

Síntese e caracterização de fullerenos e fulleróis visando aplicações biológicas

Gustavo Catão Alves

Orientador: Prof. Maurício Veloso Brant Pinheiro

Co-orientador: Prof. Luiz Orlando Ladeira

“Assim como uma casa é feita de pedras, a Ciência é feita de fatos. Mas uma pilha de pedras não é uma casa assim como uma coleção de fatos não é necessariamente Ciência.”

Henri Poincaré

“Qualquer tecnologia suficientemente avançada é indistinguível de mágica.”

Arthur C. Clarke

“Quanto mais sei, mais sei que nada sei.”

Sócrates

Agradecimentos

Aos meus orientadores, Luiz Orlando Ladeira e Maurício Veloso Brant Pinheiro, por terem a paciência de me explicar muitas coisas, várias delas repetidamente. E também por trabalharem com assuntos tão legais, senão eu nunca teria rumado para a Física Experimental.

A todo o pessoal do Laboratório de Nanomaterias, que quando comecei ainda se chamava Laboratório de Crescimento de Cristais, em especial ao Sérgio e a Edelma. Sem eles eu ainda não saberia ligar um gerador ou misturar água com ácido (ou será ao contrário?). Além, é claro, da ajuda com essa dissertação. Agradeço também ao Erick, por ter botado ordem na casa. E ao Rafael e à Juliana pela ajuda na preparação de amostras.

A todas as envolvidas nas técnicas de caracterização: Ariete Righi, Rossimíriam P. Gil, Hállen B. Calado, Clascídia A. Furtado.

A todos que me ajudaram a entrar um pouco no mundo da Biologia. Principalmente a Mauro Teixeira, Danielle Souza, Gerdal Sousa e Betânia Soares, pelos experimentos *in vitro* e *in vivo*.

Aos amigos na Física, que são tantos que encheriam outra dissertação.

Ao D.A. Física pelos galões de café e horas de papo furado que me ajudaram a ficar acordado e não me deixaram ficar louco. Pelo menos não muito.

À FAPEMIG e ao CNPQ pelo suporte e financiamento deste trabalho.

E muito especialmente à minha família, pelo apoio e por nunca reclamar dos longos dias na faculdade e das férias passadas no laboratório.

Sumário

Resumo.....	ix
Abstract.....	x
Capítulo 1 - Introdução.....	1
Capítulo 2 - Fullerenos.....	4
2.1 - Introdução: o C ₆₀	4
2.2 - Propriedades estruturais e vibracionais do C ₆₀	6
2.3 - Propriedades eletrônicas e ópticas do C ₆₀	13
2.4 - O C ₇₀	16
Capítulo 3 - Síntese e purificação de fullerenos.....	17
3.1 - Introdução.....	17
3.2 - Resultados experimentais.....	20
3.2.1 - Síntese por arco voltaico.....	20
3.2.2 - Purificação.....	21
3.2.2.1 - Soxhlet e Soxhlet cromatográfico.....	22
3.2.2.2 - Sublimação.....	24
3.2.3 - Caracterização e resultados.....	25
Capítulo 4 - Funcionalização de fullerenos.....	28
4.1 - Introdução.....	28
4.2 - A rota de síntese do fullerol.....	28
4.3 - Caracterização e resultados.....	29

Capítulo 5 - Aplicação de fulleróis em sistemas biológicos.....	33
5.1 - Introdução.....	33
5.2 - Testes <i>in vitro</i> : Terapia Fotodinâmica (PDT).....	33
5.3 - Testes <i>in vivo</i> : Isquemia e reperfusão.....	38
Capítulo 6 - Conclusão.....	40
Apêndice.....	42
A - Técnicas de caracterização utilizadas.....	42
A.1 - Ressonância nuclear magnética (NMR).....	42
A.2 - Absorção óptica.....	44
A.3 - Espectrometria no infravermelho (IR).....	45
A.4 - Análise termogravimétrica (TGA).....	46
B - Patente de processo.....	46
B.1 - “Processo e sistema de produção contínua em larga escala de nanoestruturas de carbono constituído de dispositivos para efetuar o processo”	46
Bibliografia.....	48

Lista de Figuras

2.1 Medidas de espectrometria de massa realizadas nos agregados de carbono produzidos pelo experimento de ablação a laser em 1985 na Universidade Rice.....	5
2.2 Operações de simetria na molécula de C ₆₀	7
2.3 Diagramas dos movimentos relativos dos átomos nas RIs ativas em IR e Raman em primeira ordem. As letras indicam as freqüências correspondentes na Tabela 2.3.....	10
2.4 Espectro Raman polarizado de um filme de C ₆₀ , obtido à temperatura ambiente. O espectro superior é para polarização /// e o inferior para //⊥. A diminuição nos picos em 493 cm ⁻¹ e 1469 cm ⁻¹ no espectro inferior indica que estes picos são referentes às representações totalmente simétricas do tipo A _g , com o pico em 493 cm ⁻¹ relacionado à vibração radial e o pico em 1469 cm ⁻¹ ao modo tangencial.....	11
2.5 Espectro Raman obtido a 20K para um filme de C ₆₀ . O espectro exhibe modos ativos em 1ª e 2ª ordem, incluindo sobretons e efeitos de quebra de simetria gerados por diferentes isótopos de carbono.....	12
2.6 Espectro de IR de 1ª ordem para o C ₆₀ , obtido em baixa intensidade (< 50mW/mm ²). O pico em 1539cm ⁻¹ é referente a vibrações intermoleculares e os quatro picos restantes aos modos de simetria F _{1u} opticamente ativos.....	12
2.7 Representação esquemática dos níveis eletrônicos da molécula de C ₆₀ . À direita está representada a estrutura de bandas do C ₆₀ sólido.....	14
3.1 - Processo de ablação a laser desenvolvido em 1985.....	18
3.2 - Desenho esquemático de um sistema de síntese por arco elétrico.....	19
3.3 - Sistema de extração por solvente via Soxhlet.....	23
3.4 - Desenho esquemático da montagem do forno de sublimação de fullerenos. É possível utilizar um bastão de quartzo introduzido até a zona quente do forno, fornecendo uma superfície de depósito do fullereno sublimado, facilitando a coleta.....	25
3.5 - Espectro de infravermelho das soluções extraídas em diferentes tempos de um processo de Soxhlet utilizando hexano como solvente. Nota-se uma queda na intensidade do sinal em 1182 cm ⁻¹ , referente a um modo ativo do C ₆₀	26

3.6 - Espectro de absorção no infravermelho (IR) de quatro amostras diferentes de fullereno sublimadas.....	27
4.1 - Espectro no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de uma amostra de fullerol.....	30
4.2 - Espectro de absorção óptica da solução de fullereno (C ₆₀ +C ₇₀) em tolueno e da solução de fullerol em água, ambas com concentrações absolutas de 75 mg L ⁻¹ . No detalhe, espectro de uma solução de fullereno em tolueno em concentração mais baixa (15 mg L ⁻¹), mostrando o pico de absorção no UV para o C ₆₀ . Nota-se a intensidade menor dos picos atribuídos ao C ₇₀	31
4.3 - Espectro de ¹³ C NMR do fullerol em solução de D ₂ O, medido em 300 MHz à temperatura ambiente (desvio químico em ppm).....	32
5.1 - Esquema utilizado para os experimentos de PDT. Os grupos iluminados foram repetidos para cada os três comprimentos de onda estudados. A incubação foi de 38 horas a 35 °C antes da contagem das colônias.....	35
5.2 - Placas dos experimentos <i>in vitro</i> de PDT com colônias de <i>Candida krusei</i> após 48 horas de incubação a 35 °C. Nota-se a baixa citotoxicidade do fullerol sem iluminação e uma grande diminuição no número de colônias com a presença do fullerol e iluminação com UVA (λ = 366 nm).....	36
5.3 - Crescimento relativo das colônias de <i>Candida krusei</i> na presença de fulleróis após 48 horas para diferentes comprimentos de onda. Os comprimentos de onda utilizados foram de 470 nm (LED azul), 366 nm (UVA) e 254 nm (UVC).....	37
5.4 - Medida do efeito antiinflamatório dos fulleróis. Ensaio de permeabilidade celular (a); contagem de neutrófilos (b);e dosagem de citocinas TNF-a (c). Todos os ensaios mostram que o efeito dos fulleróis é dose dependente.....	39
B.1.1 - Diagrama da câmara de arco elétrico desenvolvida no Laboratório de Nanomateriais. Registro no INPI: PI 0404543-2.....	47

Lista de Tabelas

2.1 – Tabela de caracteres do grupo I_h . $\tau = (1 + \sqrt{5})/2$	7
2.2 - Tabela de caracteres de sítio atômico para as transformações de equivalência dos sítios da molécula de C_{60} no grupo de ponto I_h	8
2.3 - Freqüências de vibração e RIs correspondentes no grupo de simetria I_h . Entre parênteses estão os relacionados os diagramas correspondentes na Figura 2.5.....	10
2.4 - Valores teóricos para as transições ópticas permitidas na molécula de C_{60} e energias relacionadas a cada transição.....	15
2.5 - Correspondência entre as RIs do grupo I_h , ao qual pertence a molécula do C_{60} , e as RIs no grupo D_{5h} de menor simetria, ao qual pertence o C_{70}	16

Resumo

Neste trabalho, foi estudada a síntese de fullerenos pelo método de arco elétrico. Foram também desenvolvidos métodos de purificação dos fullerenos, seja por via úmida (Soxhlet) ou por separação física (sublimação). Os fullerenos produzidos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas, com ênfase em espectroscopia de infravermelho.

Numa segunda etapa deste trabalho foi desenvolvida uma nova rota de funcionalização de fullerenos com o objetivo de gerar fulleróis, moléculas de fullereno contendo cerca de 18 a 20 grupos hidroxila (-OH) ligados covalentemente. Estas moléculas são hidrossolúveis, propriedade fundamental para o desenvolvimento de aplicações biológicas. Para caracterizar a estrutura atômica e as propriedades ópticas destas novas moléculas, um amplo leque de técnicas espectroscópicas foi empregado.

Também foram investigadas neste trabalho duas possíveis aplicações biológicas dos fulleróis. A primeira foi motivada pela capacidade dos fullerenos e seus derivados hidrossolúveis em gerar espécies reativas de oxigênio (ROS) quando expostos à iluminação. Foi realizado um estudo *in vitro* da viabilidade celular de leveduras da espécie *Candida krusei*, sob iluminação monocromática na presença de fulleróis. Resultados mostraram que o fullerol pode ser usado como fotossensibilizador em terapias fotodinâmicas (PDT) quando iluminado com luz UVA ($\lambda \sim 366$ nm) e, além disso, que nas concentrações utilizadas e na ausência de luz, estas moléculas não causaram citotoxicidade alguma. A segunda aplicação investigada faz uso das propriedades dos fulleróis de se comportarem como eficientes armadilhas de radicais livres. Foram realizados experimentos *in vivo* de isquemia e reperfusão em camundongos, permitindo que se comprovasse o efeito antiinflamatório dos fulleróis decorrente do provável trapeamento de radicais livres nos mesmos.

Abstract

In this work, we studied the synthesis of fullerenes by the voltaic arc method. Different purification techniques were also developed, such as humid (Soxhlet) and physical separation (sublimation). Produced fullerenes were characterized by spectroscopic techniques, with emphasis in infrared spectroscopy.

In the second phase of this work, a new chemical route to functionalize fullerenes was developed, with the objective of producing fulleróis, fullerenes molecules containing 18 to 20 hydroxyl groups (-OH) covalently bonded. These are water soluble molecules, a primary property required to develop biological applications. To characterize the atomic structure and optical properties of these new molecules, a vast array of spectroscopic techniques was employed.

Two possible fullerol applications in biology were also studied in this work. The first was motivated by the fullerene's and its derivatives' ability to generate reactive oxygen species (ROS) when under illumination. An *in vitro* study of the cells' viability was conducted with *Candida krusei* yeast colonies, when under monochromatic illumination in the presence of fulleróis. Results showed that the fullerol can be used as a photosensitizer in photodynamic therapies (PDT) when illuminated with UVA radiation ($\lambda \sim 366$ nm) and, also, in the studied concentrations and in the absence of light, these molecules did not present any cytotoxicity. The second application investigated makes use of the fullerols' properties as a free radical trap. *In vivo* ischemia/reperfusion studies in mice were made, to assert the anti-inflammatory effect of fulleróis, which is probably due to free radical trapping.

Capítulo 1 - Introdução

Desde o surgimento da mecânica quântica na primeira metade do século XX, a Física presenciou um enorme avanço, tanto no entendimento dos elementos constituintes da matéria, como também nas técnicas e tecnologias envolvidas em seu estudo. Como consequência imediata destes avanços, houve o surgimento da eletrônica e, mais tarde, dos processos de miniaturização, dando início a uma corrida tecnológica por dispositivos cada vez menores e mais eficientes. Em sua famosa palestra “There’s Plenty of Room at the Bottom”, o físico Richard Feynman descreveu, de forma pioneira, o que se tornaria uma das principais linhas de pesquisa do começo do século XXI, a nanotecnologia.¹ A nanotecnologia compreende o estudo e o desenvolvimento de dispositivos ou sistemas cujas propriedades dependem de pelo menos uma dimensão na faixa dos nanômetros (10^{-9} m), com aplicações em áreas do conhecimento tão diversas quanto física de materiais, biologia, eletrônica e medicina.²

O carbono é uma dos elementos de maior aplicação em nanotecnologia. Em diferentes estruturas moleculares e cristalinas, ele apresenta uma vasta gama de propriedades mecânicas e eletrônicas distintas, desde um eficiente condutor elétrico e lubrificante em sua forma grafítica, até um semicondutor de alta banda de energia proibida e alta dureza na forma de diamante. No caso de nanoestruturas de carbono, algumas das propriedades podem depender tanto da simetria da estrutura atômica, quanto das dimensões desta. Um exemplo clássico é o dos nanotubos de carbono, que podem ser isolantes ou semicondutores dependendo do diâmetro e quiralidade.

Desde 1985 o carbono recebeu ainda maior destaque, quando novas estruturas compostas deste elemento foram descobertas.³ Os fullerenos, moléculas tridimensionais na forma de poliedros fechados formados por hexágonos e pentágonos, de 42 a mais de 1000 carbonos, iniciaram uma revolução que mais tarde ainda veria o surgimento dos nanotubos de carbono. Entre as mais importantes aplicações de fullerenos em desenvolvimento na atualidade destaca-se o uso de fullerenos e derivados na biotecnologia, servindo como eficientes absorvedores de radicais livres,² geradores de espécies reativas de oxigênio (ROS) para terapias fotodinâmicas,⁴ transporte de agentes de contraste para diagnóstico⁵ e carreadores de drogas⁶; na produção de materiais poliméricos compósitos,⁷ bem como na fabricação de fotocélulas.⁸

Nestes últimos 20 anos, muitos estudos têm sido realizados enfocando aplicações destas novas moléculas, mas o desenvolvimento sistemático das técnicas de síntese mais

eficientes e de novas moléculas derivadas ainda é um campo em desenvolvimento.⁹ Assim, o estudo da síntese de fullerenos pela técnica de arco voltaico, a purificação dos materiais obtidos e a análise das amostras através de técnicas de caracterização conhecidas na literatura são fortes motivações deste trabalho, por serem passos essenciais para o desenvolvimento de novas aplicações tecnológicas.

