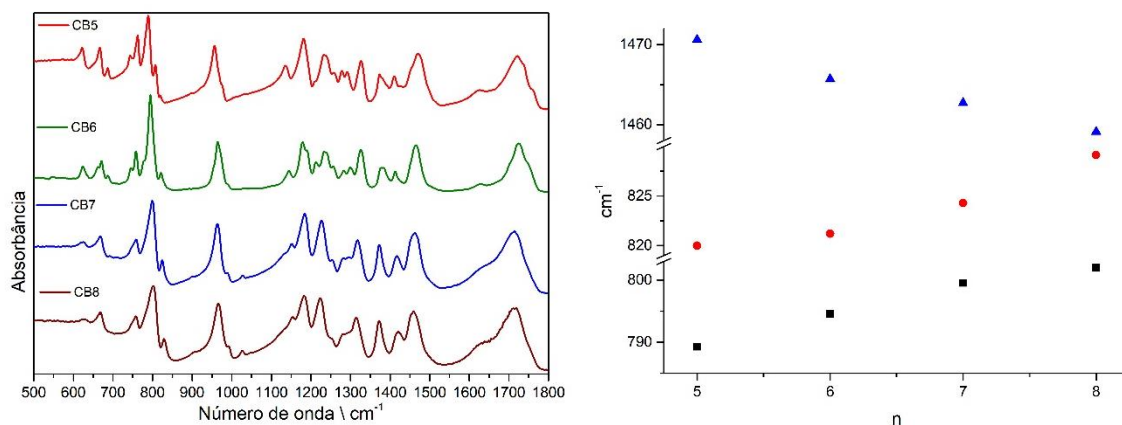
Nos espectros Raman, as vibrações que dão origem a bandas na região de maior número de onda são atribuídas a modos de respiração e de deformação do anel, em  $880\text{ cm}^{-1}$  e  $830\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Já a banda intensa em  $450\text{ cm}^{-1}$  apresenta deslocamento para menor número de onda e pode ser atribuída a um modo envolvendo o grupo N-C-N.

Os deslocamentos das bandas relacionadas aos modos do anel para maiores números de onda com o aumento de  $n$  acontecem provavelmente devido ao aumento da tensão nas ligações, já que os grupos que participam ficam mais restritos com a adição de mais cadeias glicolúricas. Por exemplo, como o modo vibracional em  $830$

$\text{cm}^{-1}$  possui contribuição de grupos  $\text{CH}_2$ , esses átomos se aproximam quanto maior o número de  $n$  causando maior repulsão, o que resulta no deslocamento para maiores números de onda.

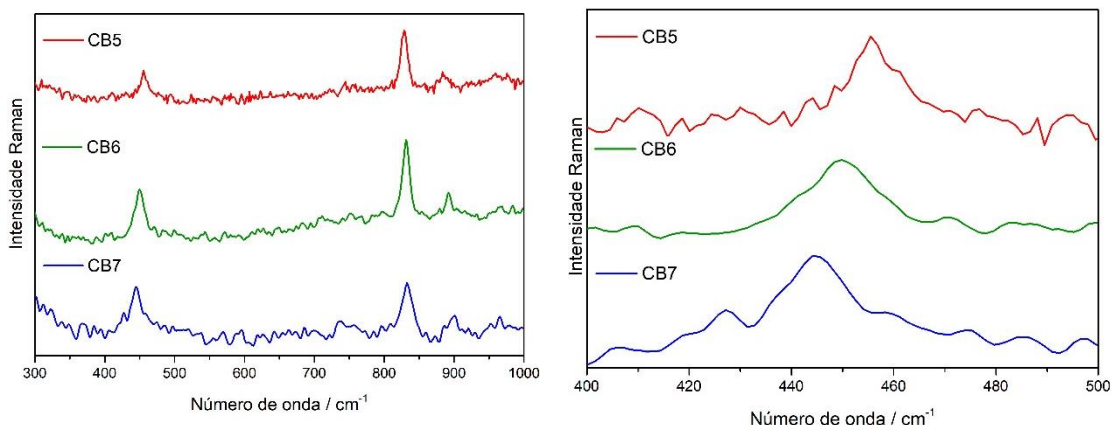
Já na banda em  $450 \text{ cm}^{-1}$  pode ser visto o efeito contrário, o que pode ser explicado justamente pelo efeito oposto, ou seja, com o aumento da cadeia glicolurílica, as ligações N-C-N ficam menos tensionadas e a energia de vibração é menor. Nota-se que as bandas cujo deslocamento acontece para maior número de onda estão relacionadas a parte de ligação entre as unidades glicolurílicas, enquanto para os modos vibracionais da parte interna da unidade glicolurílica observa-se o efeito contrário. Esse efeito acontece com o aumento de  $n$  e pode ser interpretado pela maior sobreposição dos orbitais quanto maior o número de  $n$ , porém há também um aumento no diâmetro da CB com o aumento de  $n$  e, portanto, as unidades glicolurílicas tem “mais espaço” na unidade interna.

Analogamente para os espectros IR essa relação pode ser feita uma vez que os deslocamentos para maior energia são das frequências vibracionais relacionadas a parte de ligação entre as unidades glicolurílicas e para menor energia atribuídos a parte interna da unidade glicolurílica, como mostrado na Figura 25.



**Figura 25**-Espectros de infravermelho das cucurbiturilas 5-8 em estado sólido. O gráfico ao lado mostra os deslocamentos das frequências indicadas em função do número de unidades glicolurílicas.

Os espectros SERS indicam o perfil vibracional base (“branco”) para o sistema final (NPAuCBcAnalito), sendo necessário compreender e atribuir os sinais referentes às cucurbiturilas. A Figura 26 abaixo mostra os espectros SERS das CB[5,6 e 7].



**Figura 26**-Espectros SERS das cucurbiturilas 5-7 obtidos em colóide de Au na radiação 633nm. Ao lado são indicados os principais deslocamentos de frequência observados.

Os espectros SERS das CBs apresentam baixa intensidade, o que é bastante vantajoso já que são utilizadas como agentes de agregação e o interesse no sistema final será observar o sinal dos analitos, atentando-se também para o fato de que a concentração nos espectros SERS é baixa, na ordem de  $10^{-5}$  M. Apesar disso, pode-se observar que os espectros Raman e SERS não são iguais, indicando que os CB[n] são capazes interagir com as NPs.

O mesmo deslocamento visto nos espectros Raman pode ser observado nos espectros SERS, o que pode ser entendido pelo mesmo motivo estérico, uma vez que o padrão observado é o mesmo, e nos permite distinguir qual o CB[n] está em análise, mesmo em baixíssimas concentrações.

### **3.4 Conclusões parciais**

As análises dos espectros e das imagens microscópicas permitem concluir que há formação de *hot-spots* nas nanopartículas com a adição das cucurbiturilas e as comparações com o método de agregação induzido por *salting-out* indicam uma dinâmica de agregação diferente, resultando em sistemas cujas propriedades óticas podem ser moduladas através do método escolhido.

Por fim, a estabilidade e reprodutibilidade dos agregados com cucurbiturilas se mostraram altamente otimizados, resultando em uma maior eficiência para experimentos SERS dependentes do tempo e diversas outras aplicações que dependem dos *hot-spots*.

Deve-se considerar que no tempo em que os métodos tem sua eficiência máxima, o método com KCl apresenta melhor relação sinal/ruído, porém tal característica é invariavelmente perdida ao longo do tempo, o que não ocorre com as cucurbiturilas apesar de nunca apresentarem tal relação tão alta, sendo então uma escolha a ser tomada de acordo com o estudo a ser realizado.

Além disso, o baixo sinal SERS das cucurbiturilas é bastante vantajoso visto que o sinal de interesse no sistema final será o sinal do analito, e com os resultados obtidos é esperado pouca interferência dos modos vibracionais das CBs.

## Capítulo 4 – Espectroscopia SERS dos complexos de inclusão: reações de protonação e fotoredução

### 4.1 Introdução

Atualmente a química de *hóspede-hospedeiro* é objetivo de muitas pesquisas devido a sua vasta gama de possibilidades. A inclusão de moléculas vem sendo amplamente investigada por mostrar grande potencial em diversas áreas e aplicações possíveis, assim os estudos a nível molecular na ciência fundamental são importantes para entender quais interações ocorrem entre hóspede-hospedeiro, como ocorrem e como podemos modulá-las de acordo com um interesse particular, ampliando posteriormente as escalas para atender a demanda necessária.

As técnicas mais utilizadas para observar a inclusão dos analitos em CBs são absorção eletrônica, fluorescência, eletroquímica e ressonância magnética nuclear, de forma que a interpretação dos resultados mostra, de acordo com a técnica, se há mudança nas propriedades dos analitos e quais são, podendo levar ao resultado de inclusão do analito, formação de complexo de coordenação, formação de ligação de hidrogênio com os aros, entre outras diversas possibilidades. Visto que as cucurbiturilas apresentam alguns grupos com possibilidade de interação, dependendo do analito, torna-se essencial a investigação da formação do complexo para tal aplicação proposta.

As cucurbiturilas podem atuar então como um “container molecular”, mas também como ambiente reacional molecular e ainda é possível modular e otimizar essas reações de acordo com a necessidade.

Recentemente mostrou-se possível controlar uma reação de dimerização através do controle da inclusão de uma ou duas moléculas que foi modulado pelo tamanho da cucurbiturila disponível<sup>65</sup>, quantificar moléculas incluídas por SERS e

detecção de single molecule<sup>66</sup>. No SERS esses estudos abrem possibilidades de detectar moléculas inclusas na cavidade das CB que por sua vez atuam como junção de nanopartículas colocando a molécula de interesse em regiões de alta intensificação e ainda observar e modular reações em tempo real localizadas nos containers moleculares, em soluções aquosas.

Neste capítulo serão apresentados resultados referentes aos estudos de inclusão dos analitos de interesse nas cucurbiturilas e posteriormente uma possível aplicação investigada foi estudar como a inclusão dos analitos nas cucurbiturilas pode afetar as reações que ocorrem nessas moléculas.

Para isso foi feita a caracterização vibracional de todas as espécies presentes no estudo, o que é essencial pois permite o conhecimento prévio do perfil espectral de cada uma e a atribuição das bandas que correspondem às vibrações que contribuem majoritariamente para tal modo vibracional visualizado. Uma pequena variação na frequência de um modo vibracional  $k$  pode indicar que a força de ligação entre os átomos, que contribuem predominantemente para o modo  $k$ , foi alterada por alguma razão, logo análises precipitadas também podem ser evitadas com a caracterização vibracional prévia. A análise dos dados experimentais pode ser auxiliada e apoiada por espectros teóricos (DFT), calculados com auxílio de programas computacionais que utilizam a química quântica para fornecer informações como as frequências dos modos vibracionais, intensidade, distribuição de carga, valores de energia potencial entre outras propriedades

## 4.2 Experimental

### Materials

Os reagentes HCl (ácido clorídrico – 37% P.A), o KOH (Hidróxido de potássio, MM 56.11 g.mol<sup>-1</sup>) e NaBH<sub>4</sub> (borohidreto de sódio, MM 37.83 g.mol<sup>-1</sup>) foram obtidos da Merck, o etanol da Synth, o metanol, os analitos 4-[(4-Isotiocianatofenil)azo]-N,N-dimetilanilina (ITDM – MM 282.37 g mol<sup>-1</sup>) 97%, *p*-nitrotiofenol (NTF – MM 155.17 g mol<sup>-1</sup>) 80%, 4-amino-4'-dimetilaminoazobenzeno (ADAB – MM 240,21 g mol<sup>-1</sup>) 97% e as cucurbiturilas são da Sigma Aldrich. Todas as sínteses e soluções foram preparadas com H<sub>2</sub>O deionizada.

### Instrumental

Os espectros SERS foram obtidos utilizando-se o equipamento Renishaw InVia Raman Microscope, nas radiações 633 nm (Laser de He – Ne, RL633 Renishaw Class 3B),equipado com uma lente de longa distância com amplificação de de 20x, potência na amostra de aproximadamente 50mW, rede de difração de 200linhas/mm e detector CCD.

Os espectros Raman com radiação excitante de 457 nm (Laser misto de Ar<sup>+</sup> e Kr<sup>+</sup>, *Coherente Innova*); 404 nm(laser estado sólido, *Toptica*) e 364 nm(Laser de Ar<sup>+</sup>, *Coherent Innova 90-6* ) foram obtidos no equipamento Horiba Jobin-Yvon (T64000 – triplo monocromador com detector CCD).

Os espectros de absorção eletrônica na região de 200 a 800 nm foram obtidos em um espectrofotômetro Shimadzu UVPC-3101 em cubeta de quartzo de 1.0cm de caminho ótico utilizando o modo de transmissão

### Métodos

As soluções dos analitos foram preparadas dissolvendo-se o sal do composto em acetona para o ITDM e ADAB e metanol para o NTF, todos para uma concentração final de  $1 \times 10^{-3}$  M. Os espectros Raman para caracterização dos analitos foram obtidos com essas soluções, em condição de ressonância.

