

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS / CAMPUS DE BAURU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

ORISSON PONCE GOMES

**MODIFICAÇÕES DE SUPERFÍCIES PARA O DESENVOLVIMENTO DE
BIOMATERIAIS E BIODISPOSITIVOS: UM ESTUDO TEÓRICO-EXPERIMENTAL**

Bauru

2023

ORISSON PONCE GOMES

**MODIFICAÇÕES DE SUPERFÍCIES PARA O DESENVOLVIMENTO DE
BIOMATERIAIS E BIODISPOSITIVOS: UM ESTUDO TEÓRICO-EXPERIMENTAL**

Tese apresentada como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Materiais do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, sob orientação do Prof. Dr. Paulo Noronha Lisboa Filho e coorientação do Prof. Dr. Augusto Batagin Neto.

Bauru

2023

Gomes, Orisson Ponce.
Modificações de superfícies para o desenvolvimento de biomateriais e
biodispositivos: um estudo teórico-experimental / Orisson Ponce Gomes,
2023. 172 f.

Orientador: Paulo Noronha Lisboa Filho
Coorientador: Augusto Batagin Neto

Tese (Doutorado)– Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”. Faculdade de Ciências, Bauru, 2023

1. Modelagem molecular. 2. Teoria do funcional da densidade. 3.
Biomateriais. 4. Modificação de superfícies. I. Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências. II. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Bauru



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE ORISSON PONCE GOMES, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 01 dias do mês de dezembro do ano de 2023, às 14:00 horas, no(a) por videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de ORISSON PONCE GOMES, intitulada **Modificações de superfícies para o desenvolvimento de biomateriais e biodispositivos: um estudo teórico-experimental**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. PAULO NORONHA LISBOA FILHO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Física / Faculdade de Ciências - Unesp/Câmpus de Bauru, Prof. Dr. PEDRO ALVES DA SILVA AUTRETO (Participação Virtual) do(a) Centro de Ciências Humanas e Naturais (CCNH) / Universidade Federal do ABC (UFABC), Prof. Dr. PAULO BARBEITAS MIRANDA (Participação Virtual) do(a) Instituto de Física de São Carlos / Universidade de São Paulo, Profa. Dra. CLARISSA DE ALMEIDA OLIVATI (Participação Virtual) do(a) Departamento de Física / Faculdade de Ciência e Tecnologia - Unesp/ Câmpus de Presidente Prudente, Prof. Dr. CRISTIANO FRANCISCO WOELLNER (Participação Virtual) do(a) Departamento de Física / Universidade Federal do Paraná. Após a exposição pelo doutorando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: APROVADO. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Documento assinado digitalmente
 PAULO NORONHA LISBOA FILHO
Data: 25/01/2024 06:05:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. PAULO NORONHA LISBOA FILHO

AGRADECIMENTOS

À minha família Elizete, Orisson, Livia, Octávio e noiva, Daniela, por acreditarem em mim, aconselharem e apoiarem minhas escolhas. Ao meu falecido cachorro Purginha, que esteve presente em vários momentos, sempre me fazendo companhia enquanto eu trabalhava no computador. Agradeço todo amor, carinho, paciência, incentivo e dedicação para comigo, por terem sido peça fundamental para que eu tenha me tornado a pessoa que sou hoje. Aos meus amigos Samuel, Guilherme, Giovanni, Lucas, Luis, Bruno, João Pedro, Isabela, Gabriel, Wilton, Bruna, Rafael, Ingrid, Bruno, Gisele e Gerson pelos conselhos, companhia, paciência e discussões. Aos meus amigos e colegas da CFB3, em especial o Ricardo, a Patrícia e o Antônio, por fazerem parte da minha rotina e fazerem os meus dias mais alegres.

Ao prof. Dr. Paulo Noronha Lisboa Filho e o prof. Dr Augusto Batagin Neto pela confiança, paciência, dedicação, inúmeras discussões e ensinamentos, por sempre acreditarem e enxergarem o lado bom de qualquer situação. Em especial, gostaria de agradecer ao prof. Dr. Paulo Noronha Lisboa Filho pela longa jornada acadêmica ao meu lado, pela amizade, conselhos, por me fazer querer conhecer o mundo e por me orientar de maneira impecável.

Aos companheiros, ex-companheiros e amigos de laboratório Luciana, Erika, Larisa, Nilton, Roberto, Bruna, Rafael, Gabriel, Leonardo, Odair, Marcela, Igor, Ísis, João, Adriana, Gabrieli e Jean pelas discussões extremamente produtivas, pelas inúmeras ajudas e pelos momentos de descontração que tornaram o ambiente de trabalho mais agradáveis. Em especial a Erika, Luciana, Larisa e Gabriel que contribuíram de maneira incomparável na minha formação profissional. A todos os colegas do POSMAT/UNESP pelo apoio e troca de experiências que contribuíram para a execução deste trabalho.

Ao prof. Dr. Younès Messaddeq, e seus alunos pelo suporte, excelente recepção, tratamento e empenho comigo. Um agradecimento especial ao Dr. Sanggon Kim pela colaboração em pesquisa, por todo o suporte, disposição e ensinamentos.

Ao prof. Dr. Américo Sheitiro Tabata pelos incansáveis ensinamentos, discussões amistosas e pela amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro através da bolsa concedida no país e no exterior (processos n.º 2019/09431-0 e 2021/10891-6), vinculados ao projeto temático CEPID (processo n.º 2013/07296-2).

RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidas estratégias de simulação computacional, baseadas na teoria do funcional da densidade (DFT), para complementar e expandir o entendimento de resultados experimentais que abordam métodos de funcionalização de superfícies de sistemas na nanoescala para o desenvolvimento de biomateriais e biodispositivos. Mais especificamente, quatro problemas foram estudados e discutidos a partir dessa ótica: *i*) o uso de descritores eletrônicos simples para a compreensão da ancoragem e comportamento de moléculas zwitteriônicas, tipicamente utilizadas como monocamadas de recobrimento superfícies de dispositivos biológicos de contato direto com o sangue; *ii*) estudo dos aspectos da interação entre moléculas de água e o SiO₂ na formação dos grupos hidroxilas (hidroxilação), geralmente utilizados em processos de catálise ou como sítios de ligação para modificação de superfícies desse óxido; *iii*) demonstração um método de imobilização fácil e versátil de quimiossensores derivativos do xanteno em nanoestruturas plasmônicas para detecção de íons em organismos vivos; *iv*) demonstração de um método otimizado de imobilização de nanopartículas de ouro via ligação covalente em superfícies de sílica modificadas por um ligante silano-tiol para quimiossensores baseados em espectroscopia Raman amplificada por superfície (SERS). Dos quatro problemas examinados, os dois primeiros foram abordados integralmente utilizando estratégias computacionais, onde os grupos ancoradores, zwitteriônicos e o modelo simplificado de substrato foram selecionados com base em revisão literária. Como critério, foram adotados grupos promissores em relação às suas funções, cuja eficiência foi comprovada experimentalmente. Desta forma, esses problemas envolveram a proposição de um estudo aprofundado sobre o comportamento desses grupos em termos de descritores eletrônicos, visando a formulação de rotas otimizadas e estáveis para a sua imobilização. Complementarmente, os dois últimos problemas foram abordados por meio de uma abordagem teórico-experimental. As simulações foram inicialmente empregadas para a proposta de rotas eficientes no desenvolvimento de sensores químicos baseados em SERS. Com o avanço dos estudos, as simulações também foram utilizadas para complementar a compreensão dos resultados experimentais obtidos. Métodos computacionais foram adotados tanto para a seleção e rota de imobilização dos indicadores SERS em nanoestruturas plasmônicas quanto para a definição de estratégias de imobilização dessas nanoestruturas plasmônicas, resultando em um sistema de detecção amplificada com alta estabilidade química.

Palavras-chave: Modelagem molecular, teoria do funcional da densidade, biomateriais, modificação de superfícies.

ABSTRACT

In this work, computational simulation strategies based on the density functional theory (DFT) were developed to complement and expand the understanding of experimental results addressing surface functionalization methods for nano-scale systems in the development of biomaterials and biodispositives. Specifically, four problems were studied and discussed from this perspective: i) The use of simple electronic descriptors to understand the anchoring process and behavior of zwitterionic molecules, commonly employed as monolayer coatings on surfaces of biological devices that are directly interfacing with blood; ii) The study of aspects of the interaction between water molecules and SiO₂ in the formation of hydroxyl groups (hydroxylation), commonly used in catalysis processes or as binding sites for surface modification of this oxide; iii) Demonstration of an easy and versatile immobilization method for xanthene derivative chemosensors on plasmonic nanostructures for ion detection in living organisms; iv) Demonstration of an optimized method for immobilizing gold nanoparticles via covalent bonding on silica surfaces modified by a silane-thiol ligand for chemosensors based on surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS). Of the four examined problems, the first two were fully addressed using computational strategies, where anchoring groups, zwitterionic groups, and the simplified substrate model were selected based on a literature review. Promising groups were adopted as criteria for their functions, whose efficiency was experimentally proven. Thus, these problems involved proposing an in-depth study of the behavior of these groups in terms of electronic descriptors, aiming for the formulation of optimized and stable routes for their immobilization. Additionally, the last two problems were approached through a theoretical-experimental approach. Simulations were initially employed to propose efficient routes in the development of chemical sensors based on SERS. As the studies progressed, simulations were also used to complement the understanding of the experimental results obtained. Computational methods were adopted for both the selection and immobilization route of SERS indicators on plasmonic nanostructures and for defining immobilization strategies for these plasmonic nanostructures, resulting in an amplified detection system with high chemical stability.

Keywords: Molecular modeling, density functional theory, biomaterials, surface modification.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

DFT: teoria do funcional da densidade

IFCA: índices de Fukui condensados aos átomos

MPE: mapa do potencial eletrostático

HSAB: ácidos-bases duros-moles

PCM: modelo contínuo polarizável

SERS: espalhamento Raman amplificado por superfície

SB: sulfobetaína

CB: carboxibetaína

FC: fosforilcolina

A: grupos de ancoragem

MS: trimetoxisilano

CT: catecol

HS: hidroxisilano

OMF: orbitais moleculares de fronteira

SiO₂: dióxido de silício

HOMO:

LUMO:

E_{HOMO}:

E_{LUMO}:

OH: grupos hidroxila

DMRA: dinâmica molecular reativa atomística

(SiO₂)_n: modelos simplificados baseados em estruturas de dióxido de silício

H_A: átomo de hidrogênio da molécula de água

O_A: átomo de oxigênio da molécula de água

O_S: átomo de oxigênio do dióxido de silício

Si_S: átomo de silício do dióxido de silício

PET: transferência de elétrons fotoinduzidos

SPR: ressonância de plasmon de superfície

SERRS: espalhamento Raman de ressonância amplificada por superfície

AgNO₃: nitrato de prata

CuCl₂: cloreto de cobre

PVP: polivinilpirrolidona

AgNP: nanopartícula de prata

PD: 1,5-pentanodiol

HAuCl₄: ácido clorídrico

MPTMS: (3-mercaptopropil)trimetoxisilano

OF: fibra óptica

HCl: ácido clorídrico

N₂: gás nitrogênio

4-BTP: 4-bromotiofenol

RhB: rodamina B

FC: fluoresceína

EtOH: etanol

DMF: dimetilformamida

TP: tiofenol

SAM: monocamada automontada

AuNP: nanopartícula de ouro

APTMS: 3-aminopropil trimetoxissilano

APTES: 3-aminopropil trietoxissilano

C: citrato

PDMS: polidimetilsiloxano

NaOH: hidróxido de sódio

RSA: adsorção sequencial aleatória

4-MBA: ácido 4-mercaptobenzóico

KS: Kohn-Sham

LDA: aproximação da densidade local

LSDA: densidade de *spin* local

GGA: aproximação de gradiente generalizado

HF: Hartree-Fock

SHM: método de Hückel simples

EHM: método de Hückel estendido

SCF: campo auto-consistente

η : dureza química global

S: maciez química global

μ : potencial químico

PI: potencial de ionização

AE: afinidade eletrônica

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	6
OBJETIVOS	8
Objetivo Geral	8
Objetivos Específicos	8
CAPÍTULO 1	9
1. Avaliação dos processos de ancoragem e estabilidade química de moléculas zwitteriônicas via índices de reatividade local	9
1.1. Introdução	9
1.2. Materiais e métodos	13
<i>1.2.1. Materiais</i>	13
<i>1.2.2. Metodologia</i>	15
1.3. Resultados e discussões	17
<i>1.3.1. Reatividade das moléculas zwitteriônicas</i>	17
<i>1.3.2. Afinidade química entre moléculas zwitteriônicas e sistemas modelo de SiO₂</i>	22
<i>1.3.3. Estabilidade química das moléculas zwitteriônicas ligadas ao substrato de SiO₂</i>	25
<i>1.3.4. Afinidade química entre moléculas zwitteriônicas ancoradas em SiO₂ e água</i>	27
1.4. Conclusões	29
Referências	30
CAPÍTULO 2	42
2. Estudo da hidroxilação de nanoclusters de SiO₂ via índices de reatividade local	42
2.1. Introdução	42
2.2. Materiais e métodos	45
<i>2.2.1. Construção do modelo (SiO₂)_n e seus derivados</i>	45
<i>2.2.2. Métodos computacionais</i>	46
2.3. Resultados e discussões	49
<i>2.3.1. Cálculos de estrutura eletrônica</i>	49

2.3.2. <i>Simulações por dinâmica molecular</i>	54
2.4. Conclusões	57
Referências	57
CAPÍTULO 3	64
3. Método de imobilização fácil e versátil para corante à base de xanteno para espalhamento Raman de ressonância amplificada por superfície (SERRS)	64
3.1. Introdução	64
3.2. Materiais e métodos	70
3.2.1. <i>Síntese das nanopartículas de prata (AgNP)</i>	70
3.2.2. <i>Síntese das nanopartículas de ouro (AuNP)</i>	70
3.2.3. <i>Imobilização das AgNP sobre a fibra óptica</i>	71
3.2.4. <i>Imobilização dos corantes à base de xanteno em AgNP acionada por plasmon</i>	72
3.2.5. <i>Imobilização térmica de corantes à base de xanteno em AuNP</i>	72
3.2.6. <i>Medidas por SERS</i>	73
3.2.7. <i>Cálculos por DFT</i>	73
3.2.8. <i>Simulação numérica de aumentos de temperatura local dentro do hot spot entre o dímero AgNP</i>	75
3.3. Resultados e discussões	76
3.3.1. <i>Identificação de um ligante químico versátil para quimiossensores à base de xanteno por mapas IFCA</i>	76
3.3.2. <i>Imobilização de corantes à base de xanteno em AgNP usando 4-BTP e PET</i>	82
3.3.3. <i>Mecanismo de reação e identificação do sítio de ligação</i>	90
3.3.4. <i>Resposta espectral do quimiossensor à base de xanteno imobilizado ao seu íon alvo</i>	98
3.3.5. <i>Efeito fototérmico na imobilização do quimiossensor</i>	103
3.4. Conclusões	106
Referências	107

CAPÍTULO 4	117
4. Otimizando a imobilização de nanopartículas de ouro em superfície de sílica tiolada pelo uso de ligante neutro	117
4.1. Introdução	117
4.2. Materiais e métodos	122
<i>4.2.1. Síntese das nanopartículas de ouro</i>	122
<i>4.2.2. Substituição do citrato por PVP</i>	123
<i>4.2.3. Imobilização das AuNP na superfície de sílica</i>	124
<i>4.2.4. Cálculos computacionais</i>	126
<i>4.2.5. Medidas por SERS</i>	126
4.3. Resultados e discussões	127
<i>4.3.1. Recobrimento de superfície otimizado por substituição de ligante</i>	127
<i>4.3.2. Estabilidade química aprimorada das AuNP/MPTMS vs. AuNP/APTES</i>	130
4.4. Conclusões	134
Referências	135
APÊNDICES	142
APÊNDICE A - Teoria do Funcional Densidade (DFT)	142
APÊNDICE B - Funcional de Troca e Correlação	146
APÊNDICE C - Conjunto de Funções de Base	150
APÊNDICE D - Índices de Fukui (DFT)	154
APÊNDICE E - Indicadores de Reatividade Local e Global	158
APÊNDICE F - Método de Particionamento de Hirshfeld	161
Referências (APÊNDICES A-F)	162

INTRODUÇÃO GERAL

A modificação de superfícies desempenha um papel fundamental no desenvolvimento de biodispositivos e biomateriais eficientes, pois é a interface entre o material e o ambiente fisiológico que determina, em grande parte, o desempenho desses sistemas. Através de técnicas de modificação de superfícies, é possível ajustar a afinidade química, a funcionalidade e a topografia das superfícies, permitindo a otimização da interação com moléculas-alvo, como íons, biomoléculas ou agentes patogênicos. Além disso, as modificações de superfície podem melhorar a biocompatibilidade, a estabilidade e a seletividade dos biomateriais, tornando-os ideais para aplicações médicas. Assim, a pesquisa e o desenvolvimento contínuo de processos de modificação de superfícies desempenham um papel crucial na criação de bio-sistemas altamente eficientes e eficazes, com aplicações significativas em áreas da medicina, diagnóstico médico e biotecnologia.

Nesse contexto, o uso de métodos de química computacional nessas áreas é de inegável importância. Tais métodos permitem a realização de simulações detalhadas e previsões das interações moleculares em nível atômico, acelerando o processo de desenvolvimento experimental e economizando recursos. Além disso, a química computacional é fundamental na proposição de novos sistemas e materiais, identificando combinações químicas promissoras, otimizando propriedades de superfície e contribuindo para a descoberta de sistemas novos ou otimizados. Isso não apenas impulsiona o progresso na eficiência e na funcionalidade de dispositivos e materiais, mas também pode reduzir o impacto ambiental ao evitar a necessidade de testes laboratoriais extensivos e caros. Dessa forma, a combinação de métodos experimentais com química computacional abre um vasto horizonte de possibilidades para o avanço de tecnologias, melhorando significativamente a qualidade de vida e a saúde humana.

Diante dessas questões, o presente trabalho se concentra nessa sinergia teórico-experimental para a descoberta e otimização de sistemas na área de biomateriais e biodispositivos, mais especificamente os sensores químicos. Além disso, técnicas computacionais são empregadas para guiar experimentos de forma mais eficaz, bem como aprofundar a compreensão de resultados experimentais. Os quatro capítulos aqui apresentados abordam uma variedade de tópicos, desde a análise de fenômenos conhecidos, como a

hidroxilação de dióxido de silício, porém, com uma perspectiva do fenômeno antes não abordada, até a proposição de moléculas com maior afinidade por substratos e maior estabilidade química. Essas moléculas podem desempenhar papéis essenciais como agentes anti-incrustantes para recobrimento de biomateriais ou biodispositivos expostos diretamente ao sangue, como indicadores químicos ou como estabilizadores de nanoestruturas plasmônicas, que, por sua vez, têm aplicação como sensores químicos. A fim de tornar mais fluida a leitura dos capítulos, optou-se por se apresentar nas seções de metodologia apenas os detalhes essenciais acerca das aproximações empregadas nos cálculos. Maiores informações são apresentadas os Apêndices, onde leituras complementares são também sugeridas.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Demonstrar que problemas aplicados/experimentais podem ser auxiliados por métodos computacionais, em especial baseados na teoria do funcional da densidade (DFT), por meio de uma abordagem eficaz e econômica, a qual pode ser implementada na proposição e identificação de sistemas novos/aprimorados na área de ciência dos materiais.

Objetivos Específicos

O presente trabalho tem como objetivos específicos:

- Demonstrar alguns aspectos de interação entre as moléculas de água e o SiO_2 na formação dos grupos hidroxilas (hidroxilação) através de um estudo baseado na teoria do funcional da densidade (DFT) em termos dos descritores de reatividade química (IFCA), dureza (mapa de potencial eletrostático - MPE) e maciez química (s);
- Mostrar que descritores eletrônicos simples podem ser usados para entender o comportamento de moléculas zwitteriônicas distintas contendo diferentes blocos de construção (unidades de ancoragem e grupos zwitteriônicos), em termos de afinidade de substrato, estabilidade de ancoragem e interação com moléculas de água;
- Demonstrar um método de imobilização fácil e versátil de quimiossensores derivativos do xanteno em nanoestruturas plasmônicas para detecção de íons baseada em espalhamento Raman amplificado por superfície (SERS);
- Demonstrar uma rota otimizada de imobilização de nanopartículas de ouro via ligação covalente em superfícies de sílica modificadas por um ligante silano-tiol, por meio da substituição de ligante químico das nanopartículas comumente utilizadas para o desenvolvimento de quimiossensores baseados em espectroscopia Raman amplificada por superfície (SERS), de maior estabilidade química.

CAPÍTULO 1

1. Avaliação dos processos de ancoragem e estabilidade química de moléculas zwitteriônicas via índices de reatividade local

1.1. Introdução

A biocompatibilidade da superfície de materiais de contato com sangue é uma questão crucial no desenvolvimento de dispositivos para aplicações biomédicas, como cateteres, tubos, oxigenadores, membranas de hemodiálise, stents vasculares, enxertos ou dispositivos de monitoramento contínuo, como dispositivos de monitoramento contínuo de glicose (LI et al., 2016; YANG et al., 2012). Apesar do profundo conhecimento dos mecanismos das interações de superfícies com o sangue, resultantes de décadas de esforços em pesquisas de bioengenharia, ainda não foram desenvolvidas superfícies com propriedades antitrombogênicas ótimas, tão eficientes quanto o próprio endotélio (superfície interna dos vasos sanguíneos) (RATNER, 2000; YANG et al., 2012).

Nos últimos 50 anos, muito se aprendeu sobre a trombose induzida pela superfície externa dos materiais e a tentativa de evitá-la por meio de diversas abordagens continua sendo um tema importante de pesquisa (PUOCI, 2015). Atualmente, a maioria dos dispositivos de uso clínico requer a utilização de medicamentos, como anticoagulantes. Tais fármacos ainda apresentam uma probabilidade significativa de formação de trombo, incidência de trombose e outras complicações (YANG et al., 2012). Combinando essa questão com a probabilidade de desencadear um efeito cascata de coagulação do sangue que alguns desses materiais têm (RATNER et al., 2012; KAWANISHI et al., 2011; LI et al., 2017; RATNER; BRYANT, 2004), essa combinação pode resultar em consequências graves, como obstrução completa dos vasos

sanguíneos nos quais os *stents* e dispositivos intravenosos são colocados (GORBET; SEFTON, 2004), oclusão vascular de cateteres e enxertos de pequeno diâmetro (LI et al., 2017; RATNER, 2007), interferência com a sensibilidade dos sensores químicos intravenosos (RATNER, 2007), complicações embólicas com corações artificiais, danos aos componentes do sangue e consumo de plaquetas durante a oxigenação por membrana extracorpórea (RATNER, 2000). Essas complicações podem resultar em um significativo aumento dos custos médicos, hospitalização prolongada, falha do dispositivo e, nos casos mais graves, amputação ou aumento da morbidade de pacientes (PUOCI, 2015).

O processo de coagulação pode ser ativado de duas maneiras: *i*) extrinsecamente, associado a uma lesão, e *ii*) intrinsecamente, iniciado quando o sangue entra em contato com uma superfície externa. Ambas as vias apresentam um ponto comum, que é a formação de coágulos de fibrina (WANG et al., 2004). Este processo induzido pela superfície apresenta um mecanismo complexo cuja resposta biológica inicial (quando o sangue entra em contato com uma determinada superfície) é a adsorção de proteínas, seguida pela adesão e ativação plaquetária (MCCLUNG et al., 2003; PUOCI, 2015). Os processos de adsorção de proteínas (fibrinogênio, fibronectina, fator de von Willebrand, etc.) ocorrem segundos após o contato. Essas proteínas podem então interagir com os receptores presentes na membrana plasmática das plaquetas e facilitar sua adesão à superfície (SCHOPKA et al., 2010). Iniciado esse processo, sucessivas interações específicas ocorrem até que coágulos e trombos sejam formados (PUOCI, 2015).

Como as interações entre os materiais e o sangue são fortemente dependentes da superfície do material, a estabilidade química e a bioatividade podem ser alteradas pela modificação dessas superfícies (LIU et al., 2014). Nesse contexto, modificações de superfície

podem promover um aumento significativo na biocompatibilidade do material, sendo já relatado resultados promissores acerca da interação da superfície modificada de materiais com o sangue (KAWANISHI et al., 2011; YANG et al., 2012).

Das estratégias de modificação de superfícies para essa finalidade, as seguintes abordagens podem ser destacadas: *i*) passivação de superfície por meio de compostos hidrofílicos (CHEN et al., 2005a, 2005b, 2008; CHEN; BROOK; SHEARDOWN, 2004; LI et al., 2013) ou compostos zwitteriônicos (ISHIHARA et al., 1990, 1992; YANG et al., 2009; YE et al., 2013; ZHANG et al., 2008) para a prevenção de interações entre sangue e superfície (mais especificamente a adsorção de proteínas não-específicas); *ii*) incorporação de moléculas bioativas como anticoagulantes (BRASH, 2000; IRFAN; IDRIS, 2015; MURUGESAN; XIE; LINHARDT, 2008), inibidores de plaquetas (ALDENHOFF; KOOLE, 2003; IRFAN; IDRIS, 2015) e agentes fibrinolíticos (LI; CHEN; BRASH, 2011); e *iii*) mimetismo endotelial vascular (AVCI-ADALI; ZIEMER; WENDEL, 2010; LASTER; SILVER, 1988), que é a única superfície que realmente pode ser descrita como não trombogênica.

A heparina é um dos glicosaminoglicanos bioativos mais utilizados em biomateriais devido às suas propriedades anticoagulantes. No entanto, seu uso tem sido restrito devido aos potenciais efeitos adversos de sua forma solúvel (HIRSH JACK et al., 2001; LASTER; SILVER, 1988), além de baixa eficiência apresentada em estudos randomizados de hemodiálise (JOHNSON et al., 2002). Complementarmente, o alto custo desses anticoagulantes pode encarecer significativamente o produto final, tornando-o comercialmente inviável. Este último fator, em particular, também é aplicável ao mimetismo endotelial vascular, que, embora possa render resultados muito satisfatórios, apresenta um grande número de procedimentos e tecnologias de alto custo.

Por outro lado, os polímeros zwitteriônicos têm recebido grande atenção devido às propriedades únicas desses polieletrólitos (KUDAIBERGENOV; JAEGER; LASCHEWSKY, 2006; LASCHEWSKY et al., 1995; LOWE; BILLINGHAM; ARMES, 1996). Estudos de espectroscopia Raman e infravermelho (IR) indicaram que a estrutura das ligações de hidrogênio da água na vizinhança desses polímeros não é amplamente perturbada (KITANO et al., 2002, 2005a, 2005b; TADA et al., 2009). Além disso, verificou-se que a neutralização de carga de superfícies sólidas e a ausência de água interfacial fortemente orientada são fatores decisivos para a expressão de propriedades anti-incrustantes eficazes e excelente biocompatibilidade desses compostos (K et al., 2015; TADA et al., 2009).

Para acessar mais detalhes sobre esses fatores, uma série de estudos teóricos foram realizados. A maioria desses trabalhos é baseada em simulações via dinâmica molecular clássica, com foco em fenômenos de hidratação (SHAO et al., 2010; SHAO; JIANG, 2014, 2015), interação com íons (SHAO; HE; JIANG, 2011), auto associações (SHAO et al., 2014; SHAO; JIANG, 2014) e interações com biomoléculas (SHAO et al., 2012; SHAO; JIANG, 2014). No entanto, poucos estudos foram relatados sobre os processos de ancoragem e o papel das reatividades químicas moleculares. Neste contexto, o presente estudo buscou avaliar, por meio de cálculos baseados na teoria do funcional da densidade (DFT), uma série de moléculas zwitteriônicas anti-incrustantes, com segmentos de ancoragem distintos. Detalhes sobre as reatividades locais, maciez química e potencial eletrostático foram avaliados para melhor compreender os processos de ancoragem dessas moléculas em substratos modelo de SiO₂, bem como a interação com moléculas de água. Cabe ressaltar que a aplicação dos descritores computacionais neste tipo de estudo é inédita e apresenta grande potencial para prever compostos otimizados e guiar estudos experimentais.

1.2. Materiais e métodos

1.2.1. Materiais

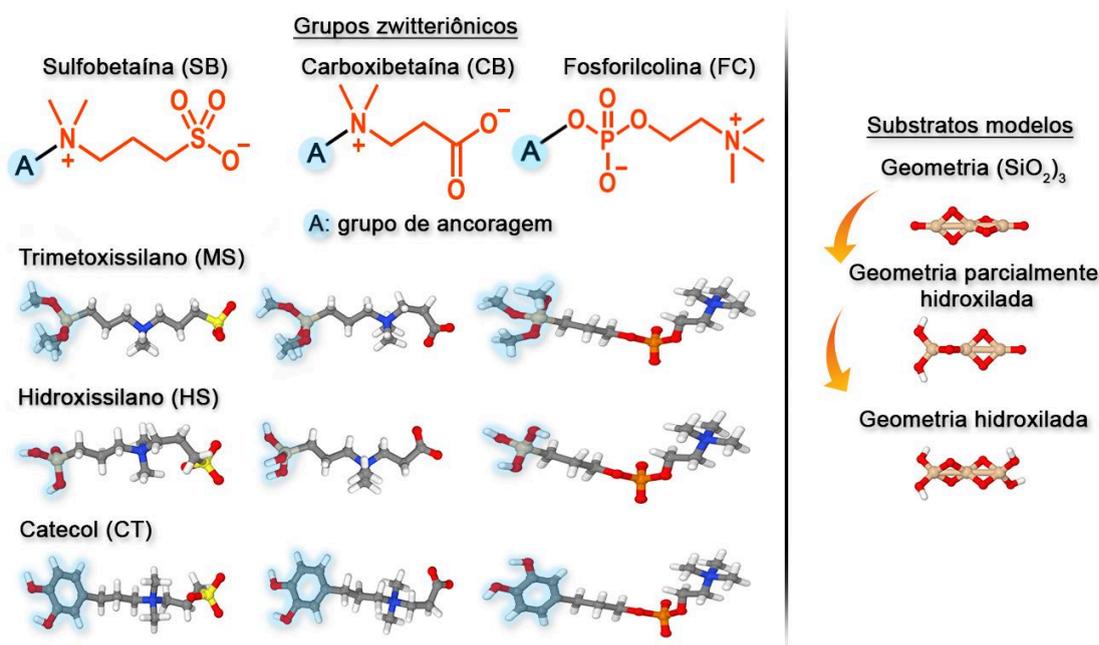
A Figura 1.1 apresenta a estrutura básica dos compostos aqui estudados. Três grupos zwitteriônicos distintos foram selecionados com base em sua alta capacidade de introduzir biocompatibilidade e propriedades anti-incrustantes (CHEN et al., 2005c; SHAO; JIANG, 2015): sulfobetaina (SB), carboxibetaina (CB) e fosforilcolina (FC). Além disso, dois grupos funcionais foram escolhidos como grupos de ancoragem (A): trimetoxissilano (MS) e catecol (CT), que são comumente usados para ancoragem em superfícies de óxidos metálicos (PUJARI et al., 2014). Os grupos de ancoragem e os grupos zwitteriônicos foram espaçados por uma cadeia linear simples de três carbonos.

Estudos na literatura têm demonstrado que, durante o processo de funcionalização da superfície por um grupo silano, parte desse grupo (organossilanos) se hidrolisa, resultando em estruturas com terminações -OH, também conhecidas como hidroxissilanos ($R-Si(OH)_3$). Após este processo de hidrólise, os grupos terminais interagem com a superfície hidroxilada de óxidos (por exemplo, TiO_2 e SiO_2) por meio de ligações de hidrogênio e, subsequentemente, formam ligações covalentes por mecanismos de condensação (PUJARI et al., 2014). Assim, para melhor compreensão desse processo, também foi considerada a presença de grupo de ancoragem hidroxissilano (HS).

Uma estrutura modelo de sílica foi estudada separadamente e também ligada aos grupos de ancoragem. Isso foi realizado para investigar a influência do substrato na reatividade do composto e obter detalhes sobre o processo de ancoragem e estabilidade. O SiO_2 foi selecionado para este estudo preliminar devido ao seu amplo uso como substrato para

ancoragem de biomoléculas (PUJARI et al., 2014). Com o objetivo de reproduzir algumas propriedades eletrônicas básicas do substrato, manter a abordagem molecular, bem como um custo computacional relativamente baixo, um cluster $(\text{SiO}_2)_3$ foi utilizado como modelo de sílica, conforme proposto por Nayak e colaboradores (NAYAK et al., 1998). Como a presença de grupos hidroxilas é esperada em interações óxido-água (HANAWA, 2011), estes foram incluídos nos oxigênios não passivados para simular estruturas com distintas configurações: *i*) parcialmente hidroxiladas (hidroxilas em apenas uma extremidade) e *ii*) hidroxilados (hidroxilas em ambas as extremidades) (ver Figura 1.1).

Figura 1.1. – Representação dos grupos zwitteriônicos sulfobetaina (SB), carboxibetaina (CB) e fosforilcolina (FC); e a molécula final, com grupos de ancoragem (A) e espaçadores (cadeia linear de três carbonos). Os substratos modelos utilizados neste trabalho também são exibidos à direita.



Fonte: Adaptado de (GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021).

1.2.2. Metodologia

Todas as estruturas foram construídas com o auxílio dos pacotes computacionais Gabedit (ALLOUCHE, 2011), Molden 5.0 (SCHAFTENAAR; NOORDIK, 2000) e Gaussview (KEITH; MILLAM, 2016). Após a construção das estruturas, pré-otimizações das geometrias foram realizadas em uma abordagem Hartree-Fock com aproximação semi-empírica PM6, com auxílio do pacote computacional MOPAC2016 (STEWART, 2016).

As estruturas obtidas foram então otimizadas por meio de cálculos de estrutura eletrônica baseados na teoria do funcional da densidade (DFT) com o auxílio do pacote computacional Gaussian 16 (FRISCH et al., 2016). O funcional híbrido de correlação e troca B3LYP (BECKE, 1993; LEE; YANG; PARR, 1988; STEPHENS et al., 1994; VOSKO; WILK; NUSAIR, 2011) e o conjunto de base *double zeta* polarizada, 6-31G(d, p) foram empregados. Como as moléculas estudadas apresentam sua forma zwitteriônica em meio aquoso ou fisiológico (para determinados valores de pH), foi necessário simular a presença de solvente (água). Para tanto, o modelo contínuo polarizável (PCM) (TOMASI; MENNUCCI; CAMMI, 2005) foi empregado em todos os cálculos. Apesar de sua simplicidade, o PCM apresenta uma interessante relação custo-benefício, sendo empregado com sucesso no estudo de sistemas zwitteriônicos (CARICATO; MENNUCCI; TOMASI, 2006; GUEVARA-LEVEL et al., 2019; PEDONE; BARONE, 2010; WU; GAO; ZHENG, 2019).

As reatividades locais das moléculas foram avaliadas para identificar interações relevantes com substrato de SiO₂ e moléculas de água. Para este propósito, índices de Fukui condensados aos átomos (IFCA) (YANG; PARR, 1985; YANG; MORTIER, 1986) foram estimados para identificar quais sítios moleculares são propensos a interagir com agentes externos eletrofílicos (f^-) e nucleofílicos (f^+). Apesar de sua simplicidade, estes índices

forneem informações significativas sobre a reatividade de moléculas e polímeros (ALVES et al., 2020; LASCANE et al., 2020; LASCANE; OLIVEIRA; BATAGIN-NETO, 2020; MAIA; VENTORIM; BATAGIN-NETO, 2019; MANDÚ; BATAGIN-NETO, 2018; PLÁCIDO et al., 2020). A carga de partição de Hirshfield foi usada para obter as populações eletrônicas para evitar valores negativos dos IFCA (PROFT et al., 2002; ROY; PAL; HIRAO, 1999). Todos os cálculos foram realizados com auxílio do pacote computacional Gaussian 16 (FRISCH et al., 2016).

Para melhor estimar as interações entre as moléculas zwitteriônicas e substrato/água, foram avaliados os valores de maciez química local dos compostos. Nesse sentido, os IFCA permitem a identificação de tendências locais de inserção/remoção de elétrons nas/das moléculas, definindo uma ferramenta adequada para o estudo da reatividade intramolecular. Para a análise das interações intermoleculares, os IFCA são escalonados pela maciez química global dos compostos (S), resultando na maciez química atômica (local, s^+ e s^-). De acordo com o princípio de ácidos-bases duros-moles (HSAB) (PEARSON, 1963), as interações eletrofílica/nucleofílica e radical/radical são favorecidas quando os átomos envolvidos apresentam maciez química semelhante. Assim, é possível avaliar as reações/interações mais relevantes apenas pela comparação desses descritores (ALVES et al., 2020; MAIA; VENTORIM; BATAGIN-NETO, 2019).

O mapeamento do potencial eletrostático (MPE) foi obtido via esquema de partição de carga CHelp (CHIRLIAN; FRANCL, 1987) com o auxílio do pacote computacional Gaussian 16 (FRISCH et al., 2016).

1.3. Resultados e discussões

1.3.1. Reatividade das moléculas zwitteriônicas

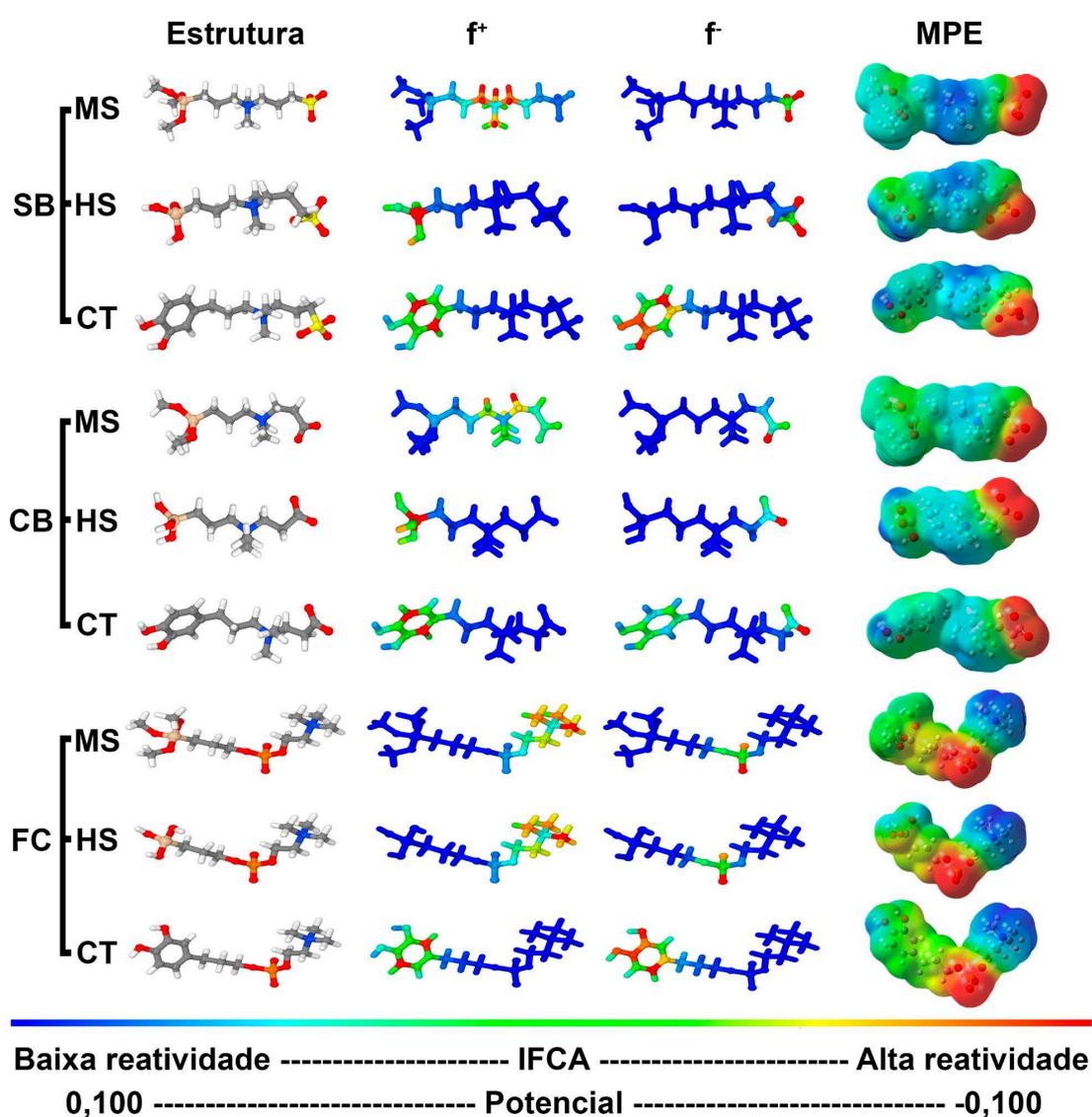
O estudo da reatividade das moléculas zwitteriônicas foi inicialmente realizado para investigar se as regiões reativas são consistentes com os centros de adsorção típicos da molécula nos substratos. Além disso, a hidratação dos grupos zwitteriônicos também foi investigada.

A Figura 1.2 mostra os mapas coloridos IFCA e MPE. As cores azul e vermelha indicam, respectivamente, sítios de baixa reatividade (carregados positivamente) e alta reatividade (carregados negativamente). As demais cores indicam regiões com reatividades (concentração de carga) intermediárias seguindo uma escala RGB. Cada molécula tem sua própria escala de cores para IFCA (reatividade intramolecular), enquanto uma mesma faixa de escala é usada para os MPEs para fins de comparação. Em geral, os IFCA indicam interações envolvendo os orbitais de fronteira em relação às espécies nucleofílicas (f^+) e eletrofílicas (f^-). Tais interações são comumente definidas como interações “*soft-soft*”, uma vez que estão associadas a deformações nos orbitais de fronteira, induzidas por espécies externas. Por outro lado, o MPE ilustra possíveis interações eletrostáticas, conhecidas como interações “*hard-hard*” com pouca deformação dos orbitais eletrônicos (MELIN et al., 2004).

Pela Figura 1.2, é possível observar que as moléculas contendo o grupo de ancoragem MS apresentam alta reatividade centrada nos grupos zwitteriônicos, com altos valores de f^+ nas regiões positivamente carregadas ($(N-(CH_3)_2)^+$ groups) e altos valores de f^- em torno das porções negativamente carregadas (grupos $(SO_3)^-$, $(COO)^-$ e $(PO_4)^-$). Resultados

semelhantes são observados para os sistemas FC-HS. Para os demais sistemas é possível observar um deslocamento da reatividade para os grupos de ancoragem.