Além deste estudo, de caráter mais fundamental, outra motivação deste trabalho foi a preparação de compostos moleculares de fullerenos com grupos hidroxila, objetivando um aumento na hidrossolubilidade das moléculas. Esta é uma etapa necessária para o desenvolvimento de aplicações biológicas, já que a baixa hidrossolubilidade de fullerenos tem sido citada na literatura como um dos principais obstáculos no uso de fullerenos na medicina.¹⁰

O objetivo deste trabalho foi produzir fullerenos e derivados hidrossolúveis visando aplicações biológicas. Os capítulos seguintes detalham cada etapa do processo, desde propriedades fundamentais da molécula de C₆₀, passando por sua síntese e funcionalização, até os primeiros resultados da aplicação *in vivo* e *in vitro* em experimentos de isquemia e reperfusão, e terapia fotodinâmica.

O Capítulo 2 descreve as moléculas de fullerenos e suas propriedades. Esse estudo foi feito do ponto de vista de Teoria de Grupo, enfoque freqüentemente adotado na literatura, principalmente para a caracterização de moléculas por técnicas espectroscópicas.¹¹

No Capítulo 3 é apresentada a técnica de síntese de fullerenos adotada no trabalho, assim como os processos de purificação utilizados e os resultados de cada etapa.

A funcionalização dos fullerenos é descrita no Capítulo 4. Nesta dissertação objetivou-se a adição de grupos hidroxila à molécula de fullerenos, produzindo novas moléculas denominadas fulleróis, a partir de uma modificação de um processo preexistente na literatura.

O Capítulo 5 apresenta os primeiros resultados da aplicação de fulleróis em sistemas biológicos. Os fulleróis foram utilizados como geradores de espécies reativas de oxigênio em experimentos de terapias fotodinâmicas e na absorção de radicais livres em experimentos de isquemia e reperfusão. Também é feita uma introdução sobre cada um dos processos, assim como possíveis aplicações.

As conclusões são apresentadas no Capítulo 6.

Também estão incluídos apêndices, com descrições das técnicas de caracterização utilizadas ao longo deste trabalho, assim como equipamentos e condições utilizadas em cada medida. Nos apêndices também está descrita uma patente de processo desenvolvida no início

deste trabalho, que visa a síntese em larga escala de nanoestruturas de carbono pelo método de arco elétrico.

Capítulo 2 - Fullerenos

2.1 - Introdução: o C₆₀

O icosaedro é um polígono fechado formado por 12 pentágonos e 20 hexágonos. Esta forma geométrica tem a mais alta simetria de ponto dentre os polígonos com 60 vértices, e a idéia de estruturas moleculares estáveis, onde cada átomo ocuparia um vértice da estrutura, tem atraído cientistas há muitos anos. Em 1970, Eiji Osawa propôs a estabilidade de uma molécula composta por 60 átomos de carbono, chegando no ano seguinte a estudar as propriedades dos supostos anéis aromáticos dessa molécula.¹² Em 1973, pesquisadores soviéticos realizaram cálculos utilizando o modelo de Hückel para determinar as energias dos níveis HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) e LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) de moléculas icosaédricas de carbono, que eles denominaram carbo-s-icosaedros.¹³ Porém, estes resultados teriam de esperar mais de dez anos até sua comprovação experimental.

Mas não foi o interesse por uma molécula icosaédrica de carbono que levou à sua descoberta em 1985. Desde o trabalho de Townes e colaboradores em 1968, que detectou a presença de amônia na constelação de Órion,¹⁴ uma grande quantidade de dados espectroscópicos sobre estrelas e nuvens de gás havia sido obtida por radiotelescópios de todo o mundo, e pesquisadores como o astrofísico Harold Kroto procuravam sintetizar em laboratório moléculas que reproduzissem essas medidas, em especial longas cadeias de carbono contendo também nitrogênio. Na busca por estas moléculas, Harold Kroto se uniu aos pesquisadores Richard Smalley, Robert Curl, Jim Heath e Sean O'Brien para utilizar uma nova técnica desenvolvida na Universidade Rice, que lhes permitiria reproduzir as condições de formação de aglomerados de carbono na poeira estelar presente nas proximidades de gigantes vermelhas. A técnica usada, chamada de ablação a laser, consistia basicamente na vaporização de um disco de grafite através de um laser sob um fluxo supersônico de gás Hélio. A mistura de Hélio e aglomerados de carbono formada a partir dos átomos arrancados do disco seguia então para um espectrômetro de massa. Neste experimento, os pesquisadores esperavam encontrar cadeias de carbono lineares de 5 a 9 átomos, confirmando medidas de espectros rotacionais de emissão na faixa de microondas feitas através de radiotelescópios. Surpreendentemente, os experimentos não só resultaram na detecção dessas moléculas como também apontaram a presença de muitas outras, em especial uma molécula bastante

abundante, contendo 60 átomos de carbono e outra, menos abundante, com 70 átomos (Figura 2.1).³

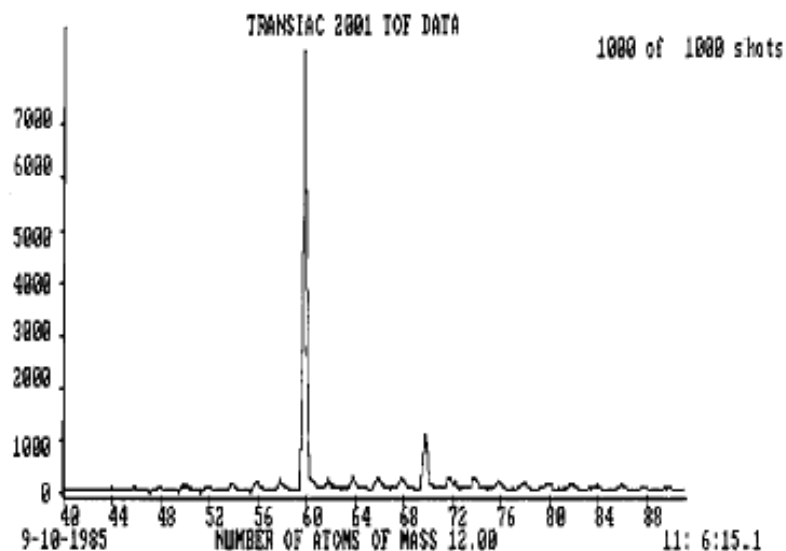


Figura 2.1 - Medidas de espectrometria de massa realizadas nos agregados de carbono produzidos pelo experimento de ablação a laser em 1985 na Universidade Rice.¹²

Sem terem conhecimento dos trabalhos teóricos de Osawa¹² ou de Bochvar¹³, o grupo precisou desenvolver sua própria teoria sobre a geometria dessas até então desconhecidas moléculas de carbono contendo 60 átomos. Finalmente, através de argumentos de simetria e a ausência aparente de sítios não ligados na molécula, eles concluíram que a forma mais estável seria a de um icosaedro formado a partir de uma folha de grafeno, com 12 pentágonos no lugar de hexágonos, que seriam responsáveis pela curvatura da folha. Esta forma, similar às estruturas geodésicas projetadas pelo arquiteto Buckminster Fuller, receberam então o nome de fullerenos, com a molécula mais abundante do grupo, o C_{60} , sendo chamada de buckyball.

Com a publicação da descoberta dos fullerenos, o próximo passo foi encontrar um processo capaz de sintetizar o novo material em quantidades macroscópicas, ou seja, superiores a 1 mg. Esse processo foi encontrado em 1990, quando Krätschmer e colaboradores desenvolveram um método em que grandes quantidades de fullerenos eram produzidas junto com fuligem de grafite.¹⁵ O processo desenvolvido pelo grupo alemão consistiu no aquecimento resistivo de eletrodos de grafite através de uma corrente alternada ou contínua, em uma atmosfera de cerca de 200 Torr de He. Esse processo, até hoje utilizado como uma das principais formas para a obtenção de fullerenos, permitiu aos pesquisadores

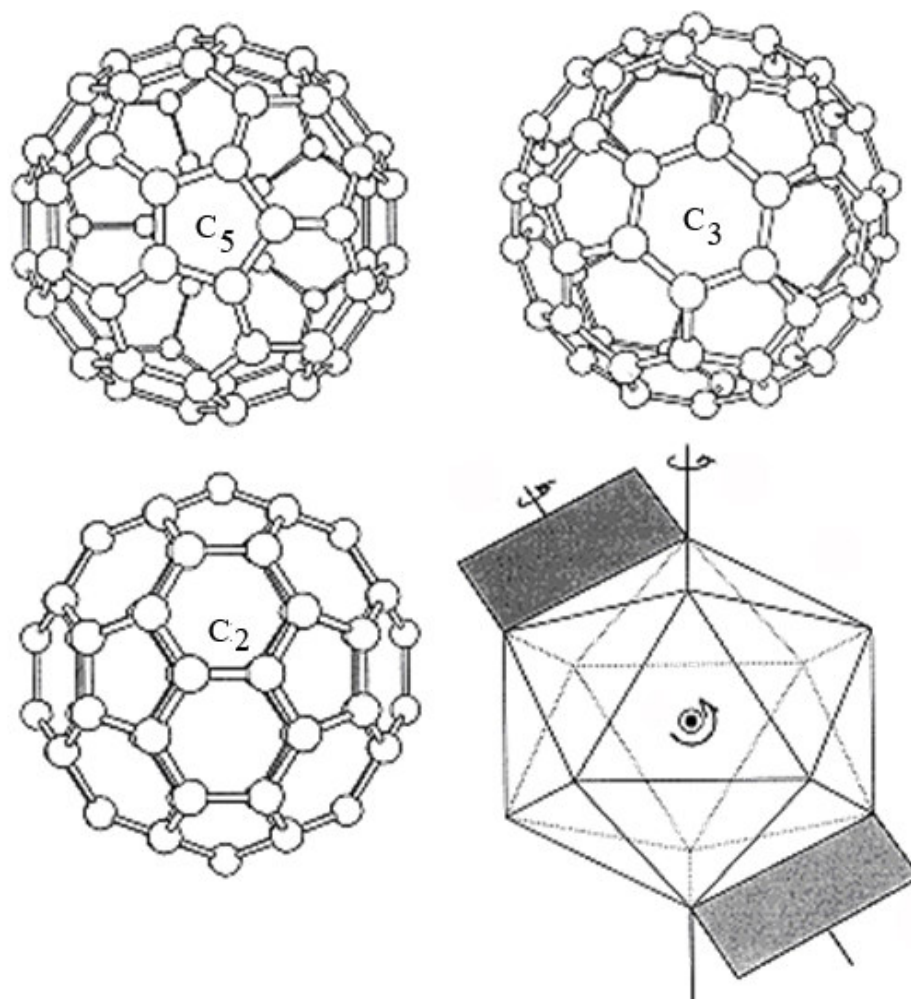
sintetizar quantidades macroscópicas de C_{60} e C_{70} , que puderam por sua vez ser separadas através de métodos cromatográficos. Assim também foi possível estudar os espectros de infravermelho e ressonância nuclear magnética, confirmando decisivamente a simetria icosaédrica da molécula de C_{60} .¹⁶

2.2 - Propriedades estruturais e vibracionais do C_{60}

O C_{60} é um icosaedro truncado, no qual os 60 átomos de carbono estão dispostos em cada um dos vértices, entre dois hexágonos e um pentágono. Todos os sítios de carbono na molécula de C_{60} são completamente equivalentes, com os elétrons do nível de valência fazendo duas ligações simples C-C (ligação σ) e uma ligação dupla C=C (uma ligação σ e uma ligação π). A curvatura da superfície da molécula impede que as três ligações tipo σ assumam uma hibridização puramente sp^2 , adicionando características de uma hibridização sp^3 a estes orbitais. A ligação π corresponde a um elétron em um orbital p_z , perpendicular à superfície. A curvatura da superfície também é responsável pelo aumento da distância interatômica nas ligações simples e diminuição da distância nas ligações duplas com relação à folha de grafeno. Nos fullerenos, as distâncias são da ordem de 1,46 Å para as ligações simples e 1,40 Å para as ligações duplas.^{17,18} Os hexágonos não apresentam a estrutura de anéis aromáticos, pois a presença dos pentágonos localiza as ligações duplas no hexágono. Uma regra nesse tipo de estrutura é que os pentágonos são cercados por cinco hexágonos, de forma que nenhuma ligação C=C acontece apenas entre átomos de hexágonos adjacentes, o quê reduz o stress da molécula, aumentando sua estabilidade. Essa regra é conhecida como Regra do Pentágono Isolado ou IPR (do inglês *Isolated Pentagon Rule*).

Através da análise por Teoria de Grupo, muitas propriedades físicas dos fullerenos podem ser avaliadas. O C_{60} é a molécula com a mais alta simetria conhecida, representada pelo grupo de ponto I_h , que apresenta as seguintes operações de simetria: a operação identidade, 6 eixos de rotação C_5 localizados no centro dos 12 pentágonos, 10 eixos C_3 que atravessam o centro dos 20 hexágonos e 15 eixos C_2 perpendiculares às 30 ligações entre hexágonos (Figura 2.2). Os números associados à cada rotação (por exemplo, o número 5 em C_5), referem-se à fração de 2π a que corresponde a rotação. Essas 60 operações de simetria geram 120 operações quando adicionadas às operações de inversão. Na Tabela 2.1 estão relacionadas as representações irreduzíveis (RIs) e os caracteres para o grupo de ponto I_h .

Eixos de Rotação do Grupo de Ponto da molécula de fullereno

Figura 2.2 Operações de simetria na molécula de C_{60} .¹¹Tabela 2.1 – Tabela de caracteres do grupo I_h . $\tau = (1 + \sqrt{5})/2$.¹⁹

I_h	E	$12C_5$	$12C_5^2$	$20C_3$	$15C_2$	i	$12S_6$	$12S_{10}$	$20S_3$	$15\sigma_v$	Basis functions
A_g	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	$x^2 + y^2 + z^2$
F_{1g}	+3	$+\tau$	$1-\tau$	0	-1	+3	τ	$1-\tau$	0	-1	(R_x, R_y, R_z)
F_{2g}	+3	$1-\tau$	$+\tau$	0	-1	+3	$1-\tau$	τ	0	-1	
G_g	+4	-1	-1	+1	0	+4	-1	-1	+1	0	
H_g	+5	0	0	-1	+1	+5	0	0	-1	+1	$\begin{cases} 2z^2 - x^2 - y^2 \\ x^2 - y^2 \\ xy \\ xz \\ yz \end{cases}$
A_u	+1	+1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	-1	-1	
F_{1u}	+3	$+\tau$	$1-\tau$	0	-1	-3	$-\tau$	$\tau-1$	0	+1	(x, y, z)
F_{2u}	+3	$1-\tau$	$+\tau$	0	-1	-3	$\tau-1$	$-\tau$	0	+1	(x^3, y^3, z^3)
G_u	+4	-1	-1	+1	0	-4	+1	+1	-1	0	$\begin{cases} x(z^2 - y^2) \\ y(x^2 - z^2) \\ z(y^2 - x^2) \\ xyz \end{cases}$
H_u	+5	0	0	-1	+1	-5	0	0	+1	-1	

Os modos vibracionais da molécula de C_{60} incluem tanto vibrações da molécula isolada (vibrações intramoleculares) como também efeitos do cristal quando esta se encontra em um sólido (vibrações intermoleculares).