Os experimentos SERS foram realizados diluindo-se 10  $\mu$ L da solução de analito a  $1 \times 10^{-3}$  M em 990  $\mu$ L de solução coloidal de Au descrita acima, resultando em uma concentração final de  $1 \times 10^{-5}$  M

Para os analitos ADAB e ITDM protonados adicionou-se, posteriormente, HCl concentrado até atingir pH=2, afim de alterar o mínimo possível o volume inicial.

### **Síntese complexos de inclusão**

Dissolveu-se 10mg de CB[n] 0,01mM + NaCl (59mg, 0,1mM) em 2mL de H<sub>2</sub>O deionizada sob aquecimento gentil. Posteriormente adicionou-se o analito na mesma concentração de CB e foi mantido sob agitação constante por 12h a 40°C.

### **Curva de calibração**

Para encontrar o pK<sub>a</sub> das espécies adsorvidas adicionou-se o KOH na solução previamente preparada de ITDM e posteriormente adicionou-se o ITDM desprotonado na solução de nanopartículas de Au, obteve-se o espectro e adicionou-se HCl lentamente até obter a faixa de pH seguinte, e assim por diante até o pH próximo a 2. Os espectros foram obtidos em todas as faixas de pH para obtenção da curva.

### **Reações**

Para a reação de inibição da protonação do grupo azo, os complexos de inclusão com os analitos neutros foram adicionados à solução de nanopartículas e obteve-se o espectro vibracional para garantir que os analitos inclusos estavam



neutros. Após confirmação acidificou-se a solução aos poucos e acompanhou-se o perfil espectral até atingir um pH abaixo do  $pK_a$  dos analitos adsorvidos. Esperou-se cerca de 20 minutos para o sistema entrar em equilíbrio e os experimentos foram realizados com essas soluções.

Para a fotoreação irradiou-se as amostras de p-nitrotiofenol (NTF) em solução coloidal e meio redutor por cerca de 2 horas e obteve-se o espectro de 10 em 10 minutos. Para inibição de tal reação, adicionou-se o complexo de inclusão NTFcCB à solução coloidal e repetiu-se o mesmo procedimento.

### **Computacional**

As geometrias do estado fundamental e os respectivos espectros Raman e SERS das espécies estudadas foram otimizadas por meio de cálculos utilizando o programa Gaussian 09. Os cálculos *ab initio* foram realizados pelo método DFT (density functional theory), utilizando o funcional híbrido B3LYP (*Becke's gradient-corrected Exchange correlation in conjunction with the Lee-Yang-Parr correlation functional with three parameters*)<sup>55</sup> com o conjunto de bases atômicas 6-311++g(d,p) para os átomos mais leves e LANL2DZ para os átomos de Au, usando para estes um pseudopotencial. Para as cucurbiturilas utilizou-se um conjunto menor de bases atômicas (6-21G) devido ao grande número de átomos na molécula.

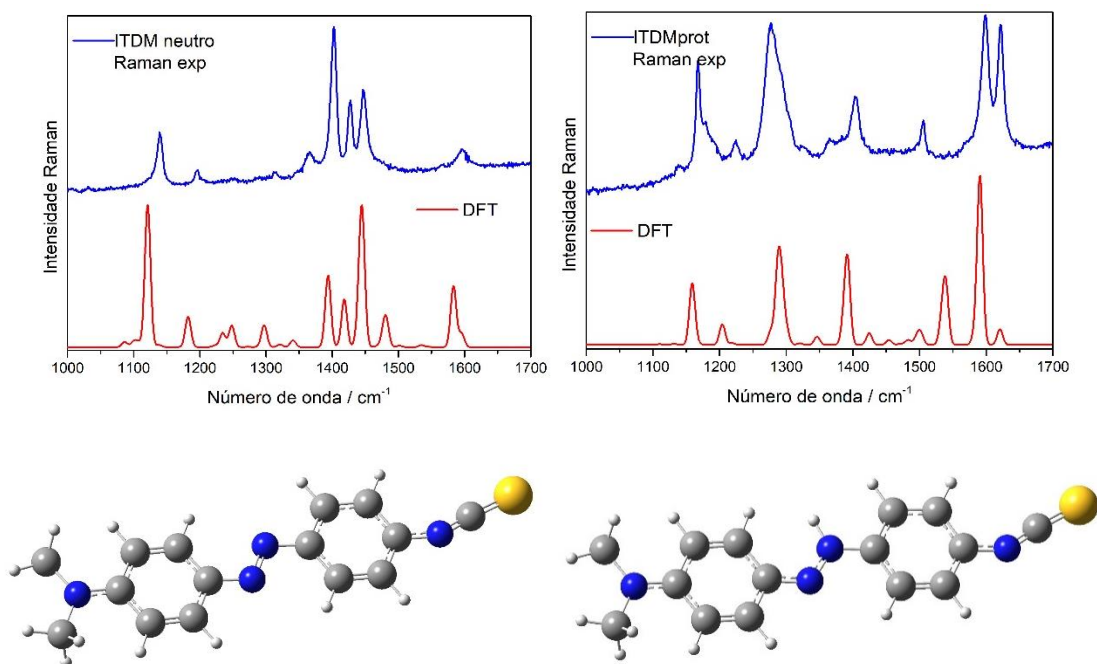
Os espectros Raman simulados foram plotados com auxílio do programa Maple 9 usando  $5 \text{ cm}^{-1}$  de largura de banda, e um fator de escala de 0,9679 para correção da anarmonicidade.

### **4.3 Resultados e discussão**

Para caracterização vibracional, começaremos com os analitos ITDM (4-[(4-isotiocianatofenil)azo]-N,N-dimetilanilina) e ADAB (4-amino-4'-dimetilaminoazobenzeno),

que foram selecionados por serem azo-compostos que contém sítio de protonação no grupo azo. Dessa forma, é essencial caracterizá-los em meio neutro e em meio ácido para entendermos quais mudanças vibracionais ocorrem com a protonação.

Para isso a Figura 27 mostra os espectros Raman do ITDM neutro e protonado.



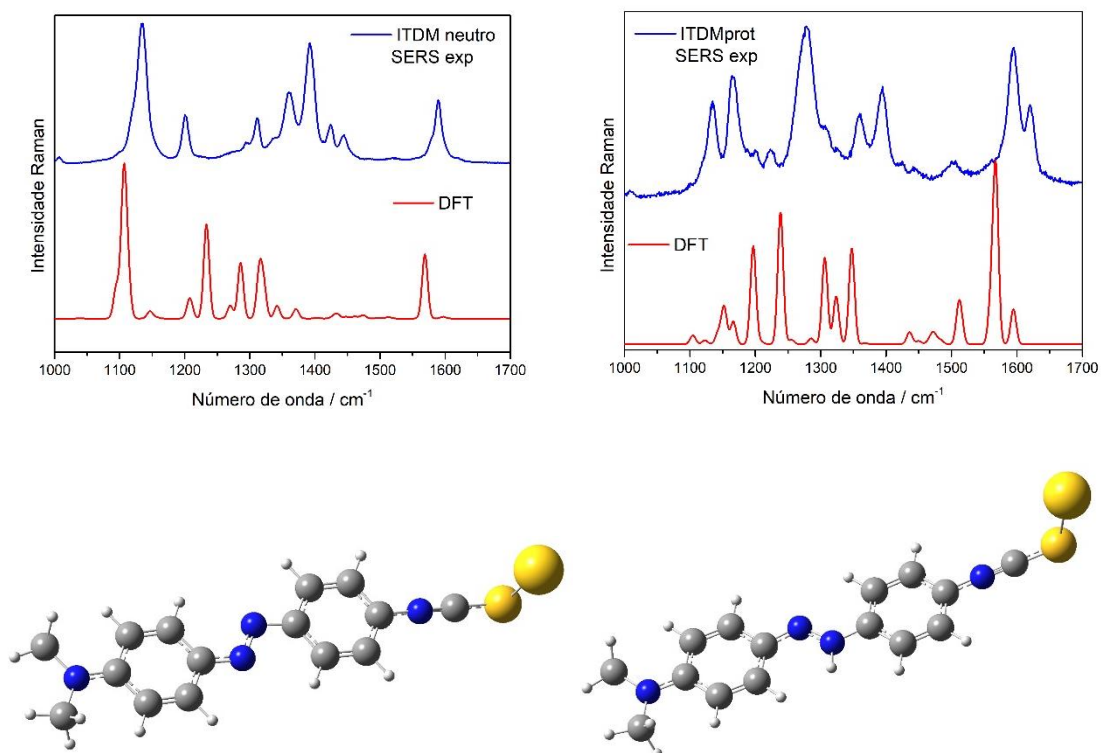
**Figura 27**-Espectros Raman experimental (azul) e teórico (vermelho) para o ITDM neutro (457nm) e protonado (532nm), respectivamente.

O espectro Raman da espécie neutra apresenta três modos intensos entre 1400 e 1500  $\text{cm}^{-1}$  que são atribuídos a modos do anel aromático ligado ao grupo isotiocianato, estiramento C-H do grupo dimetilamino e estiramento N=N do azo. Com intensidade menor em 1100 e 1600  $\text{cm}^{-1}$  vemos modos do anel ligado ao grupo isotiocianato. A acidificação do meio também causa uma grande alteração no espectro vibracional do ITDM.

Para a espécie protonada do ITDM observa-se o aparecimento de uma banda bastante intensa e larga em 1300  $\text{cm}^{-1}$  referente ao modo de estiramento N=N do grupo azo protonado N=N-H, a banda em 1160  $\text{cm}^{-1}$  possui a mesma atribuição que

na espécie neutra (anel ligado ao tiocianato), porém com número de onda *ca.* 20  $\text{cm}^{-1}$  maior, esse desvio ocorre devido à quebra de conjugação entre os dois anéis aromáticos com a protonação, uma vez que eles estão ligados pelo grupo azo. Além disso, é possível observar duas bandas bastante intensas na região de 1600 e 1650  $\text{cm}^{-1}$  que não são vistas na espécie neutra, atribuídas a modos do C-H do anel ligado ao tiocianato e deformação N-H do grupo azo protonado, respectivamente.

Os espectros teóricos mostram grande concordância com os experimentais e foram usados como suporte para atribuição dos modos vibracionais. Seguindo para os espectros SERS do ITDM neutro e protonado, iremos analisar a influência da nanoestrutura metálica nanométrica no perfil vibracional da molécula.



**Figura 28**-Espectros SERS experimental (azul) e teórico (vermelho) para o ITDM neutro e protonado, respectivamente. Obtidos em colóide de Au e radiação 633 nm

Para a espécie neutra serão considerados os modos em 1110, 1400 e 1590  $\text{cm}^{-1}$  atribuídos a modos dos dois anéis aromáticos, estiramento N=N do grupo azo e

C-H do anel ligado ao isotiocianato, respectivamente. Para a espécie protonada as bandas monitoradas serão em  $1160\text{ cm}^{-1}$ , que possui atribuição semelhante ao mesmo modo da espécie neutra, porém ele é desdobrado em duas bandas devido à distinção entre os anéis aromáticos com a protonação do grupo azo. A mais forte evidência de protonação é a banda bastante intensa em  $1275\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao bending N-H do grupo azo protonado(N=N-H), e por fim temos a contribuição do estiramento N-H em  $ca.1620\text{ cm}^{-1}$ .

Com as grandes intensificações dos modos envolvendo o grupo isotiocianato, as comparações entre os espectros Raman e SERS indicam que analito interage com a nanoestrutura metálica nanométrica de Au pelo átomo de S do grupo isotiocianato, como já era esperado.