Figura 1.2. – Estruturas, mapas de reatividade IFCA (f^+ e f^-) e MPE dos grupos zwitteriônicos sulfobetaina (SB), carboxibetaina (CB) e fosforilcolina (FC) ligados aos grupos ancoradores trimetoxissilano (MS), hidroxissilano (HS) e catecol (CT).



Fonte: Adaptado de (GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021).

Em particular, é possível observar um deslocamento da alta reatividade de f^+ dos sistemas MS-SB e MS-CB para o grupo de ancoragem em HS-SB e HS-CB. Esses efeitos são seguidos por uma ligeira mudança de cargas negativas para os grupos de ancoragem e evidenciam que a hidrólise do grupo MS é um fator chave para conduzir o processo de ancoragem das moléculas zwitteriônicas à base de silano (interação eletrostática *hard-hard* do grupo de ancoragem com as superfícies de óxido seguido pela formação de ligações covalentes por meio de interações *soft-soft*). Além disso, isso sugere que o descritor f^+ pode indicar a existência de interações efetivas das moléculas com os substratos para a formação de ligações covalentes. Nenhuma grande mudança foi observada para sistemas baseados em FC, sugerindo uma dificuldade adicional para a ancoragem de sistemas MS-FC em substratos.

Os resultados obtidos para todos os sistemas baseados em CT evidenciam alta reatividade nos anéis catecol para ambos os descritores, f^+ e f^- , os quais dominam a reatividade para a maioria dos sistemas, exceto para CT-CB. Esses resultados sugerem que, independentemente do caráter do substrato (eletrofílico ou nucleofílico), interações químicas efetivas devem ocorrer através do anel catecol, especialmente para CT-SB e CT-FC. De fato, derivados de catecol, incluindo dopamina, são responsáveis pela formação de modos de ligação biomimética em uma variedade de superfícies (FAN et al., 2005; KIM et al., 2011).

A ligeira densidade de carga positiva nos grupos hidroxila do catecol pode conduzir a adsorção inicial nas superfícies do óxido. Esta característica, associada à alta reatividade nesses grupos (principalmente ligada a f^-), poderia explicar a efetiva ancoragem desses grupos. Os resultados obtidos para a CT também estão de acordo com as observações experimentais de grupos poliméricos multifuncionais altamente reticulados formados por

meio do processo oxidativo de grupos catecol em solução (interações eletrofílicas-nucleofílicas efetivas) (HARRINGTON et al., 2010; SEVER et al., 2004). Nesse contexto, dependendo das condições experimentais, a formação de retículos poderia dificultar a obtenção de monocamadas adequadas sobre os substratos, como já relatado (MALISOVA et al., 2010; RODENSTEIN et al., 2010).

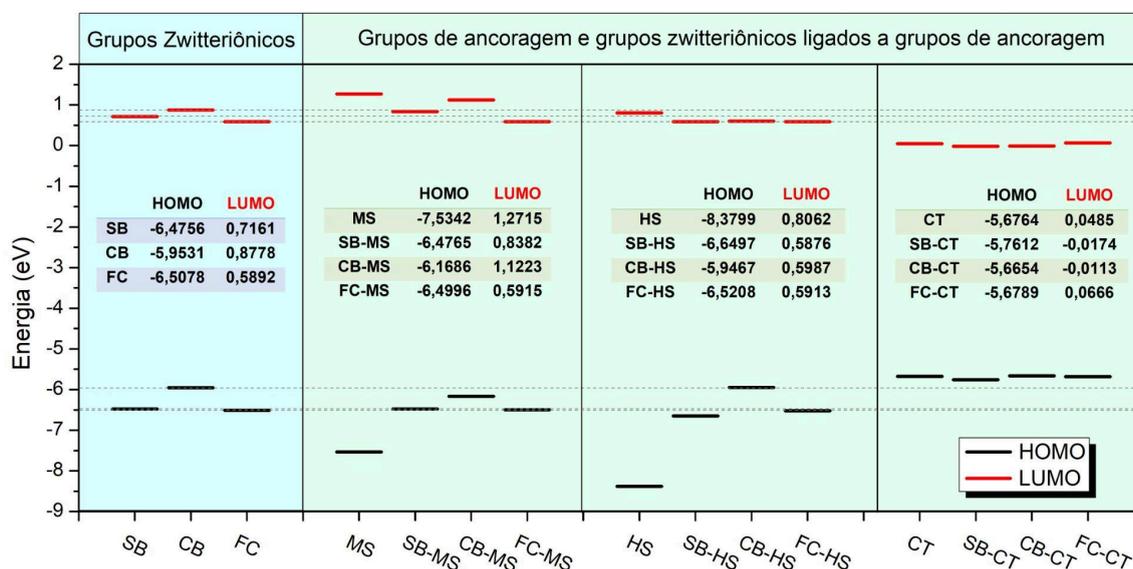
Apesar de desempenhar um papel relevante na reatividade dos compostos, os grupos de ancoragem têm pouca influência nas distribuições de MPE, de forma que a mesma tendência é observada para todos os sistemas: alta densidade de elétrons nas frações negativas dos compostos (grupos $(\text{SO}_3)^-$, $(\text{COO})^-$ e $(\text{PO}_4)^-$) e baixa densidade de elétrons espalhados em torno de porções positivamente carregadas e grupos de ancoragem. Entre os grupos zwitteriônicos, o CB mostra regiões positivas mais espalhadas na estrutura, enquanto o FC apresenta maior concentração nos grupos $(\text{N}-(\text{CH}_3)_2)^+$. Essa concentração de carga nos grupos zwitteriônicos pode estar diretamente ligada à forte hidratação dessas moléculas (K et al., 2015; KITANO et al., 2002, 2005a, 2005b; TADA et al., 2009). Nesse contexto, os resultados mostram uma interação preferencial das moléculas de água com as porções negativas de SB e CB, e uma interação ambipolar com FC.

É conhecido que os IFCA estão relacionados com a distribuição espacial dos orbitais moleculares de fronteira (OMF) nas moléculas, ou seja, valores de f^- (f^+) mais elevados são obtidos para átomos que contribuem mais significativamente para o HOMO (LUMO) (YANG; PARR, 1985; YANG; MORTIER, 1986). Portanto, em princípio, é possível prever a posição dos sítios reativos considerando a contribuição dos blocos de construção das moléculas (ALVES et al., 2018). Nesse sentido, os níveis de energia dos OMF dos grupos de ancoragem isolados (A) e zwitteriônicos (Z) foram avaliados e comparados com as moléculas

completas A+Z (ou seja, com base no grupo de ancoragem + espaçador + grupo zwitteriônico) conforme ilustrado na Figura 1.3. Nesse estudo, os fragmentos (grupos isolados) foram passivados por grupos metil.

Note que E_{HOMO} e E_{LUMO} do MS situam-se “fora” da faixa ocupada pelos níveis de OMF de todos os grupos zwitteriônicos (ou seja, apresenta altos valores de E_{LUMO} e baixos valores de E_{HOMO}). Devido a esta característica, os OMF da molécula A-Z resultante são dominados pelos grupos zwitteriônicos, e, portanto, os locais mais reativos estão localizados sobre estas regiões (ver Fig. 2).

Figura 1.3. – Valores E_{HOMO} e E_{LUMO} dos grupos zwitteriônicos (SB, CB e FC), grupos de ancoragem (MS, HS e CT) e as moléculas zwitteriônicas resultantes (totais).



Fonte: Adaptado de (GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021).

Ao substituir o grupo de ancoragem MS pelo HS nota-se uma redução do E_{HOMO} e E_{LUMO} . Em particular, o E_{LUMO} de HS está próximo daqueles dos grupos zwitteriônicos, especialmente SB e CB, o que pode explicar a mudança de reatividade (f^+) para o grupo silano em HS-SB e HS-CB. A ausência de efeitos significativos na reatividade do HS-FC pode estar associada aos valores de E_{LUMO} ligeiramente mais baixos de FC em relação ao SB e CB.

A partir da avaliação dos níveis de energia dos OMF do grupo CT, é possível entender porque todas as moléculas zwitteriônicas baseadas em CT apresentam alta reatividade nas unidades de ancoragem. O CT apresenta o maior E_{HOMO} e o menor E_{LUMO} em relação aos grupos zwitteriônicos, dominando a reatividade dos compostos. Em particular, a proximidade entre os valores E_{HOMO} de CB e CT explica porque a molécula CB-CT apresenta valores de f^- elevados no grupo zwitteriônico.

Em resumo, é importante enfatizar que as configurações eletrônicas dos sistemas podem ser entendidas em termos dos níveis de energia de seus blocos de construção, de modo que a posição dos locais reativos pode ser prevista a partir dos alinhamentos relativos dos OMF. Esta abordagem define uma forma interessante e promissora para o *design* de sistemas otimizados de ancoragem/zwitteriônicos.

1.3.2. Afinidade química entre moléculas zwitteriônicas e sistemas modelo de SiO_2

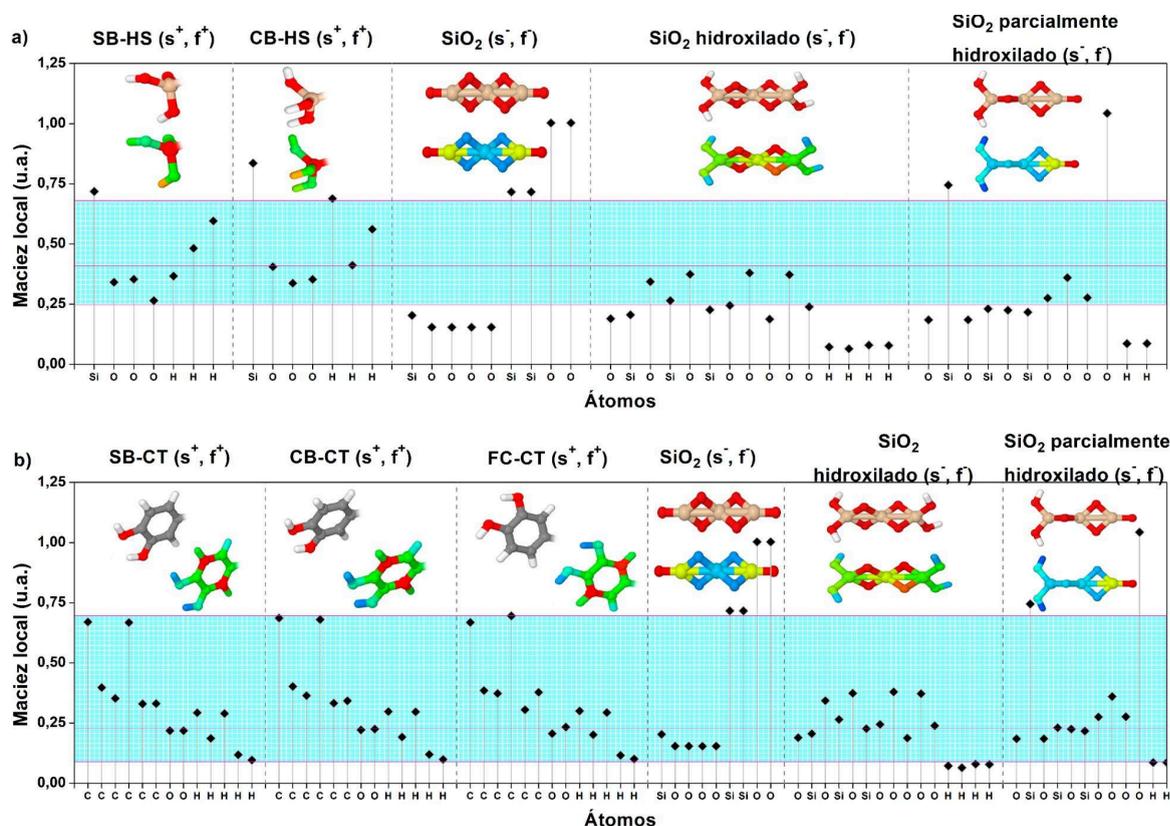
Conforme discutido na Seção 1.3.1, a análise dos IFCA sugere que os índices f^+ carregam informações relevantes sobre o processo de ancoragem de moléculas zwitteriônicas nos substratos. Para melhor investigar essa questão, a afinidade química entre essas espécies

foi avaliada pela comparação da maciez química local (princípio HSAB) (CHIRLIAN; FRANCL, 1987). Para este propósito, uma estrutura modelo reduzida de SiO_2 (e seus derivados hidrogenados) foi considerada (NAYAK et al., 1998), a fim de se manter uma mesma abordagem molecular para o ancorante e substrato. O grupo HS à base de silano foi considerado ao invés do MS, uma vez que espera-se que o ancorante se encontre nesta configuração durante a reação com o substrato.

As Figuras 1.4a-b mostram a análise comparativa entre a maciez local das moléculas SB-HS, CB-HS, SB-CT, CB-CT e FC-CT em relação aos modelos de substrato de SiO_2 (formas não modificadas, hidroxiladas e parcialmente hidroxiladas). A molécula FC-HS não foi avaliada devido à maior reatividade nas regiões zwitteriônicas em vez dos grupos de ancoragem. Para facilitar a visualização, são mostrados apenas os respectivos grupos de ancoragem de cada molécula (as geometrias completas das moléculas zwitteriônicas são mostradas na Figura 1.2).

De acordo com a Figura 1.4a, é possível observar que, apesar da alta reatividade do átomo de Si do hidroxisilano, ele não apresenta afinidade química significativa com os átomos de oxigênio dos substratos. Por outro lado, os grupos hidroxila (do hidroxisilano) apresentam maior afinidade química com as regiões centrais do substrato modelo de SiO_2 hidroxilado. Para a estrutura de SiO_2 parcialmente hidroxilada, observa-se que a afinidade química se estende desde a região central até a terminação hidroxilada. A estrutura de SiO_2 não hidroxilada não apresenta afinidade química relevante com o grupo hidroxisilano.

Figura 1.4. – Análise comparativa entre a maciez local de a) SB-HS (s^+ , f^+), CB-HS (s^+ , f^+); b) SB-CT (s^+ , f^+), CB-CT (s^+ , f^+) e FC-CT (s^+ , f^+) em relação aos sistemas modelo de SiO_2 (s^-). Os mapas coloridos dos IFCA ($f^{+/-}$) também estão mostrados.



Fonte: Adaptado de (GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021).

Na Figura 1.4b, é possível observar a presença de dois átomos de carbono muito reativos na estrutura do catecol. Embora esses átomos apresentem alguma afinidade química com os átomos de silício mais reativos (do substrato não hidroxilado), também é possível notar a ausência de afinidade química entre os átomos de oxigênio do substrato e os átomos de hidrogênio do grupo de ancoragem. Portanto, uma reação entre esses átomos seria improvável de acontecer. Por outro lado, observa-se que os grupos -OH apresentam afinidade

química com os grupos hidroxila dos substratos (total e parcialmente) hidroxilados. Como visto anteriormente nos MPEs, é razoável supor que grupos -OH do catecol interagem com os grupos hidroxila dos substratos por meio de interações eletrostáticas para posterior formação de ligações químicas via reações de condensação (LOVE et al., 2005; PUJARI et al., 2014). De fato, a presença de grupos hidroxila e acúmulo de cargas nas superfícies dos óxidos desempenham um papel importante em diversos processos de adsorção, especialmente para a quimissorção de polímeros e proteínas, bem como a imobilização de moléculas orgânicas, como os compostos zwitteriônicos (GOMES et al., 2019, 2020; HANAWA, 2011).

1.3.3. Estabilidade química das moléculas zwitteriônicas ligadas ao substrato de SiO₂

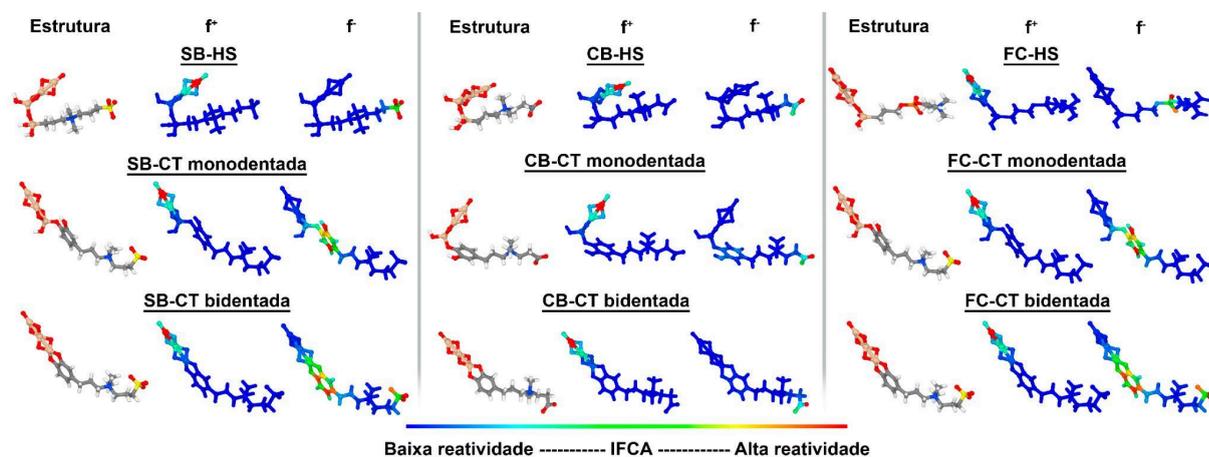
Pela Figura 1.4, pode-se notar que os grupos de ancoragem HS e CT (exceto FC-HS) apresentam alta afinidade química com os substratos modelo, principalmente em relação às geometrias parcialmente hidroxiladas e hidroxiladas. Nesta seção, foi avaliada a reatividade das moléculas zwitteriônicas ancoradas aos átomos de Si dos modelos de substrato (nas extremidades hidroxiladas da geometria parcialmente hidroxilada) para avaliar a estabilidade química das estruturas resultantes.

A Figura 1.5 mostra o IFCA das moléculas zwitteriônicas SB-HS, CB-HS, FC-HS, SB-CT, CB-CT e FC-CT ancoradas ao sistema modelo SiO₂. Ligações monodentadas e bidentadas foram testadas para CT.

Compostos baseados em HS apresentam baixa reatividade em torno da região de ancoragem, sugerindo que as ligações molécula-substrato são estáveis. Embora a ligação da molécula de FC-HS através do grupo de ancoragem seja improvável de ocorrer, a ligação

formada é estável. Todos os sistemas apresentam altos valores de f^- nas estruturas zwitteriônicas (especificamente na porção negativamente carregada).

Figura 1.5. – Estrutura e IFCA (f^+ e f^-) das moléculas zwitteriônicas contendo os grupos de ancoragem HS e CT ligados na extremidade hidroxilada do SiO_2 .



Fonte: Adaptado de (GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021).

Os CTs mono e bidentados apresentam alta estabilidade nos centros de ancoragem (em relação a f^+). Padrões distintos são notados para f^- , dependendo do grupo zwitteriônico: *i*) alta reatividade no anel catecol para SB e na porção zwitteriônica negativa para ligação bidentada; *ii*) alta reatividade na porção negativa do CB; *iii*) alta reatividade na porção negativa do FC e também no anel catecol para sistema monodentado. A alta reatividade no anel catecol pode ser ligada aos grupos poliméricos multifuncionais altamente reticulados comumente observados no substrato para este grupo de ancoragem (HARRINGTON et al., 2010; SEVER et al., 2004). Curiosamente, o grupo CT não é muito reativo nas moléculas

CB-CT, dada a proximidade dos níveis de HOMO dos constituintes, conforme mostrado na Figura 1.3.

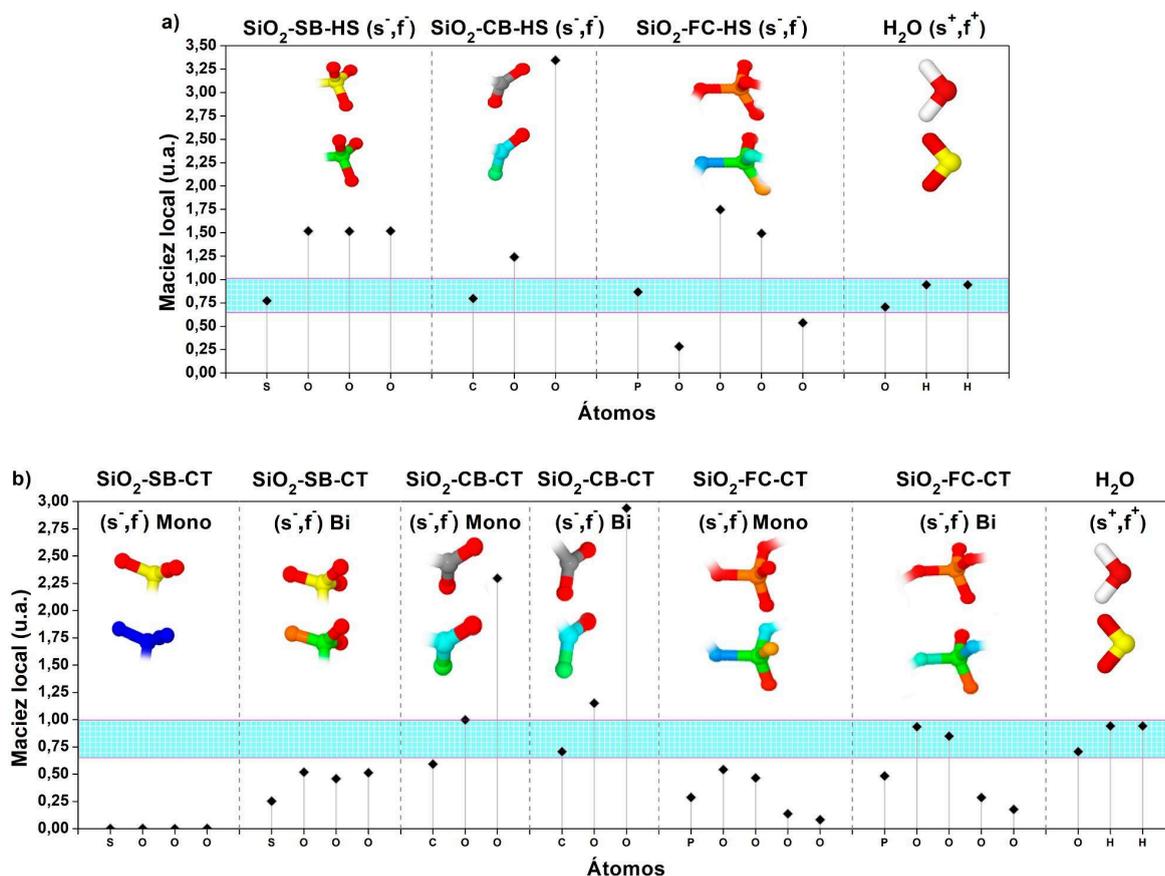
Os resultados demonstram a relevância dos descritores f^+ (e s^+) não apenas para o estudo da afinidade química dos grupos de ancoragem, mas também como indicadores de estabilidade química das moléculas/substratos, o que é relevante para orientar as práticas experimentais.

1.3.4. Afinidade química entre moléculas zwitteriônicas ancoradas em SiO_2 e água

Uma vez que várias moléculas apresentaram alta reatividade nas porções negativas dos grupos zwitteriônicos (em relação à f^-), uma análise adicional de maciez química foi realizada para investigar a afinidade desses grupos com as moléculas de água. Para tanto, os valores de maciez local (s^-) dos grupos zwitteriônicos ancorados no substrato modelo de SiO_2 foram comparados com os valores de s^+ associados aos átomos de água, os resultados são mostrados na Figura 1.6a-b.

É possível notar que o átomo de enxofre de SiO_2 -SB-HS apresenta alta afinidade química com o átomo de oxigênio da água. Porém, também é observado que este átomo está estericamente protegido pelos átomos de oxigênio a ele ligados. Uma vez que esses oxigênios não apresentam afinidade considerável pela molécula de água, eles tenderiam a evitar uma possível reação química com o enxofre, preservando a forma zwitteriônica da molécula. Situação semelhante também é observada para SiO_2 -FC-HS, em relação ao átomo de fósforo.

Figura 1.6. – Análise comparativa entre a maciez local das frações negativas dos grupos zwitteriônicos para a) $\text{SiO}_2\text{-SB-HS}$ (s^-), $\text{SiO}_2\text{-CB-HS}$ (s^-), $\text{SiO}_2\text{-FC-HS}$ (s^-); b) $\text{SiO}_2\text{-SB-CT}$ (s^-), $\text{SiO}_2\text{-CB-CT}$ (s^-) e FC-CT (s^-) em relação ao H_2O (s^+). Os mapas coloridos IFCA ($f^{+/}$) também são mostrados.



Fonte: Adaptado de (GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021).

No caso do $\text{SiO}_2\text{-CB-HS}$, os átomos de carbono e oxigênio do grupo $-\text{COO}^-$ apresentam alta afinidade com os átomos de oxigênio e hidrogênio da água, respectivamente, o que sugere a possibilidade de formação de $-\text{COOH}$, principalmente em pHs baixos. A análise do IFCA, sugere uma alta estabilidade na porção positiva da molécula zwitteriônica após o processo de ancoragem, indicando que mudanças parciais de carga poderiam ser ligadas apenas às regiões negativas das moléculas. De fato, tal perda/mudança parcial de

carga é observada em sistemas zwitteriônicos, sendo conhecida como comutação reversível, e pode comprometer a função anti-incrustante dessas moléculas (SUNDARAM et al., 2013). Sabe-se que o sangue humano é levemente alcalino (pH = 7,4) (HERMANSEN; OSNES, 1972), o que pode favorecer a estabilidade do grupo -COO^- e garantir, em algum grau, a aplicabilidade dos sistemas zwitteriônicos como modificadores de superfície eficazes.

A possibilidade de comutação reversível também é observada para $\text{SiO}_2\text{-CB-CT}$ mono e bidentado e $\text{SiO}_2\text{-FC-CT}$ bidentado (Figura 1.6b). As porções negativas de $\text{SiO}_2\text{-SB-CT}$ mono e bidentado e $\text{SiO}_2\text{-FC-CT}$ monodentado não apresentaram afinidade química substancial com moléculas de água, especialmente $\text{SiO}_2\text{-SB-CT}$ monodentado.

Os resultados apresentados acima destacam a relevância dos descritores f^- (e s^-) na avaliação da reatividade/afinidade química de moléculas zwitteriônicas e água. Em particular, é possível avaliar casos em que a capacidade anti-incrustante dos sistemas pode ser prejudicada por processos de comutação reversível.

1.4. Conclusões

As reatividades locais das moléculas zwitteriônicas, sistemas substratos modelo de SiO_2 e moléculas de água foram avaliadas para melhor compreender os processos de ancoragem e adsorção, bem como a estabilidade química de sistemas anti-incrustantes baseados em espécies zwitteriônicas.

Os resultados indicam que descritores eletrônicos simples podem ser usados para entender o comportamento de moléculas zwitteriônicas distintas contendo diferentes blocos de construção (unidades de ancoragem e grupos zwitteriônicos), em termos de afinidade com

o substrato, estabilidade de ancoragem e interação com moléculas de água. Os resultados também sugerem que o processo de ancoragem de moléculas zwitteriônicas em superfícies de óxido pode ser avaliado pela análise de descritores f^+ (e s^+) enquanto índices f^- (e s^-) carregam informações relevantes sobre a interação moléculas/água e estabilidade do composto.

Além disso, foi mostrado que a reatividade local dos compostos pode ser projetada considerando o alinhamento relativo dos OMF das unidades que os compõem (unidades de ancoragem + grupo zwitteriônico), o que define uma rota promissora para a proposição de materiais otimizados.

Referências

ALDENHOFF, Y. B. J.; KOOLE, L. H. Platelet adhesion studies on dipyridamole coated polyurethane surfaces. **European Cells & Materials**, v. 5, p. 61–67; discussion 67, 30 jun. 2003.

ALLOUCHE, A.-R. Gabedit—A graphical user interface for computational chemistry softwares. **Journal of Computational Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 174–182, 2011.

ALVES, G. G. B. et al. Molecular modeling of low bandgap diblock co-oligomers with π -bridges for applications in photovoltaics. **Computational Materials Science**, v. 152, p. 12–19, 1 set. 2018.

ALVES, G. G. B. et al. Reactivity of eumelanin building blocks: A DFT study of monomers and dimers. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 98, p. 107609, 1 jul. 2020.

AVCI-ADALI, M.; ZIEMER, G.; WENDEL, H. P. Induction of EPC homing on biofunctionalized vascular grafts for rapid in vivo self-endothelialization — A review of current strategies. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 1, p. 119–129, 1 jan. 2010.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1 abr. 1993.

RATNER, B. D. et al. Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine. [s.l.] **Academic Press**, 2012.

BRASH, J. L. Exploiting the current paradigm of blood–material interactions for the rational design of blood-compatible materials. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 11, n. 11, p. 1135–1146, 1 jan. 2000.

CARICATO, M.; MENNUCCI, B.; TOMASI, J. Solvent polarity scales revisited: a ZINDO-PCM study of the solvatochromism of betaine-30. **Molecular Physics**, v. 104, n. 5–7, p. 875–887, 10 mar. 2006.

CHEN, H. et al. Surface properties of PEO–silicone composites: reducing protein adsorption. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 16, n. 4, p. 531–548, 1 jan. 2005a.

CHEN, H. et al. Protein repellent silicone surfaces by covalent immobilization of poly(ethylene oxide). **Biomaterials**, v. 26, n. 15, p. 2391–2399, 1 maio 2005b.

CHEN, H. et al. Effect of chain density and conformation on protein adsorption at PEG-grafted polyurethane surfaces. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 61, n. 2, p. 237–243, 15 fev. 2008.

CHEN, H.; BROOK, M. A.; SHEARDOWN, H. Silicone elastomers for reduced protein

adsorption. **Biomaterials**, v. 25, n. 12, p. 2273–2282, 1 maio 2004.

CHEN, S. et al. Strong Resistance of Phosphorylcholine Self-Assembled Monolayers to Protein Adsorption: Insights into Nonfouling Properties of Zwitterionic Materials. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 41, p. 14473–14478, 1 out. 2005c.

CHIRLIAN, L. E.; FRANCL, M. M. Atomic charges derived from electrostatic potentials: A detailed study. **Journal of Computational Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 894–905, 1987.

FAN, X. et al. Biomimetic anchor for surface-initiated polymerization from metal substrates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 45, p. 15843–15847, 16 nov. 2005.

FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 16**. Wallingford CT: Gaussian, Inc., 2016.

GOMES, O. P. et al. 3-Mercaptopropionic acid functionalization of titanium dioxide thin films. **Materials Chemistry and Physics**, v. 223, p. 32–38, 1 fev. 2019.

GOMES, O. P. et al. A novel BSA immobilizing manner on modified titanium surface ameliorates osteoblast performance. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 190, p. 110888, 1 jun. 2020.

GOMES, O. P.; BATAGIN-NETO, A.; LISBOA-FILHO, P. N. The evaluation of anchoring processes and chemical stability of zwitterionic molecules via local reactivity indexes. **Computational Materials Science**, v. 193, p. 110418, 1 jun. 2021.

GORBET, M. B.; SEFTON, M. V. Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. **Biomaterials**, v. 25, n. 26, p. 5681–5703, 1 nov. 2004.

GUEVARA-LEVEL, P. et al. First principles investigation of the spectral properties of

neutral, zwitterionic, and bis-cationic azaacenes. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 21, n. 41, p. 22910–22918, 24 out. 2019.

HANAWA, T. A comprehensive review of techniques for biofunctionalization of titanium. **Journal of Periodontal & Implant Science**, v. 41, n. 6, p. 263–272, dez. 2011.

HARRINGTON, M. J. et al. Iron-clad fibers: a metal-based biological strategy for hard flexible coatings. **Science (New York, N.Y.)**, v. 328, n. 5975, p. 216–220, 9 abr. 2010.

HERMANSEN, L.; OSNES, J. B. Blood and muscle pH after maximal exercise in man. **Journal of Applied Physiology**, v. 32, n. 3, p. 304–308, 1 mar. 1972.

KAWANISHI, H. et al. High-Performance Membrane Dialyzers. [s.l.] **Karger Medical and Scientific Publishers**, 2011.

HIRSH JACK et al. Guide to Anticoagulant Therapy: Heparin. **Circulation**, v. 103, n. 24, p. 2994–3018, 19 jun. 2001.

IRFAN, M.; IDRIS, A. Overview of PES biocompatible/hemodialysis membranes: PES–blood interactions and modification techniques. **Materials Science and Engineering: C**, v. 56, p. 574–592, 1 nov. 2015.

ISHIHARA, K. et al. Reduced thrombogenicity of polymers having phospholipid polar groups. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 24, n. 8, p. 1069–1077, 1990.

ISHIHARA, K. et al. Hemocompatibility of human whole blood on polymers with a phospholipid polar group and its mechanism. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 26, n. 12, p. 1543–1552, dez. 1992.

JOHNSON, D. W. et al. A randomized controlled trial of topical exit site mupirocin

application in patients with tunneled, cuffed haemodialysis catheters. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 17, n. 10, p. 1802–1807, 1 out. 2002.

K, N. et al. Water structure at the interfaces between a zwitterionic self-assembled monolayer/liquid water evaluated by sum-frequency generation spectroscopy. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 135, p. 267–273, 29 jul. 2015.

KEITH, T. A.; MILLAM, J. M. **GaussView**. Shawnee Mission, KS: Semichem Inc., 2016.

KIM, B. H. et al. Mussel-inspired block copolymer lithography for low surface energy materials of teflon, graphene, and gold. **Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)**, v. 23, n. 47, p. 5618–5622, 15 dez. 2011.

KITANO, H. et al. Hydrogen-Bonded Network Structure of Water in Aqueous Solution of Sulfobetaine Polymers. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 106, n. 43, p. 11391–11396, 1 out. 2002.

KITANO, H. et al. Structure of Water Incorporated in Sulfobetaine Polymer Films as Studied by ATR-FTIR. **Macromolecular Bioscience**, v. 5, n. 4, p. 314–321, 2005a.

KITANO, H. et al. Correlation between the Structure of Water in the Vicinity of Carboxybetaine Polymers and Their Blood-Compatibility. **Langmuir**, v. 21, n. 25, p. 11932–11940, 1 dez. 2005b.

KUDAIBERGENOV, S.; JAEGER, W.; LASCHEWSKY, A. Polymeric Betaines: Synthesis, Characterization, and Application. Em: **Supramolecular Polymers Polymeric Betains Oligomers**. Advances in Polymer Science. Berlin, Heidelberg: Springer, 2006. p. 157–224.

LASCANE, L. G. et al. Polyfuran-based chemical sensors: Identification of promising

derivatives via DFT calculations and fully atomistic reactive molecular dynamics. **European Polymer Journal**, v. 141, p. 110085, 5 dez. 2020.

LASCANE, L. G.; OLIVEIRA, E. F.; BATAGIN-NETO, A. Polyfuran-based chemical sensors: reactivity analysis via Fukui indexes and reactive molecular dynamics. **MRS Advances**, v. 5, n. 10, p. 497–503, 1 fev. 2020.

LASCHEWSKY, A. et al. Characterization of sulfobetaine monomers by nuclear magnetic resonance spectroscopy: a note. **Polymer**, v. 36, n. 15, p. 3045–3049, 1 jan. 1995.

LASTER, J.; SILVER, D. Heparin-coated catheters and heparin-induced thrombocytopenia. **Journal of Vascular Surgery**, v. 7, n. 5, p. 667–672, 1 maio 1988.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785–789, 15 jan. 1988.

LI, D.; CHEN, H.; BRASH, J. L. Mimicking the fibrinolytic system on material surfaces. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 86, n. 1, p. 1–6, 1 ago. 2011.

LI, J. et al. A fine pointed glucose oxidase immobilized electrode for low-invasive amperometric glucose monitoring. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 86, p. 90–94, 15 dez. 2016.

LI, J. et al. A novel natural hirudin facilitated anti-clotting polylactide membrane via hydrogen bonding interaction. **Journal of Membrane Science**, v. 523, p. 505–514, 1 fev. 2017.

LI, X. et al. Block Copolymer Modified Surfaces for Conjugation of Biomacromolecules with

Control of Quantity and Activity. **Langmuir**, v. 29, n. 4, p. 1122–1128, 29 jan. 2013.

LIU, X. et al. Blood compatible materials: state of the art. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, n. 35, p. 5718–5738, 13 ago. 2014.

LOVE, J. C. et al. Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 4, p. 1103–1169, abr. 2005.

LOWE, A. B.; BILLINGHAM, N. C.; ARMES, S. P. Synthesis of polybetaines with narrow molecular mass distribution and controlled architecture. **Chemical Communications**, n. 13, p. 1555–1556, 1 jan. 1996.

MAIA, R. A.; VENTORIM, G.; BATAGIN-NETO, A. Reactivity of lignin subunits: the influence of dehydrogenation and formation of dimeric structures. **Journal of Molecular Modeling**, v. 25, n. 8, p. 228, 17 jul. 2019.

MALISOVA, B. et al. Poly(ethylene glycol) Adlayers Immobilized to Metal Oxide Substrates Through Catechol Derivatives: Influence of Assembly Conditions on Formation and Stability. **Langmuir**, v. 26, n. 6, p. 4018–4026, 16 mar. 2010.

MANDÚ, L. O.; BATAGIN-NETO, A. Chemical sensors based on N-substituted polyaniline derivatives: reactivity and adsorption studies via electronic structure calculations. **Journal of Molecular Modeling**, v. 24, n. 7, p. 157, 9 jun. 2018.

MCCLUNG, W. G. et al. Interactions of fibrinolytic system proteins with lysine-containing surfaces. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 66A, n. 4, p. 795–801, 2003.

MELIN, J. et al. Is the Fukui Function a Right Descriptor of Hard–Hard Interactions? **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 108, n. 13, p. 2487–2491, 1 abr. 2004.

MURUGESAN, S.; XIE, J.; LINHARDT, R. J. Immobilization of Heparin: Approaches and Applications. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 8, n. 2, p. 80–100, 2008.

NAYAK, S. K. et al. Atomic and electronic structure of neutral and charged SinOm clusters. **The Journal of Chemical Physics**, v. 109, n. 4, p. 1245–1250, 8 jul. 1998.

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 22, p. 3533–3539, 1 nov. 1963.

PEDONE, A.; BARONE, V. Unraveling solvent effects on the electronic absorption spectra of TRITC fluorophore in solution: a theoretical TD-DFT/PCM study. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 12, n. 11, p. 2722–2729, 2 mar. 2010.

PLÁCIDO, A. et al. The Antioxidant Peptide Salamandrin-I: First Bioactive Peptide Identified from Skin Secretion of Salamandra Genus (*Salamandra salamandra*). **Biomolecules**, v. 10, n. 4, p. 512, abr. 2020.

PROFT, F. D. et al. Atomic charges, dipole moments, and Fukui functions using the Hirshfeld partitioning of the electron density. **Journal of Computational Chemistry**, v. 23, n. 12, p. 1198–1209, 2002.

PUJARI, S. P. et al. Covalent Surface Modification of Oxide Surfaces. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 53, n. 25, p. 6322–6356, 2014.

PUOCI, F. (ED.). **Advanced Polymers in Medicine**. [s.l.] Springer International Publishing, 2015.

RATNER, B. D. Blood compatibility--a perspective. **Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition**, v. 11, n. 11, p. 1107–1119, 2000.

RATNER, B. D. The catastrophe revisited: Blood compatibility in the 21st Century. **Biomaterials**, Festschrift honouring Professor David F. Williams. v. 28, n. 34, p. 5144–5147, 1 dez. 2007.

RATNER, B. D.; BRYANT, S. J. Biomaterials: Where We Have Been and Where We Are Going. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 6, n. 1, p. 41–75, 16 jul. 2004.

RODENSTEIN, M. et al. Fabricating Chemical Gradients on Oxide Surfaces by Means of Fluorinated, Catechol-Based, Self-Assembled Monolayers. **Langmuir**, v. 26, n. 21, p. 16211–16220, 2 nov. 2010.

ROY, R. K.; PAL, S.; HIRAO, K. On non-negativity of Fukui function indices. **The Journal of Chemical Physics**, v. 110, n. 17, p. 8236–8245, 22 abr. 1999.

SCHAFTENAAR, G.; NOORDIK, J. H. Molden: a pre- and post-processing program for molecular and electronic structures*. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 14, n. 2, p. 123–134, 1 fev. 2000.

SCHOPKA, S. et al. Current Strategies in Cardiovascular Biomaterial Functionalization. **Materials**, v. 3, n. 1, p. 638–655, jan. 2010.

SEVER, M. J. et al. Metal-mediated cross-linking in the generation of a marine-mussel adhesive. **Angewandte Chemie (International Ed. in English)**, v. 43, n. 4, p. 448–450, 16 jan. 2004.

SHAO, Q. et al. Difference in Hydration between Carboxybetaine and Sulfobetaine. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 49, p. 16625–16631, 16 dez. 2010.

SHAO, Q. et al. Different effects of zwitterion and ethylene glycol on proteins. **The Journal**

of **Chemical Physics**, v. 136, n. 22, p. 225101, 11 jun. 2012.

SHAO, Q. et al. Differences in Cationic and Anionic Charge Densities Dictate Zwitterionic Associations and Stimuli Responses. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 24, p. 6956–6962, 19 jun. 2014.

SHAO, Q.; HE, Y.; JIANG, S. Molecular Dynamics Simulation Study of Ion Interactions with Zwitterions. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 25, p. 8358–8363, 30 jun. 2011.

SHAO, Q.; JIANG, S. Influence of Charged Groups on the Properties of Zwitterionic Moieties: A Molecular Simulation Study. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 27, p. 7630–7637, 10 jul. 2014.

SHAO, Q.; JIANG, S. Molecular Understanding and Design of Zwitterionic Materials. **Advanced Materials**, v. 27, n. 1, p. 15–26, 2015.

STEPHENS, P. J. et al. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623–11627, 1 nov. 1994.

STEWART, J. J. P. **MOPAC2016**. Colorado Springs, CO, USA: Stewart Computational Chemistry, 2016.

SUNDARAM, H. S. et al. Reversibly switchable polymer with cationic/zwitterionic/anionic behavior through synergistic protonation and deprotonation. **Chemical Science**, v. 5, n. 1, p. 200–205, 26 nov. 2013.

TADA, S. et al. Anti-biofouling properties of polymers with a carboxybetaine moiety.