Para o cálculo dos modos intramoleculares, obtém-se os caracteres de sítio atômico ($X^{a.s.}$) dos 60 sítios da molécula de C_{60} através das 10 classes de operações do grupo I_h . O primeiro passo é o cálculo das transformações de equivalência dos átomos da molécula. As funções D fornecem os caracteres da transformação de equivalência de toda a molécula para cada classe de operações e basicamente são uma contagem dos sítios atômicos que permanecem inalterados após cada operação, como pode ser visto abaixo:

$$\begin{array}{ll} D(E) = 60 & D(i) = 0 \\ D(C_5) = 0 & D(S_{10}^3) = 0 \\ D(C_5^2) = 0 & D(S_{10}) = 0 \\ D(C_3) = 0 & D(S_3) = 0 \\ D(C_2) = 0 & D(\sigma_v) = 4 \end{array}$$

Obtidos os valores de D para cada operação, eles podem ser resumidos na seguinte tabela de caracteres (Tabela 2.2):

Tabela 2.2 - Tabela de caracteres de sítio atômico para as transformações de equivalência dos sítios da molécula de C_{60} no grupo de ponto I_h .

	E	C_5	C_5^2	C_3	C_2	i	S_{10}^3	S_{10}	S_3	σ_v
	1	12	12	20	15	1	12	12	20	15
C_{60}	60	0	0	0	0	0	0	0	0	4

Existe apenas uma combinação linear de representações irredutíveis (RIs) do grupo I_h cuja soma dos caracteres satisfaz a tabela acima. Essa combinação é chamada de RIs de sítio atômico ($\Gamma^{a.s.}$) e é dada pela Equação (2.1)

$$\Gamma^{a.s.} = A_g + F_{1g} + F_{2g} + 2G_g + 3H_g + 2F_{1u} + 2F_{2u} + 2G_u + 2H_u \quad (2.1)$$

As representações irreduzíveis dos modos normais de vibração são obtidas pelo produto direto das representações irreduzíveis de sítio atômico ($\Gamma^{\text{a.s.}}$) com as representações irreduzíveis dos vetores (Γ^{vetor}), ou seja, aquelas cujas funções base associadas são lineares em x , y e z . São então subtraídas as representações relacionadas à translações (Γ^{trans}) e rotações (Γ^{rot}) da molécula. Os resultados dessas operações são dados pelas Equações (2.2) a (2.5)

$$\Gamma^{\text{trans}} = \Gamma^{\text{vetor}} = F_{1u} \quad (2.2)$$

$$\Gamma^{\text{rot}} = F_{1g} \quad (2.3)$$

$$\Gamma^{\text{mol. vib.}} = (\Gamma^{\text{a.s.}} \otimes F_{1u}) - F_{1u} - F_{1g} \quad (2.4)$$

$$\Gamma^{\text{mol. vib.}} = 2A_g + 3F_{1g} + 4F_{2g} + 6G_g + 8H_g + A_u + 4F_{1u} + 5F_{2u} + 6G_u + 7H_u \quad (2.5)$$

A molécula de C_{60} tem (3×60) 180 graus de liberdade, com 3 deles relacionados a translações e 3 a rotações. Isso resulta em 174 modos vibracionais, porém a alta simetria da molécula gera grande degenerescência entre os estados, diminuindo para 46 modos não degenerados, descritos pelas representações irreduzíveis encontradas acima (Equação (2.5)). Para encontrarmos quais desses modos são ativos em espectroscopia Raman e infravermelho em primeira ordem, devemos identificar as representações cujas funções base são os vetores x , y e z (ativos em IR) e as representações com funções base de forma quadrática (x^2 , y^2 , z^2 , xy , xz , yz). O resultado são 4 modos ativos em IR, correspondendo às 4 representações F_{1u} e 10 modos ativos em Raman, correspondendo aos $2A_g$ e $8H_g$. Restam 32 modos vibracionais, silenciosos em primeira ordem, mas que podem ser identificados por IR e Raman de 2ª ordem. A Figura 2.3 mostra os diagramas que relacionam as RIs dos A_g , H_g e F_{1u} com os movimentos relativos dos átomos na molécula de C_{60} . A Tabela 2.3 relaciona as RIs ativas em IR e Raman aos números de onda correspondentes medidos experimentalmente.^{20,21}

Além dos modos ativos em primeira ordem, o acoplamento entre as representações irreduzíveis (RIs) do grupo de ponto I_h cria mais modos opticamente ativos. Fazendo o produto direto $n_i \Gamma_i \otimes n_f \Gamma_f$ (onde Γ_i e Γ_f são RIs do grupo de ponto), poderão ser observados novos picos nos espectros sempre que no resultado aparecerem RIs também opticamente ativas. Quando $\Gamma_i = \Gamma_f$, esses modos ativos em segunda ordem são chamados harmônicos ou sobretons. No espectro Raman, podem ser observados 151 modos de simetria A_g ativos em segunda ordem e 661 modos de simetria H_g . Em IR são 380 picos gerados pelo produto direto entre RIs, porém nenhum harmônio ou sobreton, pelo fato do produto direto de $n_i F_{1u} \otimes n_f F_{1u}$

não conter representações F_{1u} . Os modos ativos em ordens superiores são úteis na determinação dos 32 modos silenciosos em 1ª ordem.

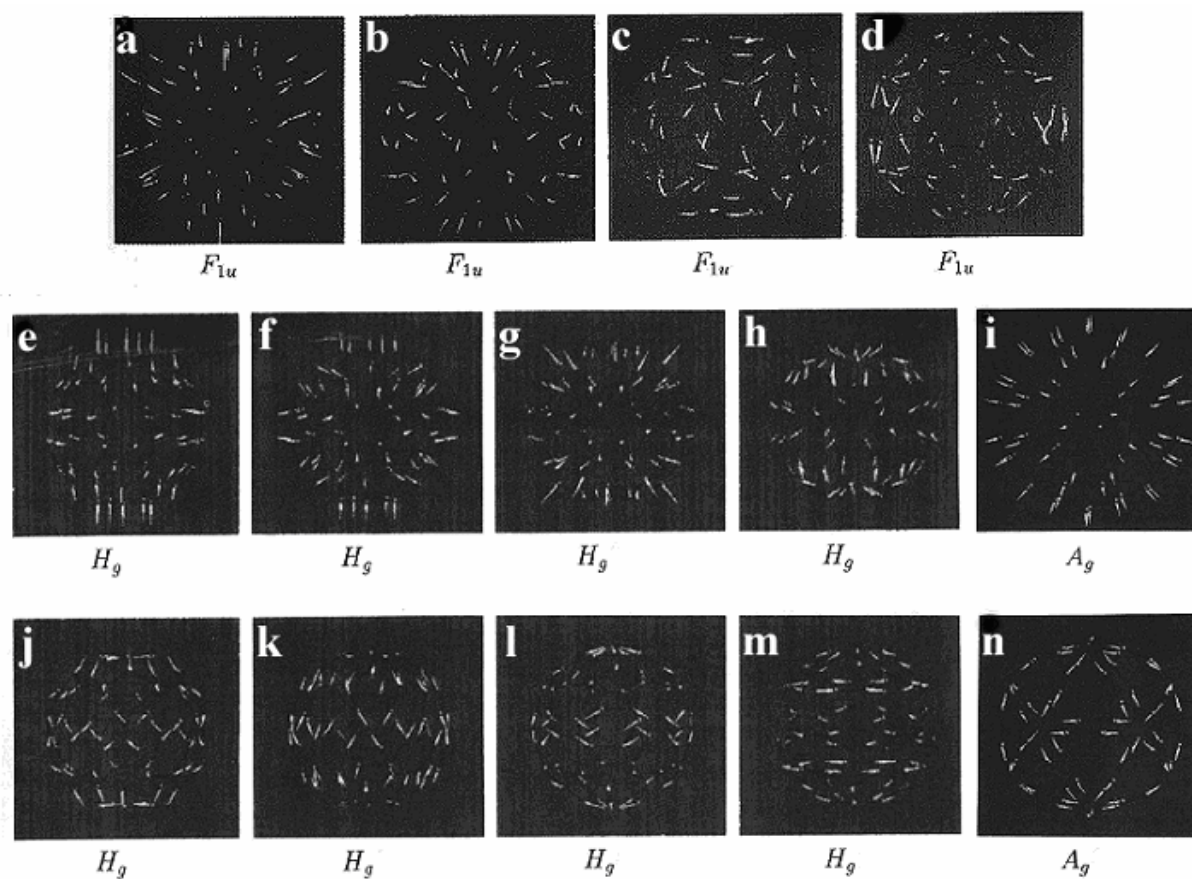


Figura 2.3 – Diagramas dos movimentos relativos dos átomos nas RIs ativas em IR e Raman em primeira ordem.

As letras indicam as frequências correspondentes na Tabela 2.3.¹¹

Tabela 2.3 - Frequências de vibração e RIs correspondentes no grupo de simetria I_h . Entre parênteses estão os relacionados os diagramas correspondentes na Figura 2.5.¹¹

$\nu_{\text{IR}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu_{\text{Raman}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	RI (Diagrama)
	273	H_g (h)
	437	H_g (e)
	496	A_g (i)
527		F_{1u} (c)
577		F_{1u} (b)
	710	H_g (f)
	774	H_g (m)
	1099	H_g (j)

$\nu_{\text{IR}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu_{\text{Raman}} (\text{cm}^{-1})$	RI (Diagrama)
1183		F _{1u} (d)
	1250	H _g (l)
	1428	H _g (k)
1428		F _{1u} (a)
	1470	A _g (n)
	1575	H _g (g)

Efeitos intermoleculares são pouco observados em espectros de fullerenos. Apesar de cristais dessa molécula (*fulleritas*) serem do tipo fcc (face centered cubic), o quê resultaria em um abaixamento da simetria do sistema e um desdobramento dos modos de vibração, o caráter de sólidos moleculares desses cristais faz com que as características individuais dessas moléculas sejam preservadas. O motivo para esse caráter é uma fraca ligação do tipo van der Waals entre os fullerenos da rede, causando um desacoplamento entre modos intramoleculares e intermoleculares. Em espectros Raman, frequências relacionadas a vibrações entre fullerenos da rede cristalina são observadas em comprimentos de onda na faixa de 60 cm^{-1} . Na Figura 2.4 observam-se os modos ativos em primeira ordem em espectroscopia Raman para um filme de C₆₀ e, na Figura 2.5, são observados modos ativos em Raman em primeira e segunda ordem até frequências na região de 3000 cm^{-1} .

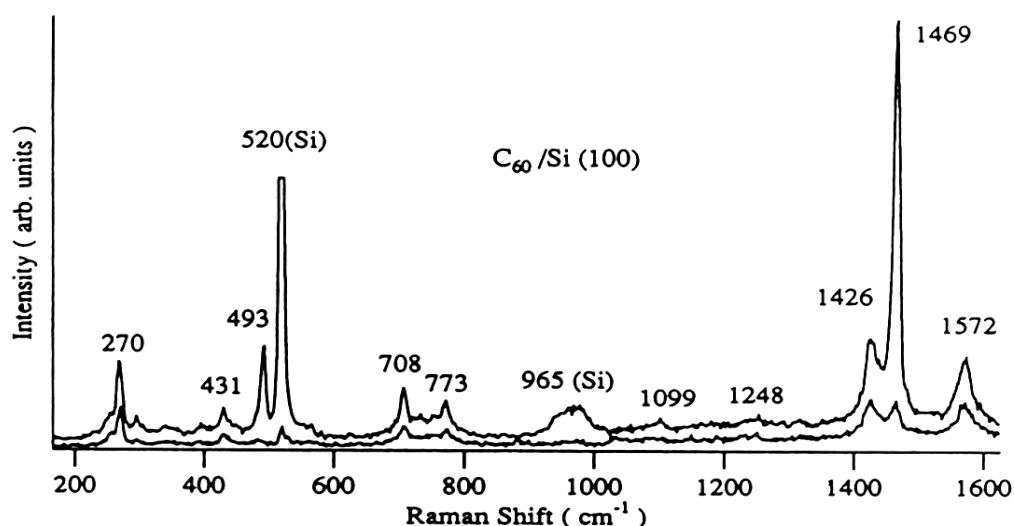


Figura 2.4 – Espectro Raman polarizado de um filme de C₆₀, obtido à temperatura ambiente. O espectro superior é para polarização //// e o inferior para //⊥. A diminuição na intensidade relativa dos picos em 493 cm^{-1} e 1469 cm^{-1} no espectro inferior indica que estes picos são referentes às representações totalmente simétricas do tipo A_g, com o pico em 493 cm^{-1} relacionado à vibração radial e o pico em 1469 cm^{-1} ao modo tangencial.¹¹

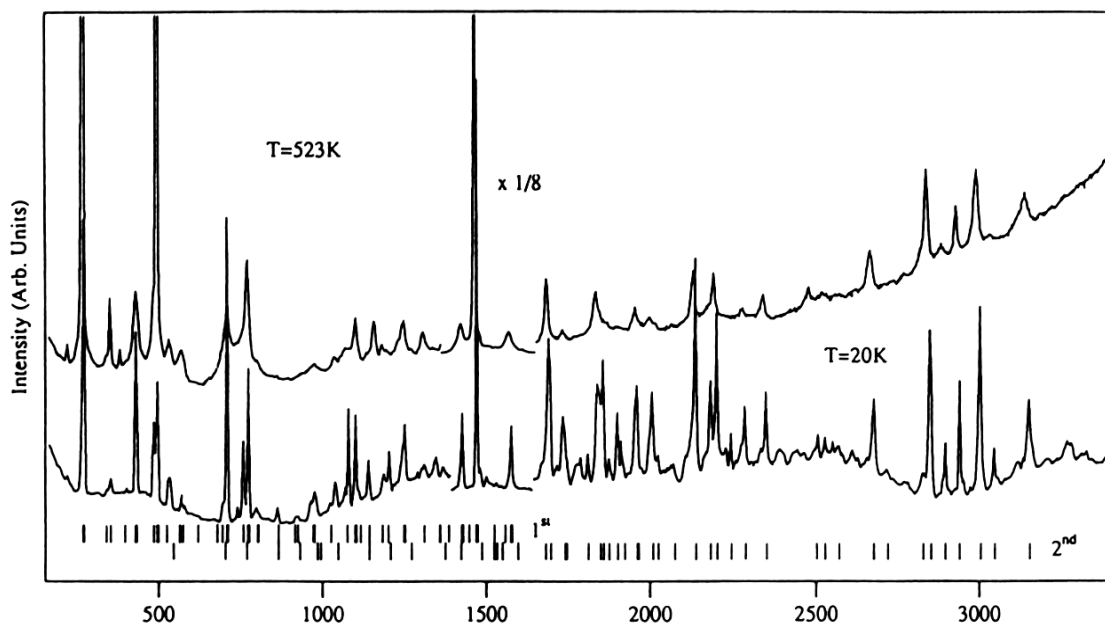


Figura 2.5 – Espectro Raman obtido a 20K para um filme de C_{60} . O espectro exibe modos ativos em 1ª e 2ª ordem, incluindo sobretons e efeitos de quebra de simetria gerados por diferentes isótopos de carbono.¹¹

A Figura 2.6 mostra o resultado experimental de espectroscopia IR de moléculas de C_{60} , de acordo com os resultados esperados para o grupo de simetria I_h . Na figura estão os modos ativos em primeira ordem medidos para um feixe de baixa intensidade ($<50 \text{ mW/mm}^2$) em um filme fino de C_{60} sobre um substrato de KBr.