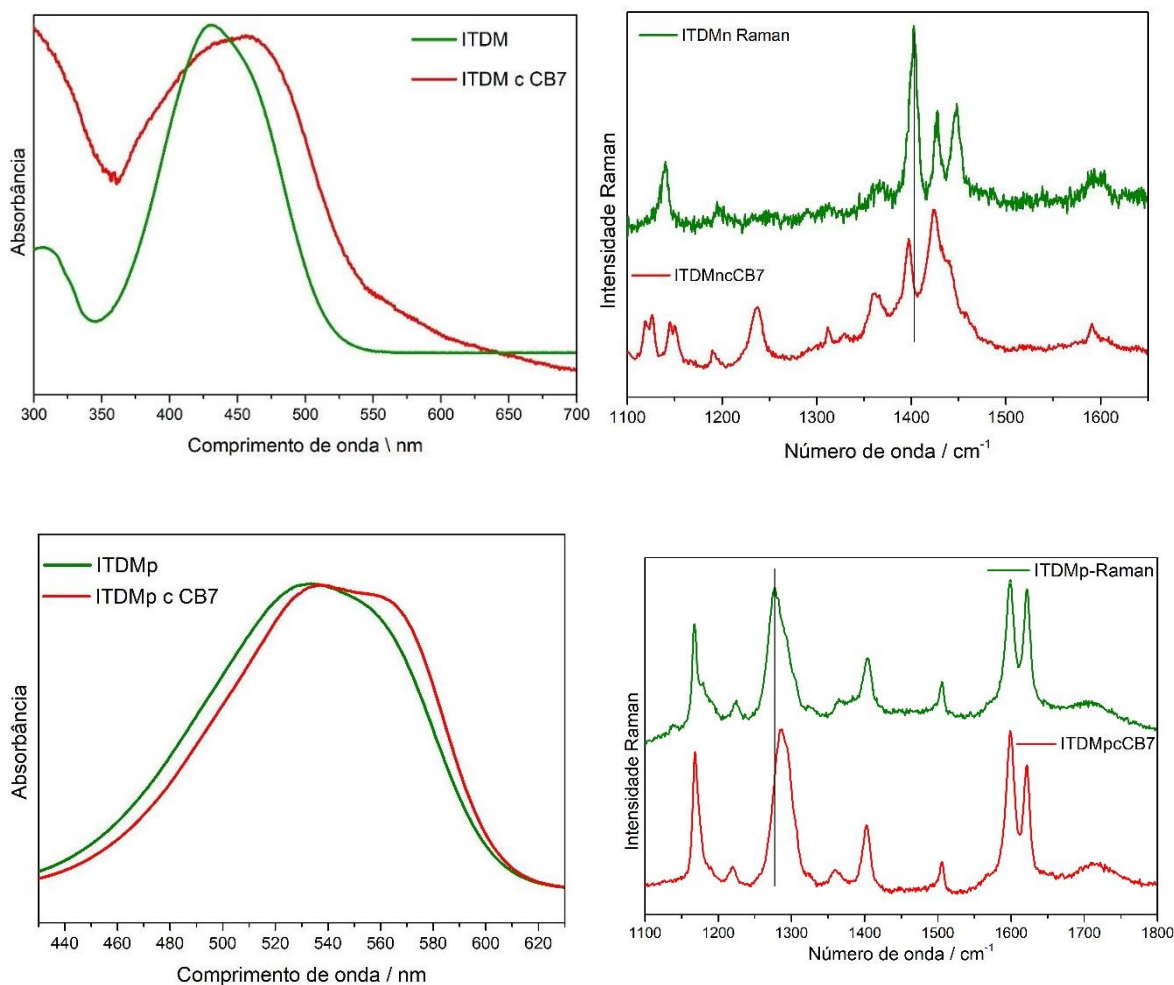
Os espectros teóricos do ITDM acompanham a análise experimental de intensificação das bandas associadas ao grupo que adsorve diretamente na nanoestrutura metálica nanométrica e também os deslocamentos de frequências para menor energia do modo de bending do N-H no grupo azo protonado.

Para tentar criar um nanoambiente controlável iremos incluir o analito de interesse nas cucurbiturilas e depois adicioná-las às NPAu para promover a agregação com os analitos localizados nos *hot-spots*, a fim de observá-los com menor influência do meio, uma vez que estão incluídos na CB, visualizar e controlar reações que acontecem com esses analitos.

A inclusão de moléculas em cucurbiturilas tem sido bastante reportada na literatura<sup>67</sup> e pode ser confirmada por diferentes técnicas. Como as energias eletrônicas e vibracionais também são alteradas com a inclusão, a investigação foi feita pelas análises comparativas dos espectros de absorção eletrônica e vibracionais

dos analitos livres e após síntese do complexo de inclusão, especificada na parte experimental deste capítulo.

A Figura 29 mostra os espectros eletrônico e vibracional para o analito ITDM neutro e protonado, antes e após inclusão em CB7. Para ambas as espécies observa-se a diminuição da energia de absorção eletrônica com a inclusão nas cucurbiturilas, porém com valor muito próximo em relação a molécula livre, o que sugere a formação do complexo de inclusão. Os espectros vibracionais por sua vez apresentam deslocamentos mais acentuados e mudança nas intensidades relativas de algumas bandas, o que pode ser investigado de acordo com a atribuição dos modos vibracionais alterados.

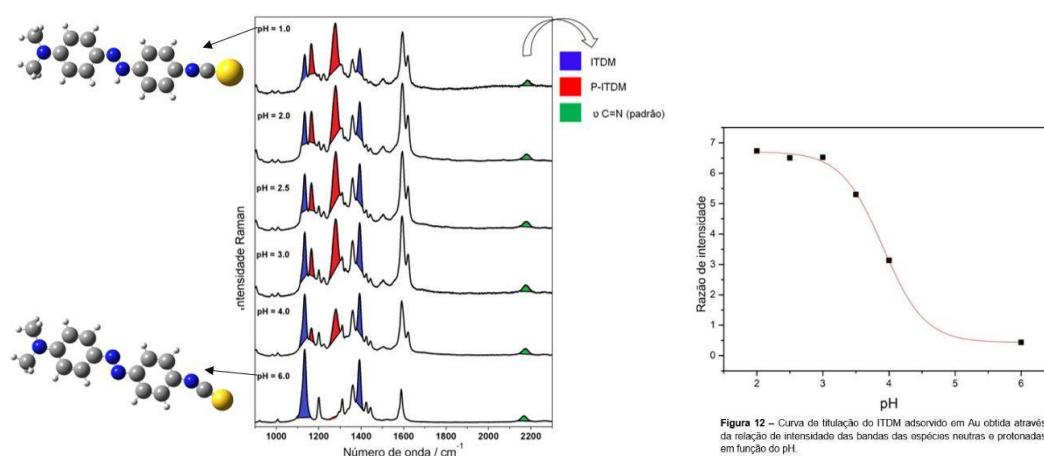


**Figura 29**-Espectros de absorção eletrônica e espectros Raman do ITDM neutro e protonado, livre e em forma de complexo de inclusão na CB7.

Com a formação do complexo de inclusão na espécie neutra (ITDM) são observadas mudanças significativas no espectro. Há um deslocamento para menor número de onda para os modos dos anéis aromáticos, e uma mudança de intensidade relativa, o que sugere que houve a inclusão. Para a espécie protonada há deslocamento para menor energia também dos modos atribuídos aos anéis (em 1150 e 1600 cm<sup>-1</sup>), porém observa-se um aumento do número de onda da banda atribuída ao  $\nu(\text{N}=\text{N})$  do grupo azo protonado, em 1300 cm<sup>-1</sup>, provavelmente devido ao ambiente dentro da cucurbiturila ser menos polar em comparação à solução.

Para investigar o efeito da inclusão no equilíbrio de protonação é importante determinar o  $\text{pK}_a$  das moléculas investigadas. Mudanças no meio podem causar

variações no valor de  $pK_a$ , como mudança do solvente, adição de outra espécie no meio, e até mesmo a interação com as nanopartículas. Como as análises serão feitas em solução coloidal, foi investigada a influência de superfícies metálicas no  $pK_a$  do ITDM. A Figura 30 mostra os espectros SERS do ITDM em função do pH, e a curva de titulação obtida para o analito adsorvido em Au.



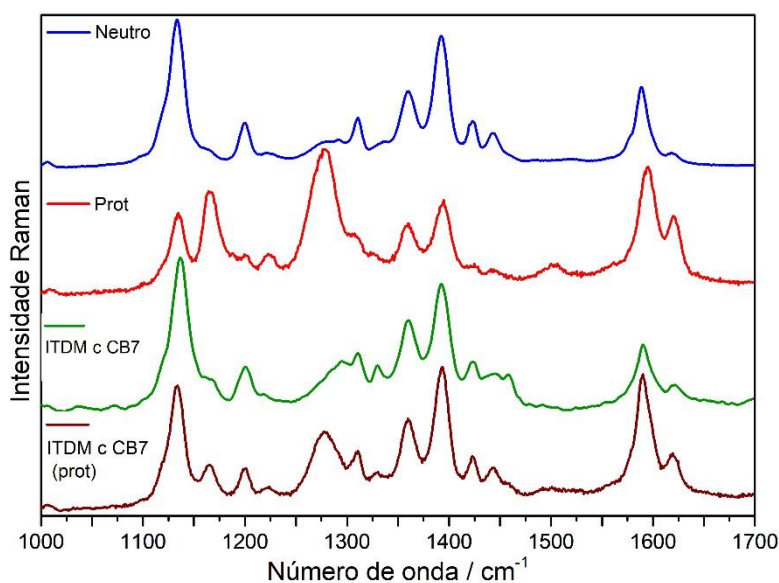
**Figura 30**-Espectros SERS em Au do ITDM em diferentes pHs e respectiva curva de titulação obtida pela relação entre as bandas das espécies neutra(azul) e protonada(vermelho).  $[ITDM]=1 \times 10^{-5} M$  e  $\lambda_0 = 633 nm$

A curva de titulação foi obtida em função do pH, onde o eixo y é representado pela razão entre as intensidades das bandas da espécie protonada e neutra em 1275 e 1400  $cm^{-1}$ , respectivamente, utilizando a banda do estiramento C=N como padrão para intensidade, uma vez que esse modo não é alterado com a variação de pH.

O  $pK_a$  do ITDM determinado em solução foi  $\sim 3$  e, portanto, observa-se um aumento do  $pK_a$  para  $\sim 4$ , devido a interação com a nanoestrutura metálica nanométrica, ou seja, a basicidade do grupo azo aumenta com a adsorção.

Em meio ácido (pH 2) as bandas mais intensas são referentes a espécie protonada. A banda em  $1275\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao modo N=N-H do grupo azo, é apresentada em vermelho na Figura 30. A medida em que é adicionado KOH a molécula é desprotonada até pHs mais altos onde a espécie predominante é a neutra, caracterizada pela intensidade da banda em  $1400\text{ cm}^{-1}$  atribuída à vibração do grupo N=N e representada em azul na Figura 30.

Com a molécula neutra incluída, o meio foi acidificado até pH próximo a 2 e posteriormente o espectro SERS foi obtido. A Figura 31 mostra a comparação entre os espectros SERS das espécies neutra e protonada, após a inclusão em CB[7] e após acidificação do meio com o analito já incluído na forma neutra, respectivamente.



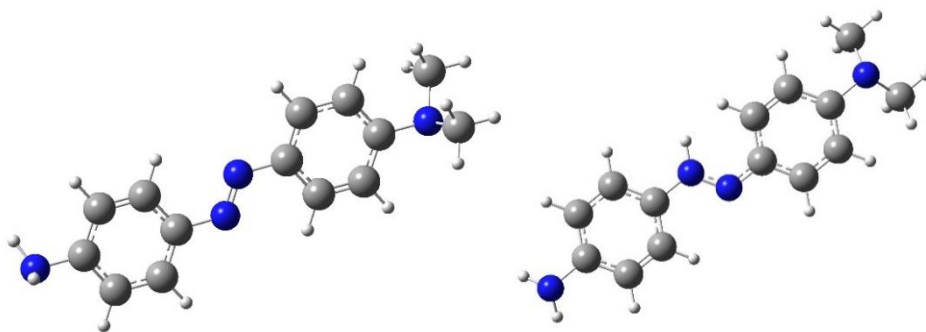
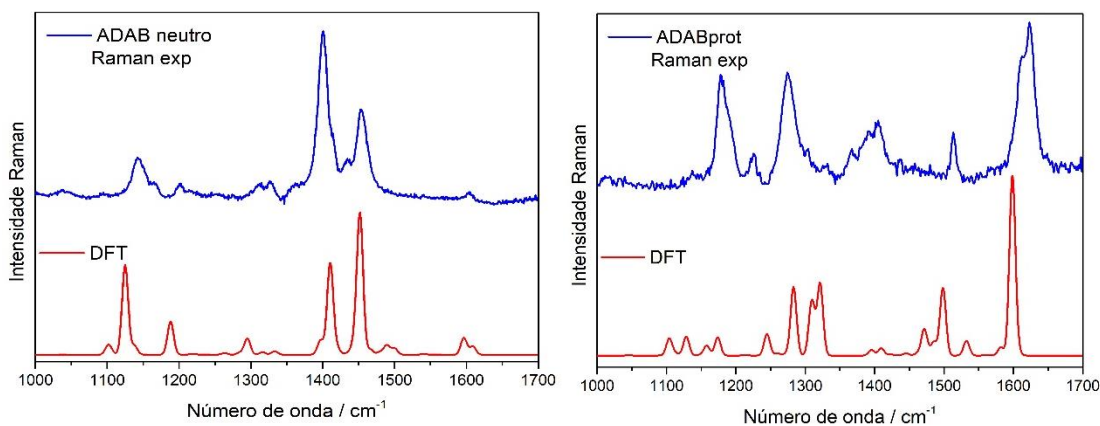
**Figura 31**-Espectros SERS em Au do ITDM neutro (azul), protonado(vermelho), da síntese do complexo de inclusão em CB7 (verde) e após acidificação do meio com o ITDM já incluído (marrom).  $[\text{ITDM}] = 1 \times 10^{-5}\text{ M}$  e  $\lambda_0 = 633\text{ nm}$ .