Macromolecular Bioscience, v. 9, n. 1, p. 63–70, 9 jan. 2009.

TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 8, p. 2999–3094, 1 ago. 2005.

VOSKO, S. H.; WILK, L.; NUSAIR, M. Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. **Canadian Journal of Physics**, 11 fev. 2011.

WANG, Y.-X. et al. Effects of the Chemical Structure and the Surface Properties of Polymeric Biomaterials on Their Biocompatibility. **Pharmaceutical Research**, v. 21, n. 8, p. 1362–1373, 1 ago. 2004.

WU, A.; GAO, Y.; ZHENG, L. Zwitterionic amphiphiles: their aggregation behavior and applications. **Green Chemistry**, v. 21, n. 16, p. 4290–4312, 12 ago. 2019.

YANG, W. et al. Pursuing “Zero” Protein Adsorption of Poly(carboxybetaine) from Undiluted Blood Serum and Plasma. **Langmuir**, v. 25, n. 19, p. 11911–11916, 6 out. 2009.

YANG, W.; PARR, R. G. Hardness, softness, and the Fukui function in the electronic theory of metals and catalysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 82, n. 20, p. 6723–6726, 1 out. 1985.

YANG, WEITAO.; MORTIER, W. J. The use of global and local molecular parameters for the analysis of the gas-phase basicity of amines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 108, n. 19, p. 5708–5711, 1 set. 1986.

YANG, Z. et al. Direct thrombin inhibitor-bivalirudin functionalized plasma polymerized allylamine coating for improved biocompatibility of vascular devices. **Biomaterials**, v. 33, n.

32, p. 7959–7971, nov. 2012.

YE, S.-H. et al. Surface Modification of a Biodegradable Magnesium Alloy with Phosphorylcholine (PC) and Sulfobetaine (SB) Functional Macromolecules for Reduced Thrombogenicity and Acute Corrosion Resistance. **Langmuir**, v. 29, n. 26, p. 8320–8327, 2 jul. 2013.

ZHANG, Z. et al. Nonfouling Behavior of Polycarboxybetaine-Grafted Surfaces: Structural and Environmental Effects. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 10, p. 2686–2692, 13 out. 2008.

CAPÍTULO 2

2. Estudo da hidroxilação de nanoclusters de SiO₂ via índices de reatividade local

2.1. Introdução

Envolvidos em processos de modificação de superfície (PUJARI et al., 2014), os grupos hidroxila (OH) podem existir espontaneamente ou não nas superfícies de vários óxidos (ARMISTEAD et al., 1969; HANAWA, 2011; TAMURA et al., 2001). Estudos ao longo dos anos mostram uma variedade de técnicas e abordagens para controlar, melhorar a formação desses grupos OH em superfícies e até mesmo prevenir sua formação espontânea (ASAKUMA et al., 2003; HASHIMOTO; IRIE; FUJISHIMA, 2005; LOHBAUER et al., 2008; SNEH; GEORGE, 1995; TAMURA et al., 2001). A quantidade de procedimentos envolvendo hidroxilas é significativa, pois pode ser usada em combinação para as mais diversas aplicações, como em processos catálise/fotocatalíticos (HASHIMOTO; IRIE; FUJISHIMA, 2005; IDE; DAVIS, 2014; ROBERT; MALATO, 2002), controle da molhabilidade superficial (GENTLEMAN; RUUD, 2010) e sítios de ancoragem para funcionalização de superfícies (PUJARI et al., 2014), que é de grande interesse em áreas de pesquisa para biomateriais/implantes (GOMES et al., 2019, 2020).

O estudo de grupos OH em superfícies de óxidos é relatado desde a década de 1960 (ARMISTEAD et al., 1969) e os resultados desses trabalhos pioneiros têm sido utilizados para aplicações variadas, conforme descrito anteriormente. Esses grupos podem estar naturalmente presentes em superfícies ou serem adicionados por meio de processos químicos ou físicos externos (HANAWA, 2011; TAMURA et al., 2001). Em geral, os grupos hidroxila são criados em uma superfície devido à dissociação da água. Neste processo, a molécula H₂O

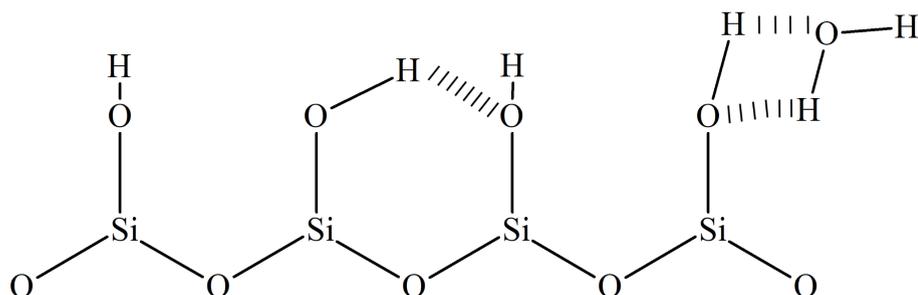
é dividida em espécies OH^- e H^+ (TAMURA et al., 2001). As espécies OH^- adsorvem no metal ou nos átomos metalóides, enquanto as H^+ se ligam aos oxigênios expostos. As moléculas de água envolvidas neste processo podem estar presentes no ar ou em uma solução. A formação de hidroxilas nas superfícies é, geralmente, dependente do número total de defeitos (ARMISTEAD et al., 1969; DU; CORMACK, 2005; RIMSZA; DU, 2015) e independente da valência do metal ou metalóide, uma vez que diferentes óxidos apresentam níveis de hidroxilação semelhantes (TAMURA et al., 2001).

Dentre os óxidos disponíveis, a sílica (SiO_2) é um dos materiais mais abundantes na superfície da Terra e o mais estudado por sua hidroxilação e outras características (ARMISTEAD et al., 1969; DU; CORMACK, 2005; RIMSZA; DU, 2015). Devido à sua abundância, baixo custo e propriedades de interesses diversos, cientistas e engenheiros estudaram extensivamente a sílica e sistemas relacionados ao silício (BUNKER, 1994; FOGARTY et al., 2010; ILER, 1979; KURKJIAN; KRAUSE; PAEK, 1982). Diversos estudos foram conduzidos para compreender a química interfacial de sistemas de sílica/água, como o papel das ligações silício-hidroxila nas propriedades interfaciais (GAIGEOT; SPRIK; SULPIZI, 2012; PUJARI et al., 2014; SULPIZI; GAIGEOT; SPRIK, 2012) e o efeito de tensões de tração ou compressão nas reações sílica/água (HE et al., 2008).

No processo de hidroxilação do SiO_2 , a hidrólise da água é iniciada pela fisissorção das moléculas de água na superfície da sílica, seguida pela separação da água e quimisorção dos grupos hidroxila (ARMISTEAD et al., 1969; FOGARTY et al., 2010). Após a hidroxilação, a sílica torna-se silanol (Si-OH), que pode existir em três formas diferentes (Figura 2.1). As hidroxilas modificam significativamente as propriedades da superfície devido à sua capacidade única de formar redes de ligações de hidrogênio, permitindo uma variedade

de aplicações (ARMISTEAD et al., 1969; MICHALSKE; FREIMAN, 1982; PUJARI et al., 2014).

Figura 2.1 – Conformação de grupos hidroxila na superfície de sílica.



Fonte: Adaptado de (GOMES et al., 2022).

Embora o processo de hidroxilação da superfície da sílica seja bem conhecido, tanto do ponto de vista experimental, quanto teórico (ARMISTEAD et al., 1969; DU; CORMACK, 2005; FOGARTY et al., 2010; GIERADA et al., 2016; HAIR; HERTL, 1969; TIELENS et al., 2020; YEON; VAN DUIN, 2016; ZHDANOV; KOSHELEVA; TITOVA, 1987), a maioria dos estudos teóricos são baseados em abordagens computacionalmente caras, envolvendo sistemas periódicos estendidos (DU; CORMACK, 2005; MANKAD; JHA, 2016; RIMSZA; DU, 2015). Visando contornar tal aspecto, no presente trabalho é proposto o uso de uma abordagem baseada em DFT de baixo custo (baseado em estruturas moleculares) para avaliar a reatividade local de sistemas modelo $(\text{SiO}_2)_n$ simplificados e interpretar mecanismos envolvidos na hidroxilação de SiO_2 em nanoescala.

Para tanto, descritores eletrônicos baseados em índices de Fukui condensados aos átomos (IFCA), maciez química local e mapas de potencial eletrostático (MPE) foram avaliados no âmbito da teoria funcional da densidade (DFT) para investigar detalhes sobre as interações óxido-água, enquanto que simulações de dinâmica molecular reativa atomística (DMRA) foram conduzidas para validar os resultados de DFT e avaliar os processos de adsorção em sistemas mais extensos. Os resultados obtidos sugerem que o uso de tais descritores permite a identificação de interações relevantes de SiO₂-água, bem como mecanismos associados à hidroxilação da sílica em soluções aquosas. Em particular, a partir de simulações DMRA é possível notar isso (YEON; VAN DUIN, 2016). Nesse aspecto, a abordagem proposta pode ser empregada para revisar e interpretar uma série de dados experimentais, bem como indicar uma abordagem promissora para o estudo de sistemas similares.

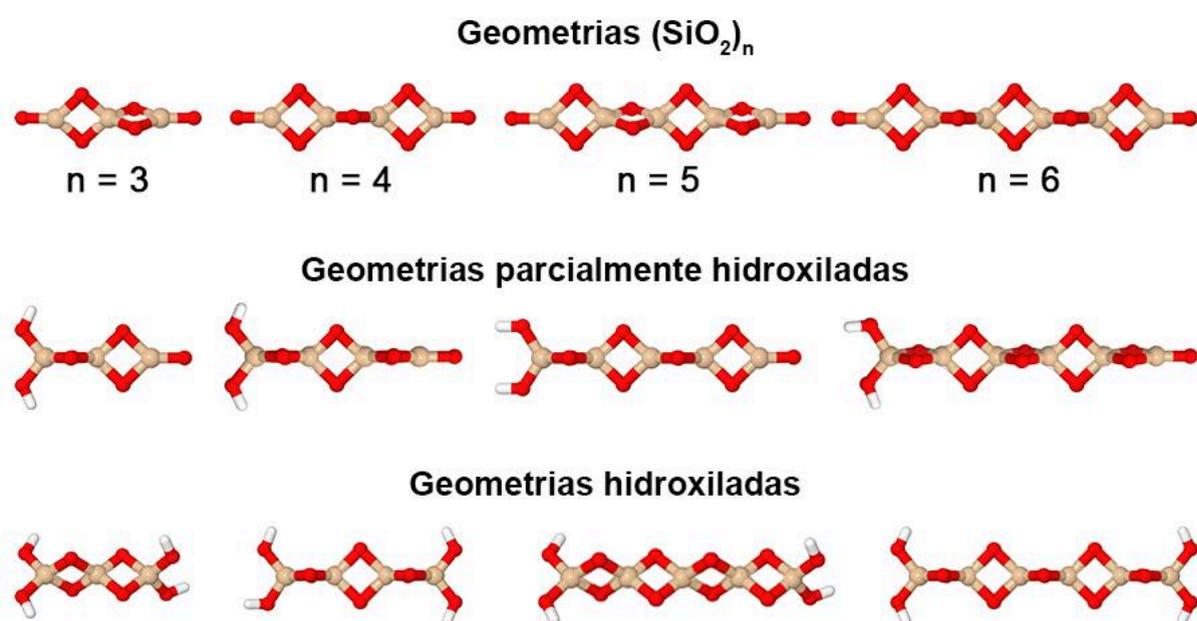
2.2. Materiais e métodos

2.2.1. Construção do modelo (SiO₂)_n e suas modificações

Com o objetivo de reproduzir algumas propriedades eletrônicas básicas do substrato e manter uma abordagem molecular de custos computacionais razoáveis, clusters (SiO₂)_n simplificados foram construídos como estruturas modelo de sílica (para n = 3, 4, 5 e 6), conforme proposto por Nayak *et al.* (NAYAK *et al.*, 1998) (Figura C.2). Grupos hidroxila terminais foram incluídos nos oxigênios não passivados para simular estruturas hidroxiladas (esperadas das interações óxido-água), no sentido de se formar estruturas com diferentes configurações (ARMISTEAD *et al.*, 1969; TAMURA *et al.*, 2001): *i*) parcialmente

hidroxiladas (grupos OH em uma extremidade) e *ii*) totalmente hidroxiladas (OH em ambas extremidades) (ver Figura 2.2). Vale ressaltar que, embora o processo de hidroxilação seja amplamente conhecido na literatura, a abordagem computacional utilizada aqui é inédita.

Figura 2.2 – Geometrias de equilíbrio $(\text{SiO}_2)_n$ (com n variando de 3 a 6) para geometrias não hidroxiladas, parcialmente hidroxiladas e totalmente hidroxiladas. Geometrias otimizadas por meio da teoria do funcional da densidade (DFT).



Fonte: Adaptado de (GOMES et al., 2022).

2.2.2. Métodos computacionais

As geometrias iniciais foram construídas com o auxílio dos pacotes computacionais Gabedit (ALLOUCHE, 2011), Molden 5.0 (SCHAFTENAAR; NOORDIK, 2000) e Gaussview (KEITH; MILLAM, 2016). As moléculas foram então pré-otimizadas em uma abordagem Hartree-Fock com o Hamiltoniano semiempírico PM6, implementado no pacote

computacional MOPAC2016 (STEWART, 2016). As estruturas obtidas foram posteriormente otimizadas numa abordagem baseada naDFT, com o auxílio do pacote computacional Gaussian 16 (FRISCH et al., 2016). Foi utilizado o funcional híbrido de troca e correlação B3LYP (BECKE, 1993; LEE; YANG; PARR, 1988; STEPHENS et al., 1994; VOSKO; WILK; NUSAIR, 2011) e o conjunto de bases *double zeta* polarizadas 6-31G(d,p) foi empregado para todos os átomos. Como o processo de hidroxilação ocorre na presença de moléculas de água (líquido ou vapor) (ARMISTEAD et al., 1969; HANAWA, 2011; TAMURA et al., 2001), a presença desse solvente foi simulada via modelo contínuo polarizável (PCM) (TOMASI; MENNUCCI; CAMMI, 2005). Apesar de sua simplicidade, o PCM apresenta uma relação custo-benefício razoável, sendo empregado com sucesso no estudo dos mais diversos sistemas baseados em SiO₂ (GALYŃSKA; PERSSON, 2014; GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021; MADHAN KUMAR et al., 2015; MARTÍNEZ et al., 2017).

As reatividades locais das estruturas foram avaliadas através de índices de Fukui condensados aos átomos (IFCA) (YANG; PARR, 1985; YANG; MORTIER, 1986), no sentido de se identificar quais sítios moleculares são mais propensos a interagirem com agentes externos eletrofílicos (f^-) e nucleofílicos (f^+). Esses índices fornecem *insights* significativos sobre a reatividade de sistemas distintos (GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021; LASCANE et al., 2020; MAIA; VENTORIM; BATAGIN-NETO, 2019; PLÁCIDO et al., 2020). Para melhor estimar as interações entre as estruturas à base de SiO₂ e as moléculas de água, a maciez química local ($s^{+/-}$) dos compostos também foi avaliada.

Para validar e complementar a análise DFT, estudos adicionais de adsorção foram conduzidos por meio de simulações de dinâmica molecular reativa atomística (DMRA),

considerando a interação entre o substrato cristalino SiO_2 e as moléculas de água (Figura 2.6b). Para tanto, foram construídas e inseridas em água duas estruturas diferentes de 5×5 α -quartzo (001): *i*) contendo apenas um átomo de oxigênio ligado ao átomo de Si na superfície (Si não passivado) e *ii*) contendo dois átomos de oxigênio ligados ao Si (Si passivado). A superfície não passivada foi construída para reproduzir os sítios terminais dos modelos $(\text{SiO}_2)_n$.

O número de moléculas de água na caixa de simulação foi estimado a partir das condições normais de pressão e temperatura, considerando um volume pré-definido de um sistema hexagonal ($a=b=24,58 \text{ \AA}$ e $c=24,89 \text{ \AA}$) (ver Figura 2.6a). Foi permitida a evolução dos sistemas à temperatura ambiente considerando um *ensemble* NVT, por 0,6 ns. Durante as simulações, as moléculas de água e apenas os átomos de silício e oxigênio da superfície dos substratos puderam evoluir enquanto que os átomos mais internos do substrato foram mantidos congelados durante as simulações. A simulação da dinâmica molecular foi realizada utilizando o campo de força reativo ReaxFF (LLOYD et al., 2016), conforme implementado no pacote computacional LAMMPS (PLIMPTON, 1995), considerando um passo de tempo de 0,1 fs. Como os sistemas foram equilibrados termicamente após 0,3 ns, os valores médios foram avaliados apenas para os últimos 0,3 ns de simulação. Foram analisadas as funções radiais de distribuição de pares ($g(r)$) entre o hidrogênio da água (H_w) e oxigênio de superfície (O_{SiO_2}) e entre o oxigênio da água (O_w) e o silício de superfície (Si_{SiO_2}). Os valores de $g(r)$ foram normalizados e o ajuste da curva B-spline foi aplicado para facilitar a visualização.

Em geral, os campos de força reativa ReaxFF são desenvolvidos para simular sistemas relativamente grandes (com mais de 10^6 átomos) com custo computacional relativamente pequeno e boa precisão (LLOYD et al., 2016; PLIMPTON, 1995; YEON; VAN DUIN, 2016).

Ao contrário dos campos de força não reativos da dinâmica molecular clássica, o ReaxFF emprega um conceito dependente da ordem de ligação, permitindo a formação e quebra de ligações, que são aspectos fundamentais para o presente estudo.

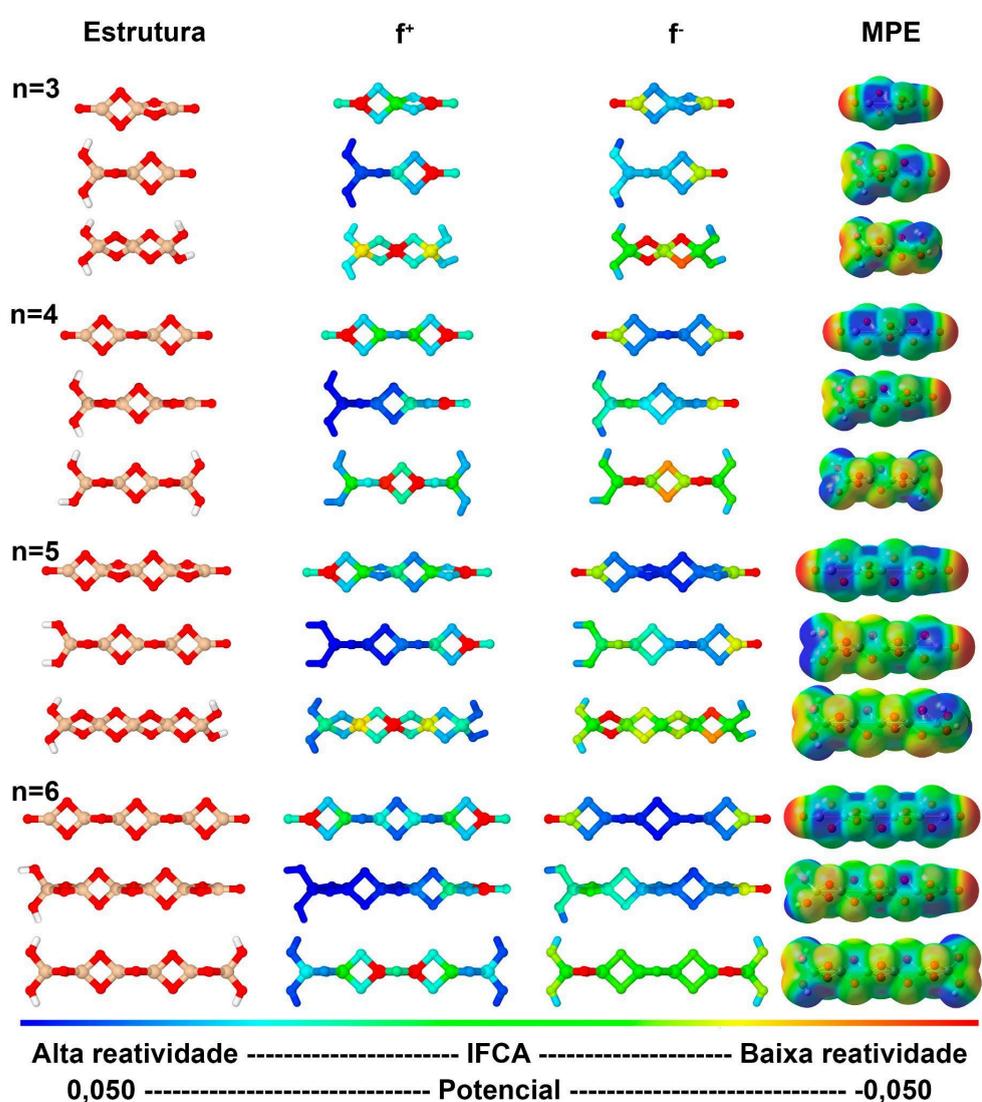
2.3. Resultados e discussões

2.3.1. Cálculos de estrutura eletrônica

As geometrias otimizadas dos clusters $(\text{SiO}_2)_n$ são apresentadas na Figura 2.2. Após as otimizações geométricas, foram realizados estudos de reatividade para identificar os sítios mais reativos nestas estruturas. Os mapas do potencial eletrostático (MPE) também foram analisados para avaliar se as regiões reativas (vindas dos IFCA) são consistentes com as posições dos centros de adsorção de água (guiados por interações eletrostáticas). De acordo com a literatura, algumas superfícies de óxidos podem reagir imediatamente com moléculas de água, tanto em soluções aquosas quanto na umidade do ar. Essa reação ocorre devido à atração de moléculas de água para a superfície do óxido, seguida pela interação por meio de ligações de hidrogênio, adsorção (hidratação) e, finalmente, a formação de grupos -OH (HANAWA, 2011; TAMURA et al., 2001).

A Figura 2.3 mostra mapas coloridos dos IFCA (e MPE). As cores azul e vermelho indicam regiões inertes (carregadas positivamente) e reativas (carregadas negativamente). As demais colorações definem regiões com reatividades (concentração de carga) intermediárias, seguindo uma escala RGB. Para fins de comparação, a mesma escala quantitativa foi utilizada para os MPE.

Figura 2.3. – Estruturas otimizadas, mapas IFCA (f^+ e f^-) e MPE de estruturas não hidroxiladas, parcialmente hidroxiladas e totalmente hidroxiladas de $(\text{SiO}_2)_n$, com n variando de 3 a 6.



Fonte: Adaptado de (GOMES et al., 2022).

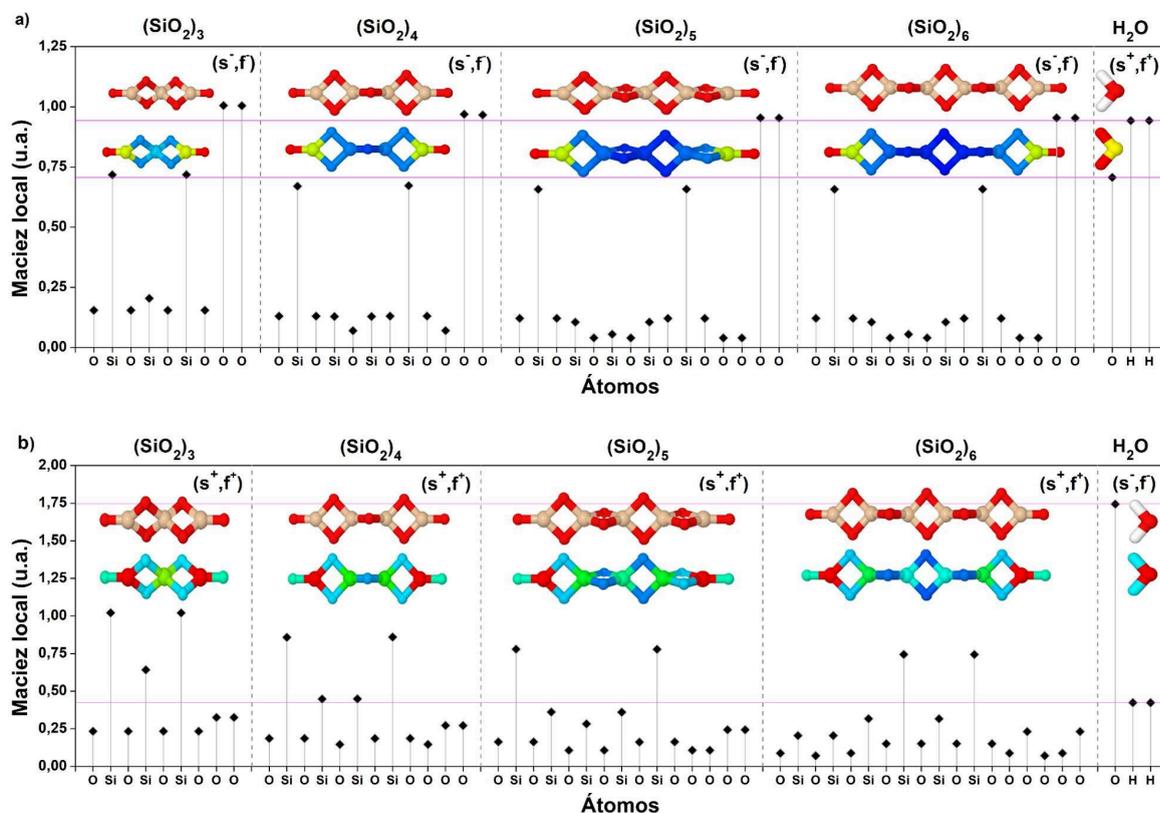
Em geral, a análise dos IFCA indica interações envolvendo os orbitais de fronteira em relação às espécies externas nucleofílicas (f^+) e eletrofílicas (f^-). Tais interações são comumente definidas como interações “*soft-soft*”, uma vez que estão associadas a

deformações nos orbitais de fronteira, frequentemente induzidas por espécies químicas externas anteriormente à reação. Por outro lado, MPE apresenta possíveis interações eletrostáticas, conhecidas como “*hard-hard*”, com pouca deformação dos orbitais eletrônicos (MELIN et al., 2004). A análise de tais índices, em conjunto, permite identificar as interações esperadas entre estruturas de $(\text{SiO}_2)_n$ e moléculas de água.

De acordo com a Figura 2.3, é possível observar alta reatividade nas ligações Si=O para todas as estruturas $(\text{SiO}_2)_n$, especialmente, em relação a f^- . De acordo com os MPE apresentados, essas regiões também possuem alta densidade eletrônica. Isso sugere que esses sítios atuam como centros de adsorção de moléculas de água (via interações eletrostáticas) que, eventualmente, podem levar à formação de grupos hidroxila. Estruturas parcial e totalmente hidroxiladas apresentam baixa reatividade em torno das hidroxilas (modelos parcialmente hidroxilados ainda mantêm alta reatividade no Si=O). Observe que as estruturas $(\text{SiO}_2)_n$ com tamanhos distintos apresentam alta reatividade nas ligações Si=O (sem forte dependência com n).

Para validar os resultados dos IFCA, foram avaliados dados de maciez local para analisar a afinidade química entre regiões reativas e moléculas de água. Estruturas com tamanhos distintos ($n = 3$ a 6) foram consideradas para identificar possíveis efeitos de saturação (ver Figura 2.4). Os respectivos mapas de reatividade são apresentados para cada índice (ou seja, f^- para s^- e f^+ para s^+). A última coluna apresenta os índices de maciez química calculados para moléculas de água, no sentido de avaliar a afinidade química de interações eletrofilicas/nucleofílicas, como descrito pelo princípio HSAB (PEARSON, 1963).

Figura 2.4 – Análise comparativa entre a estrutura $(\text{SiO}_2)_n$ com n variando de 3 a 6, para a) (s^-, f^-) e b) (s^+, f^+) em relação a H_2O a) (s^+, f^+) e b) (s^-, f^-) .

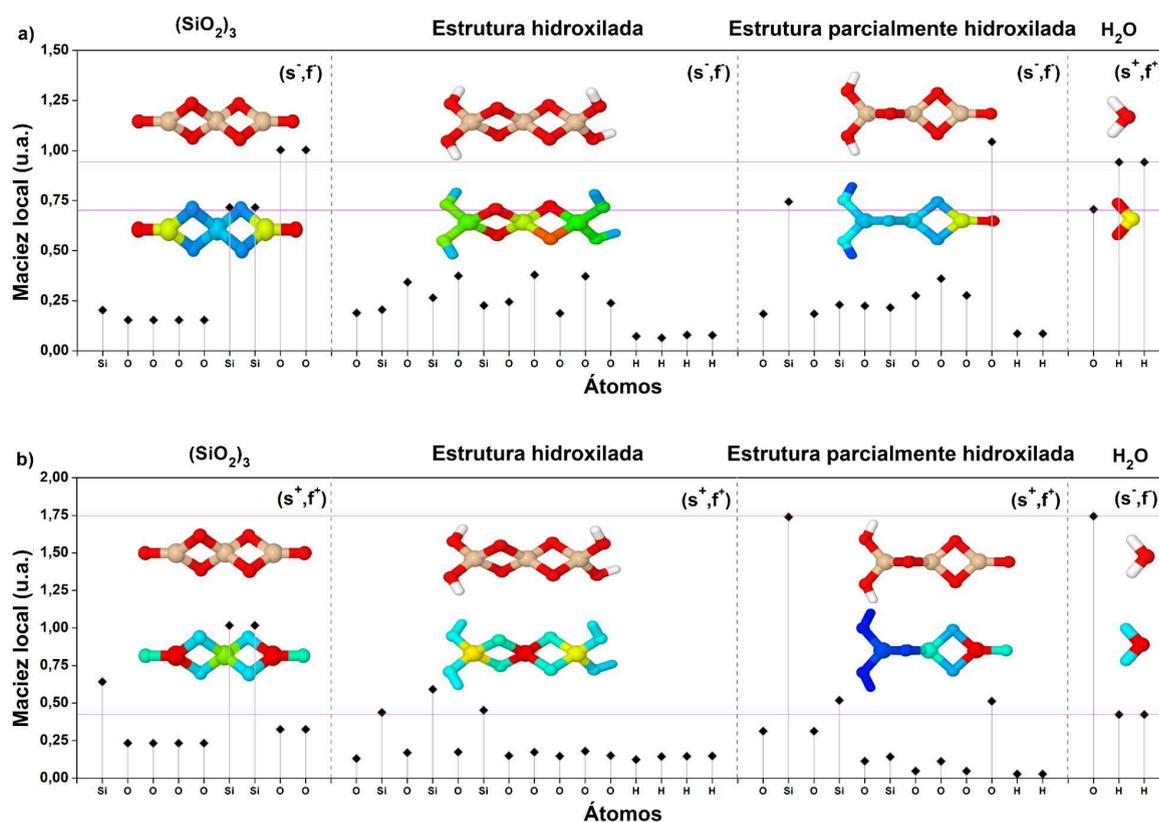


Fonte: Adaptado de (GOMES et al., 2022).

Em geral, pequenas variações de valores de s^- são perceptíveis com o aumento do número de unidades básicas de SiO_2 . Dessa forma, a simetria da estrutura otimizada e a distribuição espacial dos sítios reativos não é tão sensível a n . Os átomos terminais (ligações $\text{Si}=\text{O}$) apresentam um alto grau de similaridade (afinidade) em termos de maciez química com os átomos de água: *i*) átomos de oxigênio do SiO_2 (O_S) apresentam afinidade por átomos de hidrogênio da água (H_A), enquanto que *ii*) átomos de silício do SiO_2 (Si_S) apresentam afinidade pelo átomo de oxigênio da água (O_A). Além disso, o grau de similaridade aumenta à medida que o número de unidades de repetição de SiO_2 aumenta. Tais resultados, em conjunto

com os dados dos MPE, indicam que a região Si=O das estruturas $(\text{SiO}_2)_n$ deve reagir efetivamente com as moléculas de água, formando superfícies hidroxiladas, como previsto no processo de hidroxilação de óxido metálico descrito na literatura (ARMISTEAD et al., 1969; HANAWA, 2011; TAMURA et al., 2001).

Figura 2.5 – Análise comparativa entre a estrutura $(\text{SiO}_2)_3$, suas estruturas hidroxiladas e parcialmente hidroxiladas para a) (s^-, f^-) e b) (s^+, f^+) em relação a H_2O a) (s^+, f^+) e b) (s^-, f^-) .



Fonte: Adaptado de (GOMES et al., 2022).

Os resultados apresentados na Figura 2.4b não são tão conclusivos quanto os mostrados na Figura 2.4a. No entanto, a simetria das estruturas otimizadas e a distribuição

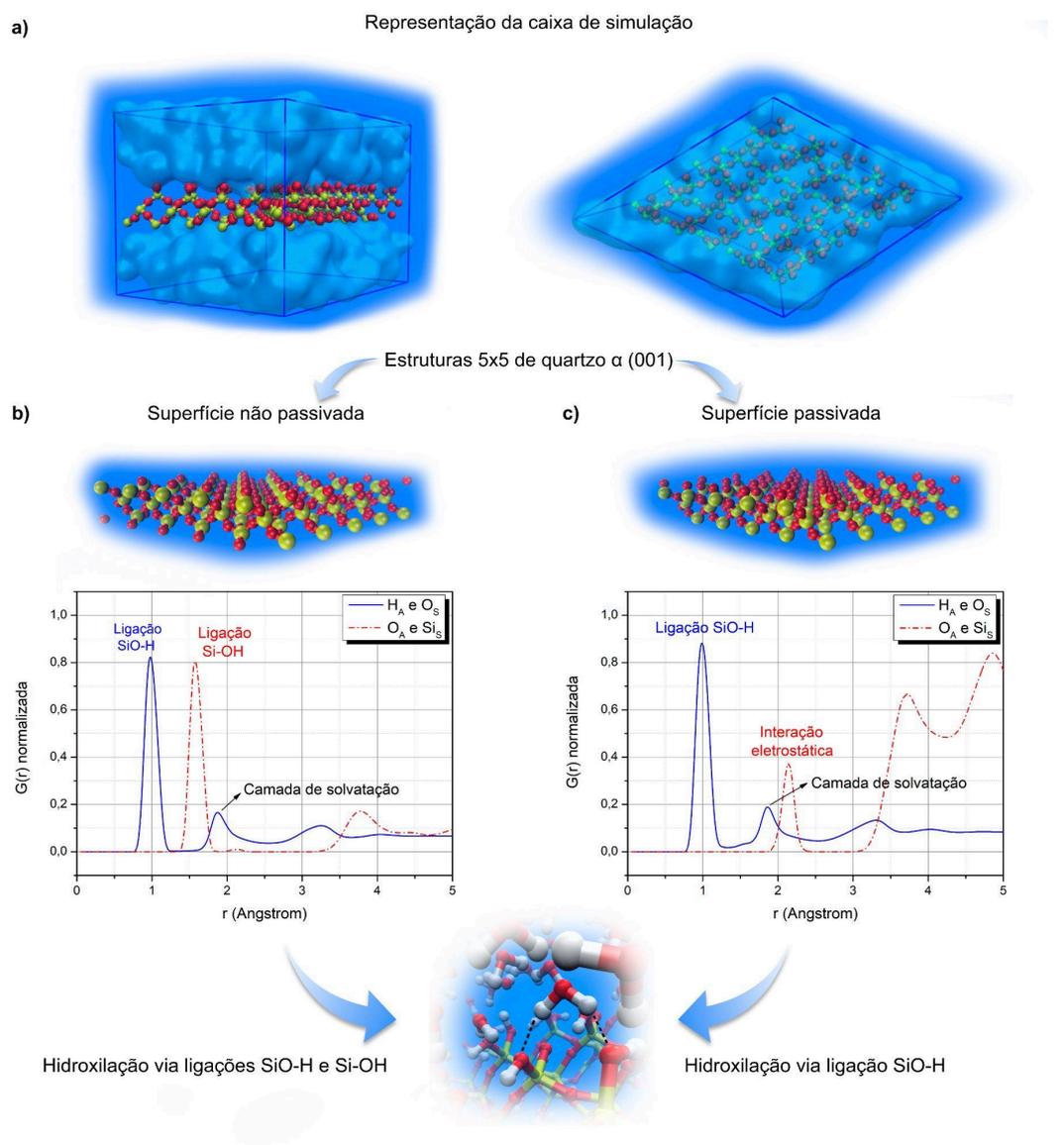
espacial dos sítios reativos são mantidas para n distintos. Tais resultados sugerem que o processo de hidroxilação do SiO_2 em água é governado pela tendência da sílica em doar elétrons (ou seja, interagir com eletrófilos).

Com o objetivo de investigar se as estruturas após o processo de hidroxilação ainda interagiriam com as moléculas de água, estudos adicionais foram realizados para análogos (parcial ou totalmente) hidroxilados do sistema modelo $(\text{SiO}_2)_3$. De acordo com a Fig. 2.5, a estrutura totalmente hidroxilada apresenta baixa afinidade química com os átomos de água, enquanto que a afinidade se mantém para as estruturas parcialmente hidroxiladas nos terminais não hidroxilados. Isso sugere que as estruturas $(\text{SiO}_2)_n$ tendem a ser totalmente hidroxiladas em água.

2.3.2. Simulações por dinâmica molecular

Simulações de dinâmica molecular reativa atomística (DMRA) foram realizadas para validar e complementar os resultados obtidos por DFT. Essas simulações também tiveram como objetivo avaliar detalhes sobre as interações químicas/eletrostáticas entre as moléculas de água e as superfícies de SiO_2 . A Figura 2.6 mostra as funções $g(r)$ para os átomos H_A e O_S e O_A e Si_S de superfícies de SiO_2 não passivadas e c) passivadas (silício ligado a dois átomos de oxigênio na superfície).

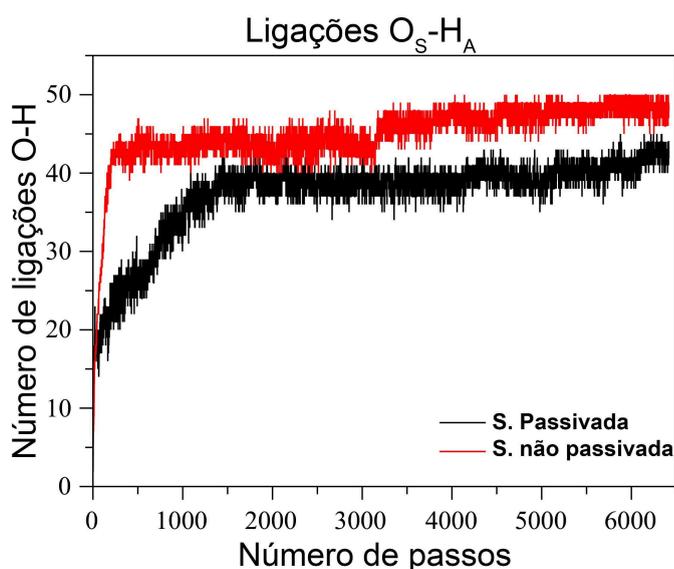
Figura 2.6 – a) Representação da caixa de simulação para cálculos DMRA. Análise da distribuição $g(r)$ normalizada, proveniente das simulações para as interações entre água e superfície de 5×5 α -quartzo (001): b) não passivada; e c) passivada .



Fonte: adaptado de (GOMES et al., 2022).

Figura 2.7 – Número de ligações $H_W-O_{SiO_2}$ formadas ao longo da simulação DMRA para as superfícies passivadas (preto) e não passivadas (vermelho) 5×5 α -quartzo (001).

Os resultados mostram que a hidroxilação ocorre em ambas as superfícies de SiO_2 . No entanto, a hidroxila da água se liga apenas ao SiO_2 não passivado. Complementarmente, a Figura 2.7 mostra que a superfície não passivada também leva a uma maior formação de ligações $\text{H}_A\text{-O}_S$ quando comparada à passivada. Portanto, a superfície não passivada do SiO_2 reage com a água em uma reação completa, ou seja, OH^- se liga ao átomo de Si_S enquanto H^+ se liga ao O_S , semelhante às geometrias $(\text{SiO}_2)_n$ avaliadas neste trabalho. Assim, apesar da simplicidade dos clusters $(\text{SiO}_2)_n$, eles definem modelos condizentes para a avaliação dos processos de hidroxilação do SiO_2 e podem ser considerados como modelos moleculares eficazes para a sílica, conforme mostrado no trabalho anterior (GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021).



Fonte: adaptado de (GOMES et al., 2022).

Em resumo, a análise por DMRA valida os resultados obtidos por meio dos cálculos DFT de baixo custo para a avaliação da hidroxilação de SiO_2 . Esses resultados sugerem que os IFCA e maciez local podem ser, em princípio, aplicados a outros sistemas similares ou até

mais complexos para avaliar mecanismos básicos de quimissorção em escala nanoscópica (DIAS et al., 2022).

2.4. Conclusões

A reatividade local e as propriedades eletrônicas de sistemas modelo $(\text{SiO}_2)_n$ foram avaliadas por meio de cálculos DFT para identificar características associadas a processos de hidroxilação de superfícies de SiO_2 passivadas e não passivadas em água. Simulações adicionais de DMRA foram realizadas para validar os resultados.

Os resultados obtidos sugerem que descritores eletrônicos simples podem ser usados para entender como as estruturas $(\text{SiO}_2)_n$ se comportam em termos de reatividade, afinidade química e interação com moléculas de água. Os resultados sugerem que o processo de hidroxilação de superfícies de SiO_2 pode ser avaliado pela análise de descritores f^- (e s^-) de clusters simplificados $(\text{SiO}_2)_n$. Além disso, a metodologia proposta combinada com uma abordagem estrutural adequada, abre uma rota promissora de baixo custo computacional para analisar processos de passivação e ancoragem em uma variedade de superfícies de óxidos.

Referências

- ALLOUCHE, A.-R. Gabedit—A graphical user interface for computational chemistry softwares. **Journal of Computational Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 174–182, 2011.
- ARMISTEAD, C. G. et al. Surface hydroxylation of silica. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 73, n. 11, p. 3947–3953, nov. 1969.

ASAKUMA, N. et al. Photoinduced hydroxylation at ZnO surface. **Thin Solid Films**, Proceedings of the 3rd International Symposium on Transparent Oxide Thin films for Electronics and Optics. v. 445, n. 2, p. 284–287, 15 dez. 2003.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1 abr. 1993.

BUNKER, B. C. Molecular mechanisms for corrosion of silica and silicate glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, Proceedings of the First PAC RIM Meeting on Glass and Optical Materials. v. 179, p. 300–308, 4 nov. 1994.