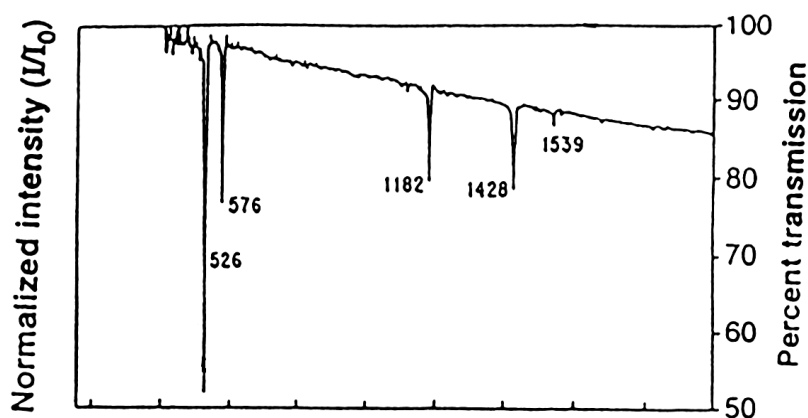


Figura 2.6 – Espectro de IR de 1ª ordem para o C_{60} , obtido em baixa intensidade ($<50 \text{ mW/mm}^2$). O pico em 1539 cm^{-1} é referente a vibrações intermoleculares e os quatro picos restantes aos modos de simetria F_{1u} opticamente ativos.¹¹

2.3 - Propriedades eletrônicas e ópticas do C₆₀

A forma dos níveis eletrônicos de valência do C₆₀ também pode ser avaliada a partir do ponto de vista de Teoria de Grupo. Cada átomo de carbono no C₆₀ ocupa um sítio atômico equivalente, possuindo três elétrons que realizam ligações do tipo σ ao longo da superfície da molécula em uma hibridização sp^2 distorcida e um elétron em uma ligação π radial à molécula. Os níveis eletrônicos dos elétrons π podem ser obtidos partindo-se de funções de onda descritas por harmônicos esféricos. Considerando que estas funções são funções base do grupo de simetria rotacional total e baixando a simetria deste grupo para o grupo de ponto da molécula (I_h), as representações irredutíveis do grupo original se desdobram em representações redutíveis no novo grupo, permitindo relacionar a simetria dos níveis eletrônicos àquelas no grupo I_h .²² Os harmônicos esféricos caracterizados pelos números quânticos de momento angular $l = 0, 1$ e 2 se tornam representações irredutíveis do novo grupo e os harmônicos com $l > 2$ se tornam representações redutíveis. Por essa análise, os elétrons do nível de valência que fazem ligações do tipo σ ocupam orbitais moleculares de momento angular e energia mais baixos, tendo pouca importância nas propriedades eletrônicas do C₆₀.²³ Os 60 elétrons restantes que realizam ligações do tipo π preenchem completamente os níveis eletrônicos até $l = 4$, deixando 10 elétrons no nível $l = 5$, que pode ser ocupado por até 22 elétrons. No grupo de ponto I_h , o nível $l = 5$ se desdobra em três níveis, de simetria H_u, F_{1u} e F_{2u} , que podem ser ocupados por até 10, 6 e 6 elétrons, respectivamente. Cálculos de Hückel colocam o nível H_u completamente ocupado (HOMO) e o orbital molecular F_{1u} vazio (LUMO).²⁴ O orbital molecular H_u é do tipo singleto, por apresentar $S = 0$. A banda de energia proibida entre os níveis HOMO e LUMO foi calculada em 1,92 eV. A Figura 2.8 mostra a simetria dos níveis de energia da molécula de C₆₀ isolada e para o C₆₀ sólido.

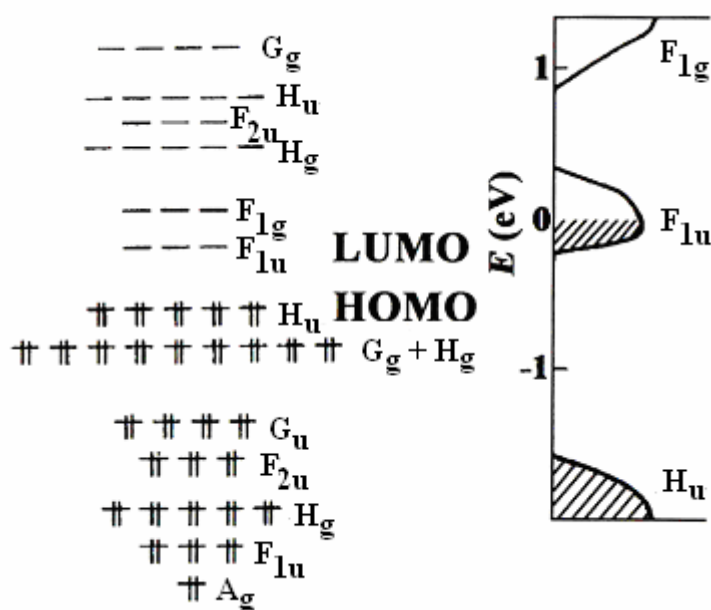


Figura 2.7 - Representação esquemática dos níveis eletrônicos da molécula de C₆₀. À direita está representada a estrutura de bandas do C₆₀ sólido.²⁵

No estudo das transições ópticas permitidas na molécula de C₆₀, é necessário que as regras de seleção associadas à simetria dos orbitais seja analisada. Para excitações de primeira ordem, que envolvem a geração de apenas um elétron e um buraco, transições permitidas devem envolver orbitais moleculares de paridades opostas (gerade e ungerade, ou pares e ímpares) e o produto direto entre $\Gamma_i \otimes F_{1u}$ deve conter a simetria do estado final Γ_j (Γ_i é o estado inicial). Assim, na ausência de acoplamentos spin-órbita, as transições permitidas nos fullerenos a partir do estado fundamental S₀ só são permitidas para estados singletos. Como os orbitais HOMO e LUMO apresentam a mesma paridade (ímpar), a transição entre estes níveis não é permitida. A próxima transição permitida é entre os estados HOMO e LUMO+1, ou seja, entre o orbital molecular ocupado mais alto e o segundo mais baixo orbital desocupado, de simetria F_{1g}, com $l = 6$. Essa transição, apesar de permitida, é menos intensa do que transições entre estados iniciais com $l = 4$ e estados finais com $l = 5$, seguindo a regra de que funções de onda com menos nós apresentam um maior overlap e, conseqüentemente, têm transições ópticas mais fortes.¹¹ No caso do grupo I_h, estas transições seriam entre os níveis HOMO-2 (H_g) e LUMO (F_{1u}), além de outras transições semelhantes. Existem diversos resultados na literatura descrevendo as transições ópticas possíveis em fullerenos C₆₀ e a frequência e força dos osciladores associados a essas transições.²⁶ Atenção especial é dada

para excitações ópticas de fullerenos em solução, que apresentam 3 picos intensos na região de comprimento de onda abaixo dos 440 nm. Estes picos, em 335 nm (3,7 eV), 270 nm (4,6 eV) e 215 nm (5,8 eV) são de especial interesse no estudo de excitações ópticas nas regiões de luz visível e ultravioleta, de interesse neste trabalho. A Tabela 2.4 reúne cálculos teóricos das principais transições ópticas permitidas e as energias associadas a cada uma para o C₆₀ sólido, considerando correções devido à contribuições dos campos elétricos locais de um conjunto denso de moléculas.

Tabela 2.4 - Valores teóricos para as transições ópticas permitidas na molécula de C₆₀ e energias relacionadas a cada transição.¹¹

Estado inicial	Estado Final	Energia (eV)
HOMO (H _u)	LUMO+1 (F _{1g})	2,86
HOMO-2 (H _g)	LUMO (F _{1u})	3,47
HOMO (H _u)	LUMO+3 (H _g)	4,54
HOMO-1 (G _g)	LUMO+2 (F _{2u})	5,05
HOMO-2 (H _g)	LUMO+2 (F _{2u})	5,07
HOMO-6 (G _g)	LUMO (F _{1u})	5,45
HOMO-4 (F _{1u})	LUMO+1 (F _{1g})	5,80
HOMO (H _u)	LUMO+5 (G _g)	6,00

Após a excitação óptica de seu estado fundamental singlete (S₀) para estados singletos de mais alta energia (S_n, com n > 1), a molécula de fullereno faz rapidamente uma transição não-radiativa para o primeiro estado excitado singlete (S₁). Este, por sua vez, tem meia vida de cerca de 1,2 ns, realizando um *intersystem crossing* (ISC) com alta eficiência quântica para o estado excitado tripleto (T₁), de meia vida mais longa.²⁷ O *intersystem crossing* consiste numa transição entre estados singlete e tripleto, permitida pelo acoplamento destes estados através de interações spin-órbita. Como o Hamiltoniano associado a esta interação tem simetria A_g, ele permite que os estados inicial e final tenham a mesma simetria. Também é necessário que o produto direto F_{1g} ⊗ Γ_s contenha a representação Γ_s, onde F_{1g} é a simetria do estado tripleto e Γ_s é a simetria do estado singlete inicial. Tanto a presença de O₂ quanto colisões intermoleculares em soluções líquidas são responsáveis pela relaxação destes estados. A presença do O₂ no meio permite a transição entre os estados tripleto e singlete pela interação magnética dipolo-dipolo entre estado tripleto do fullereno e o estado fundamental

triplete do O_2 . Este mecanismo importante será utilizado no estudo de terapias fotodinâmicas no Capítulo 5. O estado excitado triplete tem meia vida estimada em 55 ± 5 ms para filmes de C_{60} sem oxigênio, caindo para 30 ± 5 ms na presença do mesmo.²⁸ Para o C_{70} , a meia vida do estado triplete é estimada em 51 ± 2 ms.²⁹

2.4 - O C_{70}

No caso do fullereno C_{70} , as propriedades ópticas, eletrônicas e vibracionais devem ser calculadas a partir do grupo de ponto D_{5h} , que descreve mais apropriadamente a simetria desta molécula. Através de abaixamento de simetria, é possível considerar o grupo D_{5h} como um subgrupo do grupo I_h , com as representações irredutíveis do grupo de maior simetria se desdobrando em representações irredutíveis do novo grupo. A correspondência entre as RIs do grupo I_h e as RIs do grupo D_{5h} são dadas pela Tabela 2.5.

Tabela 2.5 - Correspondência entre as RIs do grupo I_h , ao qual pertence a molécula do C_{60} , e as RIs no grupo D_{5h} de menor simetria, ao qual pertence o C_{70} .

RIs no grupo I_h	RIs no grupo D_{5h}
H	$A_1 + E_1 + E_2$
F_1	$A_2 + E_1$
F_2	$A_2 + E_2$

Os cálculos para a molécula de C_{70} são análogos aos já realizados para a molécula de C_{60} , apenas substituindo as RIs do grupo original pelas RIs correspondentes no novo grupo. O principal resultado desse abaixamento de simetria é a quebra da degenerescência de alguns auto-estados, que pode ser observada, por exemplo, no desdobramento dos picos de absorção em espectroscopia IR e espalhamento Raman.

Capítulo 3 - Síntese e Purificação de Fullerenos

3.1 - Introdução

Processos de síntese de nanoestruturas de carbono geralmente consistem na geração de uma fase vapor de grafite ou hidrocarbonetos leves em uma atmosfera com pressão controlada, na presença de gases inertes, como He, Ar, ou N₂, ou em atmosferas redutoras, como H₂. Para a síntese de fullerenos, a geração de carbono atômico pode ser feita através de um arco elétrico aplicado entre eletrodos de grafite, a aplicação de um laser focado sobre um alvo do mesmo material ou, mais recentemente, pela queima de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) em baixas pressões de oxigênio. O mecanismo de formação atualmente mais aceito para estes processos de síntese de fullerenos é a geração de carbono atômico a temperaturas acima de 2000 K, seguida pelo rápido resfriamento da fase vapor até temperaturas abaixo de 1000 K, por exemplo, na interface do plasma formado durante o arco elétrico. Nesta faixa de temperaturas, a formação de cadeias de carbono passa a ser energeticamente favorável. Em 2002, Churilov mostrou através de cálculos computacionais que a energia das reações químicas em um vapor de carbono a 1000 K favorece a formação de cadeias hexagonais planas e curvas.³⁰ Por causa do grande número de ligações abertas, as primeiras são altamente instáveis, gerando pentágonos na rede que levam a cadeias curvas, com menor energia de formação. Foi também mostrado que variações na densidade de carga ao longo do plasma também favorecem o aparecimento desses pentágonos, pois ânions e cátions dessas cadeias também privilegiam a formação de cadeias curvas. Cálculos da energia de formação dessas cadeias foram realizados, mostrando que fullerenos C₆₀ e de maior massa, mesmo em suas formas iônicas, são extremamente estáveis nestas temperaturas.³⁰

Os primeiros experimentos de síntese de fullerenos foram realizados em 1985, utilizando uma técnica desenvolvida na Universidade Rice, nos Estados Unidos, o que resultou na descoberta dessas moléculas. A técnica, como mencionamos anteriormente, consistia na vaporização de um disco de grafite através de um laser pulsado (5 ns) de comprimento de onda de 532 nm e potência de 30 a 40 mJ, focalizado na superfície do mesmo. Um fluxo de gás Hélio de duração de menos de 1 ms em alta pressão (10 atm) passava sobre a superfície do disco carregando os átomos arrancados de sua superfície. O disco era mantido em lenta rotação para que regiões novas fossem atingidas pelo laser. A mistura de Hélio e átomos então passava por uma série de câmaras onde sofria expansões adiabáticas que

resfriavam o gás, permitindo a formação de aglomerados, seguindo então para um espectrômetro de massa. Um esquema do experimento utilizando um disco de grafite pode ser visto na Figura 3.1.³¹

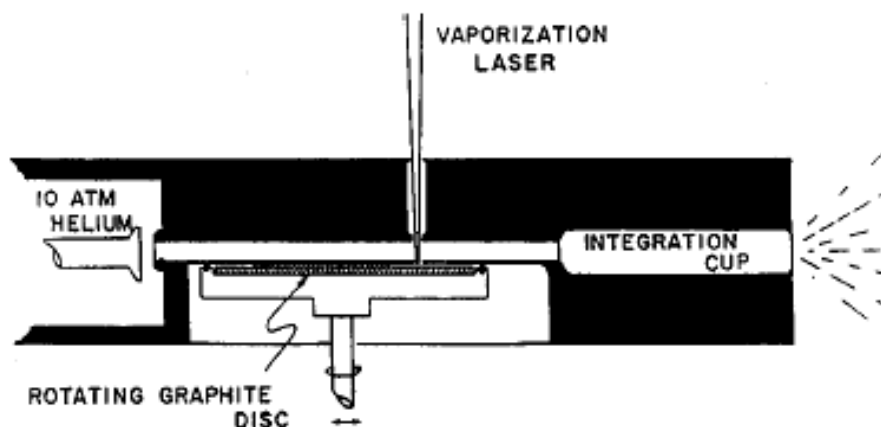


Figura 3.1 - Processo de ablação a laser desenvolvido em 1985.³¹

A técnica desenvolvida em 1985 não permitia a síntese em quantidades macroscópicas de fullerenos, de forma que em 1990 o grupo de Krätschmer e colaboradores desenvolveu um sistema de síntese de fullerenos através da vaporização de um eletrodo de grafite pelo seu aquecimento resistivo.¹⁵ Este processo é muito similar ao processo de arco elétrico, em que eletrodos de grafite são montados em uma câmara em atmosfera inerte à baixa pressão. As pontas dos eletrodos são aproximadas até cerca de 1 a 2 mm de distância e uma diferença de potencial elétrico é aplicada entre eles. Quando a distância entre os eletrodos se torna suficientemente pequena, ocorre a formação de um arco elétrico entre os eletrodos, ionizando o gás ao redor do arco, gerando um plasma ao redor dos eletrodos. À medida que elétrons são acelerados contra o anodo, estes colidem com os átomos de carbono da superfície do anodo, transferindo energia suficiente para arrancá-los. O carbono na forma atômica atravessa o plasma, perdendo energia cinética rapidamente através de colisões com os átomos da atmosfera da câmara, o que permite a formação de cadeias de grafite, como descrito anteriormente. A Figura 3.2 mostra um modelo simplificado de uma câmara de arco elétrico, com seus principais componentes indicados. O processo de arco elétrico foi utilizado na síntese de fullerenos deste trabalho e é um dos mais citados na literatura,^{32,33} com rendimentos variando entre 4%,³⁴ 8,4%,³⁵ 15%³⁶ e até mesmo na faixa de 25 - 30%³⁷.