O espectro SERS do ITDM incluído na CB7, em verde, mostra um padrão predominantemente básico onde se observa a banda referente ao grupo azo N=N ( $1400\text{ cm}^{-1}$ ) bastante intensa, o que leva a acreditar que as moléculas incluídas estão



em sua forma desprotonada. Após essa análise a mesma amostra foi acidificada e, com o pH do meio algumas ordens inferiores ao  $pK_a$ , o esperado era que a banda referente ao grupo azo protonado ( $1275\text{ cm}^{-1}$ ) fosse a mais intensa, porém o perfil predominante continua sendo o das moléculas desprotonadas, sugerindo que aquelas incluídas não foram protonadas principalmente por fatores estéricos, uma vez que estão "protegidas" pela molécula hospedeira. Ainda assim é possível observar modos vibracionais do grupo  $N=N-H$ , o que foi atribuído às moléculas não incluídas que estavam na região de *hot-spot* e contribuíram para o sinal SERS observado.

O mesmo estudo sistemático de caracterização vibracional foi realizado para o analito ADAB, por apresentarem grupos semelhantes na parte interna da molécula, os analitos ITDM e ADAB apresentam algumas semelhanças nos perfis espectrais, como mostra os espectros Raman do ADAB neutro e protonado na Figura 32.

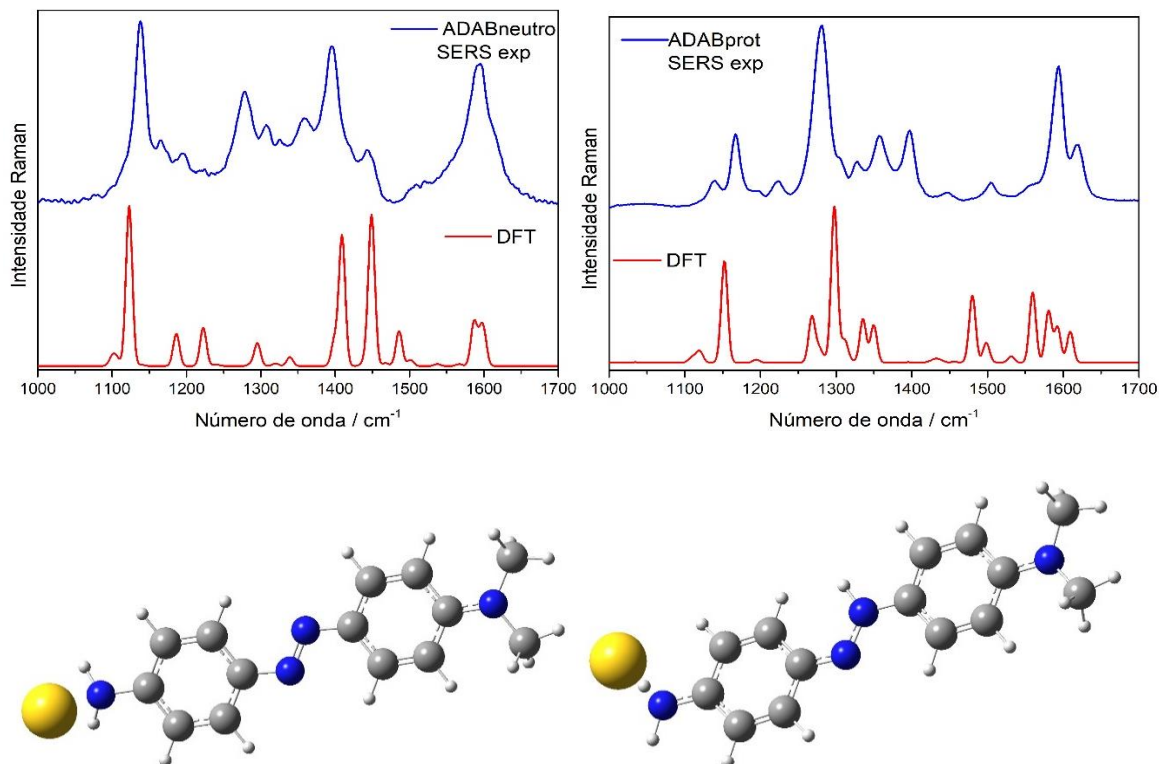


**Figura 32**-Espectros Raman experimental (azul) e teórico (vermelho) para o ADAB neutro (457nm) e protonado (532nm), respectivamente

Para o ADAB neutro as bandas mais intensas podem ser atribuídas ao estiramento do grupo azo (N=N) e estiramento C-H do grupo dimetilamino (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) localizado na extremidade da molécula, em 1400 e 1475 cm<sup>-1</sup>, respectivamente. Também vemos modos dos anéis aromáticos que conectam os grupos amino e dimetilamino, em ca. 1100 cm<sup>-1</sup>, porém com intensidade bem menor.

No espectro Raman do ADAB protonado, em pH entre 2~3, o perfil vibracional é alterado significativamente, portanto a análise vibracional permite monitorar o equilíbrio de protonação do grupo azo com as mudanças de pH. Para o ADAB protonado os modos vibracionais mais intensos são em 1150, 1300, 1600 e 1630 cm<sup>-1</sup> e são atribuídos ao bending do C-H dos anéis aromáticos, estiramento N=N do grupo azo protonado, modo do anel ligado ao dimetilamino e bending H-N-H do grupo amino, respectivamente.

Como todos os experimentos SERS serão feitos em coloide de Au, foram obtidos os espectros SERS do ADAB, Figura 33, em nanoesferas de Au a fim de caracterizar como a interação com a nanoestrutura metálica nanométrica altera o perfil vibracional da molécula, tanto em sua forma neutra como protonada.



**Figura 33-** Espectros SERS experimental (azul) e teórico (vermelho) para o ADAB neutro e protonado, respectivamente. Obtidos em colóide de Au e radiação 633 nm

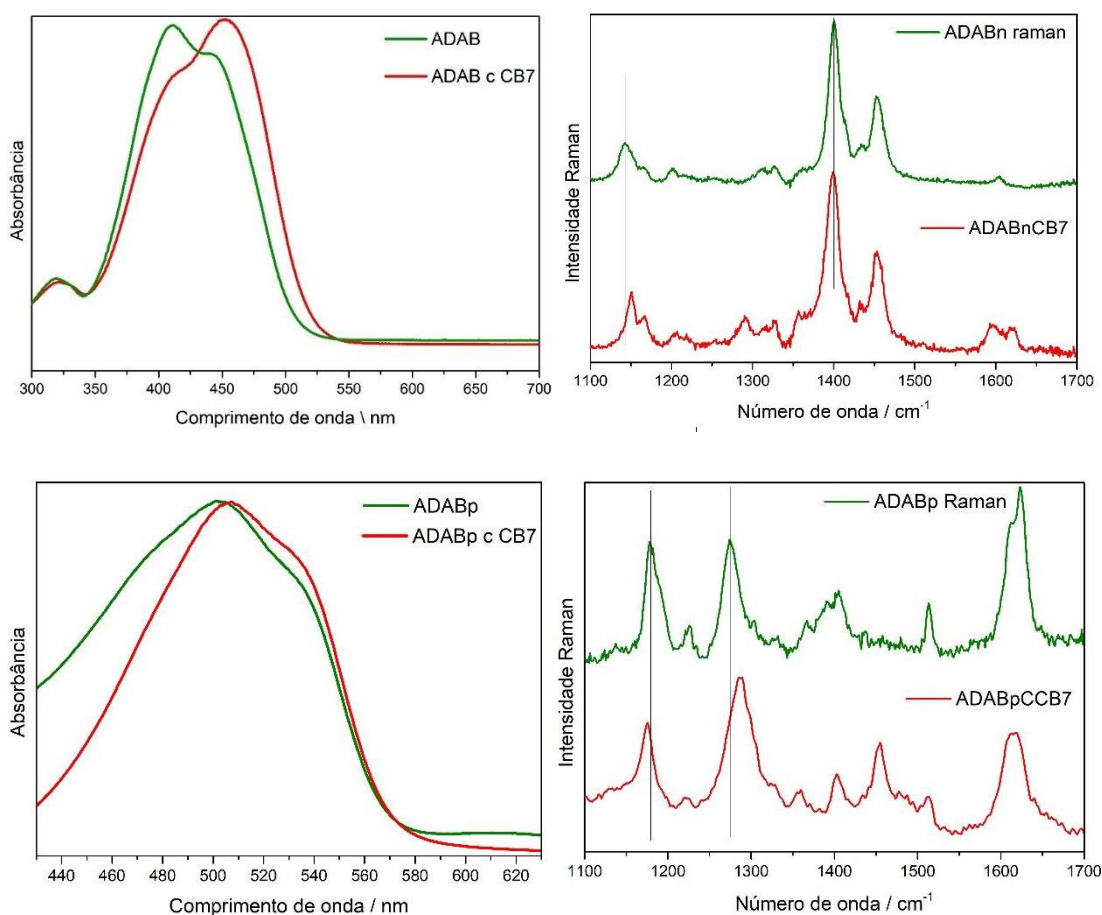
As diferenças entre os espectros Raman e SERS indicam que os analitos interagem com as nanopartículas metálicas, alterando seu perfil vibracional. O espectro SERS do ADAB neutro apresenta contribuições vibracionais do anel aromático ligado ao grupo amina, estiramento N=N (azo) e C=C do anel aromático em 1100, 1400 e 1600  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Percebe-se que para os modos de vibração do anel ligado ao grupo amina e modo de estiramento N=N do grupo azo há uma diminuição do número de onda do modo vibracional com a adsorção nas NPs.

Já para a forma protonada o desvio de frequência dos modos vibracionais com a adsorção em Au é muito pequeno, porém as intensidades relativas variam bastante, como podemos ver para os modos em 1150 e 1610  $\text{cm}^{-1}$  cuja atribuição é C-H dos grupos metila ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ) e estiramento C=C do anel ligado ao grupo dimetilamino, porém as intensidades dos modos 1275 e 1590  $\text{cm}^{-1}$  aumentam consideravelmente

em relação às bandas em 1180 e 1640 $\text{cm}^{-1}$ . Vale ressaltar que a razão sinal/ruído nos experimentos SERS é muito maior quando comparados aos espectros Raman mesmo com os espectros SERS obtidos com a concentração do analito na ordem de  $10^{-5}$  M.

Novamente serão investigadas as evidências de inclusão para então juntar o analitos investigado com o sistema proposto de NPAu agregadas com CB[n].

A mesma análise comparativa será feita para o ADAB neutro e protonado, sem CB e após síntese do complexo de inclusão, apresentados na Figura 34.

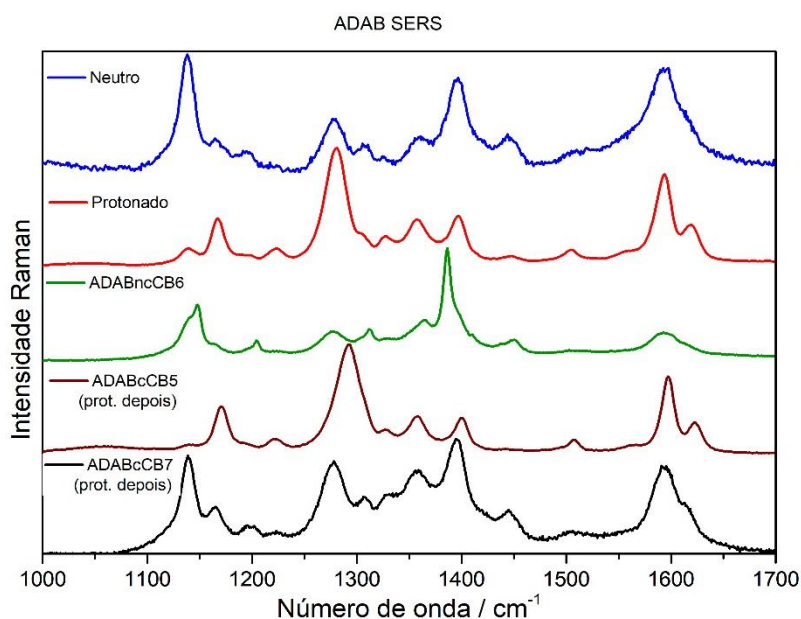


**Figura 34**-Espectros de absorção eletrônica e espectros Raman do ADAB neutro e protonado, livre e em forma de complexo de inclusão na CB7.

O ADAB apresenta uma tendência bastante semelhante ao ITDM onde as energias de absorção eletrônica diminuem quando o analito está na forma de complexo e o espectro vibracional para a espécie neutra apresenta deslocamento

para menor número de onda dos modos dos anéis aromáticos, enquanto na espécie protonada observa-se diminuição de energia para os mesmos modos (1160 e 1600  $\text{cm}^{-1}$ ) e aumento de número de onda do modo atribuído ao  $\nu(\text{N}=\text{N})$  do grupo azo protonado (1290 $\text{cm}^{-1}$ ).

Para o analito ADAB, semelhante ao ITDM mas difere pela substituição do grupo isotiocianato por uma amina, a mesma estratégia foi utilizada pois também se trata de uma reação de protonação. Os espectros SERS do ADAB neutro e protonado estão assim como do analito incluído (ADABcCB7) e após acidificação do meio, em que o mesmo experimento realizado para o ITDM foi repetido para o ADAB, os resultados estão mostrados na Figura 35.