DIAS, L. F. G. et al. Bisphosphonates on Smooth TiO₂: Modeling and Characterization. **ChemistrySelect**, v. 7, n. 19, p. e202200286, 2022.

DU, J.; CORMACK, A. N. Molecular Dynamics Simulation of the Structure and Hydroxylation of Silica Glass Surfaces. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 88, n. 9, p. 2532–2539, 2005.

FOGARTY, J. C. et al. A reactive molecular dynamics simulation of the silica-water interface. **The Journal of Chemical Physics**, v. 132, n. 17, p. 174704, 4 maio 2010.

FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 16**. Wallingford CT: Gaussian, Inc., 2016.

GAIGEOT, M.-P.; SPRIK, M.; SULPIZI, M. Oxide/water interfaces: how the surface chemistry modifies interfacial water properties. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 24, n. 12, p. 124106, mar. 2012.

GALYŃSKA, M.; PERSSON, P. Material Dependence of Water Interactions with Metal Oxide Nanoparticles. Em: **Advances in Quantum Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2014. v. 69p. 303–332.

GENTLEMAN, M. M.; RUUD, J. A. Role of Hydroxyls in Oxide Wettability. **Langmuir**, v. 26, n. 3, p. 1408–1411, 2 fev. 2010.

- GIERADA, M. et al. Hydration in silica based mesoporous materials: a DFT model. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 48, p. 32962–32972, 7 dez. 2016.
- GOMES, O. P. et al. 3-Mercaptopropionic acid functionalization of titanium dioxide thin films. **Materials Chemistry and Physics**, v. 223, p. 32–38, 1 fev. 2019.
- GOMES, O. P. et al. A novel BSA immobilizing manner on modified titanium surface ameliorates osteoblast performance. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 190, p. 110888, 1 jun. 2020.
- GOMES, O. P. et al. Revisiting the hydroxylation phenomenon of SiO₂: a study through “hard-hard” and “soft-soft” interactions. **Journal of Molecular Modeling**, v. 28, n. 5, p. 115, 7 abr. 2022.
- GOMES, O. P.; BATAGIN-NETO, A.; LISBOA-FILHO, P. N. The evaluation of anchoring processes and chemical stability of zwitterionic molecules via local reactivity indexes. **Computational Materials Science**, v. 193, p. 110418, 1 jun. 2021.
- HAIR, M. L.; HERTL, W. Adsorption on hydroxylated silica surfaces. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 73, n. 12, p. 4269–4276, dez. 1969.
- HANAWA, T. A comprehensive review of techniques for biofunctionalization of titanium. **Journal of Periodontal & Implant Science**, v. 41, n. 6, p. 263–272, dez. 2011.
- HASHIMOTO, K.; IRIE, H.; FUJISHIMA, A. TiO₂ Photocatalysis: A Historical Overview and Future Prospects. **Japanese Journal of Applied Physics**, v. 44, n. 12R, p. 8269, 8 dez. 2005.
- HE, Y. et al. Predictive first-principles simulations of strain-induced phenomena at water-silica nanotube interfaces. **The Journal of Chemical Physics**, v. 129, n. 1, p. 011101, 2 jul. 2008.
- IDE, M. S.; DAVIS, R. J. The Important Role of Hydroxyl on Oxidation Catalysis by Gold

Nanoparticles. **Accounts of Chemical Research**, v. 47, n. 3, p. 825–833, 18 mar. 2014.

ILER, R. K. **The chemistry of silica: solubility, polymerization, colloid and surface properties, and biochemistry**. New York: Wiley, 1979.

KEITH, T. A.; MILLAM, J. M. **GaussView**. Shawnee Mission, KS: Semichem Inc., 2016.

KURKJIAN, C. R.; KRAUSE, J. T.; PAEK, U. C. Tensile strength characteristics of "perfect" silica fibers. **Le Journal de Physique Colloques**, v. 43, n. C9, p. C9-585-C9-586, dez. 1982.

LASCANE, L. G. et al. Polyfuran-based chemical sensors: Identification of promising derivatives via DFT calculations and fully atomistic reactive molecular dynamics. **European Polymer Journal**, v. 141, p. 110085, 5 dez. 2020.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785–789, 15 jan. 1988.

LLOYD, A. et al. Development of a ReaxFF potential for Ag/Zn/O and application to Ag deposition on ZnO. **Surface Science**, v. 645, p. 67–73, 1 mar. 2016.

LOHBAUER, U. et al. Hydroxylation of dental zirconia surfaces: Characterization and bonding potential. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 87B, n. 2, p. 461–467, 2008.

MADHAN KUMAR, A. et al. In-situ synthesis of hydrophobic SiO₂-PMMA composite for surface protective coatings: Experimental and quantum chemical analysis. **Polymer**, v. 77, p. 79–86, 23 out. 2015.

MAIA, R. A.; VENTORIM, G.; BATAGIN-NETO, A. Reactivity of lignin subunits: the influence of dehydrogenation and formation of dimeric structures. **Journal of Molecular Modeling**, v. 25, n. 8, p. 228, 17 jul. 2019.

MANKAD, V.; JHA, P. K. First-principles study of water adsorption on α -SiO₂ [110] surface.

AIP Advances, v. 6, n. 8, p. 085001, 1 ago. 2016.

MARTÍNEZ, J. J. et al. Reductive amination of levulinic acid to different pyrrolidones on Ir/SiO₂-SO₃H: Elucidation of reaction mechanism. **Catalysis Today**, Selected contributions of the XXV Iberoamerican Congress on Catalysis. v. 296, p. 118–126, 1 nov. 2017.

MELIN, J. et al. Is the Fukui Function a Right Descriptor of Hard–Hard Interactions? **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 108, n. 13, p. 2487–2491, 1 abr. 2004.

MICHALSKE, T. A.; FREIMAN, S. W. A molecular interpretation of stress corrosion in silica. **Nature**, v. 295, n. 5849, p. 511–512, fev. 1982.

NAYAK, S. K. et al. Atomic and electronic structure of neutral and charged Si_nO_m clusters. **The Journal of Chemical Physics**, v. 109, n. 4, p. 1245–1250, 8 jul. 1998.

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 22, p. 3533–3539, 1 nov. 1963.

PLÁCIDO, A. et al. The Antioxidant Peptide Salamandrin-I: First Bioactive Peptide Identified from Skin Secretion of Salamandra Genus (*Salamandra salamandra*). **Biomolecules**, v. 10, n. 4, p. 512, abr. 2020.

PLIMPTON, S. Fast Parallel Algorithms for Short-Range Molecular Dynamics. **Journal of Computational Physics**, v. 117, n. 1, p. 1–19, 1 mar. 1995.

PUJARI, S. P. et al. Covalent Surface Modification of Oxide Surfaces. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 53, n. 25, p. 6322–6356, 2014.

RIMSZA, J. M.; DU, J. Ab initio Molecular Dynamics Simulations of the Hydroxylation of Nanoporous Silica. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 98, n. 12, p. 3748–3757, 2015.

ROBERT, D.; MALATO, S. Solar photocatalysis: a clean process for water detoxification. **The Science of the Total Environment**, v. 291, n. 1–3, p. 85–97, 27 maio 2002.

SCHAFTENAAR, G.; NOORDIK, J. H. Molden: a pre- and post-processing program for molecular and electronic structures*. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 14, n. 2, p. 123–134, 1 fev. 2000.

SNEH, O.; GEORGE, S. M. Thermal Stability of Hydroxyl Groups on a Well-Defined Silica Surface. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 99, n. 13, p. 4639–4647, mar. 1995.

STEPHENS, P. J. et al. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623–11627, 1 nov. 1994.

STEWART, J. J. P. **MOPAC2016**. Colorado Springs, CO, USA: Stewart Computational Chemistry, 2016.

SULPIZI, M.; GAIGEOT, M.-P.; SPRIK, M. The Silica–Water Interface: How the Silanols Determine the Surface Acidity and Modulate the Water Properties. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 8, n. 3, p. 1037–1047, 13 mar. 2012.

TAMURA, H. et al. Mechanism of Hydroxylation of Metal Oxide Surfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 243, n. 1, p. 202–207, 1 nov. 2001.

TIELENS, F. et al. Characterization of amorphous silica based catalysts using DFT computational methods. **Catalysis Today**, SI: Fascinating catalysis. v. 354, p. 3–18, 1 set. 2020.

TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 8, p. 2999–3094, 1 ago. 2005.

VOSKO, S. H.; WILK, L.; NUSAIR, M. Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. **Canadian Journal of Physics**, 11 fev. 2011.

YANG, W.; PARR, R. G. Hardness, softness, and the fukui function in the electronic theory of

metals and catalysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 82, n. 20, p. 6723–6726, 1 out. 1985.

YANG, WEITAO.; MORTIER, W. J. The use of global and local molecular parameters for the analysis of the gas-phase basicity of amines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 108, n. 19, p. 5708–5711, 1 set. 1986.

YEON, J.; VAN DUIN, A. C. T. ReaxFF Molecular Dynamics Simulations of Hydroxylation Kinetics for Amorphous and Nano-Silica Structure, and Its Relations with Atomic Strain Energy. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 120, n. 1, p. 305–317, 14 jan. 2016.

ZHDANOV, S. P.; KOSHELEVA, L. S.; TITOVA, T. I. IR study of hydroxylated silica. **Langmuir**, v. 3, n. 6, p. 960–967, nov. 1987.

CAPÍTULO 3

3. Método de imobilização fácil e versátil para corante à base de xanteno para espalhamento Raman de ressonância amplificada por superfície (SERS)

3.1. Introdução

Os quimiossensores fluorescentes têm sido amplamente empregados para a detecção de íons em várias aplicações, especialmente biologia, fisiologia e farmacologia, devido à sua forte emissão, alta sensibilidade e especificidade com o íon alvo (KWON; HU; YOON, 2018; WU et al., 2017). O quimiossensor fluorescente é tipicamente composto por um grupo fluoróforo¹ e um grupo de ligação com íons. A fluorescência dos fluoróforos é modulada pelo processo de extinção de transferência de elétrons fotoinduzidos (PET) após a quelação com um íon em particular (WU et al., 2017).

Dentre os diversos fluoróforos utilizados para essa finalidade, o xanteno tem sido o mais popularmente usado devido à sua alta fotoestabilidade e propriedades fotofísicas (RAMETTE; SANDELL, 1956). Assim, uma ampla gama de opções para os quimiossensores à base de xanteno foi desenvolvida e estabelecida ao longo dos anos, atendendo às suas mais diversas exigências.

Apesar de sua notável contribuição para as aplicações, os quimiossensores fluorescentes ainda apresentam problemas como: *i*) marcação de células com quimiossensores fluorescentes geneticamente codificados (MANK; GRIESBECK, 2008), que potencialmente resulta em alterações nas propriedades intrínsecas das células; *ii*) fotobranqueamento

¹ Um fluoróforo é um componente de uma molécula que faz com que esta seja fluorescente. Trata-se de um grupo funcional da molécula que absorve energia em determinado comprimento de onda e posteriormente a emite em outro determinado comprimento de onda maior (menor energia).

(LAKOWICZ, 2006); *iii*) formação de radicais livres (WU et al., 2017), que é potencialmente tóxico com exposição prolongada; *iv*) espectro de emissão largo limitando a análise multiplexada² (PADDOCK, 2014); *v*) incapacidade de detectar atividade iônica extracelular.

A espectroscopia Raman, por outro lado, tem o potencial promissor de permitir a detecção de íons sem as desvantagens críticas apresentadas pelos quimiossensores fluorescentes. No entanto, seu processo óptico extremamente fraco, em comparação com a fluorescência, continua sendo um desafio para substituir ou complementar as deficiências do quimiossensor fluorescente em suas aplicações (RU; ETCHEGOIN, 2008). Graças à ressonância de plasmom de superfície (SPR), o processo óptico intrinsecamente fraco de espalhamento Raman pode ser substancialmente amplificado para um nível semelhante de fluorescência (RU; ETCHEGOIN, 2008). Apesar disso, ainda é necessário criar nano *hot spots*³ plasmônicos altamente uniformes (RU; ETCHEGOIN, 2008) e localizar indicadores Raman de alta sensibilidade que possam interagir com um íon específico nesses *spots*. A dificuldade em criar tais *hot spots* uniformes e a escolha limitada dos indicadores Raman restringiram a aplicação prática do espalhamento Raman amplificado por superfície (SERS) para detecção de íons.

Alternativamente, os corantes fluorescentes à base de xanteno, atraíram a atenção no campo do SERS por apresentarem grandes seções transversais de espalhamento, permitindo a detecção por uma única molécula sem a necessidade de criar um *hot spot* plasmônico com uma distância de *gap* extremamente pequena (DIERINGER et al., 2007; HILDEBRANDT; STOCKBURGER, 1984; ZRIMSEK; HENRY; VAN DUYN, 2013). Tal condição é muitas

² Analisar vários analitos simultaneamente em uma mistura.

³ O consenso geral é que esses pontos quentes (*hot spots*) plasmônicos tendem a se formar em regiões onde as ilhas vizinhas estão quase se tocando, permitindo o máximo acoplamento plasmônico (HAO; SCHATZ, 2004; THEISS et al., 2010). No presente trabalho, essas “ilhas” são os dímeros de nanopartículas.

vezes referida como espalhamento Raman de ressonância amplificada por superfície (SERRS). Assim, ao invés de detectar o espalhamento Raman de íons alvos ou compostos orgânicos de baixo peso molecular diretamente, é possível observar a mudança espectral de quimiossensores à base de xanteno com grandes seções transversais de espalhamento Raman após a interação com os analitos. Como resultado prático, essa estratégia pode relaxar significativamente o alto critério até então imposto para as nanoestruturas plasmônicas. Entretanto, para que os quimiossensores à base de xanteno possam ser utilizados na prática, dois desafios técnicos permanecem e estes serão discutidos a seguir.

Um problema pertinente aos quimiossensores baseados em xanteno como indicadores SERS é a complexidade de suas estruturas moleculares, resultando em muitas sobreposições entre os modos ativos Raman. Assim, é um desafio detectar as mudanças em um determinado modo Raman do grupo funcional que interage com um íon alvo. Por esse motivo, os indicadores SERS com uma estrutura molecular simples têm sido usados favoravelmente, apesar de sua baixa seção transversal de espalhamento Raman (CAPOCEFALO et al., 2019). Nesse quesito, é necessário desenvolver um mecanismo de resposta SERS novo e mais direto sobre a interação com um íon alvo.

Em segundo lugar, há uma necessidade de desenvolver uma metodologia de imobilização fácil e versátil dos quimiossensores baseados em xanteno em nanoestruturas plasmônicas sem afetar sua funcionalidade de detecção do íon alvo. Embora alguns corantes à base de xanteno sejam adsorvidos diretamente na superfície do metal em um solvente prático por meio de interação eletrostática (DENG; YU, 2019; ZHAO et al., 2007), essa interação não covalente dos corantes na superfície dos nanomateriais plasmônicos é instável e pode ser facilmente perturbada. Deste modo os sistemas podem ser modificados não apenas pelos

compostos iônicos alvo (TANG; JIANG, 2017), mas também pelo próprio solvente, dificultando a obtenção de uma mudança espectral Raman consistente e confiável em resposta a detecção do íon alvo. Nesse sentido, várias tentativas foram realizadas para imobilizar os corantes à base de xanteno na superfície de nanoestruturas plasmônicas através de uma ligação covalente e usá-los como indicadores SERS. A rota típica, tomada para imobilizar os quimiossensores fluorescentes, está associada à tiolação no núcleo xanteno ou no grupo fenil dos quimiossensores, deixando os grupos responsáveis pela detecção dos íons alvo livres (BREM; SCHLÜCKER, 2017; FRATODDI et al., 2018). A outra rota possível para imobilizar o quimiossensor é o acoplamento EDC/NHS que conjuga a amina primária de corantes à base de xanteno com o grupo carboxílico de um ligante tiol via formação de ligação amida (SANTIAGO et al., 2017). Todos os métodos mencionados acima requerem a síntese de novos derivados de quimiossensores a partir de matérias-primas com um grupo de ancoragem ao metal. Portanto, é difícil aplicar diretamente os métodos a todos os quimiossensores fluorescentes à base de xanteno de maneira versátil.

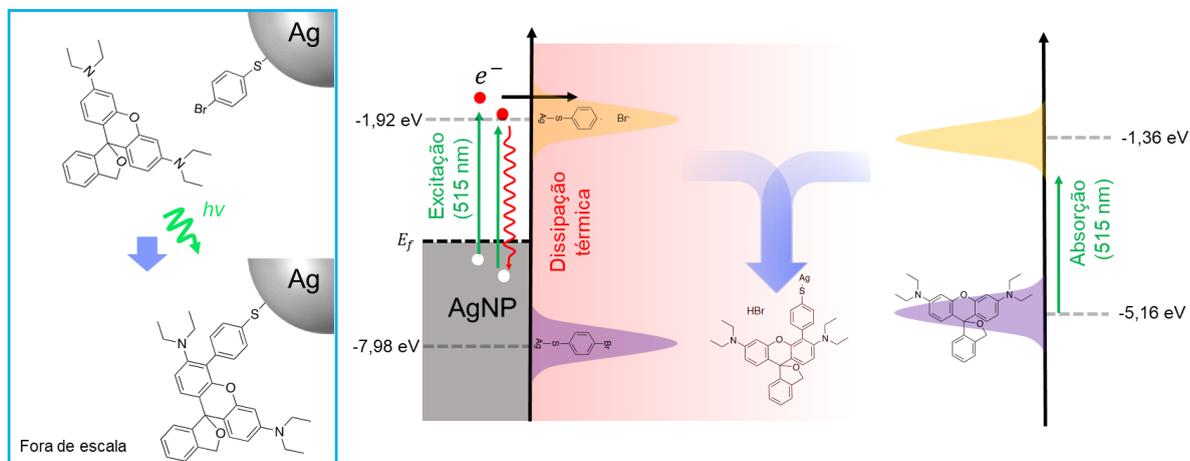
O presente estudo visa resolver os dois desafios práticos dos quimiossensores baseados em xanteno como indicadores SERS mencionados acima. No primeiro foco do estudo, foi desenvolvido um método de imobilização fácil e versátil de quimiossensores usuais à base de xanteno na superfície dos nanomateriais plasmônicos, sem qualquer pré-modificação de suas estruturas químicas e preservando a funcionalidade de seus grupos de ligação com íons alvos.

A imobilização direta de quimiossensores à base de xanteno comercialmente disponíveis em suas estruturas moleculares intrínsecas nos *hot spots* plasmônicos pode conceder uma variedade de opções para os indicadores Raman, sem a necessidade de

estabelecer uma nova linha de indicadores diversificados para todos os diferentes analitos direcionados. Complementarmente, a quantidade de quimiossensores usados para funcionalização dos materiais plasmônicos é extremamente baixa e os quimiossensores à base de xanteno que não reagiram podem ser prontamente recuperados e reutilizados. Portanto, o custo do material pode ser significativamente reduzido, uma vez que a reação ocorre apenas na superfície dos nanomateriais plasmônicos. Essa tarefa enorme e desafiadora pode ser realizada encontrando e utilizando um ligante químico que ligue as nanoestruturas plasmônicas e quimiossensores típicos à base de xanteno pela formação de uma ligação química nos fluoróforos, ao passo que os grupos de ligação específicos de íons, particularmente grupos carboxílicos, permaneçam livres e funcionais. Para uma formação de ligação covalente típica, o calor é necessário para superar a barreira de ativação, o que requer o aumento da temperatura de todos os reagentes (SMITH, 2020).

Considerando as informações apresentadas, o presente trabalho adotou uma metodologia baseada na transferência de carga de elétrons quentes (induzidos por plasmon dos nanomateriais plasmônicos, no presente estudo, nanopartículas de prata), para o ligante químico utilizado (4-bromotiofenol), criando um radical aromático altamente reativo capaz de formar uma ligação química com os quimiossensores à base de xanteno (rodamina B e fluoresceína). O esquema detalhando o método de imobilização induzido por plasmônico é ilustrado na Figura 3.1.

Figura 3.1 – Ilustração esquemática da imobilização induzida por plasmon dos corantes à base de xanteno em nanoestruturas plasmônicas



Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

No segundo foco do estudo, foi demonstrado um mecanismo de resposta SERS direto, governado pela amplificação Raman com os corantes à base de xanteno imobilizados. Quando os quimiossensores baseados em xanteno alteram suas propriedades fluorescentes após a interação com um íon alvo devido ao processo de extinção de transferência de elétrons fotoinduzidos (PET), também pode haver uma mudança significativa na intensidade do sinal SERS devido a amplificação do Raman de ressonância (MEYER; RU; ETCHEGOIN, 2010). A amplificação é tão significativa que a resposta do indicador SERS ao íon alvo pode ser facilmente identificada observando a mudança de intensidade das bandas Raman gerais, sem a necessidade de analisar mudanças de intensidade ou frequência de uma determinada banda Raman para o grupo funcional, que normalmente é fraco e/ou encoberto por outros modos vibracionais.

3.2. Materiais e métodos

3.2.1. Síntese das nanopartículas de prata (AgNP)

As AgNPs mostradas na Figura 3.2b,c foram sintetizadas usando o processo de poliol (GAO; ARYA; TAO, 2012). Inicialmente, 0,2 g de AgNO_3 foram dissolvidos em 5 mL de 1,5-pentanodiol (PD) contendo 40 μL de solução de CuCl_2 0,043 M. 5 mL de PD contendo 0,1 g de polivinilpirrolidona (PVP, $M_w \approx 55.000$) também foi preparado em um frasco de descarte diferente e ambos os frascos foram sonicados até a dissolução completa dos reagentes. Um frasco de fundo redondo de 50 ml contendo 10 ml de PD foi imerso em um banho de óleo de silicone a 193 °C. Após o pré-aquecimento por 15 minutos, o AgNO_3 e o PVP foram injetados no frasco alternadamente numa taxa de 250 $\mu\text{L}/\text{min}$ e 160 $\mu\text{L}/30$ s, respectivamente. Após a injeção do precursor por 6 minutos, o frasco foi retirado do banho de óleo e resfriado em temperatura ambiente enquanto a solução foi agitada. As AgNPs foram purificadas por centrifugação com etanol a 5000 rpm, por 10 minutos, 5 vezes e armazenado em etanol em freezer para evitar a oxidação do Ag. Todos os produtos químicos foram adquiridos da Sigma Aldrich, exceto o óleo de silicone, que foi adquirido da Fisher-Scientific.

3.2.2. Síntese das nanopartículas de ouro (AuNP)

As AuNPs foram preparadas seguindo os procedimentos de um processo de redução pelo citrato (WILSON et al., 2002). 50 ml de HAuCl_4 (1,3 mM) em água foram aquecidos até o ponto de ebulição sob intensa agitação. Em seguida, 5 ml de solução de citrato de sódio (15,6 mM) foram adicionados rapidamente. Após fervura por 15 minutos, o aquecimento foi

desligado e a agitação continuou por mais 15 minutos. A solução foi mantida a 4 °C sem qualquer tratamento. Todos os produtos químicos foram adquiridos da Sigma Aldrich.

3.2.3. Imobilização das AgNP sobre a fibra óptica

Primeiro, 5% de (3-mercaptopropil)trimetoxisilano (MPTMS, 95%, Fisher Scientific) em tolueno (v/v) foi preparado em um frasco descartável limpo para hidrólise de 12 h do MPTMS. Fibras ópticas (OFs) de sílica multimodo com uma abertura numérica de 0,22 e diâmetro do núcleo de 50 µm (Thorlabs) e 30 µm (caseira) com baixa atenuação na faixa de comprimento de onda visível foram cortadas em tiras de 7 cm de comprimento e imersas em acetona durante a noite para remover o revestimento externo. Após a retirada do mesmo, as OFs foram sonicadas em tubo de centrifuga por 10 minutos em acetona. Esse procedimento foi repetido em etanol e, por último, em água. As OFs foram então imersas em HCl/metanol (50:50 volume) para hidroxilação superficial. Após 30 minutos de hidroxilação, as OFs foram lavadas com água deionizada e secas em um forno a 60 °C durante a noite. As fibras foram transferidas para a solução de MPTMS pré-preparada e a funcionalização do silano foi conduzida por 24 h. Após a lavagem completa das OFs com tolueno e etanol, as fibras foram aquecidas a 120 °C por 2 h para remover qualquer MPTMS fisicamente ligado, permanecendo apenas a monocamada quimicamente ligada de MPTMS.

As AgNPs foram centrifugadas a 5000 rpm, por 10 minutos, 4 vezes em acetona e 2 vezes em etanol adicionalmente antes da imersão das OFs funcionalizadas com MPTMS na solução de AgNP. Após a imersão das OFs na solução de AgNP, o ar dentro do frasco foi purgado por N₂ para minimizar a oxidação do Ag e armazenado por 24h para. Após o o

período de funcionalização tiol-Ag, as fibras foram completamente lavadas com etanol e DMF para serem utilizadas posteriormente no processo de imobilização dos corantes à base de xanteno.

3.2.4. Imobilização dos corantes à base de xanteno em AgNP acionada por plasmon

AgNP/MPTMS/OF foram imersas em solução de 4-bromotiofenol (4-BTP, 5 mM) em DMF seco (95%, Sigma Aldrich) por 24 h. Para minimizar a oxidação do Ag, o ar dentro do frasco foi novamente purgado por N₂. As fibras foram enxaguadas cuidadosamente com DMF e álcool etílico anidro e, em seguida, foram armazenadas no álcool etílico em freezer até o uso. Rodamina B (RhB, 95%, Sigma Aldrich) e fluoresceína (FC, Ácido livre, Sigma Aldrich) foram dissolvidos em DMF seco em frascos descartáveis de 20 mL. A ponta da OF funcionalizada com 4-BTP/AgNP foi imersa nas soluções dos corantes fluorescentes por 10 minutos para imobilização. O laser de 515 nm ou 633 nm foi guiado através da fibra para irradiar o 4-BTP/AgNP e os corantes de fluorescência (RhB e FC) para a reação química acionada por plasmon. Após esse processo, a extremidade da fibra foi cuidadosamente lavada com DMF seco, seguido de imersão da fibra em DMF fresco e seco, por 4 vezes, e em EtOH, por 4 vezes, em sequência, com pipetagem rigorosa.

3.2.5. Imobilização térmica dos corantes à base de xanteno em AuNP

O solvente das AuNPs sintetizadas foi substituído por DMF seco por centrifugação a 10.000 rpm por 10 minutos 8 vezes. Antes da imobilização da RhB nas AuNPs, as AuNPs foram funcionalizadas com 4-BTP por meio de imersão das nanopartículas em solução

4-BTP/DMF seco (5 mM) por 24 h, em agitação. Após esse período, as AuNPs/4-BTP foram centrifugadas a 10.000 rpm, por 10 minutos, repetindo o processo 6 vezes. Em seguida as AuNPs/4-BTP foram imersas em solução de RhB em DMF (100 μ M) a 90 °C, por 6 h. As moléculas de RhB não ligadas foram removidas por centrifugação em DMF seco 6 vezes e 4 vezes em EtOH.

3.2.6. Medidas por SERS

Os espectros SERS da fibra funcionalizada com diferentes ligantes e corantes à base de xanteno foram medidos usando espectrômetro Horiba Raman, com laser de excitação de 515 nm e 633 nm, sob o sistema de medição óptica mostrado na Figura 3.2. A medida da resposta espectral da RhB/Tiofenol e FC/Tiofenol em função do pH da solução foi realizada pela imersão da extremidade da fibra óptica funcionalizada em água deionizada preparada em frascos descartáveis separados com diferentes valores de pH. O pH foi ajustado pela adição de HCl e NaOH. O espalhamento Raman de 4-BTP, RhB, FC (apenas a molécula, *bulk*) e RhB/TP/AuNP foi medido usando um espectrômetro Renishaw Raman com um laser de 633 nm e uma lente objetiva de 50x.

3.2.7. Cálculos por DFT

As estruturas foram construídas com o auxílio do pacote computacional Gaussview (KEITH; MILLAM, 2016) e otimizadas na abordagem da teoria do funcional da densidade (DFT), com o auxílio do pacote computacional Gaussian 16 (FRISCH et al., 2016). O funcional híbrido de troca e correlação (XC) B3LYP (BECKE, 1993; LEE; YANG; PARR,

1988; STEPHENS et al., 1994; VOSKO; WILK; NUSAIR, 1980) e o conjunto de bases *double zeta* polarizadas 6-31G(d,p) foram empregados para todos os átomos. Como o processo experimental foi realizado em diferentes meios, a presença dos solventes foi simulada por meio de modelo contínuo polarizável (PCM) (TOMASI; MENNUCCI; CAMMI, 2005). Apesar de sua simplicidade, o método PCM apresenta uma razoável relação custo-benefício, que é empregada com sucesso no estudo dos mais diversos sistemas orgânicos (GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021; PEDONE et al., 2011; PEDONE; BARONE, 2010).

As reatividades das estruturas foram avaliadas através dos índices de Fukui condensados aos átomos (IFCA) (YANG; PARR, 1985; YANG; MORTIER, 1986) para identificar quais sítios moleculares são propensos a interagir com agentes externos eletrofílicos (f^-) e nucleofílicos (f^+). Conforme mencionado nos capítulos anteriores, esses índices fornecem *insights* significativos sobre a reatividade de sistemas distintos (GOMES; BATAGIN-NETO; LISBOA-FILHO, 2021; LASCANE et al., 2020; MAIA; VENTORIM; BATAGIN-NETO, 2019; PLÁCIDO et al., 2020). Para melhor estimar as interações entre Rodamina B e 4-bromotiofenol durante o processo de imobilização, a maciez química local ($s^{+/-}$) dos compostos também foi avaliada. Esses índices correlacionam as informações locais fornecidas pelo IFCA com a maciez global (S) da molécula, indicando o par de átomos mais provável associado a uma determinada reação/interação química. De acordo com o princípio dos ácidos e bases duros e moles (HSAB) (PEARSON, 1963), as interações eletrofílicas/nucleofílicas e radical/radical são favorecidas quando os átomos envolvidos apresentam maciez química semelhante.

Os espectros teóricos Raman foram calculados numa abordagem DFT no mesmo nível computacional empregado nos demais cálculos. Para viabilizar a comparação com os espectros Raman obtidos experimentalmente, os espectros teóricos foram empregados fatores de correção compatíveis com a abordagem teórica utilizada: 0,969 para RhB pura e imobilizada e 0,959 para FC pura e imobilizada. Os fatores de escala foram derivados por um procedimento de mínimos quadrados (POPLE et al., 1993; SCOTT; RADOM, 1996), minimizando o resíduo entre os espectros experimentais e calculados de RhB e FC (*bulk*) (LI et al., 2020). O mapeamento do potencial eletrostático molecular (MPE) foi obtido através do esquema de carga de partição CHelp (CHIRLIAN; FRANCL, 1987).

Os espectros teóricos de absorção UV-Vis foram calculados no âmbito da DFT dependente do tempo (TD-DFT), considerando apenas excitações do tipo singleto, empregando o mesmo funcional XC e conjunto de base empregado na otimização geométrica. Todos os cálculos DFT foram realizados com o auxílio do pacote computacional Gaussian 16 (FRISCH et al., 2016).

3.2.8. Simulação numérica do aumento de temperatura local dentro do hot spot entre o dímero AgNP

A temperatura local no *hot spot* plasmônico entre o dímero AgNP foi calculada usando o modelo acoplado eletromagnético e de transferência de calor COMSOL Multiphysics. As constantes dielétricas ($\epsilon_{r,515nm} = -10,687 - 0,32695i$) para o AgNP e o índice de refração ($n=1,335$) da água foram obtidos de Johnson e Christy (JOHNSON; CHRISTY, 1972) e Hale e Querry (HALE; QUERRY, 1973), respectivamente. O índice de refração do

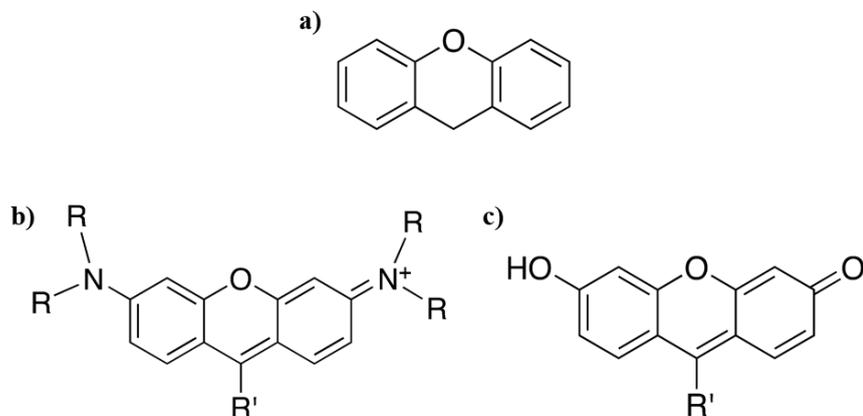
núcleo de fibra multimodo é 1,46. Para as propriedades térmicas, foram utilizados os valores padrões embutidos no COMSOL. O limite de isolamento térmico foi aplicado à camada entre a fibra e a água e a camada superior da água. As condições de contorno periódicas foram aplicadas para os quatro vértices do domínio. O menor coeficiente de transferência de calor entre a superfície da AgNP para a água (ROPER; AHN; HOEPFNER, 2007) entre os valores reportados (PLECH et al., 2004; WILSON et al., 2002) ($7 \text{ W}/(\text{m}^2 \cdot \text{K})$) até agora foi empregado para antecipar a temperatura máxima local na superfície do AgNP.

3.3. Resultados e discussões

3.3.1. Identificação de um ligante químico versátil para quimiossensores à base de xanteno por mapas IFCA.

Muitos quimiossensores fluorescentes com núcleos de xanteno seguem as estruturas nas Figuras 3.2b e c. Os quimiossensores baseados em xanteno normalmente apresentam um sítio de ligação de íons em R'. Eles podem ser classificados em fluoresceína ou rodamina, dependendo de seus grupos terminais, amina (Figura 3.2b) ou hidroxila e carbonila (Figura 3.2c), respectivamente. O sítio de ligação de íons em R' normalmente determina as características fluorescentes dos quimiossensores por PET ao coordenar com um íon catiônico específico. Rodamina B (RhB) e Fluoresceína (FC) são as formas primárias dos quimiossensores à base de xanteno que possuem grupo carboxifenil em R'. Dada sua relevância tecnológica e ampla gama de aplicações, essas estruturas foram escolhidas para demonstrar a viabilidade do presente método de imobilização.

Figura 3.2 – Estrutura molecular do núcleo de xanteno (a) e seus principais derivados: Rodamina (b) e Fluoresceína (c).



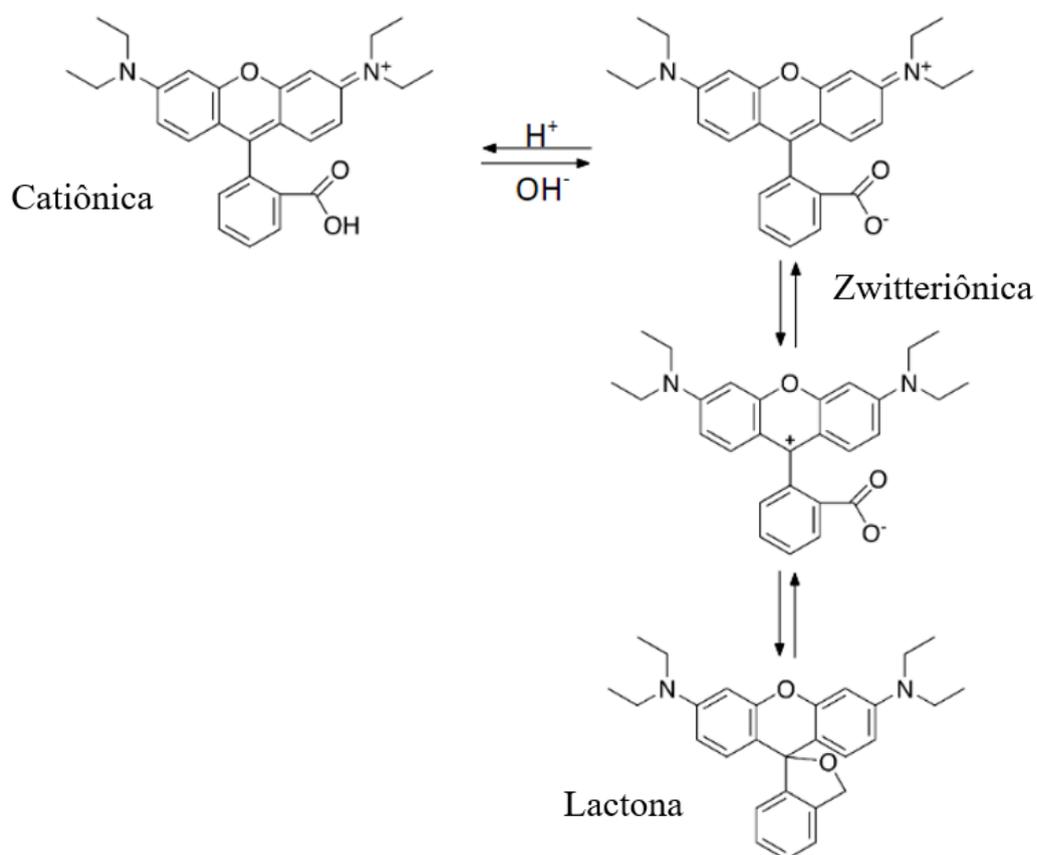
Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

A RhB é conhecida por existir em três formas, a depender do pH da solução: catiônica, zwitteriônica e lactona, como mostrado na Figura 3.3 (HINCKLEY; SEYBOLD, 1988). Suas intensidades de fluorescência geralmente aumentam à medida que são protonadas com a diminuição do pH em solventes menos polares (BAO; WONG; TANNER, 2019; TIAN et al., 2012). FC pode existir em estruturas mais diversas (catiônica, zwitteriônica, lactona, monoânion e diânion - Figura 3.4) devido aos dois locais mais reativos para o próton; suas intensidades de fluorescência aumentam à medida que são desprotonadas com o aumento do pH, situação oposta à RhB (KLONIS; SAWYER, 1996; MARTIN; LINDQVIST, 1975).

Em solventes próticos, os quimiossensores fluorescentes existem em diversas formas iônicas, enquanto em solventes apróticos e menos polares, apresentam a forma lactona (HINCKLEY; SEYBOLD, 1988; HINCKLEY; SEYBOLD; BORRIS, 1986). É crucial escolher um sistema de solvente apropriado para prever a reação entre o ligante químico com

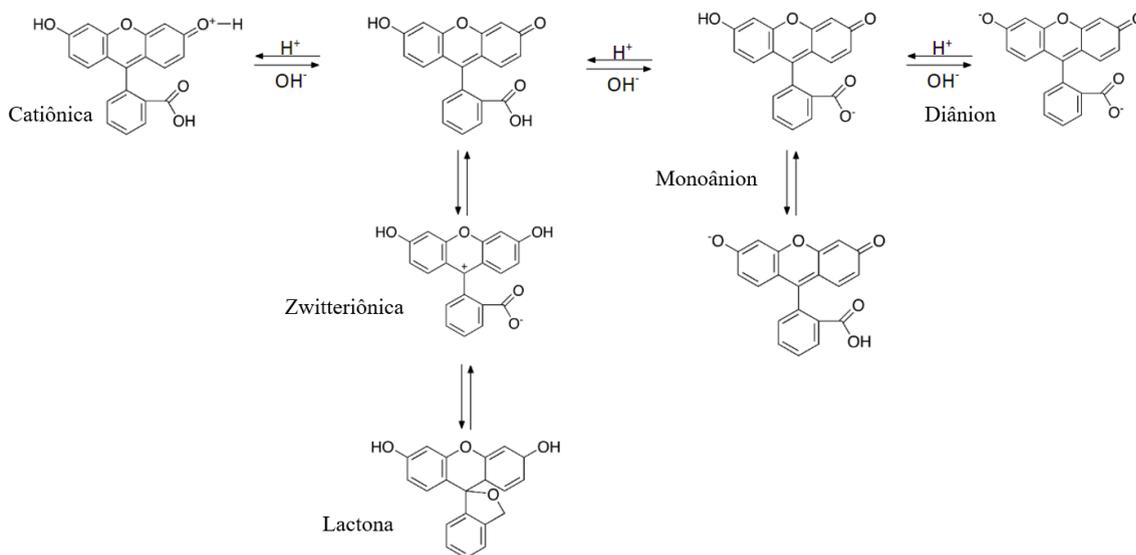
os quimiossensores à base de xanteno. Para a previsão direta da via de reação, as reações foram realizadas em um solvente aprótico e menos polar, dimetilformamida (DMF), onde as formas lactona são as estruturas dominantes.

Figura 3.3 – Estrutura molecular da Rodamina B.



Fonte: Adaptado de (HINCKLEY; SEYBOLD, 1988).

Figura 3.4 – Estrutura molecular da Fluoresceína.

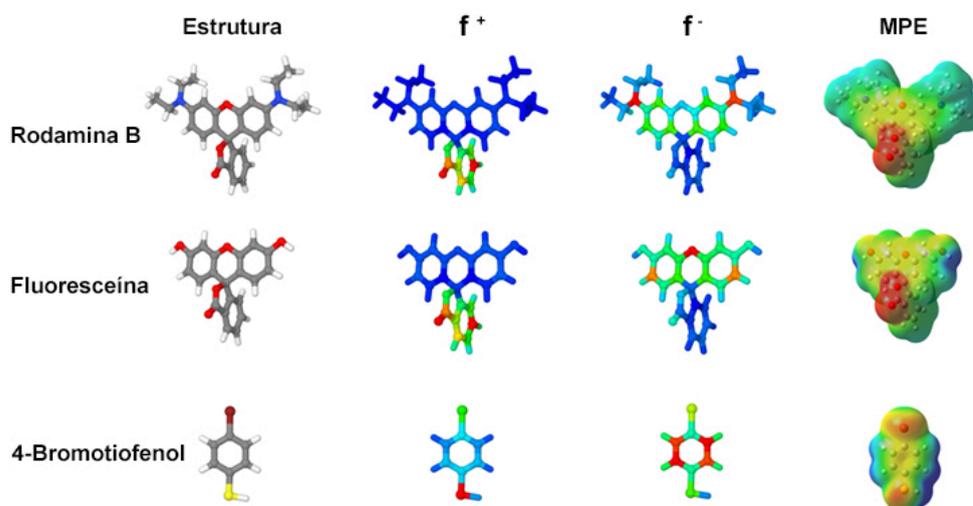


Fonte: Adaptado de (FERRARI et al., 2013; GALLAGHER et al., 2013; LE GUERN et al., 2020; NIAZI et al., 2008).