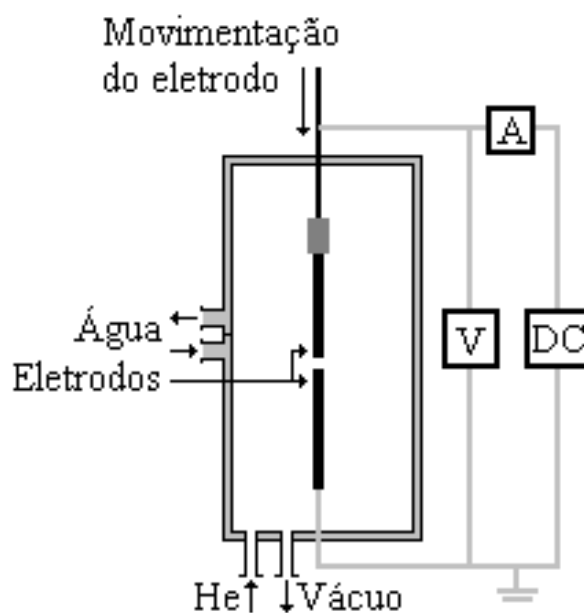


Figura 3.2 - Desenho esquemático de um sistema de síntese por arco elétrico.

Apesar de ser uma técnica eficiente e relativamente simples, a síntese por arco elétrico apresenta um problema que impede sua utilização contínua para a queima de grandes quantidades de grafite e conseqüente geração de uma maior massa de fullerenos. Este problema está relacionado com a formação de um depósito de carbono grafítico do tipo turbostrático sobre o catodo, que cresce durante o processo de síntese.³⁸ Este depósito apresenta propriedades elétricas muito diferentes das apresentadas pelos eletrodos, impedindo que o arco elétrico se mantenha estável e com as mesmas condições do início da síntese. Pelo interesse tanto na produção de fullerenos quanto de nanotubos de carbono, várias modificações no processo de síntese por arco elétrico têm sido patenteadas procurando remover este depósito. Em 1996, Ohshima propôs um sistema de rotação do catodo para que uma nova região de sua superfície fosse exposta ao arco elétrico, evitando o acúmulo do depósito.³⁹ Em 2002, Lal patenteou um processo que utiliza vibrações ultra-sônicas para a remoção do depósito sobre o catodo.⁴⁰

Outra técnica utilizada na síntese de fullerenos e outras nanoestruturas de carbono, conhecida como ablação a laser de um alvo aquecido, também resulta na produção de quantidades macroscópicas de fullerenos. A técnica é uma melhoria daquela utilizada em 1985 para a primeira síntese de fullerenos e consiste na vaporização de um alvo de grafite em uma atmosfera inerte através de um laser pulsado focado na superfície do alvo. O laser utilizado é usualmente um laser pulsado Nd:YAG e o alvo de grafite é aquecido até

temperaturas próximas a 1000 K.⁴¹ Também existem resultados utilizando lasers de CO₂, que dispensam a necessidade de aquecimento do alvo devido a alta potência destes lasers.⁴² A técnica apresenta rendimentos similares àqueles encontrados para a síntese por arco elétrico.

Recentemente, a técnica de pirólise ou técnica de chama laminar de produção de fullerenos começou a receber grande atenção de pesquisadores de todo o mundo. Apesar da presença de fullerenos na fuligem gerada pela combustão de PAHs já ser conhecida desde 1991,⁴³ a técnica atraiu novamente a atenção dos pesquisadores ao ser utilizada com sucesso para processos de larga escala de produção de fullerenos.^{44,45} A possibilidade de se utilizar a pirólise para a produção industrial reside no fato que esta é uma técnica que pode, em teoria, ser reproduzida em escalas bem maiores sem encontrar obstáculos que estão presentes nos processos de arco elétrico e ablação. A pirólise é realizada pela queima de uma mistura de PAHs, em um fluxo laminar de oxigênio misturado a um gás inerte à baixa pressão, gerado pela lenta passagem de oxigênio por um disco refratário poroso montado na base da chama. A fuligem gerada por esta queima é então bombeada para fora do sistema e capturada em filtros. Resultados recentes colocam a pirólise de PAHs como capaz de gerar fullerenos em quantidades da ordem de toneladas/ano.⁴⁶

3.2 - Resultados experimentais

3.2.1 - Síntese por arco voltaico

Para a síntese de fullerenos deste trabalho, utilizou-se uma câmara de aço de atmosfera controlada, com sistema de refrigeração das paredes, capaz de suportar uma grande amplitude de pressões, entre 10⁻⁶ e 10⁴ Torr. Dois eletrodos de grafite de alta pureza são montados no interior da câmara, em um sistema acoplado a um motor de passo que permite alterar continuamente a distância entre os eletrodos. Os eletrodos são ligados externamente a uma fonte de tensão DC de 25 KW (Saban Eletric Corp.) que opera entre 0 e 40 V com correntes até 1500 A. Uma janela óptica protegida com um vidro escuro bloqueador de radiação UV é utilizada para acompanhar o processo, seu objetivo é permitir a observação do arco, que gera luz intensa. Após o fechamento da câmara, realiza-se uma purga da atmosfera para remoção de oxigênio e outros possíveis contaminantes. A câmara é evacuada até 10⁻² torr e preenchida com Hélio, em uma pressão de 100 torr. O processo de síntese ocorre com a aplicação de um potencial de cerca de 23 V entre os eletrodos, que são aproximados até uma distância de cerca

de 2 mm entre as pontas. No momento em que os eletrodos se aproximaram o suficiente para que seja possível a formação de um arco elétrico entre eles, o potencial cai para cerca de 17 V, e a corrente estabiliza-se em 120 A. Estas condições de diferença de potencial e corrente elétricas foram adotadas como ótimas e repetidas em todos os processos, por gerarem um plasma estável e de alta temperatura, estimada em 4000 K. Através do controle da corrente elétrica e da pressão então é possível modificar o tamanho da região de plasma e o fluxo de gás na região de interface. O correto ajuste destes parâmetros torna energeticamente favorável à formação de fullerenos, aumentando o rendimento do processo. Após todo o anodo ser desgastado, o processo é interrompido e a pressão da interna da câmara é igualada à externa. A câmara é então aberta e a fuligem gerada pelo processo é recolhida das superfícies da câmara, seguindo para a etapa de purificação.

Para que este processo permitisse a queima de diversos eletrodos de forma contínua e eficiente, foi desenvolvida uma patente de um processo capaz de produzir grandes quantidades de fullerenos e nanotubos de carbono, baseada no sistema de arco elétrico. Esta utiliza um ou mais sistemas de roleta, onde são montados vários eletrodos de grafite. Através da rotação dos discos das roletas, um novo anodo é colocado sob o catodo para o processo de arco elétrico, permitindo que uma maior quantidade de grafite possa ser utilizada. Uma haste rígida é introduzida no sistema, possibilitando a quebra do depósito de grafite sobre o catodo. Mais detalhes desta patente podem ser encontrados no apêndice B.

3.2.2 - Purificação

A síntese de fullerenos através do processo de arco elétrico descrito gera, em condições ótimas de processo para o equipamento utilizado, uma fuligem contendo cerca de 4% de fullerenos. Assim, torna-se essencial que o processo de purificação seja altamente eficiente na remoção de carbono amorfo e estruturas gráficas em geral. Além da separação do material amorfo, em muitos casos também pode ser feita a separação entre fullerenos de diferentes massas, em especial fullerenos C_{60} e C_{70} , por se tratarem das espécies mais abundantes. No mesmo ano em que foi publicada a primeira síntese em escala macroscópica de fullerenos, Krätschmer *et al.* publicaram um processo de purificação da fuligem aproveitando as diferentes solubilidades dos fullerenos em solventes orgânicos.⁴⁷ Após a coleta do material produzido na síntese, o pó foi misturado em tolueno em ebulição, seguido de filtragem, o quê resultou em uma solução marrom-avermelhada. A secagem dessa solução

indicou um rendimento de 14% em relação à massa de fuligem coletada inicialmente. Para a separação dos fullerenos de diferentes massas, utilizou-se uma coluna cromatográfica de alumina neutra com hexano como eluente. Os resultados obtidos por HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) indicaram a separação do C₆₀ e do C₇₀, atingindo uma pureza >99% para cada material.

Dois processos citados na literatura foram estudados em detalhes neste trabalho. Estes processos consistem da extração via Soxhlet e via sublimação.

3.2.2.1 - Soxhlet e Soxhlet cromatográfico

A extração via Soxhlet é um processo comumente utilizado em química para separação de materiais solúveis de outros insolúveis. No caso da extração de fullerenos, utiliza-se um solvente orgânico para remover as moléculas de fullereno do pó composto de diversas formas amorfas de carbono. Em 1992, Khemani, Prato e Wudl propuseram um sistema Soxhlet modificado, permitindo a extração dos fullerenos simultânea à separação do C₆₀ e C₇₀.⁴⁸ Para este sistema, o cilindro contendo o material a ser extraído é substituído por uma coluna cromatográfica de alumina. Hexano foi utilizado como fase móvel. Nesta configuração, o processo deve ser interrompido após a extração do C₆₀, removendo-se a solução, que é substituída por um novo solvente para a extração do C₇₀. Em 1994, Dias também propôs a extração através de Soxhlet seguida de separação por coluna cromatográfica, porém neste sistema as duas partes do processo são realizadas separadamente, adotando um procedimento que hoje é utilizado regularmente para produção de fullerenos de alta pureza.⁴⁹ Outra possível rota de separação por coluna cromatográfica substitui a alumina por uma mistura de carbono ativado Norit-A e sílica gel numa proporção de 1:2, utilizando uma solução de tolueno e ortodichlorobenzeno (ODCB) (1:1) como fase móvel. Após a coleta das primeiras alíquotas ricas em C₆₀, o solvente é substituído por ODCB puro, para a extração de C₇₀. Essa separação foi descrita em 1994 na Universidade da Carolina do Sul, nos EUA, e está sendo desenvolvida atualmente em nosso laboratório.³³

No processo de extração via Soxhlet que foi realizado neste trabalho, utiliza-se um cilindro, preferencialmente de teflon ou outro material que não irá reagir com o solvente ou a fuligem, preenchido com o material recolhido da câmara de síntese. A massa de fuligem introduzida no cilindro é de cerca de 1,50 g. A base e o topo do cilindro são fechados com filtros de teflon (*Whatman PTFE Membranes*, tamanho médio dos poros 0,45 µm). O

conjunto é então colocado em um sistema de extração Soxhlet convencional, utilizando tolueno (Labsynth Produtos para Laboratório Ltda., pureza 99,5%) como solvente. Um balão na base do sistema contendo o tolueno é aquecido até ebulição do solvente, que sobe como vapor até o condensador acima do cilindro contendo a fuligem. À medida que o solvente resfria, gotejando no filtro de papel e através do material, a parte insolúvel da mistura fica retida no filtro inferior, enquanto a parte solúvel é carregada pelo solvente, descendo para o reservatório, onde o tolueno continua em aquecimento. O solvente fica em refluxo por pelo menos 24 horas, para que todo o fullereno seja extraído da fuligem. A Figura 3.3 mostra uma representação esquemática do sistema de extração.

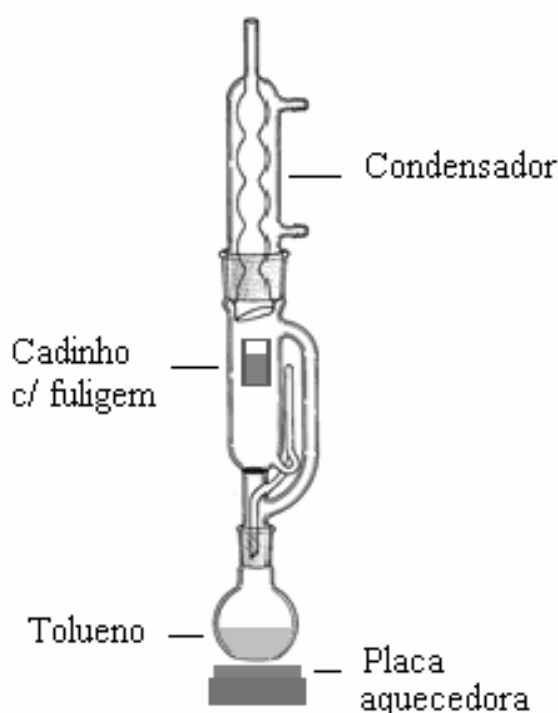


Figura 3.3 - Sistema de extração por solvente via Soxhlet.

Especial atenção deve ser tomada durante este processo com a temperatura do solvente e do condensador, evitando que o vapor de tolueno escape do sistema. Também é preciso que os filtros utilizados sejam observados, pois a degradação dos mesmos ao longo do processo pode causar a contaminação do material extraído e vazamento de fuligem insolúvel. Outro problema associado à extração via Soxhlet é a presença de impurezas no solvente e também a passagem de partículas de carbono amorfo menores que os poros do filtro utilizado.

Como dito anteriormente, é possível modificar o sistema de Soxhlet com a adaptação de uma coluna de alumina em seu interior. O objetivo é permitir a separação de fullerenos de

massas diferentes, que serão retidos na coluna proporcionalmente aos diâmetros de suas moléculas. Além dos experimentos utilizando o sistema de Soxhlet convencional, também foram realizados estes experimentos. Uma coluna de 20,0 cm de altura e 4,5 cm de diâmetro foi preparada com uma mistura de alumina calcinada e hexano (Labsynth Produtos para Laboratório Ltda., pureza 99,5%), e inserida dentro de um novo extrator Soxhlet projetado e contruído para acomodá-la. Na base da coluna um filtro de papel evita a passagem de material insolúvel. O pó recolhido da câmara para ser usado na extração é misturado à alumina e ao hexano e colocado no topo da coluna. O conjunto é colocado em refluxo e os solventes são trocados em intervalos regulares para separação das diversas alíquotas.

3.2.2.2 - Sublimação

Na técnica de extração via sublimação o fullereno contido na fuligem da câmara de arco é extraído por apresentar uma temperatura de sublimação bastante inferior à das outras espécies de carbono presentes na fuligem como, por exemplo, as partículas nanométricas de carbono amorfo. Neste processo o pó obtido na síntese é colocado em um cadinho de grafite ou outro material que suporte temperaturas acima de 700 °C, que é levado até o interior de um forno em que se possa realizar alto vácuo. A câmara contendo o cadinho é evacuada até uma pressão da ordem de 10^{-7} torr, seguida do aquecimento gradual da região do cadinho até uma temperatura de, pelo menos, 450 °C. A partir desta temperatura ocorre a sublimação das moléculas de fullerenos. É necessário que haja um gradiente de temperatura no interior da câmara fora da região onde se encontra o cadinho, para que o fullereno sublimado se deposite em regiões de menor temperatura.