**Figura 35**-Espectros SERS em Au do ADAB neutro (azul), protonado (vermelho), da síntese do complexo de inclusão (verde) e após acidificação do meio com o ADAB já incluído em CB6 (marrom) e após acidificação do meio com o ADAB já incluído em CB7 (preto).  $[\text{ADAB}] = 1 \times 10^{-5} \text{M}$ .

Os grupos mais importantes para essa análise estão localizados em 1400 e 1275  $\text{cm}^{-1}$  referentes às espécies neutra e protonada, respectivamente, como pode ser observado nos espectros SERS em pH 8 (azul) e 2 (vermelho). Considerando o

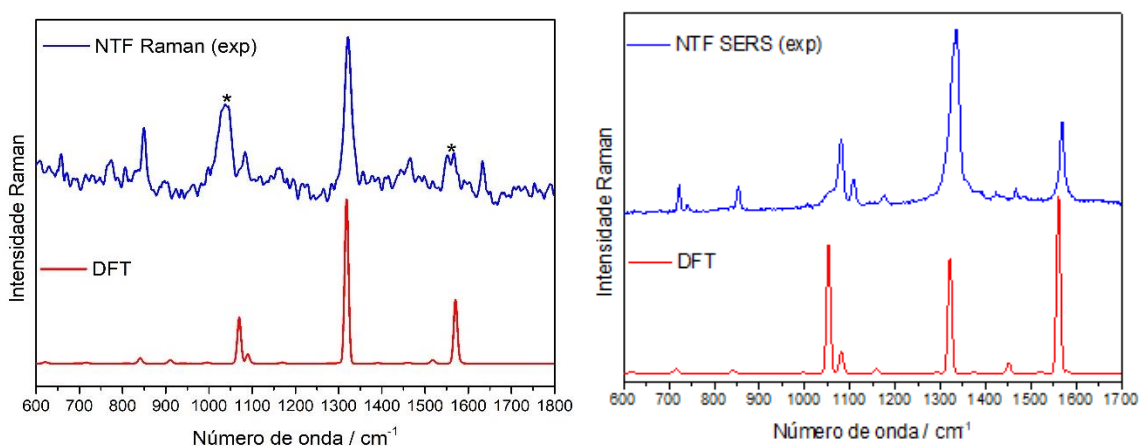
valor de  $pK_a \sim 3$ , o ADAB foi incluído em sua forma neutra na CB5 e CB7 (verde) onde observa-se a banda de maior intensidade em  $1400 \text{ cm}^{-1}$ , como esperado. A acidificação do meio foi feita posteriormente para pH próximo a 2 e os espectros obtidos com o CB5 indicam que a espécie predominante é a protonada, uma possível explicação é pelo tamanho da cavidade do aro de entrada das cucurbiturilas ser na ordem de 2,5 (Tabela 2) angstroms e o ADAB 4,5 angstroms, portanto a inclusão não ocorreu e a reação de protonação não teve nenhum impedimento.

Entretanto, na CB7 cujo tamanho do aro de entrada é de cerca de 5,4 (Tabela 2), observa-se a presença de espécies neutras mesmo em pHs muito abaixo do  $pK_a$  da molécula. Considerando que a única variável alterada foi a substituição do CB5 para o CB7, o resultado indica uma inibição da reação de protonação, atribuída à inclusão do analito. Ainda é possível observar o perfil vibracional da espécie protonada mesmo com a inclusão na CB7, um padrão misto de ambas as espécies é observado, indicando que a inibição não foi total provavelmente devido as moléculas de ADAB não incluídas e localizadas nos *hot-spots*, portanto a inclusão deve ser otimizada para total controle da reação.

O último analito a ser investigado é o NTF (*p*-nitrotiofenol), escolhido por sofrer uma fotoreação bastante conhecida na literatura<sup>56</sup>, onde a redução do grupo nitro para um grupo amino forma a molécula PATP (*p*-aminotiofenol), seguido de uma reação de dimerização entre duas moléculas de PATP, cujo produto final é o DMAB (4,4'-dimercaptoazobenzeno). Essa reação pode ser acompanhada com o tempo em condições específicas, como o tempo de acumulação, a potência do laser, o comprimento de onda da radiação incidente, o estado físico da amostra, temperatura, pressão, concentração do analito, natureza do coloide, estrutura das nanopartículas metálicas, entre diversos outros fatores. Ao longo dos anos foram

propostos diversos mecanismos de reação para otimizar a fotoredução de nitrocompostos através de catálise de superfície, dirigida pela presença dos plasmons de superfície<sup>56, 69</sup>.

Vale ressaltar que na análise vibracional a atribuição do grupo NO<sub>2</sub> é muito importante, uma vez que iremos acompanhar a fotoreação pela intensidade do modo de estiramento simétrico,  $\nu_s(\text{NO}_2)$ . A Figura 36 mostra os espectros vibracionais Raman, experimentais e teóricos.



**Figura 36**-Espectros vibracionais experimentais (azul) e teóricos (vermelho) Raman (364 nm) e SERS para o analito NTF, respectivamente. (\*) Bandas do solvente MeOH

O espectro Raman do NTF foi obtido em condições de pré-ressonância na região do UV (364nm) devido à grande interferência das bandas do solvente. Apesar disso podemos ver as bandas do NTF que aparecem também nos espectros teóricos, em 1050, 1300 e 1560  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas ao estiramento C-S, estiramento simétrico do grupo NO<sub>2</sub> e modo 8a do anel, segundo Varsaniy<sup>57</sup>, respectivamente.

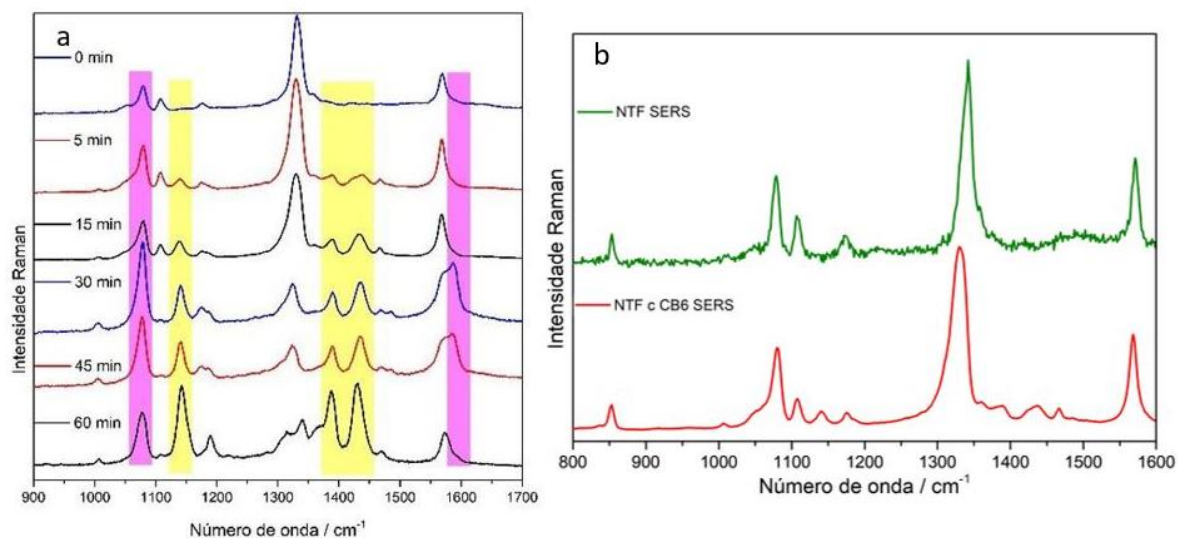
Nota-se que o espectro vibracional SERS apresenta intensidade bem superior em comparação ao Raman devido à forte interação do analito com a nanoestrutura metálica nanométrica, contribuindo para os mecanismos de intensificação SERS. A concordância com os espectros teóricos é grande possibilitando atribuir as bandas

com o auxílio dos resultados teóricos. Tanto nos espectros teóricos como no experimental, observa-se que com a adsorção há uma diminuição na intensidade relativa do modo de estiramento simétrico do grupo nitro, em comparação aos modos de estiramento do C-S e modo do anel.

O NTF possui absorção na região do ultravioleta e por limitações instrumentais não foi possível obter o espectro de absorção eletrônica com e sem CB, o Raman é bastante ruidoso e apresenta bandas do solvente intensas mesmo em condições de pré-ressonância, portanto a inclusão será analisada pelo espectro SERS do NTF antes e após o complexo de inclusão em CB6, mostrado na Figura 37(b).

Apesar do grande número de variáveis nesse tipo de fotoreação, com o grande número de estudos envolvendo esse sistema (NTF → PATP → DMAB) é possível otimizar as condições para se obter o ambiente ideal em que a reação ocorra. Geralmente os estudos focam em modificar o substrato como grande diferencial na otimização da fotoredução, porém algumas estratégias consistem em fornecer energia por meio da exposição a radiações na região do UV por cerca de algumas horas e presença de meio redutor<sup>68a</sup>. Para demonstrar a reação, o NTF adsorvido em Au (adsorção confirmada pela ausência do estiramento S-H em 2400 resultado da interação S-Au) e foi exposto a luz UV por 2h em solução aquosa com borohidreto de sódio e o espectro SERS foi obtido nos tempos apresentados na Figura 37(a), abaixo.





**Figura 37-** (a) Espectros SERS em Au e meio redutor do NTF em função do tempo de exposição à radiação UV.  $[NTF]=1 \times 10^{-5} M$  e  $\lambda_0 = 633 nm$ . (b) Espectro SERS do NTF antes e após a síntese do complexo de inclusão em CB6.

Em (b) observa-se o deslocamento e também o alargamento das bandas do NTF com a inclusão, devido a mudança de ambiente químico e interação com a cucurbiturila, com a formação do complexo.

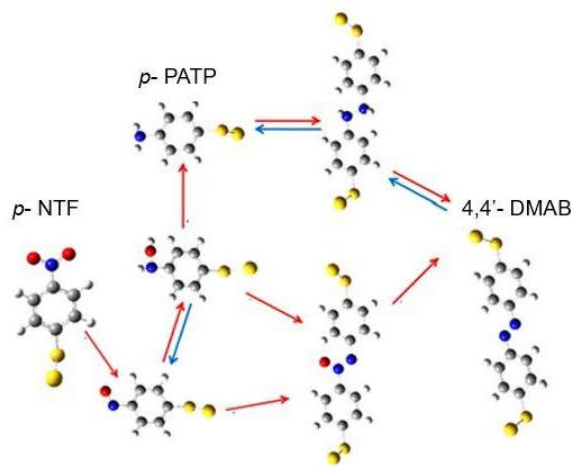
Em (a), com o aumento do tempo de exposição da amostra à luz UV, três fenômenos correlacionados podem ser observados, o aparecimento e consecutivo aumento de intensidade nas bandas das faixas vermelha e amarela, paralelo a isso vemos a diminuição da banda referente ao estiramento simétrico do  $NO_2$ , sugerindo que a foto reação está relacionada com o grupo  $NO_2$ .

Quando a energia de excitação é igual a diferença de energia entre o nível de Fermi do metal e o orbital LUMO da molécula, essa radiação é capaz de excitar os elétrons da banda de Fermi do metal para o orbital LUMO do analito, fazendo com que a ordem de ligação diminua, essa transição eletrônica está associada a transferência de carga que ocorre para o grupo nitro, uma vez que ele é o aceptor de elétrons e o S está quimissorvido na superfície. Com a ligação mais fraca e a contínua exposição a altas energias, observa-se a redução do grupo nitro para amino

(4-aminotiofenol - PATP), caracterizado pelo surgimento das bandas na faixa vermelha. Após a formação do PATP vemos aumento de intensidade nas bandas localizadas na faixa amarela, que são atribuídas ao dímero 4,4'-dimercaptoazobenzeno (DMAB) proveniente de moléculas PATP, reação que também é fotoinduzida, uma vez que as bandas aumentam com o aumento da exposição.

Fontes apontam<sup>70</sup> que a fonte primária de H para tal redução seja proveniente do solvente, no caso dos experimentos aqui apresentados, a água, em caso de solventes apróticos ou ambiente controlado como vácuo, uma possível fonte de hidrogênio para conversão do grupo nitro em amino seriam os átomos de H do anel, porém a eficiência da reação é bem menor nessas condições. Os elétrons da banda de condução dos metais oscilam em fase quando excitados por uma radiação, o que dá origem ao plasmon, porém quando alguns elétrons saem de fase, são considerados os elétrons energéticos e esses são os responsáveis por conduzir tal reação, ou seja, tanto os prótons como os elétrons são essenciais para tal reação, que se mostra bastante complexa.