Para encontrar um ligante químico versátil para os dois quimiossensores aqui estudados, foram calculados os seus respectivos IFCA para a obtenção dos mapas de reatividade química da RhB e da FC. Os mapas IFCA podem fornecer informações sobre os sítios moleculares propensos a reagir com agentes nucleofílicos ou eletrofílicos (PEARSON, 1963) e facilitar a busca de um ligante versátil para os quimiossensores baseados em xanteno. A reatividade insignificante do grupo carboxifenil para um agente externo eletrófilo sugere que um ligante químico eletrofílico é adequado para formar uma ligação química com os quimiossensores através do grupo fluoróforo, mantendo o grupo carboxifenil responsivo à mudança de pH da solução aquosa inalterado, e, deste modo, ativo (Figura 3.5). Nesse sentido, o haleto de alquila ou arila com um grupo tiol pode ser considerado um candidato

promissor como ligante químico devido a sua alta reatividade na reação de substituição nucleofílica. No presente estudo, optou-se por utilizar o 4-Bromotiofenol para tal processo. Tal estrutura contém os grupo tiol como centro ancorador do ligante na superfície das nanoestruturas plasmônicas e o brometo (localizado na posição *para* em relação tiol), disponível para a reação de substituição nucleofílica aromática, considerando a basicidade do haleto (SMITH, 2020) e fácil disponibilidade no mercado.

Figura 3.5 – Estruturas moleculares, eletrofilicidade (f^+) e nucleofilicidade (f^-) e mapas de potencial eletrostático (MPE) molecular da RhB (lactona) e FC, e 4-Bromotiofenol em DMF.



Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

A mais provável via de reação de substituição aromática nucleofílica consiste em duas etapas: *i*) perda do brometo do 4-BTP, levando à geração do radical tiofenol eletrofílico, e *ii*) ataque imediato de um nucleófilo ao radical tiofenol, formando uma ligação covalente, e gerando brometo de hidrogênio como um subproduto (BUNNETT, 1978).

No primeiro passo, a quebra da ligação do haleto do tiofenol (TP) requer a transferência de um elétron (BUNNETT, 1978). Recentemente, foi demonstrado que o elétron quente gerado pelo plasmon de superfície pode ser transferido para a molécula próxima à superfície das nanoestruturas plasmônicas, resultando na dissociação do íon haleto do TP, que conseqüentemente se torna um radical TP altamente reativo (JIANG et al., 2019). Nesse caso, um solvente polar é preferido para a dissociação estendida de brometo de TP, favorecendo a reação de substituição nucleofílica do radical aromático (BUNNETT, 1978; JIANG et al., 2019).

Apesar da reatividade reduzida sob DMF, que é um solvente aprótico e polaridade inferior, ele fornece três benefícios adicionais além da variedade estrutural mencionada acima para solventes próticos:

- o bandgap óptico estendido das estruturas lactonas reduz ainda mais a complexidade da reação química, ampliando sua aplicabilidade a outros quimiossensores, independentemente de suas propriedades de fluorescência.
- o potencial eletrostático da extremidade do ligante químico permanece ligeiramente negativo. As formas lactonas de RhB e FC mostram que o grupo carbonila em R' é carregado negativamente. Assim, a possível formação de ligação através do grupo carbonila com o TP pode ser contornada (Figura 3.5). Além disso, a estrutura lactona protege o grupo carboxílico do ataque indesejado pelo ligante químico ou outros reagentes por meio do fechamento de seu sítio de ligação iônico (Figura 3.5).
- o solvente aprótico e menos polar suprime altamente a dissociação e formação de radicais Br e TP até que os agentes nucleofílicos e eletrofílicos estejam em contato próximo. Portanto, os ataques do radical TP e Br ao nucleófilo e eletrófilo,

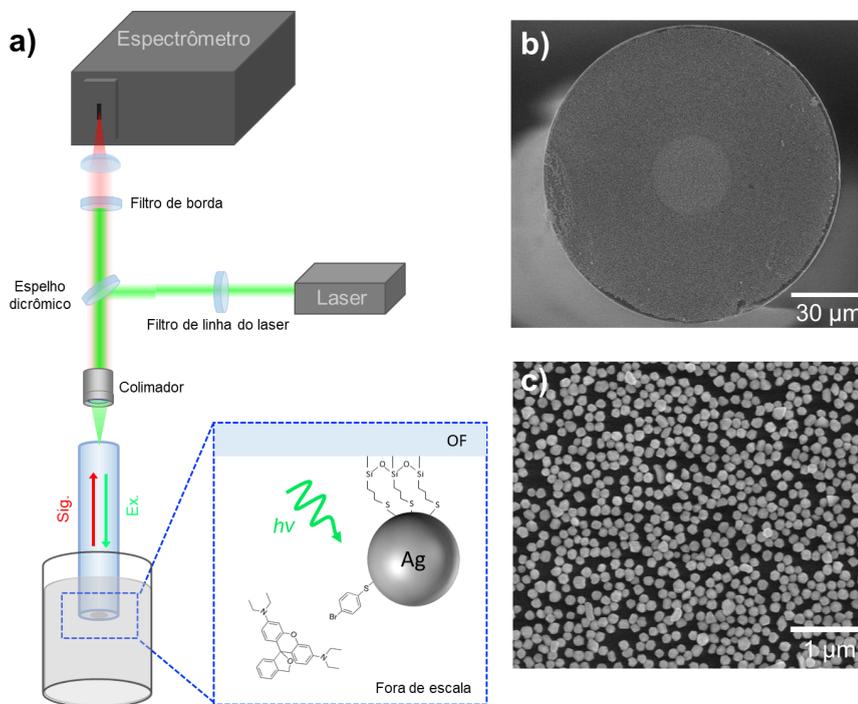
respectivamente, ocorrem no mesmo sítio dos corantes à base de xanteno preferencialmente, o que conseqüentemente limita os sítios de ligação dos corantes à base de xanteno a um hidrocarboneto de núcleo xanteno ou fenil. Deste modo, a reatividade dos grupos funcionais em R e R' para íons direcionados pode permanecer segura. Embora o nitrogênio da RhB se apresente como um sítio reativo nucleofílico, acredita-se que uma reação com o TP por essa região seja menos provável por questões de impedimento estérico, principalmente.

3.3.2. Imobilização dos corantes à base de xanteno em AgNP usando 4-BTP e PET

A demonstração experimental da imobilização dos quimiossensores de xanteno induzida por plasmon de superfície foi implementada nas AgNPs, que foram quimicamente ligadas em uma fibra óptica de sílica multimodo (OF) através do acoplamento tiol e silano, usando 3-Mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTMS). O esquema da montagem experimental se encontra ilustrado na Figura 3.6a.

A superfície do AgNP foi funcionalizada com 4-BTP antes da imobilização dos quimiossensores de xanteno. Embora a análise SERS baseada em microscopia permita uma excitação eficiente e coleta de espalhamento SERS com uma alta resolução espacial, o espalhamento originado de algumas moléculas em *hot spots* plasmônicos em nanoescala é altamente sensível à qualidade do feixe de laser e a qualquer deslocamento das amostras durante o processo de troca de solução iônica, tornando difícil observar uma variação espectral consistente em resposta à mudança da concentração iônica.

Figura 3.6 – Ilustração do experimento para a imobilização induzida por plasmon dos corantes à base de xanteno em AgNP/OF. a) Diagrama esquemático da configuração óptica. b-c) micrografias MEV das AgNPs uniformemente imobilizadas sobre a extremidade da OF via MPTMS em diferentes ampliações.

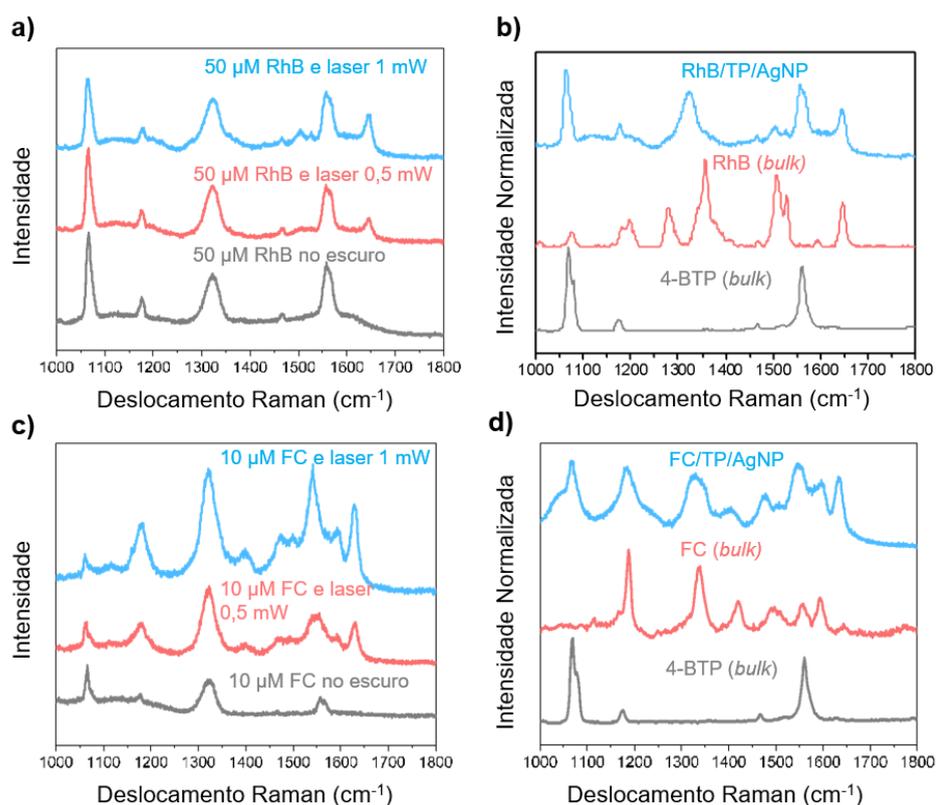


Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

Por outro lado, a entrega de luz proveniente da fibra para o AgNP traz vários benefícios para a caracterização do SERS: a iluminação de todos os AgNPs no núcleo da fibra pode fornecer espalhamento Raman polarizado de todas as moléculas imobilizadas localizadas no núcleo da fibra ($\sim 10^3 \mu\text{m}^2$), tornando a medida segura em relação ao movimento da amostra e permitindo obter uma mudança espectral consistente dos indicadores Raman em resposta à mudança da concentração de íons. Assim, os compostos que não reagiram e quaisquer moléculas apenas fisicamente ligadas podem ser facilmente lavadas pela

imersão da extremidade da fibra em solventes frescos, sem muito cuidado no manuseio e no desvio das amostras.

Figura 3.7 – Imobilização induzida por plasmon dos corantes à base de xanteno em AgNP. a) Dependência da ligação da RhB com a potência do laser e concentração. Tempo de imersão: 10 minutos. Comprimento de onda de excitação: 515nm. b) Comparação de espectros Raman de 4-BTP (*bulk*), RhB (*bulk*) e RhB/TP/AgNP. c) Dependência da ligação da FC com a potência do laser e concentração. Tempo de imersão: 10 minutos. Comprimento de onda de excitação: 515 nm. d) Comparação dos espectros Raman de 4-BTP (*bulk*), FC (*bulk*) e FC/TP/AgNP. O espalhamento Raman da RhB, FC e 4-BTP (*bulk*) foram excitados com laser de 633 nm sob uma espectroscopia baseada na microscopia de Raman para evitar a fluorescência.



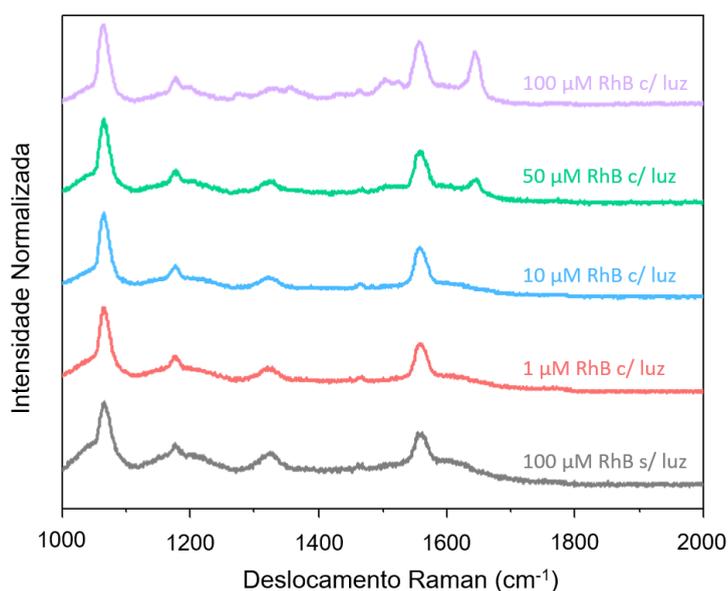
Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

Antes da imobilização dos quimiossensores à base de xanteno, os espectros Raman foram medidos para confirmar a presença do ligante de superfície das AgNPs. A observação de apenas dois picos Raman idênticos em torno de 1067 e 1560 cm^{-1} , que corresponde às atribuições de banda de $\nu(\text{C-Br})$, $\nu(\text{C-S})$ e $\nu(\text{C-C})$ -fenil de 4-BTP, respectivamente, confirma a completa substituição do surfactante PVP (Figura 3.7b,d), utilizado para a síntese das AgNPs, por 4-BTP (MORAN et al., 2011). De acordo com os espectros Raman, também foi constatado que não houve nenhuma interação entre os corantes à base de xanteno e 4-BTP/AgNP após a imersão da extremidade da fibra em solução de RhB/DMF (50 μM) no escuro por 10 minutos (Figura 3.7a,c).

Após a confirmação da ausência de adsorção dos corantes à base de xanteno no AgNP, a fibra foi imersa novamente na mesma solução de RhB/DMF. A extremidade da fibra foi irradiada usando um laser de 515 nm com potência de 0,5 a 1mW (70~140W/cm²) por 10 minutos para gerar elétrons quentes e ativar a reação química entre o ligante com o RhB. Após a iluminação, novos picos Raman apareceram em torno de 1465, 1504, 1527 e 1644 cm^{-1} , confirmando a existência de RhB na superfície do AgNP (Figura 3.7a). A intensidade dos novos picos Raman aumentou com o aumento da potência do laser e a concentração de RhB, em relação aos picos do 4-BTP (Figura 3.8). Esses aumentos dos picos da RhB relacionados à concentração e potência do laser são atribuídos à taxa de reação aumentada, que é proporcional ao número de RhB e radicais TP na vizinhança da superfície das AgNPs. A correlação da presença de luz com a imobilização da RhB foi ainda investigada alterando o comprimento de onda da fotoexcitação de 515 nm para 633 nm (Figura 3.9). O resultado indica que a eficiência da imobilização diminui com o aumento do comprimento de onda do laser. A eficiência reduzida pode ser atribuída pela menor absorção e menor amplificação do campo das AgNPs em um comprimento de onda maior que 600 nm (RU; ETCHEGOIN,

2008). As atribuições das bandas podem ser vistas na Tabela 3.1; a identificação detalhada dos picos será discutida na subseção seguinte.

Figura 3.8 – Efeito da concentração de RhB na imobilização de Rhod-B em AgNP. Potência e tempo de irradiação: 0,5 mW e 10 min. Os espectros foram normalizados com base na banda $\nu(\text{C-Br})$ em torno de 1067 cm^{-1} .

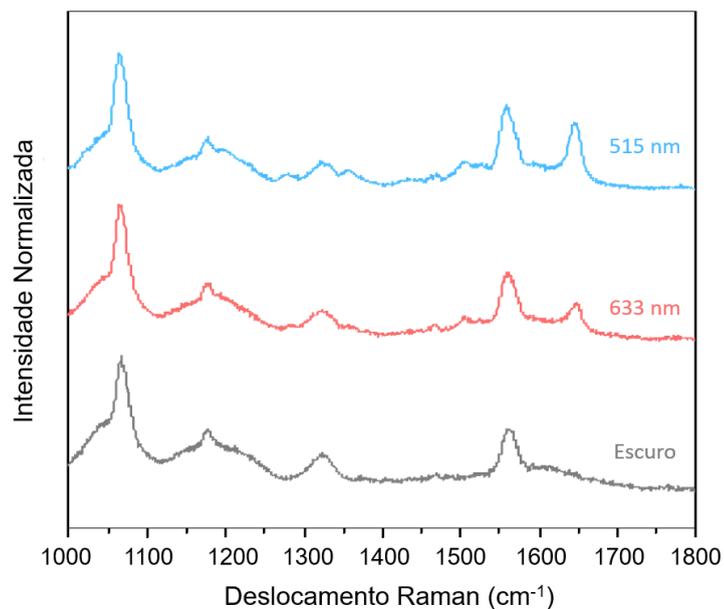


Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

A versatilidade do método também foi demonstrada aplicando a outra forma básica de quimiossensor à base de xanteno, a FC. Como observado com RhB, a imobilização da FC nas nanoestruturas plasmônicas também foi alcançada pela irradiação do 4-BTP/AgNP em solução de FC, conforme mostrado na Figura 3.7c. As atribuições de banda que apareceram após a irradiação estão listadas na Tabela 3.2. A intensidade significativamente aumentada da FC/TP em comparação com RhB sob a mesma potência de irradiação e a baixa concentração

de FC (10 μM) elucida uma reação mais eficiente de 4-BTP a FC do que RhB. O efeito SERRS maior devido à alta banda de absorção no comprimento de onda de excitação de FC/TP pode ser um possível fator relacionado a esse aumento em comparação com RhB/TP. Mais detalhes sobre a amplificação do SERRS serão discutidos na seção a seguir.

Figura 3.9 – Efeito do comprimento de onda na eficiência de imobilização da RhB em AgNP. Potência e tempo de irradiação: 0,5 mW e 10 min. Concentração de RhB: 100 μM . Os espectros foram normalizados com base na banda $\nu(\text{C-Br})$ em torno de 1067 cm^{-1} .



Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

Tabela 3.1 – Atribuições de bandas de RhB e RhB/TP.

Bandas Raman (cm ⁻¹)			Atribuições de RhB/TP (calculado)
RhB (<i>bulk</i>)	RhB/TP	RhB/TP em AgNP	
Experimental ν	Calculado ν (X6)	Experimental ν	
	1063	1070	$\nu(C-Br)4T$
1075	1086	1082	$\delta(C-H)Tp + \nu_a(-CC)Tp + \nu(C-S)Tp$
	1175	1179	$\delta(O-H)carbonila + \delta(C-H)Ph + \nu(C-N) + \delta(C-H)Eth + \delta(C-H)4T$
1197	1200	1197	$\nu_2(C-C)Xa + \nu_2(C-H)Xa + \delta(C-H)Xa$
1279	1278	1279	$\delta(C-H)Eth + \delta(C-H)Eth + \nu(C-N) + \nu_a(C-C)Ph$
	1319	1309	$\delta(C-H)Eth + \nu(C-N) + \nu_a(C-C)Xa + \nu_a(C-O)Xa + \delta(C-H)Xa$
1340	1347	1341	$\nu(C-N) + \delta(C-H)Eth + \delta(C-H)Xa$
1357	1354	1355	$\nu(C-N) + \delta(C-H)Eth + \delta(C-H)Xa$
1378	1384		$\delta(C-H)Eth$
	1395	1398	
	1431	1435	$\nu(C-N) + \delta(H-C)Eth + \delta(C-H)Xa + \nu_a(C-C)Ph + \delta(C-H)Ph$
	1460	1461	$\delta(H-C)Eth + \delta(C-H)4T + \nu_s(C-C)4T + \nu(C-Br)4T + \nu(C-S)4T$
	1467		
	1480		$\delta(C-H)Tp + \nu_a(C-C)Tp + \nu(C-S)Tp + \nu_2(C-C)Xa + \delta(C-H)Xa + \nu(C-N) + \nu(C-H)Eth$
	1501	1504	$\delta(C-H)Xa + \delta(H-C)Eth + \nu(C-N)$
1507	1512	1511	$\delta(C-H)Xa + \delta(C-H)Eth + \nu(C-N)$
1528	1518	1525	$\nu(C-N) + \delta(C-H)Xa + \delta(C-H)Eth + \nu_2(C-O)Xa + \delta(C-H)Tp + \nu_s(C-C)Tp$
	1545		$\delta(H-C)Eth + \nu(C-N) + \nu_s(-CC)Xa + \nu_s(C-O)Xa + \delta(C-H)Xa$
		1560	$\delta(C-H)4T + \nu_a(C-C)4T$
	1567	1566	$\nu_2(C-C)Ph + \delta(C-H)Ph$
1594	1595	1593	$\delta(C-H)Ph + \nu_s(C-C)Ph$
	1601		$\delta(C-H)Tp + \nu_s(C-C)Tp$
1646	1638	1644	$\delta(C-H)Xa + \nu_s(C-C)Xa + \nu_2(C-O)Xa$

Xa: Xanteno, Ph: Fenil, Tp: Thiofenol, 4T: 4-BTP não reagido, Eth: Etil

Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

Tabela 3.2 – Atribuições de bandas de FC e FC/TP.

Bandas Raman (cm ⁻¹)			Atribuições de FC/TP (calculado)
FC (<i>bulk</i>)	FC/TP	FC/TP em AgNP	
Experimental ν	Calculado ν (X1)	Experimental ν	
	1073	1072	$\nu(C-Br)4T + \delta(C-H)Tp; Ph; Xa + \nu_a(C-C)Tp + \nu(C-S)Tp$
	1144	1139	$\delta(O-H)Xa + \delta(C-H)Xa + \nu_a(C-O)Xa$
	1173	1165	$\delta(C-H)4T + \delta(C-H)Tp$
1187	1185	1180	$\delta(O-H)Xa + \nu_a(C-O)Xa + \delta(C-H)Xa; Tp + \nu_s(C-C)Xa$
	1212		$\delta(O-H)Xa + \nu_a(C-C)Xa + \delta(C-H)Xa; Tp + \nu_s(C-C)Xa$
	1265		$\nu(C-OH)Xa + \delta(C-H)Xa; Tp; Ph + \nu_s(C-C)Xa; Tp$
	1281		$\nu(C-OH)Xa + \delta(C-H)Xa; Tp; Ph + \nu_a(C-C)Xa; Tp + \delta(O-H)Ph$
	1291	1290	$\delta(C-H)Xa; Tp + \nu(C-OH)Xa$
	1307		$\delta(C-H)Xa; Tp + \delta(O-H)Xa + \nu(C-OH)Xa + \nu_a(C-O)Xa + \nu_a(C-C)Xa$
		1322	<i>Não identificada</i>
1338	1334		$\delta(C-H)Xa + \delta(O-CH)Xa + \nu(C-O)Xa + \nu_a(C-C)Xa$
	1346	1343	$\nu_a(C-C)Xa + \delta(C-H)Xa + \delta(O-H)Xa$
	1377		$\nu_s(C-C)Xa + \delta(C-H)Xa; Tp$
	1389	1387	$\nu_a(C-C)Tp + \delta(C-H)Tp$
1419			$\nu_s(C-C)Ph + \delta(C-H)Ph$
	1435		$\delta(C-H)Xa + \nu(O-H)Xa + \nu_a(C-O)Xa + \nu_a(C-C)Xa$
		1470	$\delta(C-H)4T + \nu_s(C-C)4T + \nu(C-Br)4T + \nu(C-S)4T$
1495	1481	1495	$\nu_s(C-C)Xa + \delta(O-H)Xa + \nu(C-OH)Xa$
	1513		$\delta(C-H)Xa; Ph + \delta(O-H)Xa$
		1520	<i>Não identificada</i>
	1536		$\nu_s(C-C)Tp + \delta(C-H)Tp + \nu_a(C-C)Tp$
	1548	1543	$\nu_s(C-C)Tp + \delta(C-H)Tp; Xa + \nu_a(C-C)Tp$
1556	1558	1561	$\nu_s(C-C)Xa + \delta(C-H)Xa + \delta(O-H)Xa + \delta(C-H)4T + \nu_a(C-C)4T$
	1586		$\nu_s(C-C)Ph + \nu(C-S)Ph + \delta(C-H)Ph$
1594	1598	1590	$\delta(O-H)Xa + \nu(C-OH)Xa + \nu_s(C-C)Xa + \delta(C-H)Xa$
		1612	<i>Não identificada</i>
	1625	1628	$\nu_s(C-C)Xa + \nu_s(C-O)Xa + \nu(C=O)Xa + \nu(C-OH)Xa + \delta(C-H)Xa$
1642	1639		$\nu(C=O)Xa + \nu_s(C-C)Xa + \delta(C-H)Xa$

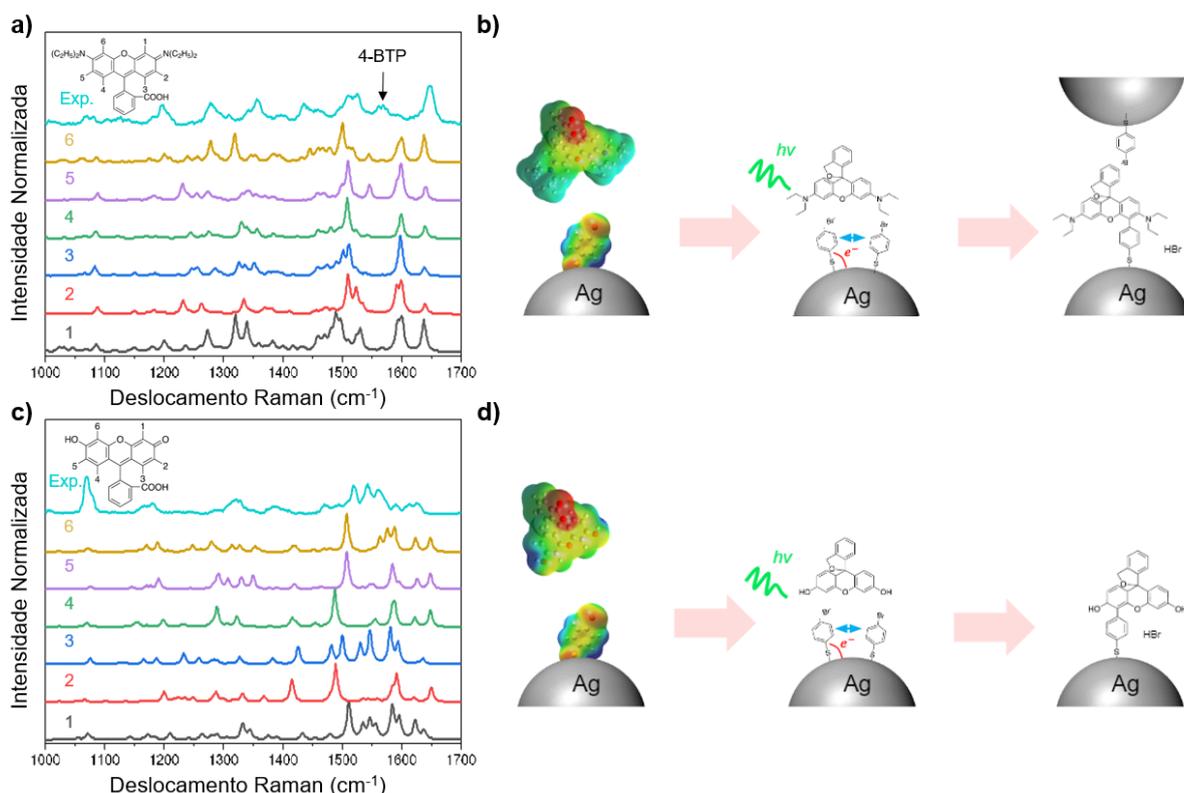
Xa: Xanteno, Ph: Fenil, Tp: Tiofenol, 4T: 4-BTP não reagido.

Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

3.3.3. Mecanismo de reação e identificação do sítio de ligação

A Figura 3.10 ilustra os mapas de reatividade IFCA e maciez local de 4-BTP, RhB e FC. As estruturas em cores RGB representam a reatividade dos locais onde o vermelho é altamente reativo e o azul é pouco reativo. De acordo com o princípio de ácidos e bases duros e moles (HSAB), a reação química tende a ocorrer de forma eficiente entre os átomos com maciez química semelhante (PEARSON, 1963). Considerando a similaridade do grau de maciez química, os carbonos nos núcleos de xanteno são os sítios de ligação mais favoráveis ao ligante químico para RhB e FC. Os possíveis sítios de ligação da RhB imobilizada ao ligante são ilustradas na Figura 3.11a, inserida com base nos mapas de reatividade IFCA e espectros Raman observados experimentalmente. Assim, por meio de cálculos de estrutura eletrônica baseados na DFT foram estimados os espectros Raman das estruturas moleculares em que RhB está ligada ao TP através dos seis sítios de ligação favoráveis (Figura 3.11a, 1-6), os quais foram comparados com o espectro obtido experimentalmente (Figura 3.11a, Exp.). É importante mencionar que sempre existe algum grau de desvio entre os espectros SERS com os calculados por DFT devido à não consideração da anarmonicidade, fase condensada e interação molécula-metal no cálculo (JIANG et al., 2019).

Figura 3.11 – Vias de reação induzidas por plasmon de 4-BTP/Ag para RhB e FC sob a excitação de plasmon de superfície. a) Comparação de espectros Raman experimental e calculados de RhB/TP, com sítios de ligação de 1-6. b) Ilustração esquemática das vias de reação entre 4-BTP e RhB, sob a excitação do plasmon de superfície. c) Comparação de espectros Raman experimental e calculados de FC/TP, com sítios de ligação de 1-6. d) Ilustração esquemática das vias de reação entre 4-BTP e FC, sob a excitação do plasmon de superfície.



Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

A fibra óptica possui bandas Raman intrínsecas (*background*) (HOLLENBECK; CANTRELL, 2002) (uma banda larga em 1000-1300 cm⁻¹ e uma banda relativamente forte e estreita em torno de 1320 cm⁻¹), e várias bandas Raman de RhB/TP são afetadas por esse *background* da fibra. Para melhor observação de todas as bandas Raman, o espalhamento

Raman foi medido focando o laser diretamente nas extremidades da fibra usando um microscópio após a reação induzida por *plasmon*, na configuração experimental mostrado pela Figura 3.6. Devido à estrutura complexa das moléculas, cada banda corresponde às atribuições de muitos modos vibracionais, dificultando a identificação da origem da mudança para cada modo vibracional. Comparado com os espectros Raman da RhB (*bulk*) e 4-BTP/AgNP, a RhB/TP na AgNP apresenta novas bandas em 1309, 1398, 1435, 1504, 1566 cm^{-1} , e um ligeiro deslocamento das bandas em 1355, 1511, 1525 cm^{-1} , que se referem aos modos vibracionais (C-C e C-H)_{Xa} ou (C-C e C-H)_{TP}, em geral. (Figura 3.11a e Tabela 3.1). Os picos sugerem que uma fração de hidrocarboneto do núcleo xanteno e o tiofenol foram afetados na imobilização, resultando em uma ligeira perturbação de seus modos vibracionais de ressonância (GANBOLD; JOO, 2015; JIANG et al., 2019). Os possíveis seis sítios de ligação da RhB imobilizados pelo ligante são ilustrados na inserção da Figura 3.11a, com base nos mapas de reatividade IFCA e espectros Raman observados experimentalmente. Em geral, o espectro Raman obtido experimentalmente coincide com o sítio de ligação 6, na Figura 3.11a, exceto pelo pico em torno de 1593 e 1644 cm^{-1} . O enfraquecimento e desvio para o vermelho das bandas em relação ao cálculo são atribuídos à regra de seleção do *plasmon* de superfície (LOMBARDI; BIRKE, 2008; MOSKOVITS; SUH, 1984) e ao desvio de frequência por transferência de carga (CAÑAMARES et al., 2008; SAVIELLO et al., 2019).

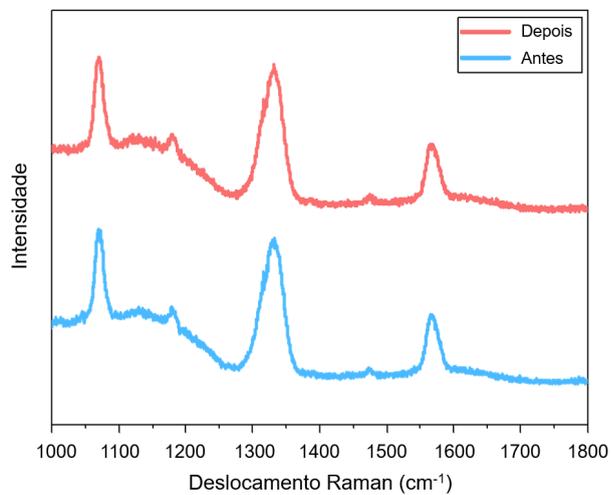
Embora o sítio de ligação 6 na Figura 3.11a tenha as atribuições de banda mais consistentes com o espectro Raman obtido experimentalmente (Tabela 3.1), os outros sítios de ligação não podem ser simplesmente excluídos como candidatos devido à semelhança das bandas Raman entre os sítios de ligação de 1-6. Há a possibilidade de que as seis estruturas moleculares possam coexistir na superfície do AgNP devido à sua nucleofilicidade e potencial eletrostático semelhantes, atribuindo às larguras de banda mais amplas e ao ligeiro desvio

entre os espectros experimental e calculado. No entanto, a principal conclusão aqui é que os espectros Raman obtidos experimentalmente sugerem fortemente que a a imobilização ocorreu pelos sítios de ligação de xanteno (Figura 3.11a), permitindo que sítios de ligação de íons mantenham-se ainda funcionais.

Com base nos mapas IFCA e nos espectros Raman, a reação prossegue em três etapas, conforme ilustrado na Figura 3.11b: *i)* RhB ajusta sua orientação pela interação eletrostática entre o grupo carbonila de RhB e o local de terminação 4-BTP devido à sua negativa potenciais eletrostáticos. *ii)* Após a excitação do plasmon de superfície, o elétron quente é transferido do AgNP para o 4-BTP. Entretanto, devido à baixa polaridade do solvente, a dissociação do átomo de bromo dificilmente ocorre. *iii)* Uma vez que um átomo nucleofílico da RhB com uma maciez química local semelhante se aproxima do 4-BTP, ocorre a reação de substituição radical-nucleofílica aromática do 4-BTP, resultando na dissociação do hidrogênio da RhB. A reação é terminada após o hidrogênio reagir com com o átomo de bromo, produzindo brometo de hidrogênio. Qualquer possível reação do solvente com o ligante foi eliminada irradiando o 4-BTP/AgNP em DMF sem RhB (Figura 3.12). Uma diminuição do pico de C-Br em torno de 1065 cm^{-1} com a imobilização da RhB indica que o Br é substituído pela RhB (Figura 3.7 e 3.13). Complementarmente, nenhuma alteração no espectro foi observada, mesmo após lavagens extras sequenciais e cíclicas por imersão do sistema RhB/TP/AgNP/OF em água fresca DMF, EtOH, água deionizada, e soluções aquosas de NaCl 1M com um fluxo rigoroso por micropipetagem, evidenciando a efetividade da ligação química da RhB na superfície TP/AgNP (Figura 3.14). Esses resultados são importantes evidências experimentais que sugerem a imobilização química do RhB através da formação de uma ligação química com o ligante.

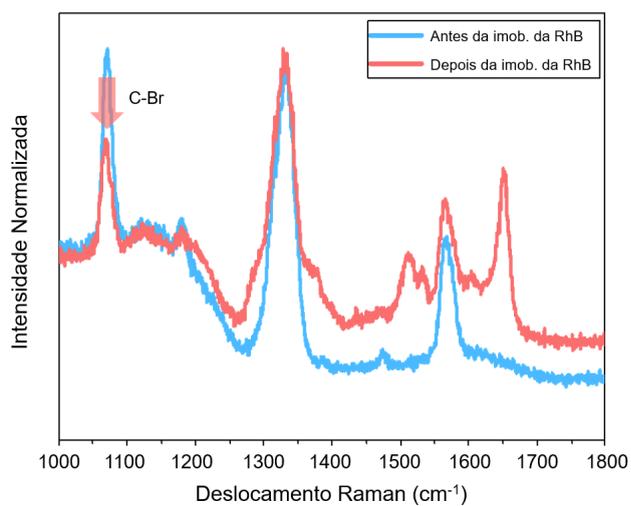
Figura 3.12 – Reatividade de 4-BTP com DMF, após a irradiação. Comprimento de onda do laser: 515 nm.

Potência de irradiação: 1 mW. Tempo de irradiação: 10 minutos.



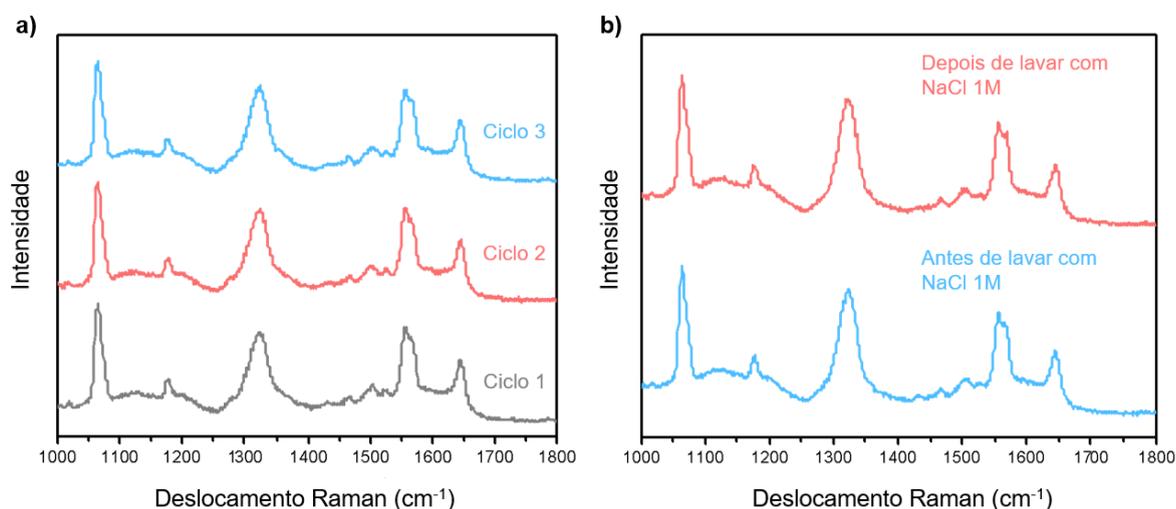
Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

Figura 3.13 – Diminuição dos espectros de C-Br após a ligação química de 4-BTP com Rhod-B. Comprimento de onda do laser: 515 nm. Potência do laser: 1 mW. Tempo de irradiação: 10 minutos. Concentração de RhB: 100 μM.



Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

Figura 3.14 – Estabilidade química da RhB imobilizada em AgNP/OF. Espectros Raman consistentes após lavagem cíclica adicional da extremidade da fibra em a) DMF, etanol e água; b) e lavagem com solução aquosa de NaCl 1M.



Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

As mesmas etapas de verificação para imobilização de FC em AgNP com o ligante químico 4-BTP também foram realizadas. Considerando a comparabilidade da maciez química, os sítios de ligação mais favoráveis do FC ao ligante também estão localizados nos carbonos do xanteno e as possíveis estruturas moleculares são ilustradas na Figura 3.11. Os espectros Raman teóricos das possíveis estruturas moleculares também foram calculados. Comparado com os espectros Raman da FC *bulk* e 4-BTP/AgNP, o sistema FC/TP/AgNP apresenta novas bandas em 1139, 1165, 1322, 1343, 1387, 1543, 1612, 1628 cm^{-1} e bandas ligeiramente deslocadas em 1180 e 1590 cm^{-1} . Os picos referem-se aos modos vibracionais (C-C e C-H)_{Xa} ou (C-C e C-H)_{TP} em geral (WANG et al., 2001), suportando a ideia de que a

fração de hidrocarboneto do núcleo de xanteno e o tiofenol foram afetados após a imobilização, conforme observado para a RhB.

Apesar da significativa seção transversal de espalhamento Raman dos quimiossensores em comparação com o ligante químico (RU; ETCHEGOIN, 2008), o aumento do SERS após a imobilização do RhB e FC no AgNP é consideravelmente baixo (< 1 ordem de magnitude). A observação pode ser atribuída ao fato de que os *hot spots* plasmônicos localizados entre as AgNPs podem não estar distantes o suficiente para que RhB e FC acessem e alterem sua orientação molecular para formar a ligação química com o 4-BTP. Conseqüentemente, RhB e FC podem existir no *hot spot* plasmônico com uma grande distância de intervalo (*gap*), resultando em um efeito reduzido de amplificação eletromagnética ($\sim|E|^4$) (RU; ETCHEGOIN, 2008). Contudo fornecem um nível semelhante de intensidade para 4-BTP devido à sua seção transversal Raman. Um aumento adicional na potência do laser pode melhorar a eficiência de imobilização dos corantes à base de xanteno no AgNP e na amplificação do campo eletromagnético, mas de forma limitada, uma vez que grande parte do sinal SERS ainda se origina do *hot spot* plasmônico com um pequeno *gap* (LE RU; ETCHEGOIN, 2012). Em vez das AgNPs imobilizadas aleatoriamente, um substrato SERS sistematicamente padronizado com uma distância de *gap* finita (suficiente para que o quimiossensor acesse o *hot spot* plasmônico e mude sua orientação de uma maneira que facilite a reação química) pode permitir a imobilização eficiente dos quimiossensores baseados em xanteno dentro do *hot spot* e produzir satisfatória amplificação de campo e ressonância Raman. Para uma compreensão mais profunda, é necessária, em última análise, tecnologia de litografia de ponta, com um controle de distância de *gap* mais preciso.