Para esta técnica de extração, utilizou-se um forno tubular, que consiste de um tubo de quartzo atravessando a zona quente de um forno capaz de atingir temperaturas até 1050 °C. As extremidades do tubo estão fora do forno, gerando um gradiente de temperatura entre a região central do mesmo e suas extremidades. Um cilindro de grafite contendo o pó resultante do arco é introduzido no tubo de quartzo. O cilindro apresenta furos em suas extremidades, permitindo a saída do material sublimado. O tubo de quartzo é então fechado, com uma bomba de vácuo do tipo turbo molecular acoplada a uma de suas extremidades, e a bomba é gradualmente aberta até que se atinja pressões inferiores a $1,0 \times 10^{-6}$ torr. Essa pressão garante que não há oxigênio no interior do tubo que cause a oxidação do carbono. Atingida a pressão desejada, inicia-se o aquecimento da zona central do tubo até uma temperatura de 500 °C. A

partir de temperaturas em torno de 450 °C, inicia-se a sublimação do fullereno. O forno é mantido a 500 °C por 24 horas para a total sublimação do fullereno. Na faixa de pressões utilizada o fullereno na fase vapor difunde pelo interior do tubo de quartzo, entrando em contato com regiões do quartzo com temperaturas mais baixas, o que resulta na solidificação e deposição do material. No final do processo esse fullereno sublimado pode ser retirado das paredes do quartzo por raspagem ou utilizando-se um solvente apolar, como o tolueno. A Figura 3.4 mostra a montagem utilizada no experimento de sublimação.

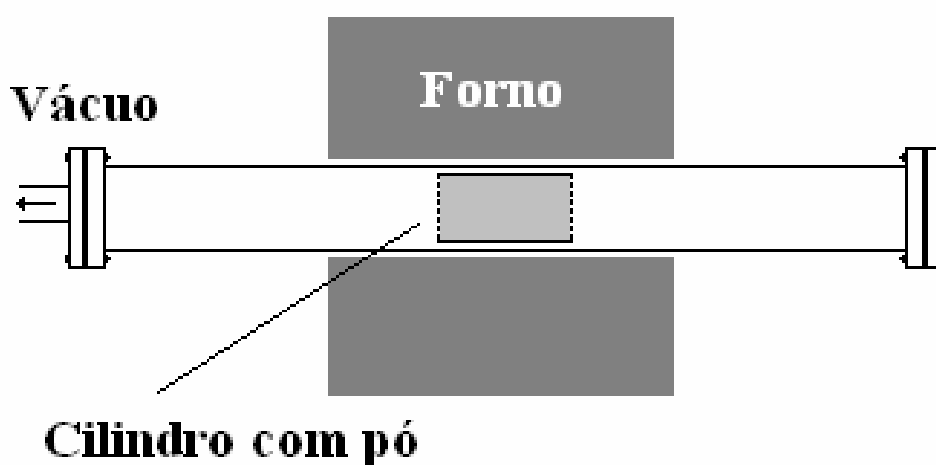


Figura 3.4 - Desenho esquemático da montagem do forno de sublimação de fullerenos. É possível utilizar um bastão de quartzo introduzido até a zona quente do forno, fornecendo uma superfície de depósito do fullereno sublimado, facilitando a coleta.

3.3 - Caracterização e resultados

A caracterização das amostras obtidas através da purificação via Soxhlet foi realizada utilizando-se técnicas de espectroscopia no infravermelho e absorção óptica para avaliar a eficiência dos processos de Soxhlet utilizados no trabalho. Os resultados observados no espectro de infravermelho foram obtidos a partir de um processo em que se utilizou hexano como fase móvel. Quatro alíquotas foram retiradas em intervalos de tempo de 9 minutos, 22 horas, 44 horas e 66 horas do início da ebulição do solvente, com o objetivo de se medir o tempo necessário para a remoção do C₆₀ da fuligem inicial. O espectro foi normalizado em relação ao pico em 1470 cm⁻¹ referente a um modo ativo da molécula de C₇₀. Os resultados estão resumidos na Figura 3.5.

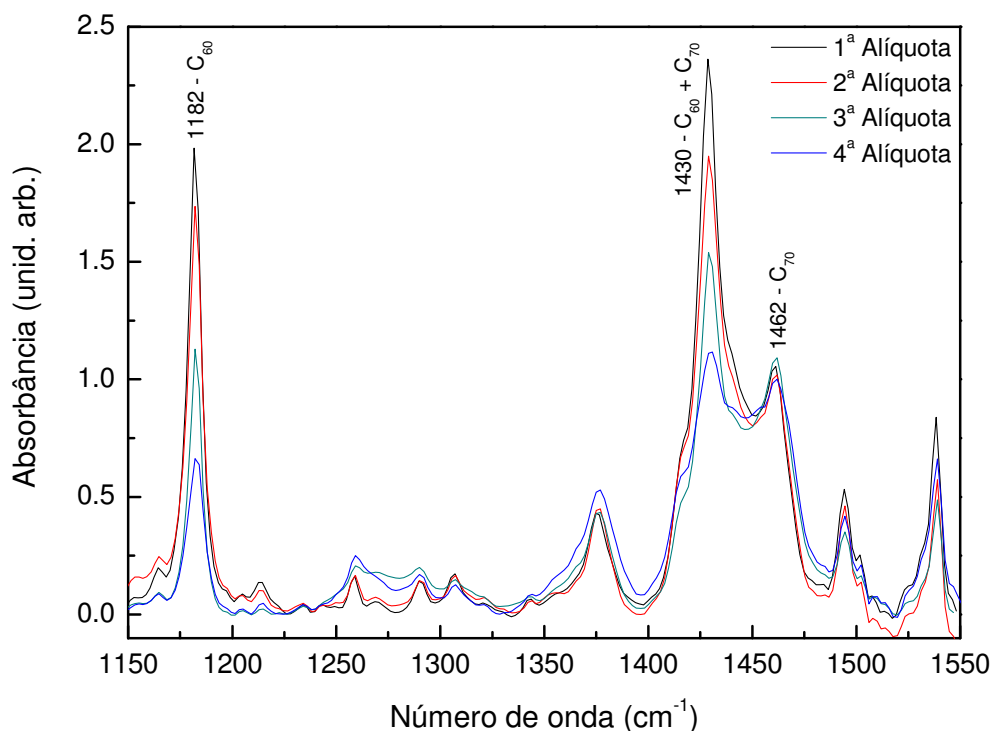


Figura 3.5 - Espectro de infravermelho das soluções extraídas em diferentes tempos de um processo de Soxhlet utilizando hexano como solvente. Nota-se uma queda na intensidade do sinal em 1182 cm^{-1} , referente a um modo ativo do C_{60} .

Uma aplicação dos resultados acima é a possível separação do C_{60} e do C_{70} através do uso de solventes que apresentam diferentes solubilidades para cada uma das espécies, como neste caso o hexano. Após muitas horas de extração, percebe-se pelo espectro de IR que a concentração de fullerenos C_{60} extraída do solvente diminui, gerando um produto com concentração de C_{70} cada vez maior. Porém, ainda existe o problema dos longos períodos envolvidos neste método, que dificultam o uso do Soxhlet.

Para a extração dos fullerenos via sublimação, a figura 3.6 mostra a obtenção de um produto de alta pureza, sem picos referentes a contaminantes como solventes ou carbono amorfo. O espectro de IR mostra medidas realizadas em 4 amostras diferentes, indicando que os resultados são facilmente reproduzíveis. Na figura observam-se os 4 modos ativos em primeira ordem para fullerenos C_{60} , referentes aos modos de simetria F_{1u} , de acordo com os valores mostrados na Tabela 2.3. Além destes, podem também ser observados em menor intensidade os modos ativos em primeira ordem para fullerenos C_{70} , correspondentes aos modos de simetria A'_1 , A'_2 , E'_1 e E'_2 . O pico em 1539 cm^{-1} é referente à vibrações intermoleculares. A extração via sublimação gerou um rendimento de $3,3 \pm 0,5\%$ em relação à massa de fuligem inicial. Este resultado foi obtido pela média de rendimentos de 10 processos

de sublimação similares, todos utilizando fuligem proveniente de sínteses com as mesmas condições iniciais.

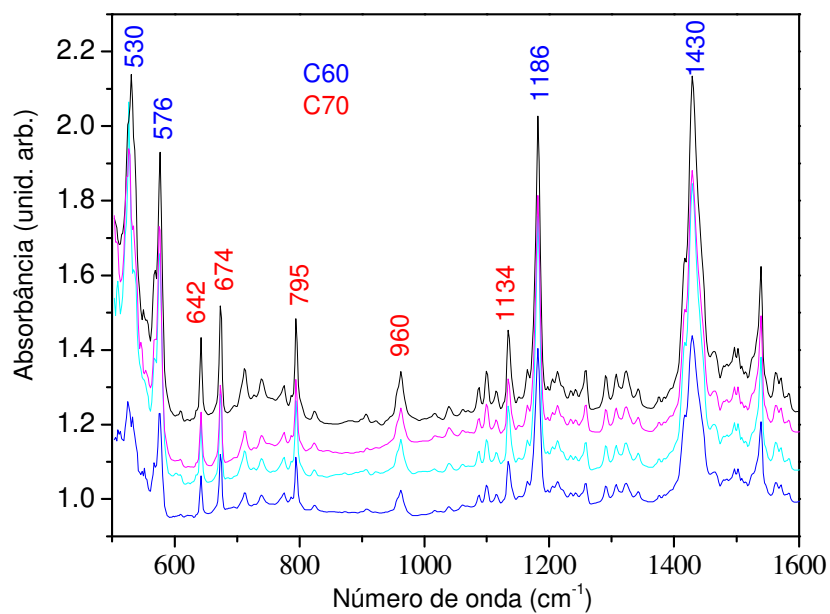


Figura 3.6 - Espectro de absorção no infravermelho (IR) de quatro amostras diferentes de fullereno sublimadas.

Capítulo 4 - Funcionalização de fullerenos

4.1 - Introdução

A funcionalização de fullerenos compreende uma vasta gama de rotas químicas que têm como objetivo a ligação covalente de várias espécies moleculares aos fullerenos. A maioria destes processos tem sido utilizada para a preparação de fullerenos hidrossolúveis, que apresentam menor citotoxicidade quando comparados ao fullereno puro^{50,51} e podem ser utilizados na fotoclivagem de DNA,⁵² inibidores de protease no vírus HIV,⁵³ entre outras aplicações. A funcionalização pela ligação de hidroxilas (íons OH⁻) merece destaque por se tratar de um processo simples, que gera moléculas de alta hidrossolubilidade e que alteram pouco as propriedades ópticas e eletrônicas das moléculas de fullereno originais.

Há várias técnicas na literatura que descrevem a síntese de fulleróis, ou fullerenos polihidroxilados. Infelizmente, a maioria destes processos é bastante complexa, envolvendo a hidrólise de derivados de fullerenos.^{54,55,56} O método mais simples para a ligação de grupos hidroxila é baseado na utilização de um catalisador de transferência de fase, que retira o fullereno de uma solução em tolueno ou benzeno para uma solução aquosa contendo NaOH, onde ocorre a polihidroxilação. O catalisador utilizado pode ser o hidróxido de tetrabutilamônia,⁵⁷ porém mais recentemente Zhang e colaboradores descreveram um processo semelhante que utiliza o polietileno glicol (PEG) como catalisador de transferência de fase.⁵⁸ O grupo obteve um rendimento de 80,4% de produção de fulleróis em relação à massa de fullerenos inicial, com uma média de 27 grupos OH por molécula.

4.2 - A rota de síntese do fullerol

Neste trabalho foi utilizada uma modificação do método publicado por Zhang *et al.*⁵⁸ Uma mistura de fullerenos C₆₀ e C₇₀ de alta pureza obtida através de purificação via sublimação foi solubilizada em benzeno (Labsynth Produtos para Laboratório Ltda., pureza >99,0%), com uma concentração de 125 mg em 175 mL. A esta mistura são acrescentados vagarosamente 5 mL de uma solução de NaOH (25 mol L⁻¹), seguido do gotejamento de 5 mL de polietileno glicol (PEG 400) diluído em água (1:1 vol). A mistura é agitada por 6 horas sob um fluxo constante de oxigênio, que foi introduzido para acelerar a poli-hidroxilação. Após cerca de uma hora ocorre a formação de um precipitado viscoso de cor amarronzada, porém o

período de reação foi alongado para garantir que uma grande parte dos fullerenos reagisse com o hidróxido de sódio. Com a separação completa entre o precipitado e uma solução cristalina de benzeno, a mistura é agitada por mais 48 horas e levemente aquecida para eliminar o benzeno por evaporação. Após a remoção do benzeno, 40 mL de água deionizada são adicionados e a mistura é agitada por mais uma hora, novamente sob um fluxo de oxigênio. A mistura é secada para a remoção de benzeno residual e são adicionados 80 mL de água deionizada. Esta solução tem pH 14, resultante do excesso de hidróxido de sódio usado na reação. A solução é filtrada em um filtro de Buckner para remoção de fullerenos C₆₀ e C₇₀ não funcionalizados. Após essa primeira filtragem, a solução é reduzida até secagem quase completa (cerca de 10 mL) e diluída em 590 mL de metanol (Vetec Química Fina Ltda., pureza >99,8%). Essa solução é filtrada em filtro de Buckner e o material retido no filtro é diluído em 100 mL de água deionizada. As etapas de redução da solução, adição de metanol e filtragem são repetidas até que o pH da solução em água destilada atinja pH 7, tido como indicador para o fim da síntese. Os filtros utilizados são filtros Whatman PTFE como os usados no processo de Soxhlet, descrito no Capítulo 3. A secagem da solução final em água destilada gera um pó marrom escuro composto de fulleróis de alta pureza.

4.3 - Caracterização e resultados

Para a caracterização do fullerol obtido, foram utilizadas 4 técnicas distintas de análise. A espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), mostrada na Figura 4.1, mostrou um pico largo em 3380 cm⁻¹. Este pico é atribuído ao modo de vibração longitudinal da ligação O-H. Também foram observados picos intensos em 1600 cm⁻¹, correspondente à ligação dupla C=C; em 1390 cm⁻¹, referente à ligação C-OH; e em 1055 cm⁻¹, que corresponde à ligação C-O. Todos estes picos já haviam sido observados anteriormente na literatura.^{54,55,59,60,61}

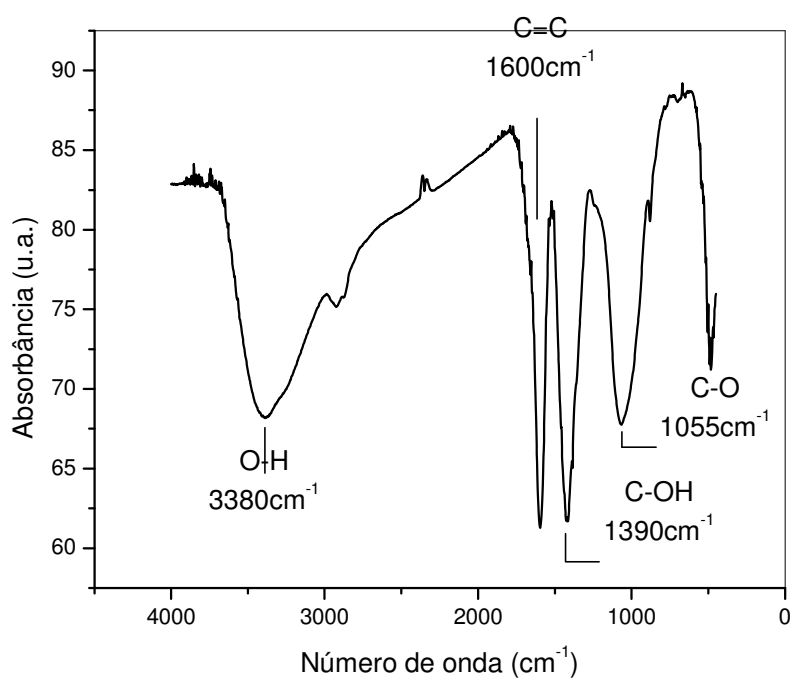


Figura 4.1 - Espectro no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de uma amostra de fullerol.