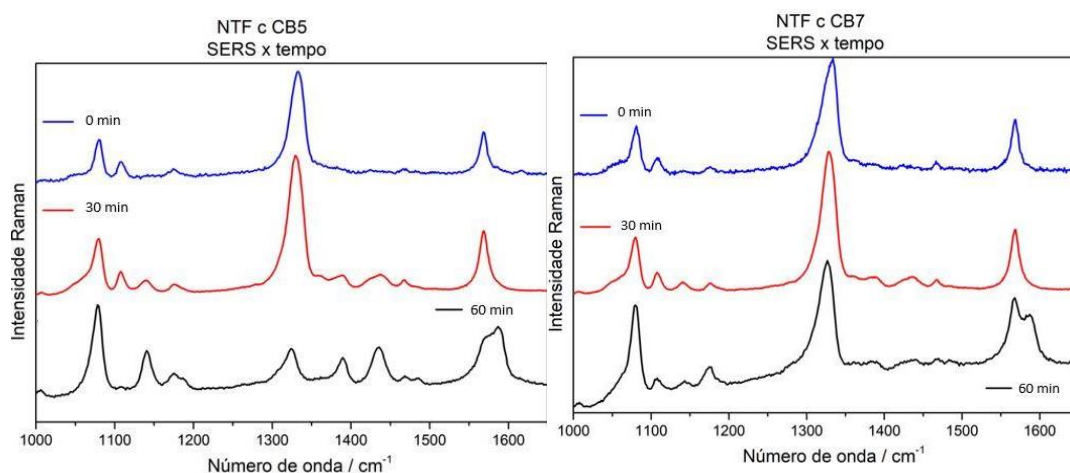
Uma representação esquemática da reação de redução do NTF para PATP seguida da dimerização de duas moléculas de PATP é mostrada na Figura 38.



**Figura 38**-Representação esquemática da reação de redução do NTF para PATP seguida da dimerização de duas moléculas de PATP, formando o DMAB.

Como o método aplicado se mostrou eficiente para tal conversão, foi investigado o efeito de se incluir a molécula de NTF nas cucurbiturilas em tal reação.

Os resultados estão apresentados na Figura 39.



**Figura 39**-Espectros SERS em Au do NTF (azul), da síntese do complexo de inclusão (vermelho) e após submeter o sistema completo às condições favoráveis para a fotoreação ocorrer (preto), em CB5 e CB7, respectivamente.

O experimento com CB5 mostra que há aumento das bandas do PATP, resultante da fotoredução e também há bandas do DMAB, resultante da dimerização. A conversão do NTF acontece após longa exposição a luz UV provavelmente pelo tamanho do aro de entrada da CB5 ser muito pequeno a inclusão do NTF não ocorre, porém, a eficiência da reação se mostra bastante inferior, já que não é possível

observar as bandas do dímero com alta intensidade e ainda existem moléculas não reduzidas de NTF, comprovado pelo estiramento simétrico do NO<sub>2</sub>, em 1300 cm<sup>-1</sup>. Quando a molécula está incluída no CB7 a alta intensidade das bandas em 1080 e 1600 cm<sup>-1</sup> indicam a formação do PATP. Entretanto, a banda referente ao estiramento simétrico do grupo NO<sub>2</sub> (1300 cm<sup>-1</sup>) indica que o grupo nitro não está fotoreduzindo completamente. Neste caso, o resultado interessante é que mesmo após longos períodos as bandas referentes ao dímero não aparecem (1110 e 1460 cm<sup>-1</sup>), o que sugere que reação de dimerização foi inibida, mesmo com a formação de PATP. Tal resultado pode ser atribuído à inclusão de apenas uma molécula na cavidade da cucurbiturila, impedindo a dimerização.

#### **4.4 Conclusões parciais**

As caracterizações vibracionais dos analitos apresentam características dos grupos a serem monitorados durante as reações, em diferentes regiões dos espectros, o que permite mapear os grupos protonados (no caso do ADAB e ITDM) e do NO<sub>2</sub> para o NTF, facilitando a investigação do andamento da reação

No caso dos equilíbrios ácido-base do ITDM e ADAB a formação de complexos de inclusão inibiu a protonação, o que pode ser observado pela relação de intensidade entre as bandas Raman das espécies neutra e protonada em função do pH. Isso pode ser explicado devido ao fato do interior da cavidade das CBs ser hidrofóbico.

A fotoreação de redução do NTF indica que é possível controlar e otimizar reações modulando o uso das cucurbiturilas de acordo com o tamanho do aro de entrada. Por ser uma reação bastante complexa que depende de diversas variáveis

não é possível atribuir os resultados apenas à formação do complexo de inclusão, mas pode-se afirmar que o ambiente é alterado e, portanto, tal investigação precisa ser realizada de forma mais sistemática.

## Capítulo 5

### Conclusões e perspectivas futuras

Os resultados obtidos no trabalho apresentado mostram a grande utilidade das cucurbiturilas, principalmente para utilização na espectroscopia SERS, uma vez que se mostraram bastante eficientes no controle de agregação, gerando substratos SERS estáveis, reproduzíveis e que não interferem no sinal observado dos analitos. Neste caso a comparação com um método convencional de agregação por adição de sais, utilizado para tal finalidade, mostra que o método proposto é bastante vantajoso.

Os analitos escolhidos para as reações de protonação mostraram-se interessantes pois foi possível monitorar minuciosamente o equilíbrio ácido-base devido à grande diferença nos perfis dos espectros vibracionais das espécies neutra e protonada. O tamanho adequado das moléculas, e o fato de o sítio de protonação ser o grupo azo, permitiu mostrar que no caso da inclusão do ITDM e do ADAB em CB7 a protonação foi inibida, o que não ocorreu para a CB5 cujo aro de entrada não permite a inclusão dos analitos em questão.

O analito escolhido para fotoredução (NTF) apresenta uma reação de redução do grupo  $\text{NO}_2$ , formando o PATP, seguida por uma dimerização de duas moléculas de PATP, quando submetido a condições específicas. A comparação dos experimentos realizados com a CB5 e a CB7 mostrou que na primeira houve a formação do PATP e do DMAB. Enquanto que no caso da CB7, apesar da formação do PATP, a reação de dimerização foi inibida, devido a inclusão de apenas uma molécula na cavidade, impedindo a aproximação entre duas moléculas de PATP.

Apesar de serem necessários mais estudos e experimentos, o uso das cucurbiturilas para investigação de espécies incluídas é eficiente e pode auxiliar em

pesquisas fundamentais da química de hóspede-hospedeiro. Ao incluir espécies moleculares reativas foi possível mostrar que a protonação e a dimerização foram inibidas, permitindo um certo controle sobre tais processos.

Como perspectivas futuras seria interessante explorar os diferentes tamanhos de cucurbiturilas para diferentes aplicações, além de investigar a fundo como a termodinâmica comanda os processos de inclusão para aprimorar tais aplicações. A melhor escolha dos analitos para investigação também se mostrou de extrema importância para promover um procedimento concreto na realização dos nanoreatores.

## Referências bibliográficas

1. Sala, O., *Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho*. Editora UNESP: 2008; Vol. 2 edição, p 276
2. Long, D. A., *The Raman Effect: A Unified Treatment of the Theory of Raman Scattering by Molecules*. John Wiley & Sons Inc: 2002; Vol. 1<sup>o</sup> edition, p 624 pages.
3. Ewen Smith, G. D., *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*. **2019**, 2 edition, 256.
4. Larkin, P., *Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation*. Elsevier Science: 2017; p 286.
5. Craig F. Bohren, D. R. H., *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. Wiley: 1998.
6. Jeanmaire, D. L.; Vanduyne, R. P., SURFACE RAMAN SPECTROELECTROCHEMISTRY .1. HETEROCYCLIC, AROMATIC, AND ALIPHATIC-AMINES ADSORBED ON ANODIZED SILVER ELECTRODE. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1977**, 84 (1), 1-20.
7. Albrecht, M. G. C., J. A., Anomalous intense Raman-spectra of pyridine at a silver electrode. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, 99(15), 5215-5217.
8. Fleischmann, M.; Hendra, P. J.; McQuillan, A. J., RAMAN-SPECTRA OF PYRIDINE ADSORBED AT A SILVER ELECTRODE. *Chemical Physics Letters* **1974**, 26 (2), 163-166.
9. Lombardi, J. R.; Birke, R. L., A Unified View of Surface-Enhanced Raman Scattering. *Accounts of Chemical Research* **2009**, 42 (6), 734-742.
10. Aroca, R., *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*. John Wiley & Sons, Ltd: 2006.
11. Moskovits, M., SURFACE-ENHANCED SPECTROSCOPY. *Reviews of Modern Physics* **1985**, 57 (3), 783-826.
12. (a) Schatz, G. C., THEORETICAL-STUDIES OF SURFACE ENHANCED RAMAN-SCATTERING. *Accounts of Chemical Research* **1984**, 17 (10), 370-376; (b) Eric Le Ru, P. E., *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*. Elsevier Science: 2008; Vol. 1 edition.
13. Le Ru, E. C.; Meyer, M.; Blackie, E.; Etchegoin, P. G., Advanced aspects of electromagnetic SERS enhancement factors at a hot spot. *Journal of Raman Spectroscopy* **2008**, 39 (9), 1127-1134.
14. Quinten, M., Local fields close to the surface of nanoparticles and aggregates of nanoparticles. *Applied Physics B* **2001**, 73 (3), 245-255.
15. Shiohara, A.; Wang, Y. S.; Liz-Marzan, L. M., Recent approaches toward creation of *hot-spots* for SERS detection. *Journal of Photochemistry and Photobiology C-Photochemistry Reviews* **2014**, 21, 2-25.
16. Toth, J.; Kardos-Fodor, A.; Halasz-Peterfi, S., The formation of fine particles by *salting-out* precipitation. *Chem. Eng. Process.* **2005**, 44 (2), 193-200.
17. Xu, H. X.; Aizpurua, J.; Kall, M.; Apell, P., Electromagnetic contributions to single-molecule sensitivity in surface-enhanced Raman scattering. *Physical Review E* **2000**, 62 (3), 4318-4324.
18. Farcau, C.; Astilean, S., Mapping the SERS Efficiency and *Hot-spots* Localization on Gold Film over Nanospheres Substrates. *Journal of Physical Chemistry C* **2010**, 114 (27), 11717-11722.
19. (a) Pedersen, C. J., CYCLIC POLYETHERS AND THEIR COMPLEXES WITH METAL SALTS. *Journal of the American Chemical Society* **1967**, 89 (26), 7017-&; (b) Pedersen, C. J., IONIC COMPLEXES OF MACROCYCLIC POLYETHERS. *Federation Proceedings* **1968**, 27 (6), 1305-&; (c) Pedersen, C. J., CRYSTALLINE SALT COMPLEXES OF MACROCYCLIC POLYETHERS. *Journal of the American Chemical Society* **1970**, 92 (2), 386-&; (d) Pedersen, C. J., NEW MACROCYCLIC POLYETHERS. *Journal of the American Chemical Society* **1970**, 92 (2), 391-&; (e) Pedersen, C. J.; Frensdorff, H. K., MACROCYCLIC POLYETHERS AND THEIR COMPLEXES. *Angewandte Chemie-International Edition* **1972**, 11 (1), 16-+; (f) Vögtle, F.; Weber, E., Consequences of the Pedersen papers? on crown type chemistry at Würzburg and Bonn Universities: From heteroaromatic crowns and podands to large molecular and crystalline cavities including multisite receptors, cascade molecules, chromoionophores, siderop. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* **1992**, 12 (1-4), 75-119.
20. (a) Cram, D. J.; Cram, J. M., HOST-GUEST CHEMISTRY. *Science* **1974**, 183 (4127), 803-809; (b) Cram, D. J.; Cram, J. M., DESIGN OF COMPLEXES BETWEEN SYNTHETIC HOSTS AND ORGANIC GUESTS.