3.3.4. Resposta espectral do quimiossensor à base de xanteno ao seu íon alvo

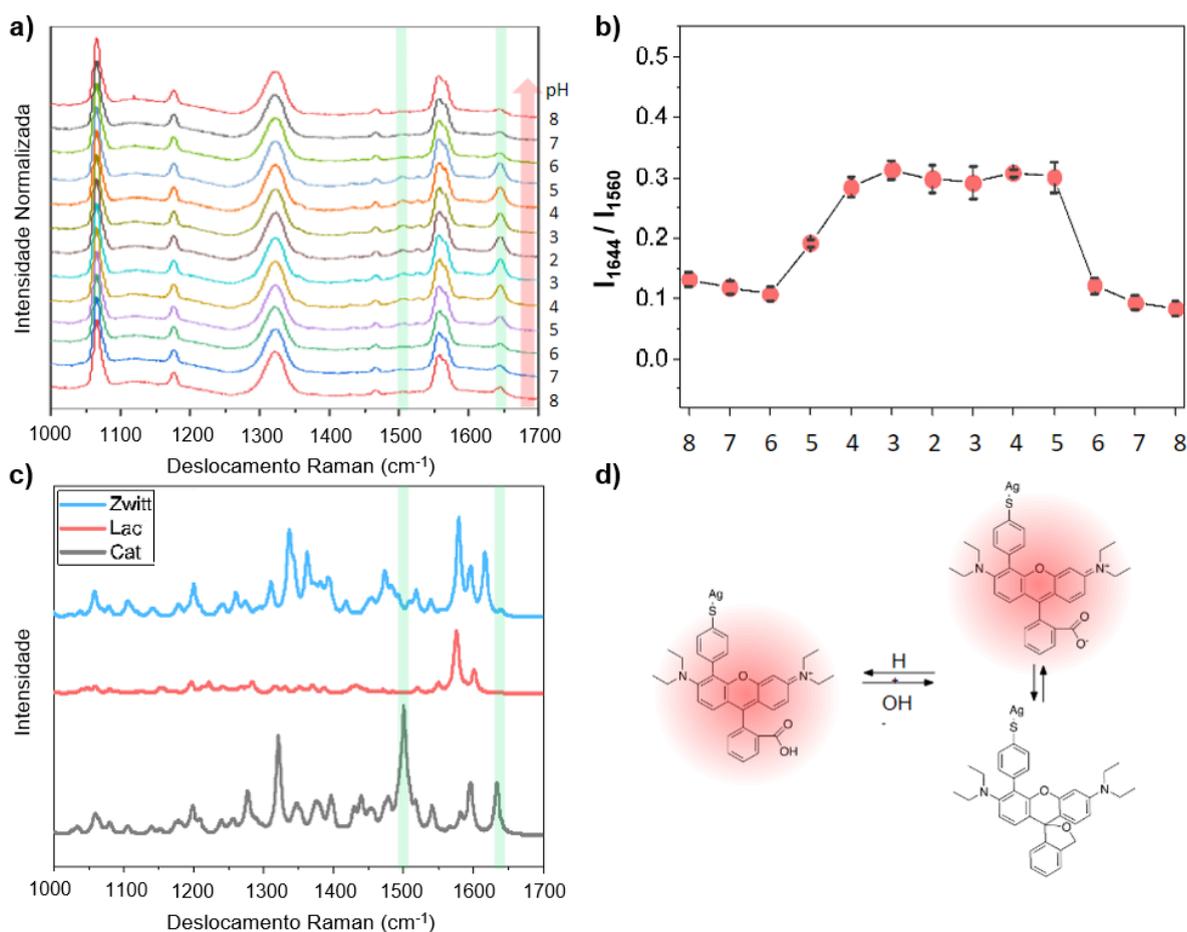
Para verificar se os sítios de ligação de RhB e FC correspondem aos sítios de ligação de íons e também analisar a viabilidade das moléculas imobilizadas como quimiossensores, a mudança espectral do quimiossensor em resposta ao pH de uma solução aquosa foi avaliada.

RhB ou FC imobilizadas pelo ligante químico na região xanteno têm o carboxifenil em comum e grupos amina ou hidroxila para RhB e FC disponíveis, respectivamente. Os três grupos funcionais podem interagir com prótons, levando à alteração da carga líquida ou sofrendo alterações estruturais em função do pH e da polaridade do solvente (Figura 3.3 e 3.4). A demonstração experimental da funcionalidade dos quimiossensores foi implementada pela imersão da extremidade da fibra óptica funcionalizada com RhB/TP/AgNP e FC/TP/AgNP em soluções aquosas com diferentes valores de pH preparadas em frascos descartáveis separados. Os espectros Raman das extremidades da fibra foram medidos após pipetagem rigorosa em cada solução de pH.

Devido a uma mudança dramática dos espectros Raman para RhB/TP e FC/TP em torno de pH 4 - 6, a demonstração experimental da funcionalidade foi implementada em uma faixa de pH entre 2 e 8. Para RhB/TP/AgNP, foi observado um aumento significativo da intensidade dos dois picos em torno de 1510 e 1644 cm^{-1} (Figura 3.15a), enquanto que o pico em 1560 cm^{-1} , $\nu_a(\text{C-C})_{\text{Tp}}$, predominantemente de 4-BTP não reagido permanece quase o mesmo com a diminuição do pH de 8 a 2 (Figura 3.15a). No processo reverso, observou-se que a intensidade das bandas diminuiu novamente com o aumento do pH. A Figura 3.15b foi construída utilizando uma razão relativa de 1644 cm^{-1} /1560 cm^{-1} (pico sensível à alteração de pH/pico não sensível) em diferentes valores de pH, e a resposta reversível do quimiossensor foi bem demonstrada. Nesse procedimento, é esperado que três estruturas moleculares possam

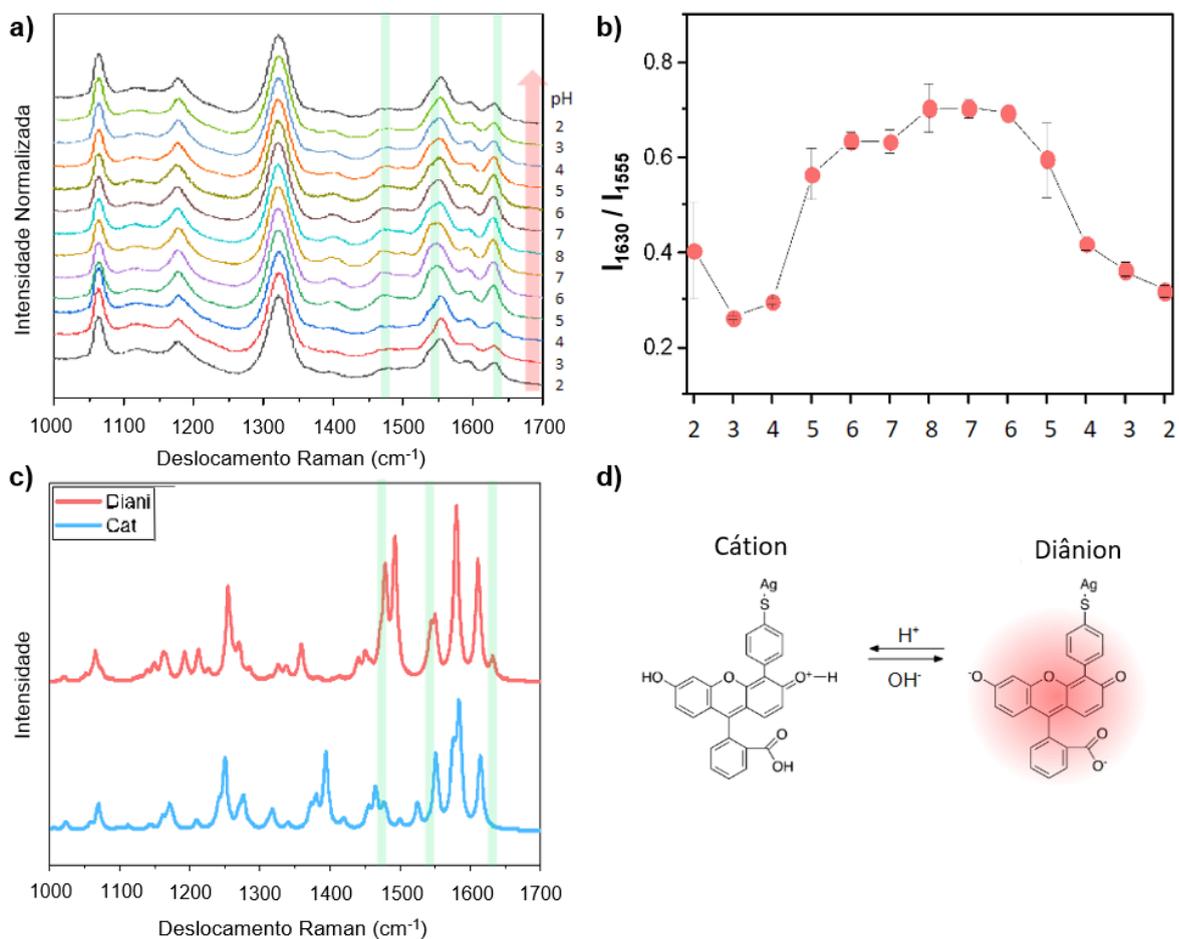
existir dentro da faixa de pH, conforme ilustrado na Figura 3.15d. Considerando que a forma lactona não é dominante na solução aquosa básica, os espectros Raman calculados por DFT também demonstraram uma mudança significativa de intensidade da banda nos números de onda entre as formas zwitteriônica e catiônica (Figura 3.15c e b).

Figura 3.15 – Resposta espectral de RhB/TP à mudança de pH. a) Alteração espectral experimental de RhB/TP em resposta ao pH das soluções aquosas. b) Razão de intensidade da banda SERS (I_{1644}/I_{1560}) em função do pH das soluções em a). c) Espectros Raman calculados por DFT das formas zwitteriônicas (Zwitt), lactonas (Lac) e catiônicas (Cat) e d) suas estruturas moleculares correspondentes em função do pH.



Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

Figura 3.16 – Resposta espectral de FC/TP à mudança de pH. a) Mudança espectral experimental de FC/TP em resposta ao pH das soluções aquosas. (b) Razão de intensidade da banda SERS reversível (I_{1630}/I_{1555}) em função do pH das soluções de a). c) Espectros Raman calculados por DFT das formas catiônicas (Cat) e dianiônicas (Dian) e d) suas estruturas moleculares correspondentes em função do pH.



Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

Por outro lado, para FC/TP/AgNP, foi observado um considerável aumento na intensidade geral das bandas Raman com o aumento do pH, exceto a banda em 1555 cm⁻¹, que é o oposto ocorrido em relação à mudança espectral da RhB em função do pH. No início da medição, as bandas Raman em torno de 1470, 1540 e 1630 cm⁻¹ da FC/TP em solução aquosa

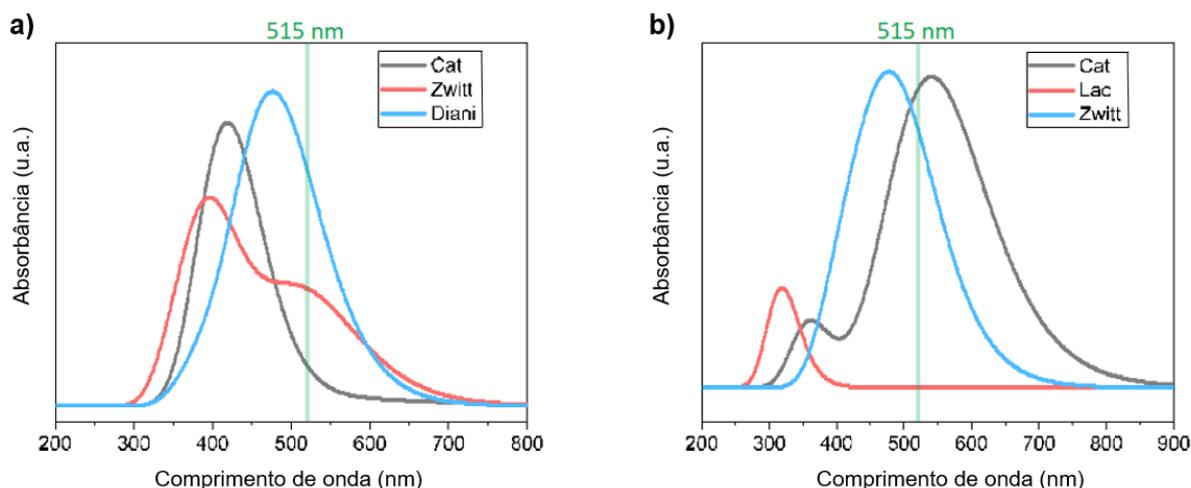
de pH 2 foram significativamente suprimidas (Figura 3.16a). As bandas suprimidas aumentaram de intensidade à medida que o pH aumentou para 8 e diminuíram novamente, à medida que o pH diminuiu para 2 (nível semelhante da primeira medição), o que está de acordo com os espectros calculados por DFT entre estruturas catiônicas e dianiônicas (Figura 3.16a e c). A razão de intensidade relativa de $1630\text{ cm}^{-1}/1555\text{ cm}^{-1}$ em diferentes valores de pH foi plotada na Figura 3.16b, que mostrou a resposta reversível do indicador SERS.

Embora haja uma boa concordância da mudança espectral para as principais bandas Raman entre o experimento e o cálculo, a mudança de intensidade coletiva das outras bandas Raman de RhB/TP e FC/TP também foi observada com a mudança do pH da solução: por exemplo, as bandas em torno de 1355 e 1525 cm^{-1} para RhB/TP e 1470 e 1540 cm^{-1} para FC/TP, que não foram observáveis no cálculo DFT. A diferença entre os espectros experimentais e calculados pode ser atribuída pela desconsideração das mudanças ressonantes da seção transversal Raman (efeito de amplificação de ressonância) (MEYER; RU; ETCHEGOIN, 2010) no cálculo.

Dentre as possibilidades de investigação, é importante notar que a análise experimental das propriedades fluorescentes dos corantes à base de xanteno em AgNP é inatingível não apenas por causa quantidade extremamente baixa dos corantes (contribuição insignificante para a absorbância em comparação com AgNPs), mas também por causa da extinção completa da fluorescência pela transferência de carga pelas AgNP. Para estimar o efeito de amplificação de ressonância dos corantes à base de xanteno imobilizados sobre a mudança de suas estruturas moleculares, a absorbância (Figura 3.17) foi calculada, que é uma medida da capacidade da molécula de absorver a luz em um determinado comprimento de onda (LAKOWICZ, 2006). Com base na absorbância calculada, o sinal SERS de FC/TP pode

ser significativamente aumentado após a desprotonação em solução aquosa básica devido ao aumento da seção transversal de espalhamento ressonante Raman, que possui correlação com sua absorvância (MEYER; RU; ETCHEGOIN, 2010) e é diretamente proporcional à amplificação SERS (RU; ETCHEGOIN, 2008) (Figura 3.16a). O fator de intensificação de ressonância da FC/TP observado experimentalmente entre a mudança estrutural catiônica para dianiônica é de 1,7, que foi derivado comparando a intensidade das bandas ($\frac{I_{pH 8}}{I_{pH 2}}$) em 1630 cm^{-1} . Assumindo que a estrutura molecular de FC/TP é idêntica em todo o AgNP no núcleo da fibra, tal fator de amplificação é consideravelmente baixo, dada a mudança de absorvância (Figura 3.17a). É possível que a existência de outras estruturas moleculares com diferentes sítios de ligação pode ter contribuído para a diminuição do fator de amplificação. Enquanto houve uma variação quase linear entre as formas iônicas em função do pH, uma mudança significativa da absorvância pode ser observada apenas entre as formas catiônica ou zwitteriônica e lactônica, mas entre cátion e zwitterion para RhB/TP (Figura 3.17b). O fator de aumento de ressonância observado experimentalmente do RhB/TP com base na comparação de intensidade de banda ($\frac{I_{pH 2}}{I_{pH 8}}$) em 1644 cm^{-1} é 2,3. Considerando o fato de que a estrutura zwitteriônica é dominante (em relação à forma lactona) em solução aquosa básica (HINCKLEY; SEYBOLD, 1988), o aumento excede o esperado aumento de ressonância Raman entre o zwitterion e o cátion. Dentre as hipóteses, é possível que o ambiente superhidrofóbico nos *hot spots* plasmônicos (KOTA; KWON; TUTEJA, 2014; XU et al., 2012) possa facilitar a existência de formas lactonas e interferir na mudança da seção transversal do espalhamento Raman de ressonância com variação do pH da solução, conforme observado nos resultados experimentais e teóricos (cátion vs lactona).

Figura 3.17 – Absorbância de a) FC/TP e b) RhB/TP em diferentes formas iônicas.



Fonte: Autoria própria, 2023.

De um modo geral, o comprimento de onda de excitação para o SERS está dentro da banda de absorção de RhB e FC. Deve-se sublinhar que a fluorescência completamente extinta de RhB/TP e FC/TP provocada pela transferência de carga das AgNP para o quimiossensor fornece a liberdade para a seleção do comprimento de onda de excitação e utilizar espectroscopia Raman de ressonância para maior sensibilidade a partir de um substrato SERS com padrão robusto.

3.3.5. Efeito fototérmico na imobilização do quimiossensor

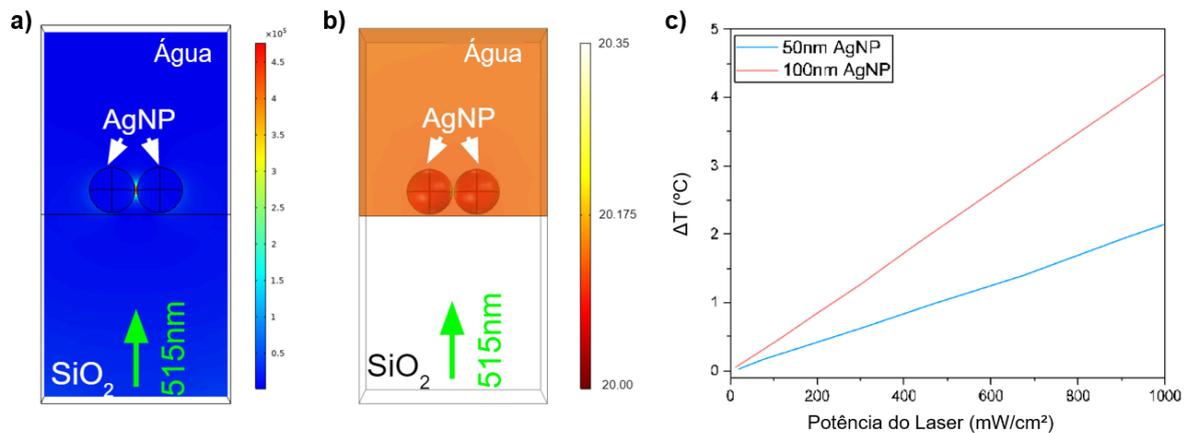
O aprimoramento de reações químicas dirigidas por SPR pode ser visto através de dois mecanismos possíveis: transferência de mudança a quente através de interfaces para adsorbatos moleculares e efeito fototérmico, que aumenta a temperatura local por dissipação térmica (BRONGERSMA; HALAS; NORDLANDER, 2015). Aqui, a reação entre o ligante

químico e os quimiossensores à base de xanteno foi projetada e elucidada com base na transferência de carga quente do AgNP para o ligante químico. No entanto, o aumento da temperatura local é uma consequência inevitável da excitação do plasmon de superfície em AgNP. A reação de substituição nucleofílica aromática envolve um processo de quebra de ligação altamente endotérmica do Br de 4-BTP para o ataque por um nucleófilo (SMITH, 2020). Portanto, a via de reação ativada termicamente para a imobilização dos quimiossensores à base de xanteno também deve ser considerada.

Compreender a via de reação dominante entre a transferência de carga quente e o efeito fototérmico é essencial para a extensão da técnica às demais substâncias possíveis. Sabe-se que a temperatura local na superfície do AgNP depende da potência do laser e do coeficiente de transferência de calor na interface entre o AgNP e a água. A medição precisa da temperatura local nas proximidades do AgNP experimentalmente não é simples. Neste contexto, para estimar o aumento de temperatura pela excitação de plasmon de superfície em AgNPs, foi empregado o modelo acoplado eletromagnético e de transferência de calor Comsol Multiphysics. Devido à falta do coeficiente empírico de transferência de calor entre o DMF e uma nanopartícula metálica, foi calculado o aumento da temperatura da superfície AgNP na água e estimado o calor gerado pela irradiação. Sob a densidade de potência óptica de 140 mW/cm^2 , o aumento de temperatura estimado na superfície AgNP foi inferior a $1 \text{ }^\circ\text{C}$, mesmo com o menor coeficiente de transferência de calor (ROPER; AHN; HOEPFNER, 2007) entre os valores relatados (Figura 3.18) (HU; HARTLAND, 2002; PLECH et al., 2004; WILSON et al., 2002). Tal aumento de temperatura não é alto o suficiente para desencadear a reação de substituição nucleofílica aromática. A observação dos espectros Raman apenas de 4-BTP/AuNP mesmo após 6 horas de reação em $100 \text{ } \mu\text{M}$ RhB/DMF na temperatura elevada de $90 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 3.19) suporta fortemente que a reação de substituição nucleofílica radical

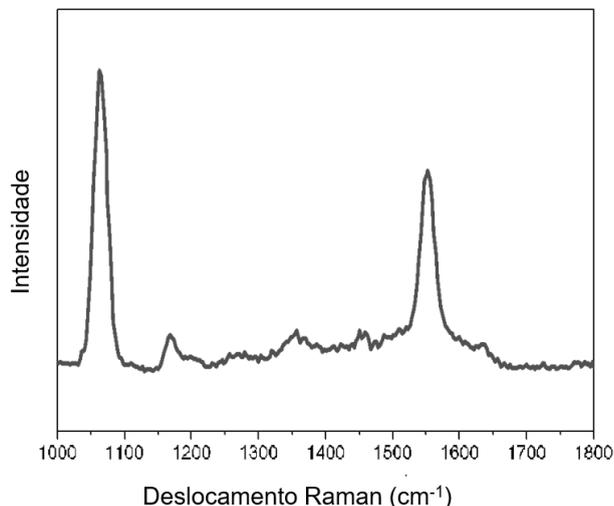
aromática induzida pela transferência de carga da nanopartícula para o ligante é a via dominante para a imobilização dos quimiossensores baseados em xanteno. Aqui, AuNP foram empregadas em vez de AgNP para contornar a oxidação da prata. Os resultados numéricos calculados e experimentais presentes são significativos em pelo menos dois aspectos principais: *i)* A eficiência de imobilização dos corantes à base de xanteno em nanoestruturas plasmônicas por geração de elétrons quentes se destaca em comparação com a abordagem térmica; *ii)* Este método também pode ser aplicado aos corantes à base de xanteno com baixa estabilidade térmica.

Figura 3.18 – Aumento da temperatura local por laser. a) Distribuição do campo elétrico e b) distribuição de temperatura perto de dímeros AgNP. c) Aumento da temperatura em função da densidade de potência do laser.



Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

Figura 3.19 – Espectro Raman das AuNPs funcionalizadas com 4-BTP após 6 h de imersão em 100 μ M RhB em DMF a 90 °C.



Fonte: Adaptado de (KIM et al., 2024).

3.4. Conclusões

Demonstrou-se um método de imobilização fácil e versátil de quimiossensor baseado em xanteno em nanoestruturas plasmônicas, passíveis de serem utilizados como indicadores Raman para detecção de íons via SERS. Aqui, foi empregado 4-BTP como um ligante químico e a reação de substituição de radical aromático induzida por plasmon para imobilizar os quimiossensores baseados em xanteno. RhB e FC foram escolhidas para demonstrar a viabilidade da técnica de imobilização e DMF como solvente aprótico e de baixa polaridade foi escolhido como solvente para proteger o grupo funcional de participar da reação com o ligante.

Foi possível provar experimentalmente a imobilização do RhB e FC na superfície dos AuNPs após a irradiação do AuNP funcionalizado com 4-BTP. Com base nos mapas IFCA e

na comparação dos espectros Raman experimentais e calculados, há grandes indícios de que a RhB e a FC foram ligadas ao TP pela região do xanteno ao invés dos grupos funcionais dos quimiossensores, característica esta de fato desejada para a aplicação destes sistemas em sensores.

A resposta local reversível do pH das bandas Raman RhB/TP e FC/TP observadas aqui confirma dois fatos: *i)* RhB e FC são quimicamente imobilizados na superfície do AgNP, *ii)* seus sítios de ligação não são os grupos funcionais que podem interagir com o íon alvo.

O estudo demonstrou a aplicabilidade inerente da técnica aos demais quimiossensores à base de xanteno, mesmo os de baixa estabilidade térmica, visto que a maciez química dos grupos funcionais se desvia do tiofenol. Além disso, um método de detecção SERS direto governado pela amplificação Raman de ressonância foi demonstrado para resolver a dificuldade em detectar a resposta espectral dos quimiossensores baseados em xanteno devido aos seus complexos espectros Raman.

Consideramos que o uso do método de imobilização direto através do ligante químico induzido por plasmon de superfície potencialmente expandirá a escolha dos indicadores SERS e abrirá um novo caminho para o sensoriamento de íons baseado em SERS no campo da química bioanalítica.

Referências

BAO, G.; WONG, K.-L.; TANNER, P. A. A Reversible Rhodamine B Based pH Probe with Large Pseudo-Stokes Shift. **ChemPlusChem**, v. 84, n. 7, p. 816–820, 2019.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1 abr. 1993.

BREM, S.; SCHLÜCKER, S. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Density Functional Theory Calculations of a Rationally Designed Rhodamine with Thiol Groups at the Xanthene Ring. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 121, n. 28, p. 15310–15317, 20 jul. 2017.

BRONGERSMA, M. L.; HALAS, N. J.; NORDLANDER, P. Plasmon-induced hot carrier science and technology. **Nature Nanotechnology**, v. 10, n. 1, p. 25–34, jan. 2015.

BUNNETT, J. F. Aromatic substitution by the SRN1 mechanism. **Accounts of Chemical Research**, v. 11, n. 11, p. 413–420, 1 nov. 1978.

CAÑAMARES, M. V. et al. DFT, SERS, and Single-Molecule SERS of Crystal Violet. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n. 51, p. 20295–20300, 25 dez. 2008.

CAPOCEFALO, A. et al. Exploring the Potentiality of a SERS-Active pH Nano-Biosensor. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, 2019.

CHIRLIAN, L. E.; FRANCL, M. M. Atomic charges derived from electrostatic potentials: A detailed study. **Journal of Computational Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 894–905, 1987.

DENG, H.; YU, H. Silver Nanoparticle Surface Enabled Self-Assembly of Organic Dye Molecules. **Materials**, v. 12, n. 16, p. 2592, jan. 2019.

DIERINGER, J. A. et al. A Frequency Domain Existence Proof of Single-Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 51, p. 16249–16256, 1 dez. 2007.

FERRARI, L. et al. Disposable Fluorescence Optical pH Sensor for Near Neutral Solutions. **Sensors**, v. 13, n. 1, p. 484–499, jan. 2013.

FRATODDI, I. et al. Gold nanoparticles functionalized by rhodamine B isothiocyanate: A new tool to control plasmonic effects. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 513, p. 10–19, 1 mar. 2018.

FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 16**. Wallingford CT: Gaussian, Inc., 2016.

GALLAGHER, S. et al. Temperature and pH triggered release characteristics of water/fluorescein from 1-ethyl-3-methylimidazolium ethylsulfate based ionogels. **Chemical Communications**, v. 49, n. 41, p. 4613–4615, 25 abr. 2013.

GANBOLD, E.-O.; JOO, S.-W. Raman Spectroscopy of Biphenyl-4,4'-dithiol and p-Terphenyl-4,4''-dithiol on Gold Surfaces#. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 36, n. 3, p. 887–890, 2015.

GAO, B.; ARYA, G.; TAO, A. R. Self-orienting nanocubes for the assembly of plasmonic nanojunctions. **Nature Nanotechnology**, v. 7, n. 7, p. 433–437, jul. 2012.

GOMES, O. P.; BATAGIN-NETO, A.; LISBOA-FILHO, P. N. The evaluation of anchoring processes and chemical stability of zwitterionic molecules via local reactivity indexes. **Computational Materials Science**, v. 193, p. 110418, 1 jun. 2021.

HALE, G. M.; QUERRY, M. R. Optical Constants of Water in the 200-nm to 200- μ m Wavelength Region. **Applied Optics**, v. 12, n. 3, p. 555–563, 1 mar. 1973.

HAO, E.; SCHATZ, G. C. Electromagnetic fields around silver nanoparticles and dimers. **The Journal of Chemical Physics**, v. 120, n. 1, p. 357–366, jan. 2004.

HILDEBRANDT, P.; STOCKBURGER, M. Surface-enhanced resonance Raman spectroscopy of Rhodamine 6G adsorbed on colloidal silver. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 88, n. 24, p. 5935–5944, nov. 1984.

HINCKLEY, D. A.; SEYBOLD, P. G. A spectroscopic/thermodynamic study of the rhodamine B lactone \rightleftharpoons zwitterion equilibrium. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy**, v. 44, n. 10, p. 1053–1059, 1 jan. 1988.

HINCKLEY, D. A.; SEYBOLD, P. G.; BORRIS, D. P. Solvatochromism and thermochromism of rhodamine solutions. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy**, v. 42, n. 6, p. 747–754, 1 jan. 1986.

HOLLENBECK, D.; CANTRELL, C. D. Multiple-vibrational-mode model for fiber-optic Raman gain spectrum and response function. **JOSA B**, v. 19, n. 12, p. 2886–2892, 2 dez. 2002.

HU, M.; HARTLAND, G. V. Heat Dissipation for Au Particles in Aqueous Solution: Relaxation Time versus Size. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 106, n. 28, p. 7029–7033, 1 jul. 2002.

JIANG, P. et al. Hot Electron-Induced Carbon–Halogen Bond Cleavage Monitored by in Situ Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 123, n. 27, p. 16741–16746, 11 jul. 2019.

JOHNSON, P. B.; CHRISTY, R. W. Optical Constants of the Noble Metals. **Physical Review B**, v. 6, n. 12, p. 4370–4379, 15 dez. 1972.

KEITH, T. A.; MILLAM, J. M. **GaussView**. Shawnee Mission, KS: Semichem Inc., 2016.

KIM, S. et al. Plasmon-induced immobilization of xanthene chemosensors toward repurposing as SERS nanotags. **Surfaces and Interfaces**, v. 44, p. 103647, 1 jan. 2024.

KLONIS, N.; SAWYER, W. H. Spectral properties of the prototropic forms of fluorescein in aqueous solution. **Journal of Fluorescence**, v. 6, n. 3, p. 147–157, 1 set. 1996.

KOTA, A. K.; KWON, G.; TUTEJA, A. The design and applications of superomniphobic surfaces. **NPG Asia Materials**, v. 6, n. 7, p. e109–e109, jul. 2014.

KWON, N.; HU, Y.; YOON, J. Fluorescent Chemosensors for Various Analytes Including Reactive Oxygen Species, Biothiol, Metal Ions, and Toxic Gases. **ACS Omega**, v. 3, n. 10, p. 13731–13751, 31 out. 2018.

LAKOWICZ, J. R. (ED.). Instrumentation for Fluorescence Spectroscopy. Em: **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. Boston, MA: Springer US, 2006. p. 27–61.

LASCANE, L. G. et al. Polyfuran-based chemical sensors: Identification of promising derivatives via DFT calculations and fully atomistic reactive molecular dynamics. **European Polymer Journal**, v. 141, p. 110085, 5 dez. 2020.

LE GUERN, F. et al. Fluorescein Derivatives as Fluorescent Probes for pH Monitoring along Recent Biological Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 23, p. 9217, jan. 2020.

LE RU, E. C.; ETCHEGOIN, P. G. Single-Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 65–87, 2012.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785–789,

15 jan. 1988.

LI, C.-Y. et al. Real-time detection of single-molecule reaction by plasmon-enhanced spectroscopy. **Science Advances**, v. 6, n. 24, p. eaba6012, [s.d.].

LOMBARDI, J. R.; BIRKE, R. L. A Unified Approach to Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n. 14, p. 5605–5617, 1 abr. 2008.

MAIA, R. A.; VENTORIM, G.; BATAGIN-NETO, A. Reactivity of lignin subunits: the influence of dehydrogenation and formation of dimeric structures. **Journal of Molecular Modeling**, v. 25, n. 8, p. 228, 17 jul. 2019.

MANK, M.; GRIESBECK, O. Genetically Encoded Calcium Indicators. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 5, p. 1550–1564, 1 maio 2008.

MARTIN, M. M.; LINDQVIST, L. The pH dependence of fluorescein fluorescence. **Journal of Luminescence**, v. 10, n. 6, p. 381–390, 1 jul. 1975.

MEYER, S. A.; RU, E. C. L.; ETCHEGOIN, P. G. Quantifying Resonant Raman Cross Sections with SERS. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 114, n. 17, p. 5515–5519, 6 maio 2010.

MORAN, C. H. et al. Replacement of Poly(vinyl pyrrolidone) by Thiols: A Systematic Study of Ag Nanocube Functionalization by Surface-Enhanced Raman Scattering. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 115, n. 44, p. 21852–21857, 10 nov. 2011.

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. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 88, n. 23, p. 5526–5530, 1 nov. 1984.

NIAZI, A. et al. Spectrophotometric Investigation of the Acidity Constants of Fluorescein in Various Water-Organic Solvent Media. **Chemical Engineering Communications**, v. 195, n. 10, p. 1257–1268, 26 jun. 2008.

PADDOCK, S. W. (ED.). **Confocal Microscopy: Methods and Protocols**. New York, NY: Springer, 2014. v. 1075

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 22, p. 3533–3539, 1 nov. 1963.

PEDONE, A. et al. Absorption and emission spectra of fluorescent silica nanoparticles from TD-DFT/MM/PCM calculations. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 37, p. 16689–16697, 6 set. 2011.

PEDONE, A.; BARONE, V. Unraveling solvent effects on the electronic absorption spectra of TRITC fluorophore in solution: a theoretical TD-DFT/PCM study. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 12, n. 11, p. 2722–2729, 2 mar. 2010.

PLÁCIDO, A. et al. The Antioxidant Peptide Salamandrin-I: First Bioactive Peptide Identified from Skin Secretion of Salamandra Genus (*Salamandra salamandra*). **Biomolecules**, v. 10, n. 4, p. 512, abr. 2020.

PLECH, A. et al. Laser-induced heating and melting of gold nanoparticles studied by time-resolved x-ray scattering. **Physical Review B**, v. 70, n. 19, p. 195423, 16 nov. 2004.

POPLE, J. A. et al. Scaling Factors for Obtaining Fundamental Vibrational Frequencies and

Zero-Point Energies from HF/6–31G* and MP2/6–31G* Harmonic Frequencies. **Israel Journal of Chemistry**, v. 33, n. 3, p. 345–350, 1993.

RAMETTE, R. W.; SANDELL, E. B. Rhodamine B Equilibria. **Journal of the American Chemical Society**, v. 78, n. 19, p. 4872–4878, out. 1956.

ROPER, D. K.; AHN, W.; HOEPFNER, M. Microscale Heat Transfer Transduced by Surface Plasmon Resonant Gold Nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 111, n. 9, p. 3636–3641, 1 mar. 2007.

RU, E. L.; ETCHEGOIN, P. **Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and Related Plasmonic Effects**. [s.l.] Elsevier, 2008.

SANTIAGO, T. et al. Surface-enhanced Raman scattering investigation of targeted delivery and controlled release of gemcitabine. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 7763–7776, 24 out. 2017.

SAVIELLO, D. et al. Raman Spectroscopy and Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) for the Analysis of Blue and Black Writing Inks: Identification of Dye Content and Degradation Processes. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, 2019.

SCOTT, A. P.; RADOM, L. Harmonic Vibrational Frequencies: An Evaluation of Hartree–Fock, Møller–Plesset, Quadratic Configuration Interaction, Density Functional Theory, and Semiempirical Scale Factors. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 100, n. 41, p. 16502–16513, 1 jan. 1996.

SMITH, M. B. **March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2020.

STEPHENS, P. J. et al. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623–11627, 1 nov. 1994.

TANG, Q.; JIANG, D. Comprehensive View of the Ligand–Gold Interface from First Principles. **Chemistry of Materials**, v. 29, n. 16, p. 6908–6915, 22 ago. 2017.

THEISS, J. et al. Plasmonic Nanoparticle Arrays with Nanometer Separation for High-Performance SERS Substrates. **Nano Letters**, v. 10, n. 8, p. 2749–2754, 11 ago. 2010.

TIAN, M. et al. A fluorescent sensor for pH based on rhodamine fluorophore. **Dyes and Pigments**, v. 95, n. 1, p. 112–115, 1 out. 2012.

TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 8, p. 2999–3094, 1 ago. 2005.

VOSKO, S. H.; WILK, L.; NUSAIR, M. Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. **Canadian Journal of Physics**, v. 58, n. 8, p. 1200–1211, ago. 1980.

WANG, L. et al. Raman and FTIR spectroscopies of fluorescein in solutions. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 57, n. 9, p. 1781–1791, 1 ago. 2001.

WILSON, O. M. et al. Colloidal metal particles as probes of nanoscale thermal transport in fluids. **Physical Review B**, v. 66, n. 22, p. 224301, 10 dez. 2002.

WU, D. et al. Fluorescent chemosensors: the past, present and future. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 23, p. 7105–7123, 27 nov. 2017.

XU, L. et al. Transparent, Superhydrophobic Surfaces from One-Step Spin Coating of Hydrophobic Nanoparticles. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 4, n. 2, p. 1118–1125, 22 fev. 2012.

YANG, W.; PARR, R. G. Hardness, softness, and the Fukui function in the electronic theory of metals and catalysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 82, n. 20, p. 6723–6726, 1 out. 1985.

YANG, WEITAO.; MORTIER, W. J. The use of global and local molecular parameters for the analysis of the gas-phase basicity of amines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 108, n. 19, p. 5708–5711, 1 set. 1986.

ZHAO, J. et al. Interaction of Plasmon and Molecular Resonances for Rhodamine 6G Adsorbed on Silver Nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 24, p. 7647–7656, 1 jun. 2007.

ZRIMSEK, A. B.; HENRY, A.-I.; VAN DUYNE, R. P. Single Molecule Surface-Enhanced Raman Spectroscopy without Nanogaps. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 4, n. 19, p. 3206–3210, 3 out. 2013.

CAPÍTULO 4

4. Otimizando a imobilização de nanopartículas de ouro em superfície de sílica tiolada pelo uso de ligante neutro

4.1. Introdução

A espectroscopia Raman amplificada por superfície (SERS) é uma técnica analítica poderosa que pode fornecer impressões digitais moleculares de analitos com alta sensibilidade. A sensibilidade do SERS depende das nanoestruturas plasmônicas que podem localizar fortes campos eletromagnéticos em uma pequena lacuna dentro das estruturas (RU; ETCHEGOIN, 2008).

Para maximizar a amplificação dessa técnica, é crucial desenvolver métodos eficazes para a criação de nanoestruturas que sirvam como substratos, apresentando pequenas lacunas plasmônicas espalhadas por uma grande área superficial (SON et al., 2022). Dentro deste escopo e da miríade de abordagens em exploração, dois métodos se destacam: metassuperfícies e monocamadas automontadas (SAMs) de nanopartículas.

As metassuperfícies, que podem ser preparadas por abordagens *top-down*, oferecem vantagens notáveis, incluindo controle preciso sobre a colocação de nanopartículas, alta reprodutibilidade, maior estabilidade e durabilidade. No entanto, as metassuperfícies são acompanhadas por maiores custos de produção e limitações na obtenção de cristalinidade ideal e suavidade superficial das nanoestruturas plasmônicas. Além disso, sua capacidade de gerar *hotspots* plasmônicos em escala nanométrica é limitada (SON et al., 2022). Por outro lado, as monocamadas automontadas de nanopartículas apresentam um caminho promissor para o *design* de substratos SERS. Elas oferecem a vantagem de baixos custos de fabricação, utilizando nanopartículas prontamente sintetizáveis com controle de tamanho, forma e

composição. Estas monocamadas facilitam a formação de lacunas extremamente pequenas, variando de subnanômetros a alguns nanômetros, que amplificam significativamente os sinais SERS (SON et al., 2022).

Diversas abordagens são utilizadas para se formar tais monocamadas, abrangendo técnicas de interface líquido-líquido (LIN et al., 2003) ou Langmuir-Blodgett (TAO; SINSERMSUKSAKUL; YANG, 2007), que transferem diretamente os filmes de monocamada pré-montados para um suporte sólido. Esta abordagem produz camadas compactadas, otimizando a amplificação do SERS. Contudo, vale a pena notar que muitas vezes são necessárias etapas de processamento adicionais, o que pode aumentar os custos e pode haver limitações na escolha da estrutura do substrato. Outra abordagem viável para produzir substratos SERS envolve a imobilização direta de nanopartículas por interação eletrostática (NATH; CHILKOTI, 2004) ou formação de ligação covalente (BEN HADDADA et al., 2013; CHEN et al., 2014) via monocamadas automontadas. Essa abordagem oferece vantagens como menor custo, alta estabilidade e escalabilidade. Ela pode ser aplicada a diversas estruturas de suporte sólidas, incluindo substratos 2D (PHAM et al., 2011), fibras ópticas (CAO et al., 2013; SINGH et al., 2020) e materiais microestruturados (RAZA et al., 2011), ampliando do espectro de aplicações da SERS.

Das várias combinações de nanopartículas metálicas e substratos, o ouro (Au)-sílica ganhou popularidade significativa como a escolha mais comumente utilizada. Essa preferência decorre da excepcional estabilidade química do ouro (DREADEN et al., 2012) e de sua capacidade de potencializar sinais SERS no espectro visível (RU; ETCHEGOIN, 2008), bem como das características vantajosas do substrato de sílica, que incluem alta transparência, biocompatibilidade, custo-benefício, ampla disponibilidade e inércia química (GUERRERO-MARTÍNEZ; PÉREZ-JUSTE; LIZ-MARZÁN, 2010).

Ao imobilizar as AuNP em sílica, SAMs organossilanos contendo grupos amino terminais, como 3-aminopropil trimetoxissilano (APTMS) (LIU et al., 2003; SEITZ et al., 2003) e 3-aminopropil trietoxissilano (APTES) (BEN HADDADA et al., 2013; NATH; CHILKOTI, 2004; ZHENG et al., 2000), são popularmente empregados. Essas SAMs interagem com as moléculas de citrato carregadas negativamente nas nanopartículas de Au através de interações eletrostáticas (PARK; SHUMAKER-PARRY, 2014). Porém, deve-se ressaltar que a estabilidade dessas interações pode ser comprometida na presença de outras moléculas carregadas, ou devido à polaridade do solvente no sistema (CHAN; LENG; VIKESLAND, 2018; CHRISTAU et al., 2017). Além disso, essas interações podem ser suscetíveis à modificação subsequente da superfície com uma SAM para detecção quantitativa baseada em SERS usando nanotags, que normalmente dependem da ligação Au-S (enxofre).