O espectro de absorção óptica do fullerol em solução aquosa (75 mg L⁻¹), Figura 4.2, revelou uma banda larga, centrada na região do ultravioleta (UV), responsável pela coloração amarelada da solução. De forma comparativa também foi incluída no espectro a medida de absorção óptica para os fullerenos extraídos por sublimação utilizados na funcionalização, em solução de tolueno de igual concentração.

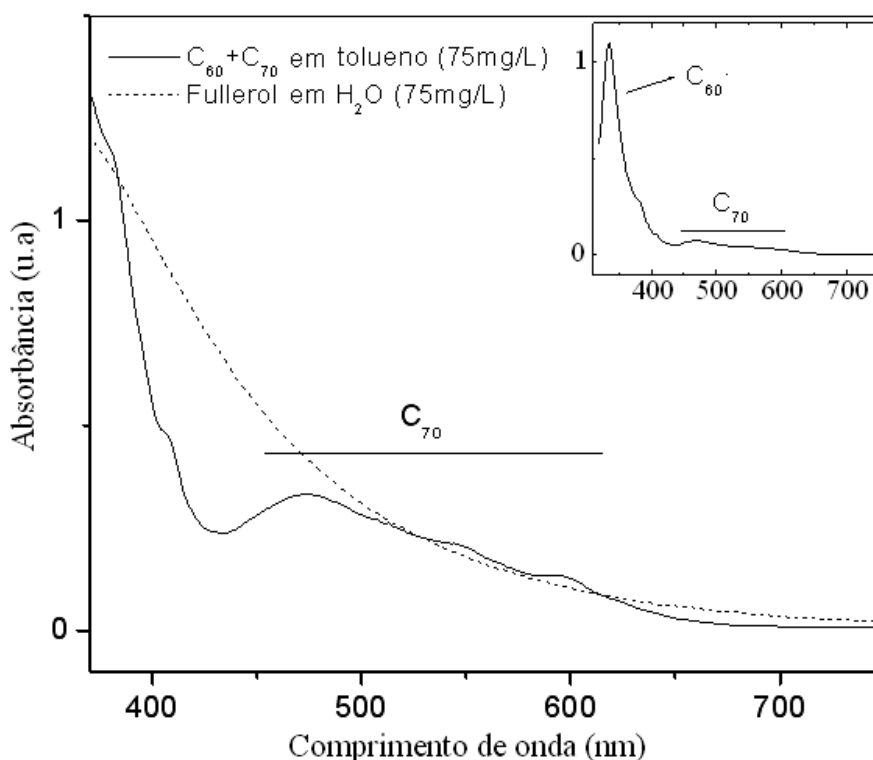


Figura 4.2 - Espectro de absorção óptica da solução de fullereno ($C_{60}+C_{70}$) em tolueno e da solução de fullerol em água, ambas com concentrações absolutas de 75 mg L^{-1} . No detalhe, espectro de uma solução de fullereno em tolueno em concentração mais baixa (15 mg L^{-1}), mostrando o pico de absorção no UV para o C_{60} . Nota-se a intensidade menor dos picos atribuídos ao C_{70} .

Também foi realizada uma análise por ressonância nuclear magnética (NMR) do fullerol produzido (Figura 4.3). O espectro de NMR do ^{13}C foi realizado a 300 MHz, com D_2O como solvente. Vê-se um desvio químico em $\delta = 166 \text{ ppm}$,¹⁶ atribuído tipicamente ao carbono em hibridização sp^2 em alquenos, que corresponde aos carbonos não ligados aos grupos hidroxila na molécula de fullerol. Comparativamente, a medida de NMR da molécula de C_{60} pura apresenta um único pico em $\delta = 143 \text{ ppm}$, devido à equivalência de todos os sítios atômicos. Outros três picos foram observados, em $\delta = 72, 70$ e 60 ppm . Estes desvios químicos são normalmente observados em ligações do tipo C-O em álcoois heteroaromáticos e éteres, confirmando a presença de ligações entre os fullerenos e as hidroxilas. A presença de três picos distintos pode ser devido a existência na amostra de isômeros do fullerol, fulleróis com diferentes números de hidroxilas ou pela funcionalização de fullerenos C_{70} , presentes na amostra como indicado por absorção óptica. O motivo da separação destes picos ainda é uma questão em aberto e requer outras medidas.

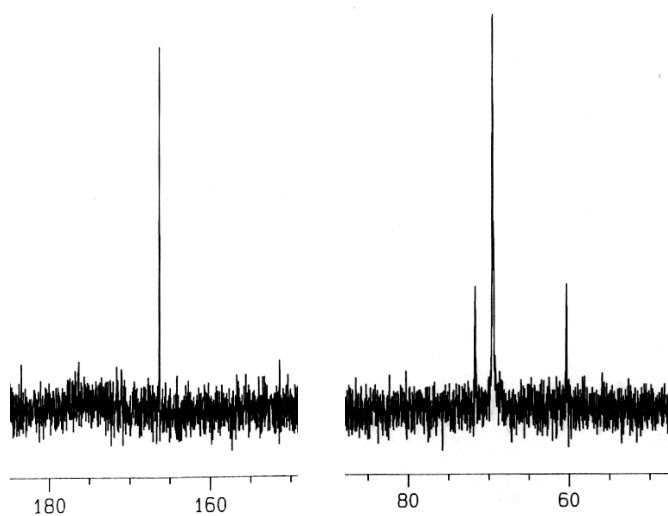


Figura 4.3 - Espectro de ^{13}C NMR do fullerol em solução de D_2O , medido em 300 MHz à temperatura ambiente (desvio químico em ppm).

Para se estimar o número de hidroxilas por molécula, a análise termogravimétrica foi realizada seguindo o modelo publicado por Goswami *et al.*, supondo a funcionalização simples dos fullerenos, com a formação de moléculas do tipo $\text{C}_{60}(\text{OH})_n$.⁶² No intervalo de temperaturas de 150 °C a 570 °C mediu-se uma perda de massa de 24,3%, atribuída à degradação dos grupos hidroxila ligados aos fullerenos, de acordo com trabalho de Johnson *et al.*⁶³ Acima de 570 °C mediu-se uma perda de massa de 54,5%, correspondente à sublimação dos fullerenos. De posse destes dados foi possível o cálculo de n , o número médio de grupos hidroxila ligados a cada molécula de fullereno, como mostra a equação abaixo:

$$n = \frac{\text{Peso Molar}(\text{C}_{60})}{\text{Massa Relativa}(\text{C}_{60})} \times \frac{\text{Massa Relativa}((\text{OH})_n)}{\text{Peso Molar}(\text{OH})} = \frac{720}{54,5} \times \frac{24,3}{17} \approx 19 \pm 1 \quad (4.1)$$

O valor médio de 19 hidroxilas por molécula de fullereno é compatível com diversos resultados na literatura, que indicam valores de n entre 6 e 28.^{54,55,59,60,61} O desvio $\Delta N = \pm 1$ aparece quando é considerada a presença de moléculas de C_{70} , de peso molar 840, em concentrações de até 10%. Essa concentração máxima foi estimada a partir das intensidades relativas dos picos de C_{60} e C_{70} no espectro de absorção óptica. Com este resultado, foi possível calcular o rendimento do processo em 87% em relação à massa inicial de fullerenos, superior portanto ao rendimento obtido por Zhang e colaboradores.⁵⁸

Capítulo 5 - Aplicação de fulleróis em sistemas biológicos

5.1 - Introdução

A molécula de fullereno apresenta propriedades ópticas e eletrônicas únicas, mas a aplicação destas propriedades em tecnologia, em especial na área de biotecnologia, tem sido limitada pelo caráter altamente hidrofóbico da molécula. Assim, o desenvolvimento de derivados hidrossolúveis de fullerenos tem como principal objetivo o estudo e a aplicação destes compostos em sistemas biológicos. Como parte deste trabalho foram desenvolvidos, em colaboração com o Instituto de Ciências Biológicas (ICB - UFMG), dois estudos visando a capacidade dos fulleróis na absorção e geração de espécies reativas de oxigênio.

Em colaboração com a Dra. Betânia M. Soares e o Prof. Gerdal R. Sousa, foram realizados no Laboratório de Micologia do ICB - UFMG experimentos visando o uso do fullerol como gerador de ROS sob iluminação,²⁷ em diferentes comprimentos de onda, para o desenvolvimento de terapias fotodinâmicas (PDT). Testes *in vitro* utilizaram culturas de leveduras da espécie *Candida krusei* e iluminação em diferentes comprimentos de onda na região da luz visível e do ultravioleta.

O segundo trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica e Imunologia do ICB, em colaboração com o Professor Mauro Martins Teixeira e a Professora Danielle G. Souza. O objetivo deste trabalho foi estudar a capacidade do fullerol na absorção de espécies reativas de oxigênio, especialmente a hidroxila e os íons superóxidos, em experimentos de isquemia e reperfusão *in vivo* em camundongos.

As seções seguintes descrevem resumidamente os experimentos, metodologias adotadas e resultados obtidos.

5.2 – Teste *in vitro*: Terapia fotodinâmica (PDT)

A terapia fotodinâmica, ou PDT (do inglês *Photo-Dynamic Therapy*), consiste na utilização das propriedades ópticas de uma molécula que, quando iluminada, é capaz de gerar espécies reativas de oxigênio (ROS). Essas, por sua vez, apresentam alta reatividade, servindo como oxidantes principalmente na reação com compostos que apresentam ligações duplas e grupos funcionais facilmente oxidáveis.⁶⁴ Apesar da presença de ROS ser extremamente prejudicial para tecidos biológicos, agindo na degradação de membranas celulares, proteínas,

DNA e outras biomoléculas,⁴ o uso localizado de moléculas capazes de gerar ROS tem se apresentado como uma alternativa interessante no tratamento de pequenos tumores malignos e infecções superficiais, como a *Candidíase* e a *Leishmaniose* cutânea.

Como apresentado no Capítulo 2, as propriedades ópticas dos fullerenos os tornam interessantes candidatos para o uso na PDT. O C₆₀ apresenta transições ópticas intensas na faixa do ultravioleta (na região de 3,0 a 6,0 eV), gerando estados excitados singletos de curta meia vida. Estes estados decaem rapidamente para o estado S₁, ocorrendo então um *intersystem crossing* (ISC) de alta eficiência quântica para o primeiro estado excitado tripleto (T₁), de energia 1,6 eV acima do estado singlete fundamental da molécula. A meia vida mais longa do estado tripleto permite a interação das moléculas de fullereno com o meio por dois mecanismos distintos. No primeiro mecanismo o estado tripleto do fullereno decai por fosforescência liberando radiação que causa a ionização das moléculas de água, gerando íons H⁺, OH⁻ ou O₂⁻. Através do segundo mecanismo, colisões entre as moléculas de fullereno e O₂ causam a transferência de energia entre as moléculas, levando o O₂ de seu estado fundamental tripleto para seu estado excitado singlete, altamente reativo.⁴

Os testes em PDT foram realizados utilizando o fullerol ao invés do fullereno por sua alta hidrossolubilidade e por manter propriedades ópticas semelhantes às do fullereno não funcionalizado. Foram realizados experimentos *in vitro* com a levedura *Candida krusei*, microorganismo causador da *Candidíase*, uma infecção oral e por isso interessante para a aplicação de terapias superficiais como a PDT.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Micologia, no Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, em colaboração com a Dra. Betânia M. Soares. Três comprimentos de onda diferentes foram escolhidos para os experimentos: um LED azul de uso comercial em odontologia, com $\lambda = 470$ nm e potência nominal de 400 mW; uma fonte de ultravioleta na faixa do UVA com $\lambda = 366$ nm e potência aproximada de 500 mW; e uma fonte de ultravioleta na faixa do UVC com $\lambda = 254$ nm e também 500 mW de potência. As leveduras foram cultivados em Sabourraud por 48 horas antes de serem inoculados em solução salina em concentrações de 10⁶ UFC mL⁻¹, medidas em um espectrofotômetro em $\lambda = 520$ nm. Foram preparados 8 grupos: 4 grupos contendo apenas o inóculo de *Candida krusei*; e 4 grupos contendo as leveduras e também fulleróis numa concentração de 600 mg mL⁻¹. Um grupo contendo apenas inóculos foi separado como Grupo Controle e não recebeu iluminação. Os outros três grupos sem fulleróis foram expostos separadamente a cada um dos comprimentos de onda por períodos iguais de iluminação (10

minutos). Nos outros 4 grupos, os fulleróis foram adicionados 5 minutos antes da iluminação para que as moléculas fossem absorvidas pela levedura. O primeiro grupo contendo inóculo + fullerol foi mantido sem iluminação, enquanto os outros três foram iluminados em comprimentos de onda diferentes pelo mesmo período que os grupos anteriores. Todos os grupos foram diluídos 1000 vezes em salina para o emplaquetamento em Sabourraud e levados para a estufa. Todos os grupos foram preparados em duplicata. A Figura 5.1 mostra o procedimento adotado:

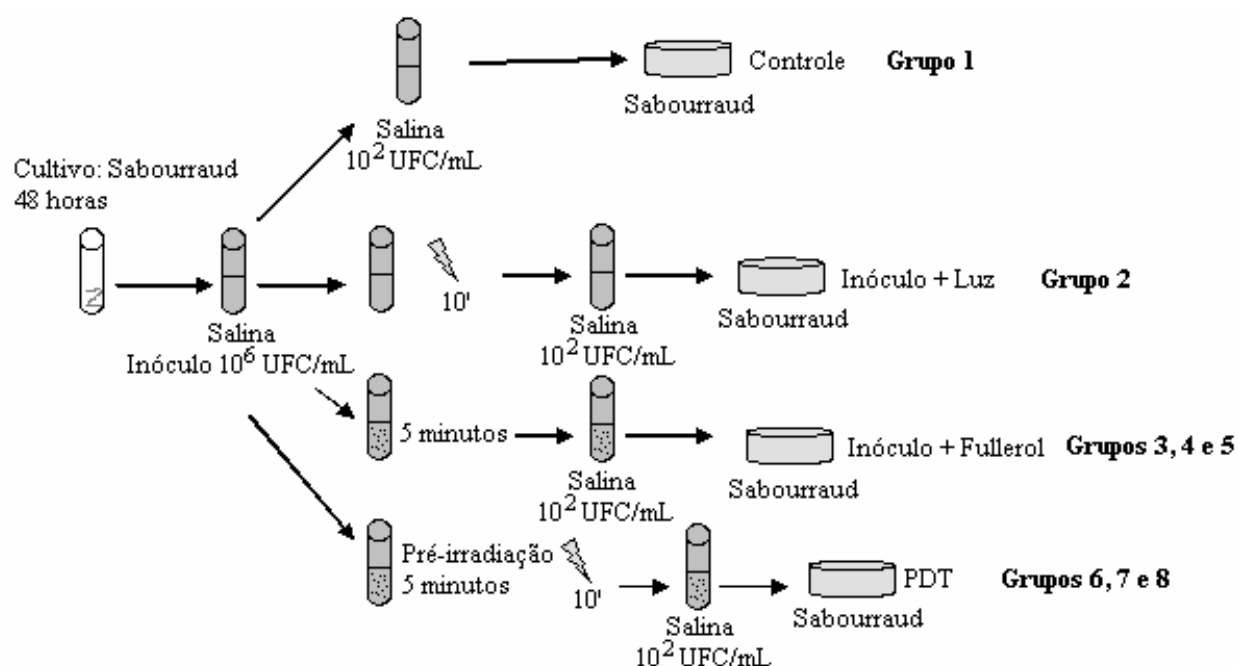


Figura 5.1 - Esquema utilizado para os experimentos de PDT. Os grupos iluminados foram repetidos para cada os três comprimentos de onda estudados. A incubação foi de 38 horas a 35 °C antes da contagem das colônias.