- Accounts of Chemical Research* **1978**, *11* (1), 8-14; (c) Cram, D. J., CAVITANDS - ORGANIC HOSTS WITH ENFORCED CAVITIES. *Science* **1983**, *219* (4589), 1177-1183; (d) Cram, D. J., THE DESIGN OF MOLECULAR HOSTS, GUESTS, AND THEIR COMPLEXES (NOBEL LECTURE). *Angewandte Chemie-International Edition in English* **1988**, *27* (8), 1009-1020; (e) Cram, D. J.; Karbach, S.; Kim, H. E.; Knobler, C. B.; Maverick, E. F.; Ericson, J. L.; Helgeson, R. C., HOST GUEST COMPLEXATION .46. CAVITANDS AS OPEN MOLECULAR VESSELS FORM SOLVATES. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, *110* (7), 2229-2237.
21. Lehn, J. M., CRYPTATES - INCLUSION COMPLEXES OF MACROPOLYCYCLIC RECEPTOR MOLECULES. *Pure and Applied Chemistry* **1978**, *50* (9-10), 871-892.
22. Douglas, T.; Young, M., Host-guest encapsulation of materials by assembled virus protein cages. *Nature* **1998**, *393* (6681), 152-155.
23. Ma, X.; Zhao, Y. L., Biomedical Applications of Supramolecular Systems Based on Host-Guest Interactions. *Chemical Reviews* **2015**, *115* (15), 7794-7839.
24. Qu, D. H.; Wang, Q. C.; Zhang, Q. W.; Ma, X.; Tian, H., Photoresponsive Host-Guest Functional Systems. *Chemical Reviews* **2015**, *115* (15), 7543-7588.
25. Lehn, J. M.; Sauvage, J. P., 2 -CRYPTATES - STABILITY AND SELECTIVITY OF ALKALI AND ALKALINE-EARTH MACROBICYCLIC COMPLEXES. *Journal of the American Chemical Society* **1975**, *97* (23), 6700-6707.
26. (a) Lehn, J. M.; Sonveaux, E.; Willard, A. K., MOLECULAR RECOGNITION - ANION CRYPTATES OF A MACROBICYCLIC RECEPTOR MOLECULE FOR LINEAR TRIATOMIC SPECIES. *Journal of the American Chemical Society* **1978**, *100* (15), 4914-4916; (b) Newcomb, M.; Toner, J. L.; Helgeson, R. C.; Cram, D. J., HOST-GUEST COMPLEXATION .20. CHIRAL RECOGNITION IN TRANSPORT AS A MOLECULAR-BASIS FOR A CATALYTIC RESOLVING MACHINE. *Journal of the American Chemical Society* **1979**, *101* (17), 4941-4947.
27. (a) Armstrong, D. W.; Ward, T. J.; Armstrong, R. D.; Beesley, T. E., SEPARATION OF DRUG STEREOISOMERS BY THE FORMATION OF BETA-CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPLEXES. *Science* **1986**, *232* (4754), 1132-1135; (b) Eftink, M. R.; Andy, M. L.; Bystrom, K.; Perlmutter, H. D.; Kristol, D. S., CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPLEXES - STUDIES OF THE VARIATION IN THE SIZE OF ALICYCLIC GUESTS. *Journal of the American Chemical Society* **1989**, *111* (17), 6765-6772; (c) Harada, A.; Nishiyama, T.; Kawaguchi, Y.; Okada, M.; Kamachi, M., Preparation and characterization of inclusion complexes of aliphatic polyesters with cyclodextrins. *Macromolecules* **1997**, *30* (23), 7115-7118.
28. (a) Leyton, P.; Sanchez-Cortes, S.; Garcia-Ramos, J. V.; Domingo, C.; Campos-Vallette, M.; Saitz, C.; Clavijo, R. E., Selective molecular recognition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on calix 4 arene-functionalized Ag nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. *Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108* (45), 17484-17490; (b) Wei, A., Calixarene-encapsulated nanoparticles: self-assembly into functional nanomaterials. *Chemical Communications* **2006**, (15), 1581-1591.
29. Vögtle, F., Cyclophan-Chemie: Synthesen, Strukturen, Reaktionen. Einführung und Überblick. *Springer-Verlag* **2013**, *Edição Ilustrada*, 593
30. (a) Zhao, Y. J.; Xue, S. F.; Zhu, Q. J.; Tao, Z.; Zhang, J. X.; Wei, Z. B.; Long, L. S.; Hu, M. L.; Xiao, H. P.; Day, A. I., Synthesis of a symmetrical tetrasubstituted cucurbit 6 uril and its host-guest inclusion complex with 2,2'-bipyridine. *Chinese Science Bulletin* **2004**, *49* (11), 1111-1116; (b) Lagona, J.; Mukhopadhyay, P.; Chakrabarti, S.; Isaacs, L., The cucurbit n uril family. *Angewandte Chemie-International Edition* **2005**, *44* (31), 4844-4870.
31. Wang, S. L.; Wang, Y. L.; Chen, Z. X.; Lin, Y. J.; Weng, L. H.; Han, K.; Li, J.; Jia, X. S.; Li, C. J., The marriage of endo-cavity and exo-wall complexation provides a facile strategy for supramolecular polymerization. *Chemical Communications* **2015**, *51* (16), 3434-3437.
32. Lehn, J. M., CRYPTATES - CHEMISTRY OF MACROPOLYCYCLIC INCLUSION COMPLEXES. *Accounts of Chemical Research* **1978**, *11* (2), 49-57.
33. (a) Amendola, V.; Fabbrizzi, L.; Mangano, C.; Pallavicini, P.; Poggi, A.; Taglietti, A., Anion recognition by dimetallic cryptates. *Coordination Chemistry Reviews* **2001**, *219*, 821-837; (b) Schneider, H. J., MECHANISMS OF MOLECULAR RECOGNITION - INVESTIGATIONS OF ORGANIC HOST GUEST COMPLEXES. *Angewandte Chemie-International Edition* **1991**, *30* (11), 1417-1436.

34. (a) Mock, W. L.; Shih, N. Y., STRUCTURE AND SELECTIVITY IN HOST GUEST COMPLEXES OF CUCURBITURIL. *Journal of Organic Chemistry* **1986**, *51* (23), 4440-4446; (b) Mock, W. L.; Pierpont, J., A CUCURBITURIL-BASED MOLECULAR SWITCH. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* **1990**, (21), 1509-1511.
35. (a) Freeman, W. A.; Mock, W. L.; Shih, N. Y., CUCURBITURIL. *Journal of the American Chemical Society* **1981**, *103* (24), 7367-7368; (b) Mock, W. L.; Manimaran, T.; Freeman, W. A.; Kuksuk, R. M.; Maggio, J. E.; Williams, D. H., A NOVEL HEXACYCLIC RING-SYSTEM FROM GLYCOLURIL. *Journal of Organic Chemistry* **1985**, *50* (1), 60-62; (c) Mock, W. L., CUCURBITURIL. In *Supramolecular Chemistry II - Host Design and Molecular Recognition*, Weber, E., Ed. Springer-Verlag Berlin: Berlin, 1995; Vol. 175, pp 1-24.
36. (a) Macartney, D. H., Encapsulation of Drug Molecules by Cucurbiturils: Effects on their Chemical Properties in Aqueous Solution. *Israel Journal of Chemistry* **2011**, *51* (5-6), 600-615; (b) Walker, S.; Oun, R.; McInnes, F. J.; Wheate, N. J., The Potential of Cucurbit n urils in Drug Delivery. *Israel Journal of Chemistry* **2011**, *51* (5-6), 616-624; (c) Roy, K.; Saha, S.; Datta, B.; Sarkar, L.; Roy, M. N., Study on Host-Guest Inclusion Complexation of a Drug in Cucurbit 6 uril. *Zeitschrift Fur Physikalische Chemie-International Journal of Research in Physical Chemistry & Chemical Physics* **2018**, *232* (2), 281-293.
37. Mock, W. L.; Shih, N. Y., DYNAMICS OF MOLECULAR RECOGNITION INVOLVING CUCURBITURIL. *Journal of the American Chemical Society* **1989**, *111* (7), 2697-2699.
38. Mock, W. L.; Irra, T. A.; Wepsiec, J. P.; Adhya, M., CATALYSIS BY CURCURBITURIL - THE SIGNIFICANCE OF BOUND-SUBSTRATE DESTABILIZATION FOR INDUCED TRIAZOLE FORMATION. *Journal of Organic Chemistry* **1989**, *54* (22), 5302-5308.
39. Mandadapu, V.; Day, A. I.; Ghanem, A., Cucurbituril: Chiral Applications. *Chirality* **2014**, *26* (11), 712-723.
40. (a) Masson, E.; Ling, X.; Joseph, R.; Kyeremeh-Mensah, L.; Lu, X., Cucurbituril chemistry: a tale of supramolecular success. *Rsc Advances* **2012**, *2* (4), 1213-1247; (b) Lee, J. W.; Samal, S.; Selvapalam, N.; Kim, H. J.; Kim, K., Cucurbituril homologues and derivatives: New opportunities in supramolecular chemistry. *Accounts of Chemical Research* **2003**, *36* (8), 621-630; (c) Gurbuz, S.; Idris, M.; Tuncel, D., Cucurbituril-based supramolecular engineered nanostructured materials. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2015**, *13* (2), 330-347; (d) Kim, K., Mechanically interlocked molecules incorporating cucurbituril and their supramolecular assemblies. *Chemical Society Reviews* **2002**, *31* (2), 96-107; (e) Elbashir, A. A.; Aboul-Enein, H. Y., Supramolecular Analytical Application of Cucurbit n urils Using Fluorescence Spectroscopy. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **2015**, *45* (1), 52-61; (f) Han, Y. W.; Yang, X. R.; Liu, Y. Z.; Ai, Q. S.; Liu, S. M.; Sun, C. Y.; Liang, F., Supramolecular Controlled Cargo Release via Near Infrared Tunable Cucurbit 7 uril-Gold Nanostars. *Scientific Reports* **2016**, *6*.
41. Behrend, R.; Meyer, E.; Rusche, F., Condensates of glycoluril and formaldehyde. *Justus Liebigs Annalen Der Chemie* **1905**, *339* (1/3), 1-37.
42. Mock, W. L.; Shih, N. Y., HOST GUEST BINDING-CAPACITY OF CUCURBITURIL. *Journal of Organic Chemistry* **1983**, *48* (20), 3618-3619.
43. Kim, J.; Jung, I. S.; Kim, S. Y.; Lee, E.; Kang, J. K.; Sakamoto, S.; Yamaguchi, K.; Kim, K., New cucurbituril homologues: Syntheses, isolation, characterization, and X-ray crystal structures of cucurbit n uril (n=5, 7, and 8). *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122* (3), 540-541.
44. Demets, G. J.-F., Cucurbiturils. *Quimica Nova* **2007**, *30* (5), 1313-1322.
45. Chernikova, E. Y.; Fedorov, Y. V.; Fedorova, O. A., Cucurbituril as a new "host" of organic molecules in inclusion complexes. *Russian Chemical Bulletin* **2012**, *61* (7), 1363-1390.
46. Parvari, G.; Reany, O.; Keinan, E., Applicable Properties of Cucurbiturils. *Israel Journal of Chemistry* **2011**, *51* (5-6), 646-663.
47. Jansen, K.; Buschmann, H. J.; Wego, A.; Dopp, D.; Mayer, C.; Drexler, H. J.; Holdt, H. J.; Schollmeyer, E., Cucurbit 5 uril, decamethylcucurbit 5 uril and cucurbit 6 uril. Synthesis, solubility and amine complex formation. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **2001**, *39* (3-4), 357-363.

48. Kim, K.; Selvapalam, N.; Oh, D. H., Cucurbiturils - a new family of host molecules. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **2004**, *50* (1-2), 31-36.
49. (a) Assaf, K. I.; Nau, W. M., Cucurbiturils: from synthesis to high-affinity binding and catalysis. *Chemical Society Reviews* **2015**, *44* (2), 394-418; (b) Barooah, N.; Mohanty, J.; Pal, H.; Bhasikuttan, A. C., Cucurbituril-Induced Supramolecular pK(a) Shift in Fluorescent Dyes and Its Prospective Applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section a-Physical Sciences* **2014**, *84* (1), 1-17; (c) Cao, M. N.; Lin, J. X.; Yang, H. X.; Cao, R., Facile synthesis of palladium nanoparticles with high chemical activity using cucurbit 6 uril as protecting agent. *Chemical Communications* **2010**, *46* (28), 5088-5090; (d) Gerasko, O. A.; Kovalenko, E. A.; Fedin, V. P., Macrocyclic cavitands cucurbit n urils: prospects for application in biochemistry, medicine and nanotechnology. *Russian Chemical Reviews* **2016**, *85* (8), 795-816; (e) Husken, N.; Taylor, R. W.; Zigah, D.; Taveau, J. C.; Lambert, O.; Scherman, O. A.; Baumberg, J. J.; Kuhn, A., Electrokinetic Assembly of One-Dimensional Nanoparticle Chains with Cucurbit 7 uril Controlled Subnanometer Junctions. *Nano Letters* **2013**, *13* (12), 6016-6022; (f) Isaacs, L., Stimuli Responsive Systems Constructed Using Cucurbit n uril-Type Molecular Containers. *Accounts of Chemical Research* **2014**, *47* (7), 2052-2062; (g) Kaifer, A. E., Toward Reversible Control of Cucurbit n uril Complexes. *Accounts of Chemical Research* **2014**, *47* (7), 2160-2167; (h) Kaifer, A. E., Electrochemical properties of cucurbit 7 uril complexes of ferrocenyl derivatives. *Inorganica Chimica Acta* **2017**, *468*, 77-81; (i) Kim, K.; Selvapalam, N.; Ko, Y. H.; Park, K. M.; Kim, D.; Kim, J., Functionalized cucurbiturils and their applications. *Chemical Society Reviews* **2007**, *36* (2), 267-279; (j) Liu, L., Controlled release from cucurbituril. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **2017**, *87* (1-2), 1-12; (k) Ni, X. L.; Xiao, X.; Cong, H.; Zhu, Q. J.; Xue, S. F.; Tao, Z., Self-Assemblies Based on the "Outer-Surface Interactions" of Cucurbit n urils: New Opportunities for Supramolecular Architectures and Materials. *Accounts of Chemical Research* **2014**, *47* (4), 1386-1395; (l) Premkumar, T.; Lee, Y.; Geckeler, K. E., Macrocycles as a Tool: A Facile and One-Pot Synthesis of Silver Nanoparticles Using Cucurbituril Designed for Cancer Therapeutics. *Chemistry-a European Journal* **2010**, *16* (38), 11563-11566; (m) St-Jacques, A. D.; Wyman, I. W.; Macartney, D. H., Encapsulation of charge-diffuse peralkylated onium cations in the cavity of cucurbit 7 uril. *Chemical Communications* **2008**, (40), 4936-4938.
50. (a) Hou, C.; Huang, Z.; Fang, Y.; Liu, J., Construction of protein assemblies by host-guest interactions with cucurbiturils. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2017**, *15* (20), 4272-4281; (b) Taylor, R. W.; Esteban, R.; Mahajan, S.; Aizpurua, J.; Baumberg, J. J., Optimizing SERS from Gold Nanoparticle Clusters: Addressing the Near Field by an Embedded Chain Plasmon Model. *Journal of Physical Chemistry C* **2016**, *120* (19), 10512-10522.
51. Taylor, R. W.; Lee, T. C.; Scherman, O. A.; Esteban, R.; Aizpurua, J.; Huang, F. M.; Baumberg, J. J.; Mahajan, S., Precise Subnanometer Plasmonic Junctions for SERS within Gold Nanoparticle Assemblies Using Cucurbit n uril "Glue". *Acs Nano* **2011**, *5* (5), 3878-3887.
52. Tao, C. A.; An, Q.; Zhu, W.; Yang, H. W.; Li, W. N.; Lin, C. X.; Xu, D.; Li, G. T., Cucurbit n urils as a SERS hot-spot nanocontainer through bridging gold nanoparticles. *Chemical Communications* **2011**, *47* (35), 9867-9869.
53. (a) Aroca, R. F.; Clavijo, R. E.; Halls, M. D.; Schlegel, H. B., Surface-enhanced Raman spectra of phthalimide. Interpretation of the SERS spectra of the surface complex formed on silver islands and colloids. *Journal of Physical Chemistry A* **2000**, *104* (42), 9500-9505; (b) Andrade, G. F. S.; Temperini, M. L. A., 1,10-phenanthroline adsorption on iron electrode monitored by surface-enhanced Raman scattering (SERS). Comparison to SERS of phen and its transition metal complex on silver electrode. *Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *111* (37), 13821-13830.
54. Kohn, W.; Sham, L. J., SELF-CONSISTENT EQUATIONS INCLUDING EXCHANGE AND CORRELATION EFFECTS. *Physical Review* **1965**, *140* (4A), 1133-&.
55. Becke, A. D., DENSITY-FUNCTIONAL THERMOCHEMISTRY .3. THE ROLE OF EXACT EXCHANGE. *Journal of Chemical Physics* **1993**, *98* (7), 5648-5652.
56. Sun, M. T.; Xu, H. X., A Novel Application of Plasmonics: Plasmon-Driven Surface-Catalyzed Reactions. *Small* **2012**, *8* (18), 2777-2786.