Outra abordagem para imobilizar as AuNP em sílica envolve a formação de ligações covalentes usando uma ligação Au-S. Nesse caso, o 3-mercaptopropil trimetoxissilano (MPTMS) é comumente usado como ligante, proporcionando alta estabilidade química. No entanto, esta abordagem encontra desafios na obtenção de um recobrimento de superfície comparável ao das interações eletrostáticas, resultando em uma significativa diminuição do desempenho do SERS. Como resultado, embora ofereça maior estabilidade, esta técnica é empregada com menos frequência em comparação aos métodos APTMS ou APTES. Alguns estudos sugerem que o limitado recobrimento superficial alcançado com o MPTMS pode ser atribuído à sua pronunciada suscetibilidade à umidade. Esta sensibilidade à umidade resulta em inconsistências na uniformidade das monocamadas de MPTMS (HALLIWELL; CASS, 2001; HU et al., 2001; KRASNOSLOBODTSEV; SMIRNOV, 2002).

No entanto, pesquisas recentes mostraram que o recobrimento superficial não homogêneo do MPTMS não é o fator decisivo (BEN HADDADA et al., 2013). Sendo assim,

os meandros específicos relacionados ao recobrimento superficial limitado das AuNP em substratos funcionalizados por MPTMS permanecem objeto de uma investigação em andamento.

Diversos fatores devem ser considerados durante o processo de imobilização das AuNP em um substrato que foi modificado com um ligante químico. Por exemplo, é vantajoso ter cargas superficiais opostas entre o AuNP e o substrato (SEMMLER; RIČKA; BORKOVEC, 2000), e a separação interparticular das AuNP imobilizadas no substrato depende da força da interação repulsiva entre as nanopartículas resultantes de sua carga superficial. Essa interação pode ser caracterizada pelo comprimento de Debye, que representa a distância na qual as interações eletrostáticas entre partículas carregadas enfraquecem devido aos efeitos de blindagem no ambiente da solução, incluindo força iônica e polaridade da solução (KOOIJ et al., 2002).

O tamanho das partículas e o comprimento de Debye influenciam o movimento browniano das nanopartículas (MIYAHARA et al., 2004), onde partículas menores estão sujeitas ao movimento browniano com maior intensidade (HASSAN; RANA; VERMA, 2015). Este movimento browniano intensificado aumenta a probabilidade de partículas menores colidirem com o substrato.

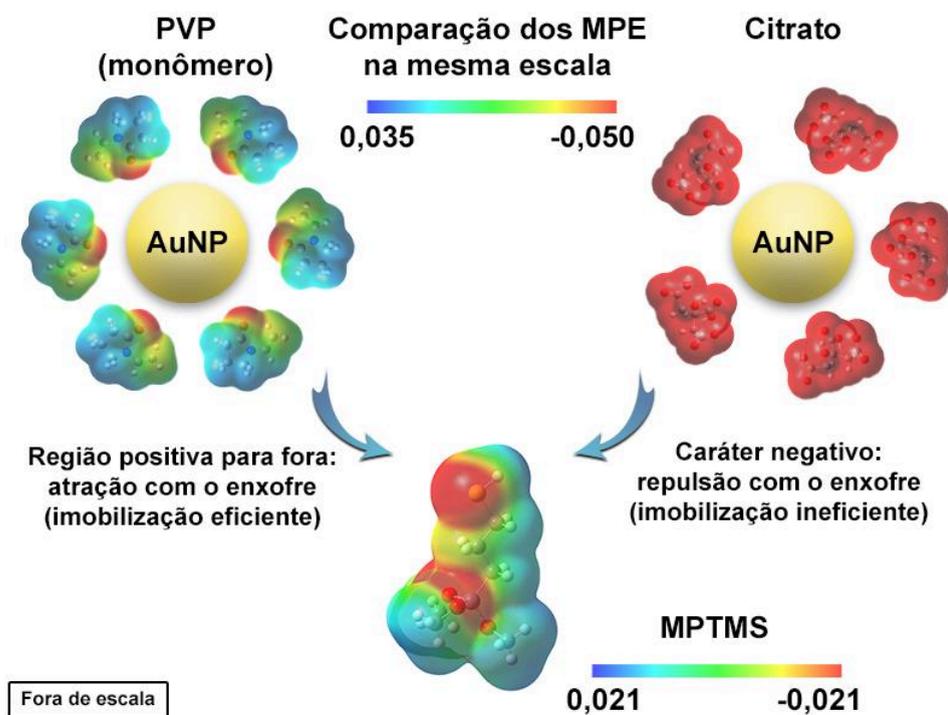
Apesar da importância destes fatores, estudos anteriores concentraram-se predominantemente na uniformidade do MPTMS no substrato, negligenciando outros fatores críticos que afetam o processo de imobilização. Curiosamente, há uma notável ausência de estudos que demonstrem a obtenção efetiva de um recobrimento superficial efetivo para tamanhos de AuNP acima de 20 nm, conhecidas por amplificar o SERS nos comprimentos de onda visíveis (TAYLOR et al., 2016; YANG et al., 2017). Além disso, o maior recobrimento

superficial alcançado utilizando MPTMS foi relatado em torno de 22,6%, e esta conquista foi realizada com nanopartículas de Au medindo 13 nm de tamanho (CHEN et al., 2014).

Para preencher esta lacuna de pesquisa, este estudo busca refinar o processo de imobilização para alcançar o máximo recobrimento superficial das AuNP em superfícies de sílica funcionalizadas por MPTMS. Mais especificamente, o foco está nos tamanhos das AuNP conhecidas por sua notável amplificação SERS. Entre a diversidade de fatores que impactam o processo de imobilização, a principal preocupação do presente estudo decorre das cargas superficiais repulsivas entre as AuNP estabilizadas com citrato (C-AuNP) e MPTMS, e seu conseqüente impacto no recobrimento superficial.

O uso de citrato na síntese típica das AuNP (C-AuNP) resulta em uma superfície negativamente carregada das mesmas (PARK; SHUMAKER-PARRY, 2014). Por outro lado, quando o MPTMS é empregado como ligante ao substrato de sílica com terminação tiol, o enxofre carrega uma carga negativa (Figura 4.1). Como resultado, espera-se uma repulsão entre o tiol do MPTMS e a superfície das C-AuNP. Essa força repulsiva representa um desafio ao aproximar as nanopartículas do enxofre do MPTMS, dificultando a formação de ligações Au-S. Para mitigar este problema, a abordagem proposta envolve a substituição do estabilizador citrato por um ligante de caráter neutro. Este estabilizador alternativo deve utilizar estabilização estérica em vez de depender de repulsão eletrostática entre as C-AuNP, como é o caso da polivinilpirrolidona (PVP) (SI et al., 2006). Esta substituição cria um ambiente de interação mais favorável para o processo de imobilização, aliviando as forças repulsivas, não apenas entre a nanopartícula e o substrato, mas também entre as próprias nanopartículas. Estas forças repulsivas influenciam significativamente o espaçamento entre partículas e, conseqüentemente, no recobrimento superficial.

Figura 4.1. – Ilustração esquemática do mecanismo de interação hipotético entre os estabilizadores das AuNP (PVP e citrato) e o ligante MPTMS, com base nos resultados dos mapas de potencial eletrostático (MPE) obtidos via estrutura DFT/B3LYP/6-31g(d,p).



Fonte: Autoria própria, 2023.

4.2. Materiais e métodos

4.2.1. Síntese das nanopartículas de ouro

As AuNPs foram sintetizadas seguindo o processo de redução pelo citrato (KIMLING et al., 2006). Resumidamente, 30 ml de HAuCl_4 1,3 mM (> 99,9%) em água DI foram aquecidos até o ponto de ebulição sob agitação vigorosa e, em seguida, 1,46 ml de solução de citrato de Na_3 38,8 mM (> 99%) foi rapidamente adicionado. A solução foi fervida durante 15 minutos e, posteriormente, a fonte de aquecimento foi desligada enquanto que a agitação se manteve até a solução atingir a temperatura ambiente. (Figura 4.2a) A solução resultante foi

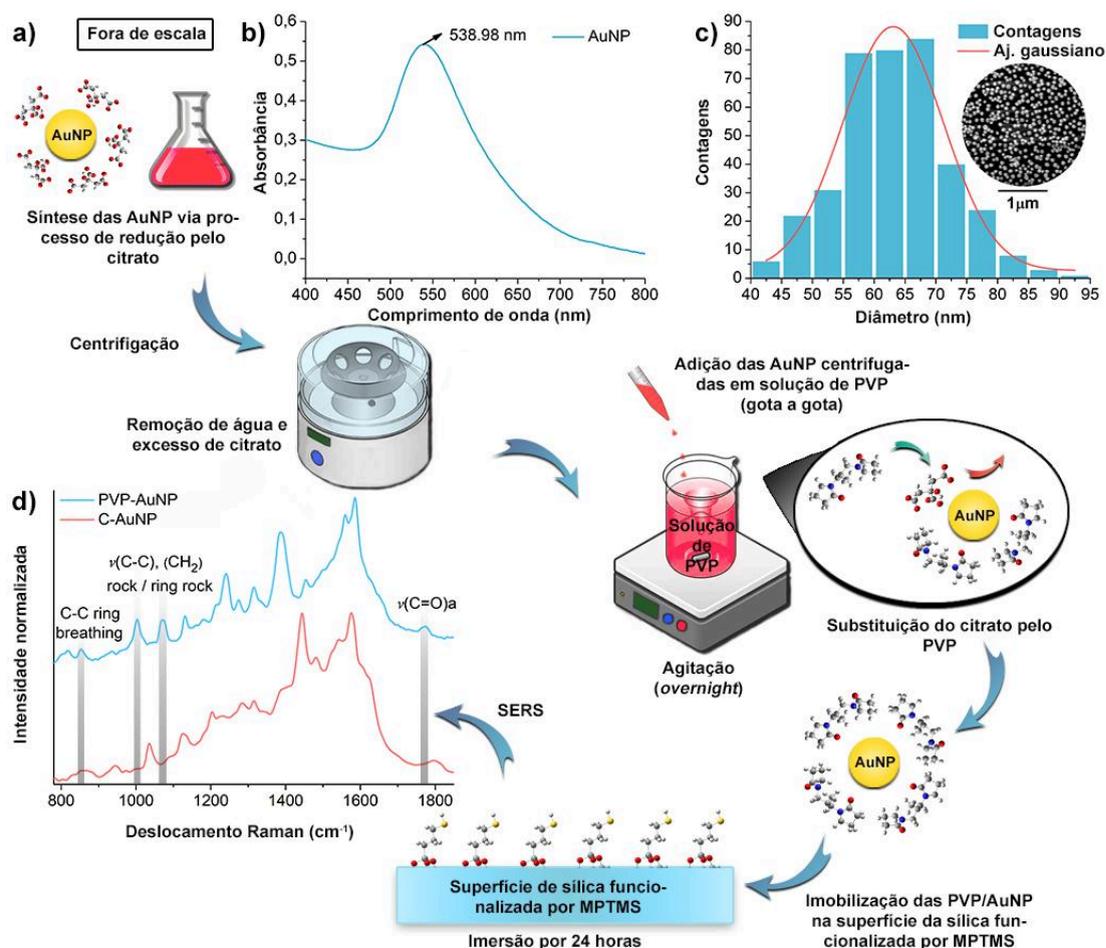
armazenada em recipiente limpo a uma temperatura (2 °C) para posterior troca do citrato com o PVP (Mw: ~55.000). Todos os produtos químicos utilizados foram adquiridos da Sigma Aldrich.

O tamanho médio das nanopartículas sintetizadas foi analisado via UV-Vis (HAISS et al., 2007) (espectrômetro Varian Cary 50) e análise estatística dos diâmetros de AuNP em micrografia obtida por MEV. A análise revelou um diâmetro médio de nanopartículas de aproximadamente 65 nm (Figuras 4.2b, c).

4.2.2. Substituição do citrato por PVP

Inicialmente, 10 mL da solução de AuNP sintetizada foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos para obter 0,2 mL de solução concentrada de AuNP. Para preparar a solução para troca de ligante, 15 mg de PVP foram adicionados a um frasco limpo contendo 15 mL de etanol (ROSTEK; MAHL; EPPLE, 2011). A solução concentrada de AuNP foi então adicionada lentamente (gota a gota) ao PVP solução sob agitação vigorosa. A agitação foi mantida durante a noite para permitir a substituição do citrato por PVP (ROSTEK; MAHL; EPPLE, 2011). Após a troca do ligante, a solução foi submetida à centrifugação, resultando em um volume final de 2,5 ml. Os espectros SERS após troca de ligante mostram a presença de novos picos em 850 ($\nu(\text{C-C})$ *ring breathing*), 958 (CH_2 *ring rock*), 1070 ($\nu(\text{C-C})$ e CH_2 *rock*), e 1765 cm^{-1} ($\nu_a(\text{C=O})$), todos atribuídos ao PVP (KOCZKUR et al., 2015). A semelhança entre os espectros C-AuNP e PVP-AuNP implica citrato remanescente após a troca, o que já foi relatado neste tipo de procedimento de troca de ligantes (ROSTEK; MAHL; EPPLE, 2011) e também devido à presença das cadeias de carbono presentes em ambos (KOCZKUR et al., 2015; MAHMOUD; TABOR; EL-SAYED, 2009).

Figura 4.2. – a) Esquema ilustrando a substituição de ligantes do citrato para PVP e subsequente imobilização das PVP-AuNP na superfície de sílica funcionalizada por MPTMS. Análise de tamanho das AuNP: b) espectro UV-Vis das AuNP sintetizadas; c) histograma de análise de distribuição de tamanho de partícula (canto superior direito) obtido a partir de micrografias por MEV . Os espectros SERS comparando o PVP-AuNP e o C-AuNP são mostrados em d) (canto inferior esquerdo).



Fonte: Autoria própria, 2023.

4.2.3. Imobilização das AuNP na superfície de sílica

Uma solução a 5% (v/v) de MPTMS (95%, Fisher Scientific) em tolueno foi inicialmente preparada em um frasco descartável limpo 12 horas antes de seu uso para hidrólise. Lâminulas de vidro de sílica (5 × 5 mm) foram cortadas e limpas com solução de piranha por imersão de 15 minutos, seguida de múltiplos enxágues com água DI.

Posteriormente, as lamínulas foram colocadas em uma solução de HCl/metanol (50:50) sob agitação para hidroxilação superficial. Após 30 minutos de hidroxilação, as lamínulas foram enxaguadas com água DI e secas em estufa a 60 °C durante a noite. As lamínulas hidroxiladas foram imersas na solução pré-preparada de MPTMS por 24 horas. Posteriormente, os substratos funcionalizados foram cuidadosamente lavados com tolueno e etanol e aquecidos a 120 °C durante 2 horas para remover qualquer MPTMS fisicamente ligado, restando apenas a monocamada quimicamente ligada. A funcionalização das lamínulas hidroxiladas com APTES foi conduzida por um procedimento comumente utilizado (NATH; CHILKOTI, 2004).

Seguindo o procedimento de troca de ligantes (descrito na Seção 4.2.2.), a solução PVP-AuNP foi submetida a centrifugação a 8.000 rpm por 10 minutos, variando de 0 a 5 ciclos em acetona, seguido de seis ciclos em etanol. A condição onde foram realizados apenas ciclos em etanol (sem ciclos de acetona) foi utilizada como grupo controle. Numerosas lavagens com acetona foram realizadas para produzir AuNP com vários graus de espessura de camadas de PVP (GEBEYEHU et al., 2017; WANG et al., 2015). A espessura das camadas de PVP pode afetar a eficiência de imobilização do AuNP com os grupos tiol presentes no MPTMS, uma vez que dificultam que o átomo de enxofre alcance a superfície de ouro da nanopartícula. Assim, as lavagens removem quantidade suficiente para deixar apenas uma camada mínima de PVP sobre o AuNP e obter um recobrimento superficial adequado sem causar agregação de partículas. Em seguida, o acoplamento Au-S foi realizado por imersão das lamínulas de sílica modificadas por MPTMS em 0,5 ml das soluções concentradas de PVP-AuNP por 24 horas, e os substratos foram cuidadosamente enxaguados com etanol e água DI várias vezes para remover qualquer nanopartícula fisicamente imobilizada. Para fins de comparação, etapas de imersão semelhantes foram realizadas com superfícies modificadas

por MPTMS e APTES na solução C-AuNP sintetizada, utilizando a mesma solução concentrada de AuNP, por 24 horas, seguida de múltiplos enxágues com água DI.

4.2.4. Cálculos computacionais

As geometrias foram construídas com o auxílio do pacote computacional Gaussview (KEITH; MILLAM, 2016) e otimizadas via teoria do funcional de densidade (DFT), utilizando o *software* Gaussian 16 (FRISCH et al., 2016), com o funcional híbrido de troca e correlação B3LYP (BECKE, 1993; LEE; YANG; PARR, 1988; STEPHENS et al., 1994; VOSKO; WILK; NUSAIR, 2011) e o conjunto de base polarizada 6-31G (d, p). O mapeamento do potencial eletrostático (MPE) molecular e os modos vibracionais Raman foram obtidos através dos esquemas de partição de carga CHelp (CHIRLIAN; FRANCL, 1987) e Freq=Raman, respectivamente. Eles também foram calculados no mesmo nível computacional utilizando o pacote computacional Gaussian 16 (FRISCH et al., 2016).

4.2.5. Medidas por SERS

Os espectros SERS foram obtidos usando um espectrômetro Raman de base Renishaw inVia equipado com um laser de 633 nm e uma lente objetiva de 50x. Para garantir a confiabilidade dos espectros SERS, um gráfico médio de 10 medições foi coletado de várias áreas de cada amostra, para todas as medições. O tempo de aquisição para cada medida foi definido em 10 segundos.

Para a avaliação dos espectros SERS sob condições variadas de pH, o substrato 4-MBA-AuNP-MTPMS foi posicionado em um molde de Polidimetilsiloxano (PDMS), com

as AuNP orientadas para baixo para estabelecer contato com a solução aquosa de pH distintos. Após a troca da solução dentro do molde de PDMS, foi analisada a resposta espectral do 4-MBA-AuNP-MPTMS ao pH da solução. As soluções de pH foram preparadas pela introdução de HCl e NaOH. O número de medições para cada valor de pH foi de 3 vezes e depois o espectro médio foi calculado.

4.3. Resultados e discussões

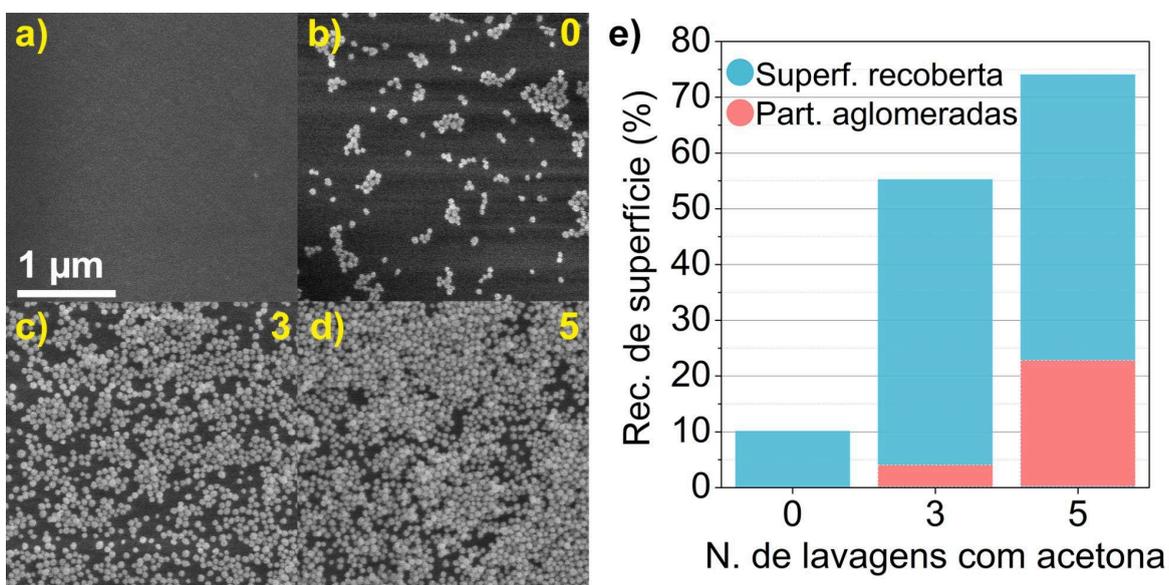
4.3.1. Recobrimento de superfície otimizado por substituição de ligante

Para avaliar a eficiência de imobilização do C-AuNP e PVP-AuNP recém-sintetizados (troca de ligante) na superfície da sílica MPTMS, foram estabelecidos dois grupos para comparação. No primeiro grupo, a sílica funcionalizada por MPTMS foi imersa na solução C-AuNP por 24 horas (Figura 4.3a). O segundo grupo envolveu a imersão da sílica funcionalizada por MPTMS na solução PVP-AuNP (Figura 4.3b), seguindo o procedimento descrito na Seção 4.2.3.

A princípio, a imobilização do C-AuNP na superfície do MPTMS foi testada utilizando o procedimento que já havia mostrado a maior cobertura superficial até o momento (CHEN et al., 2014). Surpreendentemente, nenhuma partícula foi imobilizada nesta superfície. A explicação para esse resultado está associada ao caráter negativo do citrato (CHRISTAU et al., 2017), que causa repulsão eletrostática entre o C-AuNP e o átomo de enxofre do MPTMS (Figura 4.1). Embora a imobilização de C-AuNP em superfícies tioladas tenha sido observada em estudos anteriores, é importante notar que a literatura existente apenas relata tais

conquistas para pequenas nanopartículas com diâmetros variando de 4 a 14 nm (BEN HADDADA et al., 2013; CHEN et al., 2014; CHENG; DONG; WANG, 2002).

Figura 4.3. – Micrografias de MEV de a) C-AuNP em uma superfície de sílica funcionalizada com MPTMS e b-d) PVP-AuNP em superfícies de sílica funcionalizadas com MPTMS sem qualquer lavagem adicional (b), bem como com lavagem adicional de 3 (c) e 5 (d) vezes utilizando centrifugação em acetona; e) Recobrimento superficial *versus* o número de lavagens com acetona de PVP-AuNP na superfície de sílica funcionalizada por MPTMS.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Essa conquista pode ser atribuída à interação entre vários fatores. Estes incluem a curvatura comparativamente maior da nanopartícula, que serve para aumentar as lacunas intermoleculares entre os ligantes (KISTER et al., 2018), neste caso, as moléculas de citrato. Além disso, o movimento browniano inerente apresentado por nanopartículas menores, quando contrastado com contrapartes maiores, aumenta a probabilidade de colisão das

nanopartículas com o substrato (HASSAN; RANA; VERMA, 2015). Coletivamente, essas dinâmicas podem ter contribuído para a melhoria da acessibilidade das moléculas de tiol à superfície do ouro, facilitando assim um maior grau de imobilização. Na mesma linha do método alternativo usado para partículas menores (CHEN et al., 2014), o banho ultrassônico também foi empregado para explorar potenciais melhorias na imobilização. Porém, mesmo após a sonicação, não houve melhora observada na imobilização das AuNP.

Posteriormente, considerando as características inerentes ao PVP, que podem levar à formação de uma multicamada de mais de 10 nm (LIU et al., 2019; WANG et al., 2015), diferentes condições experimentais foram elaboradas para identificar um processo subsequente que permite ajustar com precisão a espessura do PVP nas AuNP. Este processo teve como objetivo encontrar uma condição otimizada com alta cobertura superficial no substrato de sílica, minimizando efetivamente a agregação de partículas (Figura 4.3b-d).

A cobertura superficial resultante no substrato de sílica e o grau de aglomeração foram avaliados (Figura 4.3e) com base no número de centrifugações e lavagens com acetona variando de 0 a 5. Este procedimento remove efetivamente camadas excessivas de PVP da superfície do AuNP (WANG et al., 2015). Dos vários ciclos de lavagem testados, o PVP-AuNP, após três lavagens, atingiu uma cobertura superficial de 55,23%, apresentando aglomeração mínima (3,20%). Essa cobertura aproximou-se do limite de recobrimento para processos governados por adsorção sequencial aleatória (RSA) de esferas duras não interagentes com comprimento de Debye muito menor que seu raio de partícula (HASSAN; RANA; VERMA, 2015). Notavelmente, esse grau de recobrimento de superfície foi comparável à cobertura máxima de C-AuNP relatada na literatura para superfícies funcionalizadas por APTES (KELLEY, 2018), tornando-a altamente desejável para

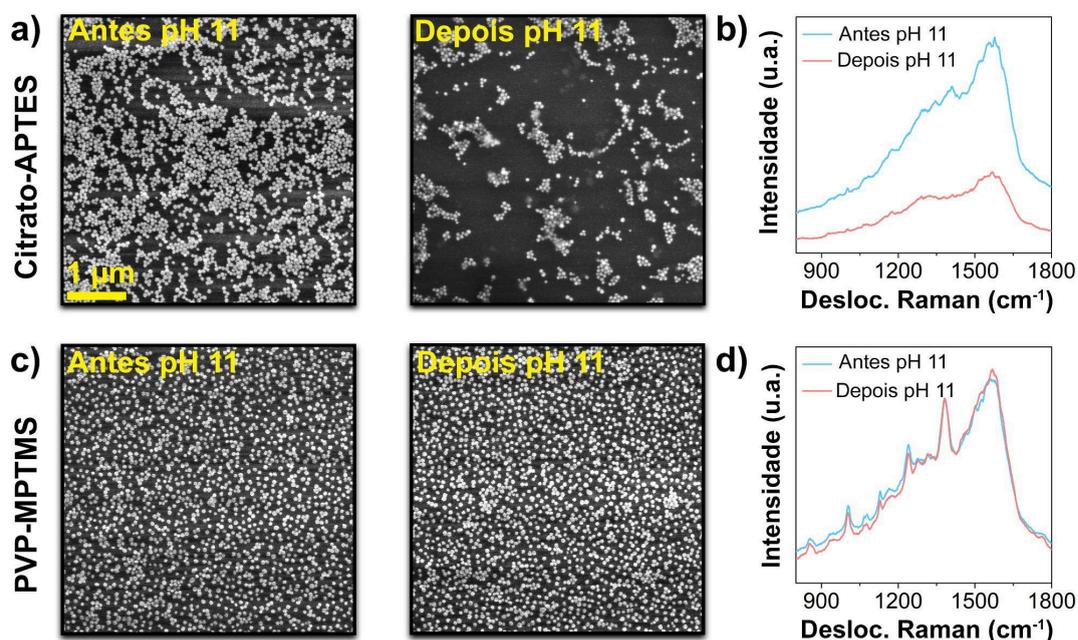
aplicações em sistemas baseados em SERS (HASSAN; RANA; VERMA, 2015). Ao lavar cinco vezes, obteve-se um recobrimento superficial superior de 74,02%, mas também foi observado um alto grau de aglomeração de partículas (19,72%). A maior aglomeração foi atribuída à remoção excessiva da camada PVP no AuNP. Assim, os resultados indicam que a realização de três lavagens de acetona das PVP-AuNP produz maior recobrimento superficial com baixo grau de aglomeração.

É importante ressaltar que a obtenção do recobrimento superficial até o limite usando PVP-AuNP serve como evidência de que o desafio em imobilizar C-AuNP à sílica funcionalizada por MPTMS não se origina da qualidade insuficiente da funcionalização do MPTMS, mas sim dos atributos do ligante das AuNP.

4.3.2. Estabilidade química aprimorada das AuNP/MPTMS vs. AuNP/APTES

A estabilidade das C-AuNP imobilizadas em superfícies através de interações não covalentes também pode representar desafios. Isto é evidente em situações como superfícies modificadas por APTES que interagem eletrostaticamente com C-AuNP. Apesar de seu amplo uso em diversas aplicações (LLEVOT; ASTRUC, 2012; ZHANG; SERVOS; LIU, 2012; ZHAO; LI; ASTRUC, 2013), tal imobilização eletrostática pode ser sensível a fatores ambientais (ALKILANY et al., 2014; ALKILANY; MURPHY, 2009; GAO et al., 2012; ROSTEK; MAHL; EPPLE, 2011), incluindo o pH (KELLEY; JESPERSEN; VAIA, 2018; SMITH et al., 2015). A comparação entre a estabilidade das C-AuNP imobilizadas em superfícies modificadas por APTES *versus* PVP-AuNP imobilizadas em superfícies modificadas por MPTMS em pH alto é ilustrada na Figura 4.4a.

Figura 4.4. – Comparação das a) Citrato-AuNP em uma superfície de sílica funcionalizada por APTES (C-AuNP-APTES) e c) PVP-AuNP em uma superfície de sílica funcionalizada por MPTMS (PVP-AuNP-MPTMS) antes e depois da imersão em uma solução de pH 11 por 24 horas. Além disso, também são mostrados os espectros médios de SERS antes e depois deste processo, cada um baseado em 10 medições para b) C-AuNP-APTES e d) PVP-AuNP-MPTMS.



Fonte: Autoria própria, 2023.

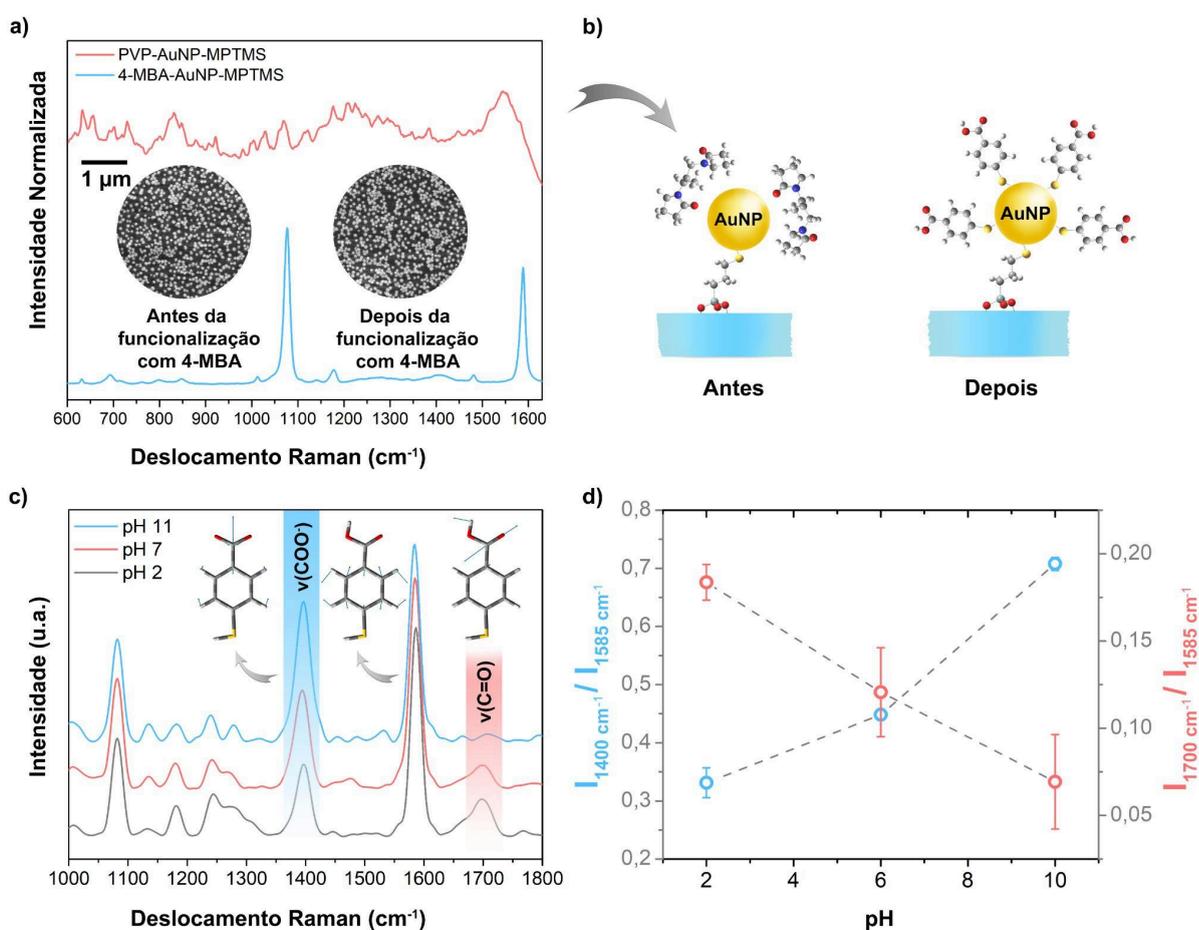
A imagem mostra claramente um desprendimento substancial das C-AuNP/APTES após 24 horas de imersão em pH 11, enquanto que as PVP-AuNP/MPTMS permanecem quase intactas. Esta observação está alinhada com descobertas anteriores de desprendimento das C-AuNP devido a interações eletrostáticas em valores elevados de pH (KELLEY; JESPERSEN; VAIA, 2018; SMITH et al., 2015). Em aplicações práticas de SERS, a fraca estabilidade de imobilização das C-AuNP em superfícies modificadas por APTES pode levar a uma perda significativa de intensidade espectral, como indicado na Figura 4.4b. Em

contraste, as PVP-AuNP quimicamente imobilizadas em superfícies de MPTMS apresentam variação espectral mínima, mesmo após 24 horas de imersão em solução de pH 11.

Além de demonstrar a maior estabilidade do substrato SERS preparado com MPTMS sob exigente força iônica, sua estabilidade química durante o processo de pós-funcionalização das AuNP com nanotags SERS contendo grupos tiol também foi investigada. Nesse contexto, o PVP em AuNP-MPTMS-sílica foi substituído pelo ácido 4-mercaptopbenzóico (4-MBA) por imersão em solução 10 mM de 4-MBA em DMF por 24 horas. O espectro resultante após a funcionalização com o 4-MBA (Figura 4.5a) exhibe exclusivamente seus modos vibracionais característicos (CAPOCEFALO et al., 2019; TALLEY et al., 2004), implicando em uma troca de ligante de superfície do PVP. Notavelmente, nenhum desprendimento das AuNP ocorreu durante a subsequente troca de ligante de PVP para 4-MBA, confirmando a estabilidade química pós-tratamento químico adicional à base de tiol.

Através da análise SERS usando *nanotags* de pH, pretende-se enfatizar o progresso significativo alcançável através da preparação do substrato SERS usando MPTMS, particularmente no domínio da química analítica. A seleção do 4-MBA entre vários tióis decorre do seu uso bem estabelecido como indicador de pH via SERS (CAPOCEFALO et al., 2019). A resposta espectral do substrato em valores de pH de 3, 7 e 11 (Figura 4.5b) foi, então, avaliada.

Figura 4.5. – a) Micrografias obtidas por MEV, espectros SERS e b) ilustração (fora de escala) mostrando antes e depois da funcionalização das PVP-AuNP-MPTMS em solução de 4-MBA (substituição completa de PVP), c) resposta espectral SERS das AuNP-MPTMS funcionalizadas com 4-MBA em função do pH com seus vetores de deslocamento dos modos vibracionais utilizados em d) para o cálculo das intensidades relativas entre $\nu(\text{COO}^-)$ (a 1400 cm^{-1} , em azul) e $\nu(\text{C=O})$ (a 1700 cm^{-1} , em vermelho) em relação a um pico não sensível ao pH (referência) em 1585 cm^{-1} .



Fonte: Autoria própria, 2023.

Os resultados estão alinhados com achados anteriores da literatura (CAPOCEFALO et al., 2019), onde o aumento do pH corresponde a uma intensidade relativa aumentada em números de onda de 1400 cm^{-1} , juntamente com um declínio em torno de 1700 cm^{-1} , em comparação com um pico não sensível em 1585 cm^{-1} . Essas regiões correspondem às

vibrações de *stretching* $\nu(\text{COO}^-)$, $\nu(\text{C=O})$, e $\nu(\text{C-C})$ -*ring breathing* (Figura 4.5c, d), respectivamente (CAPOCEFALO et al., 2019). Essa faixa de detecção de pH ultrapassa o que as AuNP-APTES podem suportar com segurança. Consequentemente, os quimiossensores baseados em SERS preparados usando MPTMS, que exibem uma afinidade química robusta pelo ouro, representam um avanço promissor e direto em direção à análise quantitativa SERS.

4.4. Conclusões

Neste estudo, foram abordadas questões relativas às cargas superficiais repulsivas entre as AuNP estabilizadas com citrato e uma superfície tiolada. Para superar esse problema, foi realizada uma escolha estratégica para substituir o citrato, um estabilizador comumente usado para AuNP, por um ligante neutro, o PVP. Essa substituição criou um ambiente de interação mais favorável ao processo de imobilização.

Notavelmente, embora o PVP seja comumente usado como estabilizador para nanopartículas metálicas, nenhum grupo anterior explorou a ideia de substituir o citrato por PVP para este resultado específico, o que levou a um recobrimento superficial surpreendentemente alto. Na verdade, foi alcançado o máximo recobrimento superficial através do RSA, mantendo ao mesmo tempo a durabilidade e o desempenho do substrato SERS, mesmo em ambientes agressivos, como aqueles com altos níveis de pH.

Além disso, o estudo demonstrou com sucesso a imobilização das AuNP de grandes diâmetros, conhecidas pela alta amplificação SERS, em superfícies de sílica tiolada pela primeira vez. Estas descobertas têm imensa importância para a longevidade e sensibilidade dos quimiossensores baseados em SERS, particularmente em ambientes onde a estabilidade de nanopartículas imobilizadas utilizando interações eletrostáticas pode ser comprometida. Ao

apresentar esta metodologia simples e eficaz, é possível prever uma expansão significativa na gama de aplicações SERS, que anteriormente era limitada e estagnada.

Referências

ALKILANY, A. M. et al. Colloidal Stability of Citrate and Mercaptoacetic Acid Capped Gold Nanoparticles upon Lyophilization: Effect of Capping Ligand Attachment and Type of Cryoprotectants. **Langmuir**, v. 30, n. 46, p. 13799–13808, 25 nov. 2014.

ALKILANY, A. M.; MURPHY, C. J. Gold Nanoparticles with a Polymerizable Surfactant Bilayer: Synthesis, Polymerization, and Stability Evaluation. **Langmuir**, v. 25, n. 24, p. 13874–13879, 15 dez. 2009.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1 abr. 1993.

BEN HADDADA, M. et al. Optimizing the immobilization of gold nanoparticles on functionalized silicon surfaces: amine- vs thiol-terminated silane. **Gold Bulletin**, v. 46, n. 4, p. 335–341, 1 dez. 2013.

CAO, J. et al. Wavelength-based localized surface plasmon resonance optical fiber biosensor. **Sens. Actuators B Chem.**, v. 181, p. 611–619, 1 maio 2013.

CAPOCEFALO, A. et al. Exploring the Potentiality of a SERS-Active pH Nano-Biosensor. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, 2019.

CHAN, M. Y.; LENG, W.; VIKESLAND, P. J. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Characterization of Salt-Induced Aggregation of Gold Nanoparticles. **ChemPhysChem**, v. 19, n. 1, p. 24–28, 2018.

CHEN, W.-H. et al. Silanization of solid surfaces via mercaptopropylsilatrane: a new approach of constructing gold colloid monolayers. **RSC Advances**, v. 4, n. 87, p.

46527–46535, 24 set. 2014.

CHENG, W.; DONG, S.; WANG, E. Gold Nanoparticles as Fine Tuners of Electrochemical Properties of the Electrode/Solution Interface. **Langmuir**, v. 18, n. 25, p. 9947–9952, 1 dez. 2002.

CHIRLIAN, L. E.; FRANCL, M. M. Atomic charges derived from electrostatic potentials: A detailed study. **Journal of Computational Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 894–905, 1987.

CHRISTAU, S. et al. Salt-Induced Aggregation of Negatively Charged Gold Nanoparticles Confined in a Polymer Brush Matrix. **Macromolecules**, v. 50, n. 18, p. 7333–7343, 26 set. 2017.

DREADEN, E. C. et al. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. **Chem. Soc. Rev.**, v. 41, n. 7, p. 2740–2779, 7 abr. 2012.

FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 16**. Wallingford CT Gaussian, Inc., , 2016.

GAO, J. et al. Colloidal Stability of Gold Nanoparticles Modified with Thiol Compounds: Bioconjugation and Application in Cancer Cell Imaging. **Langmuir**, v. 28, n. 9, p. 4464–4471, 6 mar. 2012.

GEBEYEHU, M. B. et al. Synthesis and highly effective purification of silver nanowires to enhance transmittance at low sheet resistance with simple polyol and scalable selective precipitation method. **RSC Advances**, v. 7, n. 26, p. 16139–16148, 9 mar. 2017.

GUERRERO-MARTÍNEZ, A.; PÉREZ-JUSTE, J.; LIZ-MARZÁN, L. M. Recent progress on silica coating of nanoparticles and related nanomaterials. **Adv. Mater.**, v. 22, n. 11, p. 1182–1195, 19 mar. 2010.

HAISS, W. et al. Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV–Vis Spectra. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 11, p. 4215–4221, 1 jun. 2007.

HALLIWELL, C. M.; CASS, A. E. A factorial analysis of silanization conditions for the

immobilization of oligonucleotides on glass surfaces. **Anal. Chem.**, v. 73, n. 11, p. 2476–2483, 1 jun. 2001.

HASSAN, P. A.; RANA, S.; VERMA, G. Making sense of Brownian motion: colloid characterization by dynamic light scattering. **Langmuir**, v. 31, n. 1, p. 3–12, 13 jan. 2015.

HU, M. et al. Structure and morphology of self-assembled 3-mercaptopropyltrimethoxysilane layers on silicon oxide. **Appl. Surf. Sci.**, v. 181, n. 3, p. 307–316, 21 set. 2001.

KEITH, T. A.; MILLAM, J. M. **GaussView**. Shawnee Mission, KSSemichem Inc., , 2016.

KELLEY, J. J. **Controlling Gold Nanoparticle Assembly through Particle-Particle and Particle-Surface Interactions**. [s.l.] University of Dayton, 2018.

KELLEY, J. J.; JESPERSEN, M. L.; VAIA, R. A. Self-limiting gold nanoparticle surface assemblies through modulation of pH and ionic strength. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 20, n. 11, p. 290, 27 out. 2018.

KIMLING, J. et al. Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 32, p. 15700–15707, 1 ago. 2006.

KISTER, T. et al. Colloidal Stability of Apolar Nanoparticles: The Role of Particle Size and Ligand Shell Structure. **ACS Nano**, v. 12, n. 6, p. 5969–5977, 26 jun. 2018.

KOCZKUR, K. M. et al. Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 41, p. 17883–17905, 13 out. 2015.

KOOIJ, E. S. et al. Ionic Strength Mediated Self-Organization of Gold Nanocrystals: An AFM Study. **Langmuir**, v. 18, n. 20, p. 7677–7682, 1 out. 2002.

KRASNOSLOBODTSEV, A. V.; SMIRNOV, S. N. Effect of Water on Silanization of Silica by Trimethoxysilanes. **Langmuir**, v. 18, n. 8, p. 3181–3184, 1 abr. 2002.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785–789,

15 jan. 1988.

LIN, Y. et al. Nanoparticle assembly and transport at liquid-liquid interfaces. **Science**, v. 299, n. 5604, p. 226–229, 10 jan. 2003.

LIU, F.-K. et al. Rapid fabrication of high quality self-assembled nanometer gold particles by spin coating method. **Microelectronic Engineering**, Proceedings of the 28th International Conference on Micro- and Nano-Engineering. v. 67–68, p. 702–709, 1 jun. 2003.

LIU, Q. et al. Ultra-sharp and surfactant-free silver nanowire for scanning tunneling microscopy and tip-enhanced Raman spectroscopy. **Nanoscale**, v. 11, n. 16, p. 7790–7797, 23 abr. 2019.

LLEVOT, A.; ASTRUC, D. Applications of vectorized gold nanoparticles to the diagnosis and therapy of cancer. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 1, p. 242–257, 2012.

MAHMOUD, M. A.; TABOR, C. E.; EL-SAYED, M. A. Surface-enhanced Raman scattering enhancement by aggregated silver nanocube monolayers assembled by the Langmuir–Blodgett technique at different surface pressures. **J. Phys. Chem. C Nanomater. Interfaces**, v. 113, n. 14, p. 5493–5501, 9 abr. 2009.

MIYAHARA, M. et al. Adsorption and order formation of colloidal nanoparticles on a substrate: A Brownian dynamics study. **The Journal of Chemical Physics**, v. 120, n. 3, p. 1524–1534, 13 jan. 2004.

NATH, N.; CHILKOTI, A. Label-Free Biosensing by Surface Plasmon Resonance of Nanoparticles on Glass: Optimization of Nanoparticle Size. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 18, p. 5370–5378, 1 set. 2004.

PARK, J.-W.; SHUMAKER-PARRY, J. S. Structural Study of Citrate Layers on Gold Nanoparticles: Role of Intermolecular Interactions in Stabilizing Nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 5, p. 1907–1921, 5 fev. 2014.

PHAM, T. A. et al. A simple approach for immobilization of gold nanoparticles on graphene oxide sheets by covalent bonding. **Appl. Surf. Sci.**, v. 257, n. 8, p. 3350–3357, 1 fev. 2011.

RAZA, M. A. et al. Novel, highly selective gold nanoparticle patterning on surfaces using pure water. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 364, n. 2, p. 304–310, 15 dez. 2011.

ROSTEK, A.; MAHL, D.; EPPLE, M. Chemical composition of surface-functionalized gold nanoparticles. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 13, n. 10, p. 4809–4814, 1 out. 2011.

RU, E. L.; ETCHEGOIN, P. **Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and Related Plasmonic Effects**. [s.l.] Elsevier, 2008.

SEITZ, O. et al. Preparation and characterisation of gold nanoparticle assemblies on silanised glass plates. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 218, n. 1, p. 225–239, 29 maio 2003.

SEMMLER, M.; RIČKA, J.; BORKOVEC, M. Diffusional deposition of colloidal particles: electrostatic interaction and size polydispersity effects. **Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.**, v. 165, n. 1, p. 79–93, 30 maio 2000.

SI, R. et al. Self-Organized Monolayer of Nanosized Ceria Colloids Stabilized by Poly(vinylpyrrolidone). **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 12, p. 5994–6000, 1 mar. 2006.

SINGH, L. et al. Gold Nanoparticles and Uricase Functionalized Tapered Fiber Sensor for Uric Acid Detection. **IEEE Sens. J.**, v. 20, n. 1, p. 219–226, jan. 2020.

SMITH, B. M. et al. Quantification of Heteroaggregation between Citrate-Stabilized Gold Nanoparticles and Hematite Colloids. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 21, p. 12789–12797, 3 nov. 2015.

SON, J. et al. Toward quantitative surface-enhanced Raman scattering with plasmonic nanoparticles: Multiscale view on heterogeneities in particle morphology, surface

modification, interface, and analytical protocols. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 144, n. 49, p. 22337–22351, 14 dez. 2022.

STEPHENS, P. J. et al. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623–11627, 1 nov. 1994.

TALLEY, C. E. et al. Intracellular pH Sensors Based on Surface-Enhanced Raman Scattering. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 23, p. 7064–7068, 1 dez. 2004.

TAO, A.; SINSERMSUKSAKUL, P.; YANG, P. Tunable plasmonic lattices of silver nanocrystals. **Nat. Nanotechnol.**, v. 2, n. 7, p. 435–440, jul. 2007.

TAYLOR, R. W. et al. Optimizing SERS from Gold Nanoparticle Clusters: Addressing the Near Field by an Embedded Chain Plasmon Model. **J. Phys. Chem. C**, v. 120, n. 19, p. 10512–10522, 19 maio 2016.

VOSKO, S. H.; WILK, L.; NUSAIR, M. Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. **Canadian Journal of Physics**, 11 fev. 2011.

WANG, J. et al. Silver Nanowire Electrodes: Conductivity Improvement Without Post-treatment and Application in Capacitive Pressure Sensors. **Nanomicro Lett**, v. 7, n. 1, p. 51–58, 2015.

YANG, G. et al. Self-Assembly of Large Gold Nanoparticles for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 9, n. 15, p. 13457–13470, 19 abr. 2017.

ZHANG, X.; SERVOS, M. R.; LIU, J. Surface Science of DNA Adsorption onto Citrate-Capped Gold Nanoparticles. **Langmuir**, v. 28, n. 8, p. 3896–3902, 28 fev. 2012.

ZHAO, P.; LI, N.; ASTRUC, D. State of the art in gold nanoparticle synthesis. **Coordination**

Chemistry Reviews, v. 257, n. 3, p. 638–665, 1 fev. 2013.

ZHENG, J. et al. Nanopatterned Assembling of Colloidal Gold Nanoparticles on Silicon.

Langmuir, v. 16, n. 10, p. 4409–4412, 1 maio 2000.

APÊNDICES

Nos apêndices que seguem, são apresentadas informações introdutórias acerca da metodologia teórica empregada nos cálculos apresentados neste documento. Para maiores detalhes os leitores são direcionados a livros textos e leituras complementares indicadas nas referências.

APÊNDICE A - Teoria do Funcional Densidade (DFT)

Uma descrição apropriada da correlação eletrônica é de grande importância no estudo de propriedades dinâmicas de sistemas que requerem a interação elétron-elétron. Uma vez que as reações químicas estão frequentemente associadas a alterações no número de elétrons das espécies envolvidas e o subsequente rearranjo dos mesmos, é necessário empregar métodos que descrevem satisfatoriamente a correlação eletrônica desses sistemas. Nesse contexto, a teoria do funcional da densidade (DFT) representa uma abordagem interessante, visto que permite considerar a correlação eletrônica sem utilizar de artifícios como interação de configurações ou aproximações de muitos corpos (LEWARS, 2016).

A DFT, na abordagem de Kohn-Sham (KS) pode ser considerada como um modelo de partícula independente no qual a interação eletrônica (correlação e troca) é descrita explicitamente através de um funcional apropriado para cada situação. Diferentemente de outros métodos, como o Hartree-Fock, a abordagem DFT não se baseia no conceito de função de onda, mas sim na função de densidade de probabilidade do elétron, ou simplesmente densidade eletrônica, a qual define a probabilidade de se encontrar elétrons por unidade de volume. Por definição, o DFT é baseado na concepção de que a energia de um sistema no

estado fundamental (E_0) pode ser escrita como um funcional da densidade eletrônica deste sistema (ρ_0) neste estado, conforme ilustrado na Equação (1).

$$E_0 = E[\rho_0] \quad (1)$$

A proposição acima pode ser provada matematicamente e é conhecida como o 1º Teorema de Hohenberg-Kohn (HOHENBERG; KOHN, 1964; PARR; WEITAO, 1994). Nessa mesma concepção, há também o 2º Teorema de Hohenberg-Kohn que afirma que qualquer densidade eletrônica tentativa, ρ_i , resulta em um valor de energia maior ou igual ao do estado fundamental (associado a ρ_0) (HOHENBERG; KOHN, 1964).

Esses dois teoremas asseguram que, além de ser possível escrever a energia do estado fundamental em função da densidade eletrônica do sistema, esta função é única. Desta forma, a busca do estado fundamental de um dado sistema restringe-se à obtenção de uma densidade eletrônica que minimize a sua energia. Assim, as propriedades de interesse são obtidas a partir da função densidade resultante. Maiores detalhes podem ser encontrados em livros textos como (PARR; WEITAO, 1994).

Sucintamente, dentro do DFT na abordagem de KS, a energia total do sistema no estado fundamental dependente da densidade eletrônica é geralmente dividida nos seguintes termos:

$$E_0 = T_e^{ref}[\rho_0] + V_{n-e}[\rho_0] + V_{e-e}^{clas}[\rho_0] + E_{xc}[\rho_0] \quad (2)$$

onde

- $T_e^{ref}[\rho_0]$ representa a energia cinética dos elétrons em um sistema de referência, onde a correlação eletrônica é desprezada;

- $V_{n-e}[\rho_0]$ representa a interação Coulombiana entre os elétrons e núcleos;
- $V_{e-e}^{clas}[\rho_0]$ representa a repulsão entre nuvens eletrônicas, descrita de forma clássica;
- $E_{xc}[\rho_0]$ representa o termo de energia devido à correlação eletrônica (não considerada em $T_e^{ref}[\rho_0]$ e $V_{e-e}^{clas}[\rho_0]$) e o termo de energia de troca devido à interação entre os elétrons.

É interessante notar que todos os termos relacionados às interações elétron-elétron são associados a $E_{xc}[\rho_0]$, com exceção de $V_{e-e}^{clas}[\rho_0]$. Na Equação (2), as expressões para os três primeiros termos são conhecidas, enquanto que o termo de correlação e troca, $E_{xc}[\rho_0]$, não é conhecido e deve ser escolhido de maneira apropriada. Esse termo é de extrema importância para o DFT e é alvo de pesquisas e discussões (COHEN; MORI-SÁNCHEZ; YANG, 2012). Aspectos básicos acerca dele são apresentados no Apêndice B.

Como dito anteriormente, essa abordagem não visa a obtenção da função de onda do sistema em estudo. Entretanto, dentro do DFT costuma-se empregar funções ψ_i^{KS} que são conhecidas como orbitais de Kohn-Sham (KS) e são utilizadas para o cálculo da densidade eletrônica (KOHN; SHAM, 1965), conforme apresentado na Equação (3) abaixo:

$$\rho(\vec{r}) = \sum_{i=1}^N |\psi_i^{KS}|^2 \quad (3)$$

Estas funções são determinadas de forma auto-consistente a partir das equações de KS:

$$\left\{ -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_A \frac{Z_A}{r_{1A}} + \int \frac{\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_2 + v_{xc}(\vec{r}_1) \right\} \psi_i^{KS}(\vec{r}_1) = \epsilon_i^{KS} \psi_i^{KS}(\vec{r}_1) \quad (4)$$

onde

- Z_A é o número atômico do átomo A;
- $r_{ij} = \left| \vec{r}_i - \vec{r}_j \right|$ representa a distância entre as partículas i e j;
- ε_i^{KS} são os níveis de energia de KS;
- $v_{xc}(\vec{r})$ é o potencial de correlação e troca, dado pela derivada funcional da energia E_{xc} , como mostrado em (5).

$$v_{xc}(\vec{r}) = \frac{\delta E_{xc}[\rho(\vec{r})]}{\delta \rho(\vec{r})} \quad (5)$$

No presente trabalho, optou-se por utilizar a DFT para otimização de geometria e, posteriormente, para a obtenção de características eletrônicas de interesse, uma vez que esta abordagem acaba incorporando melhor a correlação eletrônica do sistema (dada uma escolha adequada do funcional de troca e correlação).

APÊNDICE B - Funcional de Troca e Correlação

Como brevemente discutido na seção anterior, um aspecto primordial do método DFT é o funcional de troca e correlação ($E_{xc}[\rho_0]$), o qual define a parcela desconhecida e de difícil descrição de sistema de muitos elétrons interagentes.

De fato, é um grande desafio descrevê-lo, e, nesse sentido, diversas aproximações foram propostas ao longo dos anos. Dentre elas, a mais simples é denominada aproximação da densidade local (LDA, do inglês *local density approximation*). Essa abordagem baseia-se na suposição de que, em cada ponto da molécula, a densidade de energia tem o valor que seria dado por um gás de elétrons homogêneo o qual tivesse a mesma densidade eletrônica ρ naquele ponto. A densidade de energia corresponde a energia (troca mais correlação) por elétron de um gás de elétrons homogêneo. O termo local foi usado para contrastar o método com aqueles em que o funcional depende não apenas de ρ , mas também do gradiente (primeira derivada) de ρ , contraste aparentemente decorrente da suposição de que uma derivada é uma propriedade não local (LEWARS, 2016).

Outro método similar é a aproximação da densidade de *spin* local (LSDA, do inglês *local spin density approximation*). A vantagem desta aproximação é que esta consegue descrever de forma mais apropriada sistemas com um ou mais elétrons desemparelhados, como radicais, e também sistemas em que os elétrons tornam-se desemparelhados, como em moléculas longe de sua geometria de equilíbrio. Em sistemas cujo pareamento é perfeito, LSDA e LDA são quase equivalentes (LEWARS, 2016).

Embora as aproximações locais descrevam de forma satisfatória determinados sistemas, elas não partem de uma consideração muito realista, uma vez que a densidade de elétrons em um átomo ou molécula varia consideravelmente com a posição. Assim, é

necessário que correções sejam feitas. Uma forma de fazê-lo isso é considerando, além da densidade de elétrons local, a adição do gradiente da densidade de elétrons em relação a posição, $(\partial/\partial x + \partial/\partial y + \partial/\partial z)\rho = \nabla\rho$. Os funcionais que empregam essas correções são chamados de aproximação de gradiente generalizado (GGA, do inglês *generalized-gradient approximation*) e, em contraste com os funcionais LDA e LSDA, são conhecidos como funcionais “não locais” justamente pela implementação desse gradiente (LEWARS, 2016).

Dentre os avanços nos cálculos por DFT, um dos mais notáveis foi a introdução do funcional Becke (BECKE, 1988) para a descrição da energia de troca. Em termos de funcionais de energia de correlação com correção de gradiente, destacam-se o Lee-Yang-Parr (LYP) (LEE; YANG; PARR, 1988) e o Perdew 1986 (P86) (PERDEW, 1986), que são comumente usados.

Outro tipo de funcional utilizado são os chamados funcionais híbridos. Neles, a energia do funcional de troca e correlação é expandida adicionando um termo obtido por meio da teoria Hartree-Fock (HF). Esse termo é obtido pelo equacionamento da teoria HF para a energia eletrônica e, ao serem retirados os termos referentes a interações coulombianas, o termo que envolve a energia cinética e atração núcleo-elétron, resta apenas um termo referente a integrais de troca. A substituição desse termo nas equações dos orbitais KS resulta em:

$$E_{XC}^{HF} = - \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \langle \psi_i^{KS}(1) \psi_i^{KS}(2) \left| \frac{1}{r_{ij}} \right| \psi_i^{KS}(2) \psi_i^{KS}(1) \rangle \quad (6)$$

Visto que o determinante de Slater KS^4 é uma representação exata da função de onda num sistema de referência de elétrons não interagentes, E_{XC}^{HF} representa a exata energia de troca para um sistema de elétrons não interagentes com densidade de elétrons igual ao sistema real (CRAMER, 2013; LEWARS, 2016). Entretanto, a precisão é limitada pela qualidade do conjunto de funções de base escolhido, cujos aspectos básicos são brevemente discutidos no Apêndice C.

Um dos funcionais de correlação e troca híbrido mais popular e comumente utilizado é o B3LYP, que é baseado no funcional de energia de troca desenvolvido por Becke, em 1993 (BECKE, 1993), e modificado por Stephens *et al.*, em 1994 (STEPHENS *et al.*, 1994), com a introdução do funcional de energia de correlação corrigida por gradiente LYP (Lee-Yang-Parr), sendo matematicamente expresso por:

$$E_{XC}^{B3LYP} = (1 - a_0 - a_x)E_x^{LSDA} + a_0 E_x^{HF} + a_x E_x^{B88} + (1 - a_c)E_c^{VWN} + a_c E_c^{LYP} \quad (7)$$

Nessa equação, a parte LSDA representa a parcela local (sem correção de gradiente). A parte de HF representa a energia de troca de HF obtida empregando-se os orbitais de KS (Equação 6), o termo seguinte é o funcional de troca Becke 88, em seguida, E_c^{VWN} é a função de Vosko, Wilk, Nusair, que compõe o funcional para o gás de elétron homogêneo do LDA e LSDA (VOSKO; WILK; NUSAIR, 1980). O último termo descreve o funcional de correlação de LYP. Os parâmetros a_0 , a_x e a_c são responsáveis por fornecer o melhor ajuste entre a

⁴ Um determinante de Slater é uma representação de uma função de onda de muitas partículas para um sistema de férmions que satisfaz o requisito de anti-simetria. Ele é construído a partir de um único produto orbital de spin (uma função de onda de partícula independente). É a construção mais simples possível de uma função de onda que satisfaz o princípio de Pauli, isto é, é a função de onda antissimétrica mais simples possível. Um determinante de Slater muda de sinal após a transposição do espaço e das coordenadas de rotação de qualquer par de férmions (par de elétrons) (SLATER, 1929).

energia calculada e a energia de atomização molecular que definem os 3 parâmetros descritos na nomenclatura do B3LYP (LEWARS, 2016). Em geral, o funcional híbrido tem sido amplamente utilizado, apresentando bons resultados na descrição de reatividade de sistemas (BARBOZA; GOMES; BATAGIN-NETO, 2021; MANDÚ; BATAGIN-NETO, 2018; MORATO et al., 2021; PLÁCIDO et al., 2020). Por esse motivo e pela similaridade dos sistemas bem sucedidos com os sistemas estudados no presente trabalho, optou-se por utilizar esse funcional.

APÊNDICE C - Conjunto de Funções de Base

As funções de base, comumente chamadas, são combinações lineares otimizadas de diversas funções matemáticas (funções polinomiais com parâmetros ajustáveis, funções de Slater e funções gaussianas, por exemplo) com a finalidade de proporcionar uma representação apropriada das funções de onda associadas aos orbitais atômicos constituintes do material em estudo. De um modo geral, os conjuntos de funções de base apresentam uma variedade de tipos, onde cada tipo apresenta diferentes níveis de complexidade/precisão e a escolha de um conjunto a ser utilizado está relacionada com a qualidade e objetivo do cálculo em questão (LEWARS, 2016).

Os conjuntos de base mais simples são aqueles usados nos métodos de Hückel simples (*simple Hückel method* - SHM) e de Hückel estendido (*extended Hückel method* - EHM). Quando aplicado a compostos orgânicos conjugados, o conjunto de base de Hückel simples consiste em apenas orbitais atômicos do tipo p. O conjunto de base estendido de Hückel consiste apenas nos orbitais de valência atômica. Nesses conjuntos, não há preocupação com a forma matemática das funções, reduzindo as interações a primeiros vizinhos e a parâmetros de energia previamente tabelados (LEWARS, 2016).

O conjunto mais básico utilizado por *softwares* comerciais é o STO-3G cuja sigla se refere a Orbital do tipo Slater aproximado por três gaussianas (do inglês *Slater-type orbital approximated by three Gaussians*) que define uma base pequena e com precisão bastante reduzida. Esse conjunto de funções de base utiliza uma função para cada orbital do tipo s, três funções para o tipo p (p_x, p_y, p_z) e cinco funções para cada orbital tipo d ($d_{xy}, d_{yz}, d_{xz}, d_{x^2-y^2}$, e d_{z^2}). O STO-3G ainda introduz o conceito de camada de contração, pois constrói

gaussianas compactas/contraídas a partir de gaussianas primitivas, onde, por exemplo, os orbitais 2s e 2p compartilham a mesma camada pois possuem o mesmo expoente, enquanto o 1s faz parte de outra camada (LEWARS, 2016). Por se tratar de um conjunto de funções de base básico, sua vantagem está na velocidade com que os cálculos são realizados (é provavelmente o menor conjunto de base que seria considerado para um cálculo *ab initio*) e a facilidade com que os orbitais moleculares podem ser dissecados em contribuições dos orbitais atômicos. Ainda em termos de velocidade, a base STO-3G é quase duas vezes mais rápida que a próxima maior comumente usada, a 3-21G.

Métodos semi-empíricos sofisticados são talvez mais prováveis de serem usados hoje em dia em investigações preliminares e para obter estruturas iniciais razoáveis para otimizações *ab initio*. Entretanto, para sistemas significativamente diferentes daqueles para os quais os métodos semi-empíricos foram parametrizados, ainda pode-se preferir usar a base STO-3G.

A descrição dos elétrons de valência pode ser significativamente melhorada em relação ao conjunto de base STO-3G se mais de uma função de base for usada por elétron de valência. Os conjuntos de base desse tipo são chamados de conjuntos de base de "valência dividida" (do inglês *split-valence basis sets*), pois a descrição dos orbitais de valência é dividida em duas (ou mais) funções de base. Um conjunto de base de valência dividido muito econômico e pequeno é o conjunto de base 3-21G. Os elétrons de não valência são descritos por funções de base única compostas por uma contração de três gaussianas (**3-21G**). Cada elétron de valência é descrito por duas funções de base. A primeira dessas funções de base é composta por duas gaussianas primitivas (**3-21G**), enquanto a segunda consiste em uma única gaussiana primitiva não contraída (**3-21G**) (LEWARS, 2016).

Entretanto, para moléculas que apresentem átomos além da primeira linha da tabela periódica (além do néon), este conjunto de base 3–21G tende a fornecer geometrias de baixa qualidade. Esse problema é amplamente superado ao complementar essa base com funções d, chamadas funções de polarização. O termo surge do fato de que as funções d permitem que a distribuição de elétrons seja polarizada (deslocada ao longo de uma direção particular). As funções de polarização permitem que o processo SCF⁵ (do inglês *self-consistent field*) estabeleça uma distribuição de elétrons mais anisotrópica (onde for apropriado) do que seria possível. Em suma, o uso de conjuntos de base de valência dividida permite maior flexibilidade no ajuste das regiões internas e externas da densidade eletrônica. O conjunto de base 3-21G aumentado onde apropriado (além do neon) com seis funções d é representado em alguns programas computacionais como 3-21G* ou 3-21G(d), onde o asterisco indica funções de polarização (d, nesse caso). Assim, para H a Ne, os conjuntos de base 3–21G e 3–21G* são idênticos (LEWARS, 2016).

No presente trabalho, optou-se por usar bases de valência dividida polarizadas do tipo 6-31G(d) e 6-31G(d,p) devido a sua maior robustez quando comparado às bases anteriormente apresentadas. A denominação mais correta de 6-31G é STO-6-31G, visto que usam orbitais do tipo *slater* aproximados por gaussianas, como em STO-3G ou 3-21G, diferenciando apenas nos números. Nesse conjunto, a camada de valência de cada átomo é dividida em uma parte interna composta por três gaussianas e uma parte externa composta por uma gaussianas (daí “31”), enquanto que os orbitais centrais (*core*) são representados por uma função de base composta por seis gaussianas (“6”). O termo (d,p) é uma versão de 6-31G com adições de orbitais do tipo d e p, que também pode ser representada por * para apenas d e ** para d e p.

⁵ De um modo superficial, é um método de aproximação para a determinação da função de onda e da energia de um sistema quântico de muitos corpos em estado estacionário.

A base 6-31G* adiciona funções de polarização apenas aos chamados “átomos pesados” (aqueles além do hélio). Às vezes, é útil ter funções de polarização também nos hidrogênios, ou seja, uma base 6-31G* com três funções 2p em cada átomo de H e He (além de suas funções 1s’ e 1s”) que é chamada de base 6-31** (ou 6-31 (d, p)). As bases 6-31G* e 6-31G** são as mesmas, exceto que no 6-31G** cada H e He possui cinco funções, em vez de duas. A base 6-31G** oferece vantagem sobre a base 6-31G* nos casos em que os hidrogênios presentes no material em estudo (se houver) estejam envolvidos em alguma atividade especial, como ligações ou pontes de hidrogênio (LEWARS, 2016; WARNER, 1996).

Existem ainda a possibilidade de incorporação funções adicionais difusas, bem como um maior conjunto de funções polarizadas, as quais não foram empregadas neste trabalho.

APÊNDICE D - Índices de Fukui

A investigação da reatividade de moléculas e átomos é algo de grande relevância na área de ciência dos materiais e, em particular, nos estudos realizados no presente trabalho, uma vez que torna possível compreender e, em alguns casos, prever reações e interações químicas. Nesse sentido, o estudo dos sítios de maior reatividade das moléculas pode ser realizado por meio da análise dos Índices de Fukui Condensados sobre os átomos (IFCA) (YANG; MORTIER, 1986). A Função de Fukui, $f(\vec{r})$, inicialmente proposta por Parr e Yang em 1984 (PARR; YANG, 1984), descreve como a densidade eletrônica varia em resposta à retirada ou inserção de elétrons em um sistema (dada uma geometria v_{ext}):

$$f(\vec{r}) = \left[\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right]_{v_{ext}} \quad (8)$$

onde que ρ representa a densidade eletrônica sobre os diversos pontos da molécula, N representa o número de elétrons e v_{ext} representa o potencial externo, definido pela disposição dos átomos na molécula.

Considerando uma aproximação adiabática⁶, é plausível supor que alterações no número de elétrons do sistema estejam diretamente relacionadas a mudanças na densidade eletrônica dos orbitais de fronteira deste (HOMO - *Highest Occupied Molecular Orbital* e LUMO - *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Assim, $f(\vec{r})$ carrega informações referentes

⁶ Na mecânica quântica, a aproximação adiabática refere-se às soluções da equação de Schrödinger que fazem uso de uma separação em escala de tempo entre graus de liberdade rápidos e lentos, e usam isso para encontrar soluções aproximadas. Talvez a versão mais fundamental e comumente usada seja a aproximação de Born-Oppenheimer (BO) (BORN; OPPENHEIMER, 1927). A aproximação BO assume que o movimento dos elétrons é muito mais rápido do que os núcleos devido à sua grande diferença de massa e, portanto, os elétrons se adaptam muito rapidamente a quaisquer mudanças na geometria nuclear. Ou seja, os elétrons “seguem adiabaticamente” os núcleos. Como resultado, podemos resolver o estado eletrônico de uma molécula para configurações nucleares fixas.

ao modo como estes orbitais são modificados quando o número de elétrons do sistema é alterado, permitindo avaliar quais regiões da molécula são mais propensas à entrada ou retirada de elétrons.

Essa informação é de grande relevância, especialmente na previsão de sítios de maior reatividade sobre um dado sistema em estudo, considerando que reações químicas estão diretamente relacionadas a alterações do número de elétrons dos orbitais de fronteira das espécies envolvidas.

Como o número de elétrons é uma grandeza discreta, a derivada apresentada na Equação 8 é descontínua, principalmente em se tratando de sistemas finitos como moléculas. Posto isso, há uma dependência de $f(\vec{r})$ com o sinal de ΔN , de modo que três funções distintas podem ser definidas de acordo com o tipo de reação a ser observada: com *i*) a inserção; *ii*) a retirada; ou *iii*) sem alteração do número de elétrons do sistema. Tais funções são denominadas Funções de Fukui Condensadas e são expressas por:

$$f^+(\vec{r}) = \left[\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right]_v^+, \quad (9)$$

$$f^-(\vec{r}) = \left[\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right]_v^-, \quad (10)$$

$$f^0(\vec{r}) = \frac{1}{2} [f^+(\vec{r}) + f^-(\vec{r})], \quad (11)$$

Essas funções f^+ , f^- e f^0 são usadas para a análise de reações que envolvem, respectivamente, a reação de agentes externos nucleofílicos, eletrofílicos ou radicais livres com um determinado sistema. São definidos agentes nucleofílicos os compostos que possuem uma maior afinidade com cargas positivas, e, portanto, tendem doar elétrons para o sistema.

Por outro lado, os agentes eletrofílicos tendem retirar elétrons do sistema. Sobre essa análise, Parr e Yang propuseram que valores elevados de $f(\vec{r})$ sobre determinadas regiões da molécula indicariam quais os sítios de maior reatividade (PARR; YANG, 1984).

Dada a complexidade do cálculo analítico das f^i ($i = +, -, 0$), em 1986 Yang e Mortier propuseram formas mais práticas para o cálculo destes índices, dando então origem aos Índices de Fukui Condensados aos Átomos (IFCA) (YANG; MORTIER, 1986). Nessa abordagem, a reatividade de um sistema M com um número N elétrons é avaliada. Ao receber um elétron, esse sistema conterà $(N + 1)$ elétrons, passando a ser representado por M^- . Ao perder um elétron, esse sistema passa a ser representado por M^+ , contendo $(N - 1)$ elétrons. Neste caso os IFCA's são expressos da seguinte maneira:

$$f_k^+ = q_k(N + 1) - q_k(N), \quad \text{agentes nucleofílicos reagindo com o átomo k} \quad (12)$$

$$f_k^- = q_k(N) - q_k(N - 1), \quad \text{agentes eletrofílicos reagindo com o átomo k} \quad (13)$$

$$f_k^0 = \frac{1}{2} [q_k(N + 1) - q_k(N - 1)], \quad \text{ataque de radicais livres sobre o átomo k} \quad (14)$$

onde $q_k(N + 1)$, $q_k(N)$ e $q_k(N - 1)$ representam as populações eletrônicas sobre o átomo k , respectivamente, nas espécies M^- , M e M^+ .

Os IFCA's apresentam uma considerável vantagem com relação às formas apresentadas em (9)-(11), uma vez que tais índices já se encontram vinculados aos átomos do sistema em estudo e podem ser obtidos de cálculos simples de população eletrônica. Entretanto, é importante salientar que, apesar de ser necessário o cálculo da população eletrônica de três espécies diferentes (M^- , M e M^+ , numa mesma geometria), a informação

contida nos Índices de Fukui dizem respeito apenas a espécie M , cuja estrutura otimizada deverá ser utilizada nos cálculos. Além disso, os resultados obtidos acabam sendo bastante sensíveis ao método de particionamento de carga empregado (vide Apêndice F).

APÊNDICE E - Indicadores de Reatividade Local e Global

A busca por parâmetros que pudessem fornecer informações relevantes na compreensão e previsão de reações/interações químicas foi algo de grande interesse ao longo da história. Dentre estes parâmetros, um dos primeiros descritores a serem definidos foi o de reatividade global (dureza global η e maciez global S), proposto por Parr e Pearson em 1983 (PARR; PEARSON, 1983). Esses descritores permitem ranquear reatividade com base na dureza global η , auxiliando a justificar o princípio de reação entre “ácidos e bases duros e macios” (do inglês hard-soft acid-bases - HSAB), originalmente proposto por Pearson em 1963 (PEARSON, 1963). No Apêndice D, foi descrito o conceito dos IFCA como indicadores de reatividade. A partir deste desenvolvimento, chegou-se na ideia proposta por Roy e colaboradores sobre eletro e nucleofilicidade (ROY et al., 1998). Nesta seção, são apresentadas algumas representações matemáticas envolvendo tais grandezas.

As equações abaixo ilustram expressões para a estimativa da dureza e maciez química globais, propostas por Parr e Pearson Parr e Pearson (PARR; PEARSON, 1983):

$$\eta = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{v(\vec{r})} = \left(\frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_{v(\vec{r})} \quad (15)$$

$$S = \frac{1}{2\eta} = \left(\frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_{v(\vec{r})} \quad (16)$$

onde E representa a energia total do sistema em estudo e N o número de elétrons da espécie química em questão; $v(\mathbf{r})$ representa o potencial elétrico externo, mantido constante e representado pelas posições dos núcleos atômicos. O termo μ é conhecido como potencial químico, o qual é identificado como o negativo da eletronegatividade, conforme definido por

Iczkowski e Margrave em 1961 (ICZKOWSKI; MARGRAVE, 1961). Em uma abordagem de diferença finita, temos:

$$\eta = \frac{PI-AE}{2} \quad (17)$$

$$S = \frac{1}{PI-AE} \quad (18)$$

onde PI e AE representam, respectivamente, o potencial de ionização e a afinidade eletrônica da molécula estudada. Essas propriedades, por sua vez, podem ser estimadas da seguinte forma:

$$PI = E(N - 1) - E(N) \quad (19)$$

$$EA = E(N) - E(N + 1) \quad (20)$$

A partir dos parâmetros globais é possível estimar as grandezas locais. Nesse sentido, a Equação (21) ilustra, a expressão da maciez local (YANG; PARR, 1985):

$$s(\vec{r}) = \left(\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial \mu} \right)_{v(\vec{r})} \quad (21)$$

Da forma como é definida, a maciez local descreve a resposta de qualquer sítio específico de uma espécie química (em termos de densidade eletrônica) à mudança global nos valores do potencial químico. Tudo isso na condição de que:

$$\int s(\vec{r}) dr = S \quad (22)$$

Reescrevendo a equação acima (22) a partir da regra da cadeia, temos:

$$s(\vec{r}) = \left(\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_{v(\vec{r})} \left(\frac{\partial N}{\partial \mu} \right)_{v(\vec{r})} \quad (23)$$

Note que (23) é composta pela função de Fukui, vista na Equação (9), e pela definição de maciez global da Equação (16). Dessa forma, rearranjando utilizando (8) e (16), temos:

$$s(\vec{r}) = f(\vec{r}) \cdot S \quad (24)$$

considerando as funções $f^+(\vec{r})$, $f^-(\vec{r})$ e $f^0(\vec{r})$, também podemos escrever:

$$s^n(\vec{r}) = S \cdot f^n(\vec{r}) \quad (25)$$

onde $n = +, -$ ou 0 , resultando na maciez química atômica ($s^+(\vec{r})$, $s^-(\vec{r})$ e $s^0(\vec{r})$).

É interessante notar que, como a maciez local é apenas a função de Fukui multiplicada pela maciez global, fica claro que ambas conterão, até certo ponto, a mesma informação, isto é, a sensibilidade do potencial químico de um sistema a uma perturbação externa. Além de carregar informações acerca da reatividade dos sítios, esse descritor está também associado à maciez global de uma determinada espécie, o que a torna uma ferramenta útil para comparação de reatividade entre duas espécies químicas distintas.

APÊNDICE F - Método de Particionamento de Hirshfeld

É importante mencionar que a qualidade da informação obtida nos IFCA depende da precisão do método de particionamento de carga utilizado nas estimativas das populações eletrônicas. Dentre os diversos métodos de partição de carga empregados para a obtenção dos IFCA, o particionamento de Hirshfeld é um dos mais recomendados devido ao fato de que tal abordagem não costuma levar a IFCA negativos, os quais são de difícil interpretação (PROFT et al., 2002; ROY; PAL; HIRAO, 1999). Esse método vem das definições de Hirshfeld (HIRSHFELD, 1977) onde as cargas são tidas como uma densidade de deformação ($\rho_d(\vec{r})$).

Esse parâmetro $\rho_d(\vec{r})$ é corresponde a diferença entre a densidade de cargas da molécula e a densidade de carga atômica “sem relaxamento” (associada a uma pro molécula⁷), e é expressa como:

$$\rho_d(\vec{r}) = \rho^{mol}(\vec{r}) - \rho^{pro}(\vec{r}) = \rho^{mol}(\vec{r}) - \sum_{\alpha} \rho_{\alpha}(\vec{r} - \vec{R}_{\alpha}) \quad (26)$$

onde $\rho_{mol}(\vec{r})$ é a densidade de carga molecular em \vec{r} , $\rho_{pro}(\vec{r})$ é a densidade de carga pro molecular neste mesmo sítio, $\rho_{\alpha}(\vec{r} - \vec{R}_{\alpha})$ é a média da densidade de carga no estado fundamental do átomo α livre e posicionado na coordenada \vec{R}_{α} .

Agora pode-se definir a carga atômica efetiva q_{α} (utilizada como q_k nos IFCA):

$$q_{\alpha} = - \int \rho_d(\vec{r}) w_{\alpha} d^3 r \quad (27)$$

⁷ O termo pró-molécula, originalmente usado por Hirshfeld e Rzotkiewicz e refere-se a um modelo de densidade eletrônica de referência antes da formação da molécula (HIRSHFELD; RZOTKIEWICZ, 1974). De forma sucinta, consiste basicamente de uma molécula onde os átomos não estão interagindo e suas densidades de carga são esféricas.

aqui o sinal negativo apenas obedece a convenção de carga negativa para elétrons e $w_{\alpha}(\vec{r})$ é a função ação (análogo ao termo “ações” de uma bolsa de valores), que mede quantas ações do átomo α estão na densidade pro molecular na posição \vec{r} . Essa função expressa como:

$$w_{\alpha} = \rho_{\alpha}(\vec{r} - \vec{R}_{\alpha}) [\sum_{\beta} \rho_{\beta}(\vec{r} - \vec{R}_{\beta})]^{-1} \quad (28)$$

Em suma, uma pro molécula é construída com base em densidades bem definidas dos átomos, em seguida a densidade de cargas real (ponto a ponto) é dividida de maneira proporcional às respectivas contribuições dos átomos na densidade de carga da pro molécula. Nas palavras de F. L. Hirshfeld, “como parceiros acionistas em uma corporação, cada átomo participa dos ganhos ou perdas em proporção direta a suas ações no capital de investimento”.

Referências (APÊNDICES A-F)

BARBOZA, B. H.; GOMES, O. P.; BATAGIN-NETO, A. Polythiophene derivatives as chemical sensors: a DFT study on the influence of side groups. **Journal of Molecular Modeling**, v. 27, n. 1, p. 17, 7 jan. 2021.

BECKE, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. **Physical Review A**, v. 38, n. 6, p. 3098–3100, 1 set. 1988.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1 abr. 1993.

BORN, M.; OPPENHEIMER, R. Zur Quantentheorie der Molekeln. **Annalen der Physik**, v. 389, n. 20, p. 457–484, 1927.

COHEN, A. J.; MORI-SÁNCHEZ, P.; YANG, W. Challenges for Density Functional Theory.

Chemical Reviews, v. 112, n. 1, p. 289–320, 11 jan. 2012.

CRAMER, C. J. **Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2013.

HIRSHFELD, F. L. Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities. **Theoretica chimica acta**, v. 44, n. 2, p. 129–138, 1 jun. 1977.

HIRSHFELD, F. L.; RZOTKIEWICZ, (MISS) S. Electrostatic binding in the first-row AH and A2 diatomic molecules. **Molecular Physics**, v. 27, n. 5, p. 1319–1343, 1 maio 1974.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. **Physical Review**, v. 136, n. 3B, p. B864–B871, 9 nov. 1964.

ICZKOWSKI, R. P.; MARGRAVE, J. L. Electronegativity. **Journal of the American Chemical Society**, v. 83, n. 17, p. 3547–3551, 1 set. 1961.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**, v. 140, n. 4A, p. A1133–A1138, 15 nov. 1965.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785–789, 15 jan. 1988.

LEWARS, E. G. **Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics**. 3. ed. [s.l.] Springer International Publishing, 2016.

MANDÚ, L. O.; BATAGIN-NETO, A. Chemical sensors based on N-substituted polyaniline derivatives: reactivity and adsorption studies via electronic structure calculations. **Journal of Molecular Modeling**, v. 24, n. 7, p. 157, 9 jun. 2018.

MORATO, L. F. C. et al. Effects of insecticide acephate on membrane mimetic systems: The role played by electrostatic interactions with lipid polar headgroups. **Journal of Molecular Liquids**, v. 332, p. 115868, 15 jun. 2021.

PARR, R. G.; PEARSON, R. G. Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. **Journal of the American Chemical Society**, v. 105, n. 26, p. 7512–7516, 1 dez. 1983.

PARR, R. G.; WEITAO, Y. **Density-Functional Theory of Atoms and Molecules**. [s.l.] Oxford University Press, 1994.

PARR, R. G.; YANG, W. Density functional approach to the frontier-electron theory of chemical reactivity. **Journal of the American Chemical Society**, v. 106, n. 14, p. 4049–4050, 1 jul. 1984.

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 22, p. 3533–3539, 1 nov. 1963.

PERDEW, J. P. Density-functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas. **Physical Review B**, v. 33, n. 12, p. 8822–8824, 15 jun. 1986.

PLÁCIDO, A. et al. The Antioxidant Peptide Salamandrin-I: First Bioactive Peptide Identified from Skin Secretion of Salamandra Genus (*Salamandra salamandra*). **Biomolecules**, v. 10, n. 4, p. 512, abr. 2020.

PROFT, F. D. et al. Atomic charges, dipole moments, and Fukui functions using the Hirshfeld partitioning of the electron density. **Journal of Computational Chemistry**, v. 23, n. 12, p. 1198–1209, 2002.

ROY, R. K. et al. Local Softness and Hardness Based Reactivity Descriptors for Predicting Intra- and Intermolecular Reactivity Sequences: Carbonyl Compounds. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 102, n. 21, p. 3746–3755, 1 maio 1998.

ROY, R. K.; PAL, S.; HIRAO, K. On non-negativity of Fukui function indices. **The Journal of Chemical Physics**, v. 110, n. 17, p. 8236–8245, 22 abr. 1999.

SLATER, J. C. The Theory of Complex Spectra. **Physical Review**, v. 34, n. 10, p. 1293–1322,

15 nov. 1929.

STEPHENS, P. J. et al. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623–11627, 1 nov. 1994.

VOSKO, S. H.; WILK, L.; NUSAIR, M. Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. **Canadian Journal of Physics**, v. 58, n. 8, p. 1200–1211, ago. 1980.

WARNER, P. M. Ab Initio Calculations on Heteroatomic Systems Using Density Functional Theory and Diffuse Basis Functions. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 61, n. 20, p. 7192–7194, 4 out. 1996.

YANG, W.; PARR, R. G. Hardness, softness, and the Fukui function in the electronic theory of metals and catalysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 82, n. 20, p. 6723–6726, 1 out. 1985.

YANG, WEITAO.; MORTIER, W. J. The use of global and local molecular parameters for the analysis of the gas-phase basicity of amines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 108, n. 19, p. 5708–5711, 1 set. 1986.