57. Varsanyi, G., Vibrational Spectra of Benzene Derivatives. *Academic Press, New York* **1969**.
58. Derjaguin, B. a. L., L.D., Theory of the Stability of Strongly Charged Lyophobic Sols and of the Adhesion of Strongly Charged Particles in Solutions of Electrolytes. *Acta Physicochimica U.R.S.S.* **1941**, *14*, 633-662.
59. Verwey, E. J. W. a. O., J.Th.G., Theory of the Stability of Lyophobic Colloids: The Interaction of Sol Particles Having an Electric Double Layer. *Elsevier Science Publisher* **1948**.
60. Erle Donaldson, W. A., *Wettability*. Gulf Publishing Company: 2008; Vol. 1st Edition, p 336.
61. (a) Moskovits, M., SURFACE SELECTION-RULES. *Journal of Chemical Physics* **1982**, *77* (9), 4408-4416; (b) Moskovits, M.; Suh, J. S., SURFACE SELECTION-RULES FOR SURFACE-ENHANCED RAMAN-SPECTROSCOPY - CALCULATIONS AND APPLICATION TO THE SURFACE-ENHANCED RAMAN-SPECTRUM OF PHTHALAZINE ON SILVER. *Journal of Physical Chemistry* **1984**, *88* (23), 5526-5530.
62. Kleinman, S. L.; Frontiera, R. R.; Henry, A. I.; Dieringer, J. A.; Van Duyne, R. P., Creating, characterizing, and controlling chemistry with SERS hot-spots. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2013**, *15* (1), 21-36.
63. Jones, S. T.; Taylor, R. W.; Esteban, R.; Abo-Hamed, E. K.; Bomans, P. H. H.; Sommerdijk, N.; Aizpurua, J.; Baumberg, J. J.; Scherman, O. A., Gold Nanorods with Sub-Nanometer Separation using Cucurbit n uril for SERS Applications. *Small* **2014**, *10* (21), 4298-4303.
64. (a) Alan M. Hyde, S. L. Z., Jacob H. Waldman, Yong-Li Zhong, Michael Shevlin, and Feng Peng, General Principles and Strategies for *Salting-out* Informed by the Hofmeister Series. *Organic Process Research & Development* **2017**, *21*, 1355–1370; (b) Satoshi Endo, A. P., and Kai-Uwe Goss, *Salting-out* Effect in Aqueous NaCl Solutions: Trends with Size and Polarity of Solute Molecules *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46*, 3, 1496–1503.
65. Taylor, R. W.; Coulston, R. J.; Biedermann, F.; Mahajan, S.; Baumberg, J. J.; Scherman, O. A., In Situ SERS Monitoring of Photochemistry within a Nanoscale Reactor. *Nano Letters* **2013**, *13* (12), 5985-5990.
66. Sigle, D. O.; Kasera, S.; Herrmann, L. O.; Palma, A.; de Nijs, B.; Benz, F.; Mahajan, S.; Baumberg, J. J.; Scherman, O. A., Observing Single Molecules Complexing with Cucurbit 7 uril through Nanogap Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry Letters* **2016**, *7* (4), 704-710.
67. Barrow, S. J.; Kasera, S.; Rowland, M. J.; del Barrio, J.; Scherman, O. A., Cucurbituril-Based Molecular Recognition. *Chemical Reviews* **2015**, *115* (22), 12320-12406.
68. (a) Ren, X. Q.; Tan, E. Z.; Lang, X. F.; You, T. T.; Jiang, L.; Zhang, H. Y.; Yin, P. G.; Guo, L., Observing reduction of 4-nitrobenzenethiol on gold nanoparticles in situ using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2013**, *15* (34), 14196-14201; (b) Dong, B.; Fang, Y. R.; Xia, L. X.; Xu, H. X.; Sun, M. T., Is 4-nitrobenzenethiol converted to p,p'-dimercaptoazobenzene or 4-aminothiophenol by surface photochemistry reaction? *Journal of Raman Spectroscopy* **2011**, *42* (6), 1205-1206; (c) Cui, Q. L.; Yashchenok, A.; Li, L. D.; Mohwald, H.; Bargheer, M., Mechanistic study on reduction reaction of nitro compounds catalyzed by gold nanoparticles using in situ SERS monitoring. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2015**, *470*, 108-113.
69. Lantman, E. M. V.; de Peinder, P.; Mank, A. J. G.; Weckhuysen, B. M., Separation of Time-Resolved Phenomena in Surface-Enhanced Raman Scattering of the Photocatalytic Reduction of p-Nitrothiophenol. *Chemphyschem* **2015**, *16* (3), 547-554.
70. Kim, K.; Lee, Y. M.; Lee, H. B.; Park, Y.; Bae, T. Y.; Jung, Y. M.; Choi, C. H.; Shin, K. S., Visible laser-induced photoreduction of silver 4-nitrobenzenethiolate revealed by Raman scattering spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy* **2010**, *41* (2), 187-192.
- 71 (a) Muehlethaler, C.; Leona, M.; Lombardi, J. R., Review of Surface Enhanced Raman Scattering Applications in Forensic Science. *Analytical Chemistry* **2016**, *88* (1), 152-169; (b) Marks, H.; Schechinger, M.; Garza, J.; Locke, A.; Cote, G., Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) for in vitro diagnostic testing at the point of care. *Nanophotonics* **2017**, *6* (4), 681-701; (c) Du, S. Y.; Yu, C. D.; Tang, L.; Lu, L. X., Applications of SERS in the Detection of Stress-Related Substances. *Nanomaterials* **2018**, *8* (10); (d) El-Said, W. A.; Yoon, J.; Choi, J. W., Nanostructured surfaces for

analysis of anticancer drug and cell diagnosis based on electrochemical and SERS tools. *Nano Convergence* **2018**, *5*; (e) Wang, K. D.; Li, S. M.; Petersen, M.; Wang, S.; Lu, X. N., Detection and Characterization of Antibiotic-Resistant Bacteria Using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Nanomaterials* **2018**, *8* (10); (f) Moldovan, R.; Iacob, B. C.; Farcau, C.; Bodoki, E.; Oprean, R., Strategies for SERS Detection of Organochlorine Pesticides. *Nanomaterials* **2021**, *11* (2); (g) Cialla, D.; Pollok, S.; Steinbrucker, C.; Weber, K.; Popp, J., SERS-based detection of biomolecules. *Nanophotonics* **2014**, *3* (6), 383-411; (h) Wang, M. H.; De Vivo, B.; Lu, W. J.; Muniz-Miranda, M., Sensitive Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Detection of Nitroaromatic Pollutants in Water. *Applied Spectroscopy* **2014**, *68* (7), 784-788; (i) Zheng, J. K.; He, L. L., Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for the Chemical Analysis of Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **2014**, *13* (3), 317-328; (j) Camp, C. H.; Cicerone, M. T., Chemically sensitive bioimaging with coherent Raman scattering. *Nature Photonics* **2015**, *9* (5), 295-305.

72. Lee, P. C.; Meisel, D., ADSORPTION AND SURFACE-ENHANCED RAMAN OF DYES ON SILVER AND GOLD SOLS. *Journal of Physical Chemistry* **1982**, *86* (17), 3391-3395.

## **SÚMULA CURRICULAR**

### **DADOS PESSOAIS**

Clara de Jesus Rangel  
São Paulo, SP - 01 de março de 1992.

### **EDUCAÇÃO**

Instituto Nossa Senhora Auxiliadora – São Paulo, SP. 1998-2009

Universidade de São Paulo – São Paulo, SP  
Bacharelado em química (2013-2017)

### **OCUPAÇÃO**

Bolsista de Iniciação científica PIBIC, CNPq, 2015-2017

Universidade de São Paulo- São Paulo, SP  
Orientador: Prof. Dr. Rômulo Augusto Ando

Bolsista de Mestrado CNPq, 2018-2021

Universidade de São Paulo- São Paulo, SP  
Orientador: Prof. Dr. Rômulo Augusto Ando

### **PUBLICAÇÕES (Artigos Completos e Resumos em Congressos)**

#### **Artigos**

1. AMEKU, WILSON A. ; DE ARAUJO, WILLIAM R. ; **RANGEL, CLARA J.** ; Ando, Rômulo A. ; PAIXÃO, THIAGO R. L. C. . Gold Nanoparticle Paper-Based Dual-Detection Device for Forensics Applications. ACS Applied Nano Materials, v. 2, p. 5460-5468, 2019
2. GEONMONOND, RAFAEL DOS SANTOS ; QUIROZ, JHON ; ROCHA, GUILHERME DE FREITAS SILVA RODRIGUES ; OROPEZA, FREDDY E ; **RANGEL, CLARA DE JESUS** ; RODRIGUES, THENNER SILVA ; HOFMANN, JAN PHILIPP PHILIPP ; HENSEN, EMIEL J.M. ; Ando, Rômulo Augusto ; CAMARGO, PEDRO . Marrying SPR Excitation and Metal-Support Interactions:

Unraveling the Contribution of Active Surface Species in Plasmonic Catalysis.  
Nanoscale, v. 18, p. 8560-8568, 2018

### **Resumos em Congresso**

1. **Rangel,C.J.** ; Trindade F.J. ; Camargo, P.H.C. ; Ando, R.A. Espectroscopia SERRS de sistemas doadores-aceptores- IV Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman - EnBraER. 2015. (Pôster)
2. **Rangel, C.J.**; Ando, R.A. Espectroscopia SERRS no Estudo do Equilíbrio Ácido-Base em Superfícies Metálicas- IV Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman - EnBraER. Espectroscopia SERRS de sistemas doadores-aceptores. 2017. (Pôster)
3. **Rangel,C.J.** ; Trindade F.J. ; Camargo, P.H.C. ; Ando, R.A. Espectroscopia SERRS de sistemas doadores-aceptores Simpósio de iniciação científica da USP – SIICUSP, 2016.
4. **Rangel,C.J.** ; Trindade F.J. ; Camargo, P.H.C. ; Ando, R.A. Espectroscopia SERRS de sistemas doadores-aceptores. Etapa internacional do Simpósio de iniciação científica da USP – SIICUSP, 2016.
5. **Rangel,C.J.** ; Ando, R.A. Espectroscopia SERRS de Complexos de Superfície. Simpósio de iniciação científica da USP – SIICUSP, 2017.