Após a incubação na estufa por 48 horas a 35 °C, as placas foram retiradas e realizou-se a contagem visual das colônias, que podem ser vistas na figura 5.2.

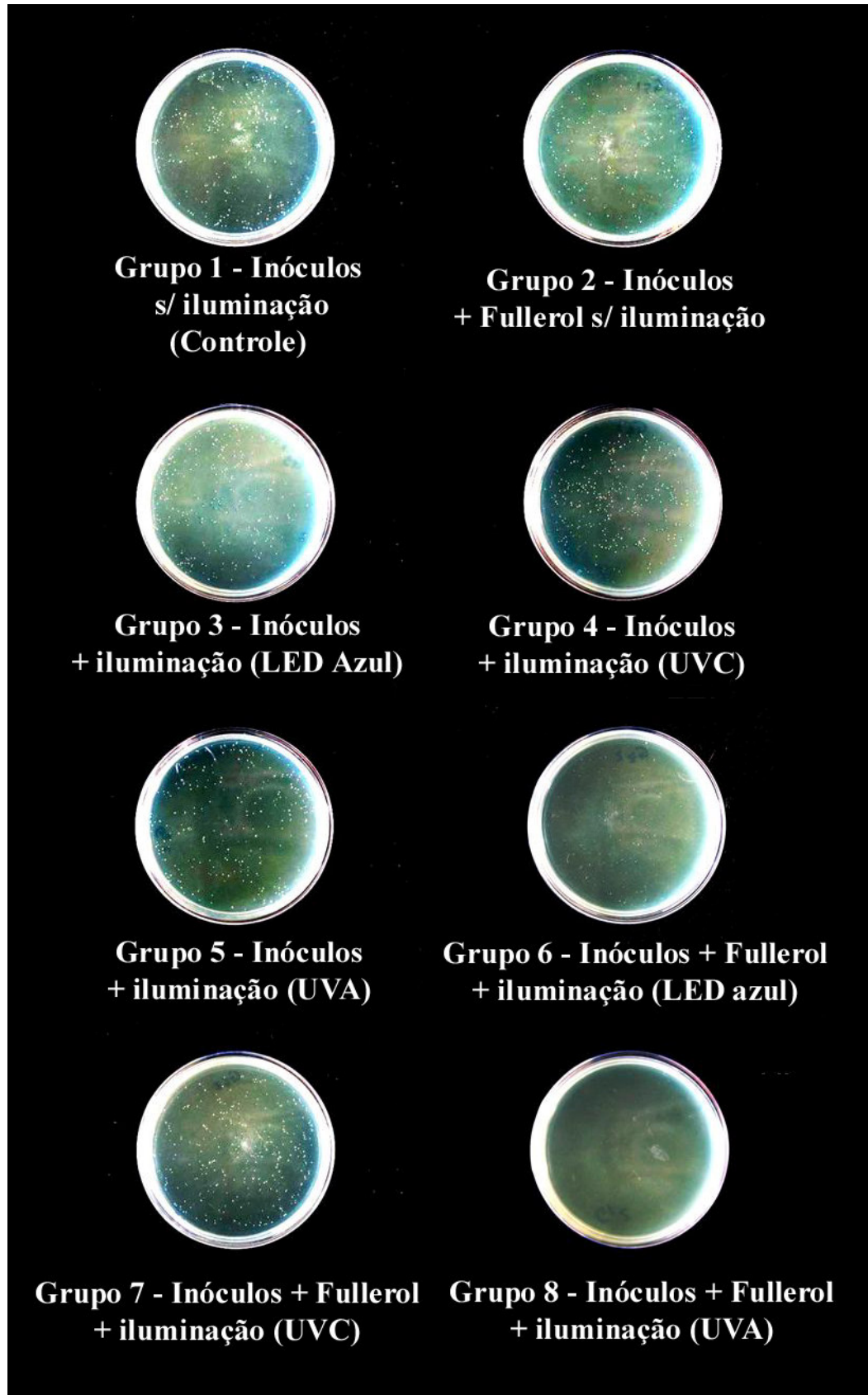


Figura 5.2 - Placas dos experimentos *in vitro* de PDT com colônias de *Candida krusei* após 48 horas de incubação a 35 °C. Nota-se a baixa citotoxicidade do fullerol sem iluminação e uma grande diminuição no número de colônias com a presença do fullerol e iluminação com UVA ($\lambda = 366$ nm).

O número de colônias por placa foi normalizado pelo resultado do Grupo Controle e os crescimentos relativos de cada Grupo foram resumidos na Figura 5.3.

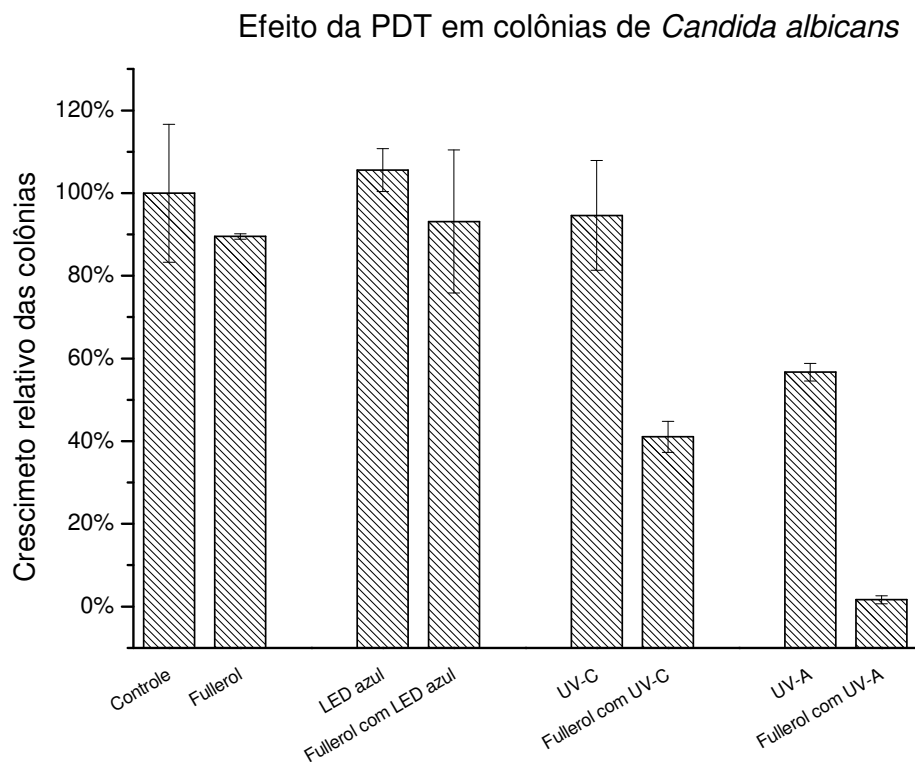


Figura 5.3 - Crescimento relativo das colônias de *Candida krusei* na presença de fulleróis após 48 horas para diferentes comprimentos de onda. Os comprimentos de onda utilizados foram de 470 nm (LED azul), 366 nm (UVA) e 254 nm (UVC).

Os resultados indicam que a iluminação dos inóculos sem fullerol com o LED azul e o UVC resultou em baixa citotoxicidade. A iluminação com luz ultravioleta em 366 nm resultou na diminuição de cerca de 50% no crescimento das colônias, mostrando que esse comprimento de onda tem efeito danoso às colônias de *Candida krusei*. Com a presença de fulleróis, o crescimento de colônias mostrou pequena redução na ausência de iluminação, demonstrando a baixa citotoxicidade do composto. A iluminação com LED azul também se mostrou pouco danosa, confirmando a baixa absorção óptica do fullerol neste comprimento de onda. Para os comprimentos de onda na região do ultravioleta, a presença do fullerol inibiu em 59% o crescimento das colônias de fungos para o UVC, e em 98,5% no caso do UVA. Esse resultado parece confirmar o efeito do fullerol como gerador de ROS, demonstrando sua aplicabilidade em PDT para comprimentos de onda próximos aos picos de absorção óptica da molécula.

5.3 – Teste *in vivo*: Isquemia e reperfusão

A isquemia/reperfusão (I/R) é um importante processo associado à indução de respostas inflamatórias em tecidos biológicos. A isquemia, ou interrupção do fluxo de oxigênio para os tecidos, resulta em necrose celular e é apontada como uma das causadoras de, por exemplo, danos cerebrais na *Meningite B*.⁶⁵ A reperfusão é o restabelecimento de fluxo sanguíneo a um tecido em isquemia e é normalmente apontada como responsável pelo agravamento do dano ao tecido, pois a reperfusão acompanhada de oxigenação inicia a oxidação da xantina e da hipoxantina pela xantina oxidase, que leva à produção de radicais superóxidos e ácido úrico. Também ocorre a formação de peróxido de hidrogênio, que na presença de íons metálicos redutores como o Cu^+ e o Fe^{+2} (Reação de Fenton) produz radicais hidroxilas. A presença destas ROS está diretamente associada a danos a biomoléculas por peroxidação de membranas lipídicas e oxidação de diversas biomoléculas. Outros processos associados a I/R envolvem a grande quantidade de neutrófilos nos tecidos afetados, causada pela presença de ROS, que por sua vez geram mais espécies reativas de oxigênio, iniciando um efeito cascata.⁶⁶

Os testes *in vivo* realizados neste trabalho foram feitos no Laboratório de Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, pela Profa. Danielle G. Souza. Foram utilizados 30 camundongos das linhagens SV129 e C57/BL6, com idades entre 8 a 10 semanas.

Foram preparados 6 grupos, com 5 animais por grupo. Para o controle foram utilizados animais falso-operados (sham). Os camundongos foram submetidos a laparotomia após anestesia com uretana (1400 mg/Kg). A isquemia foi induzida pela oclusão total da artéria mesentérica superior por 60 minutos. No final deste período, iniciou-se a reperfusão, seguida do sacrifício dos animais e remoção de tecidos para análise. Nos grupos tratados com fullerol, os animais receberam soluções de fullerol com concentrações de 1, 3, 10 ou 30 mg por quilo, 10 minutos antes do início da reperfusão.

Para avaliação da resposta inflamatória associada à presença de radicais livres no tecido foram realizados testes de permeabilidade vascular, quantificação de MPO e quantificação de citocinas. Para avaliação de permeabilidade vascular, Azul de Evans (2%) foi administrado (1 mL/Kg) pela veia caudal, 5 minutos antes do início da reperfusão. O extravasamento de Azul de Evans foi utilizado como índice de permeabilidade vascular e foi quantificado em leitor de Elisa ($\lambda = 620 \text{ nm}$) a partir de uma amostra de tecido retirada do

duodeno após sacrifício. O acúmulo de neutrófilos no intestino e no pulmão foi quantificado pela atividade da mieloperoxidase, e os níveis de citocinas foram medidos no soro, intestino e pulmão através de teste Elisa. Em ambos os casos os procedimentos seguidos estão bastante descritos na literatura.

Os resultados obtidos estão resumidos na Figura 5.1 e indicam que os fulleróis foram eficientes na diminuição do efeito inflamatório causado pela reperfusão. Também pode-se perceber que os resultados são dose dependentes, com a concentração de 30 mg/Kg reduzindo a resposta inflamatória a níveis equivalentes ao do sham, como pode ser visto nos testes de permeabilidade vascular e acúmulo de neutrófilos.

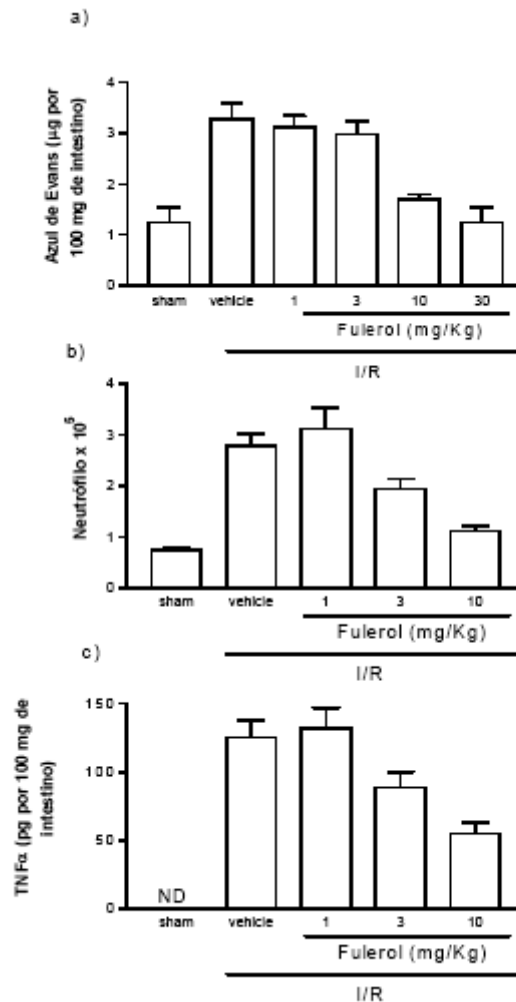


Figura 5.1 - Medida do efeito antiinflamatório dos fulleróis. Ensaio de permeabilidade celular (a); contagem de neutrófilos (b); e dosagem de citocinas TNF- α (c). Todos os ensaios mostram que o efeito dos fulleróis é dose dependente.

Capítulo 6 - Conclusão

Com o objetivo de desenvolver tecnologias a partir de fullerenos e moléculas derivadas, nosso primeiro passo foi um estudo sistemático das condições de síntese utilizadas. Essas devem ser otimizadas individualmente, levando em conta fatores intrínsecos a cada sistema. A geometria da câmara de síntese é um fator importante pois afeta o tamanho e forma do plasma durante o processo de arco elétrico, um dos principais fatores que afetam a síntese. Em nosso trabalho, testes envolvendo a colocação de uma proteção de grafite em torno dos eletrodos geraram grandes alterações na forma do plasma, resultando em mudanças na coloração do pó recolhido na câmara, indicativa da presença de fullerenos. A pressão de He também afeta o rendimento da síntese alterando as condições de plasma, pois espera-se que uma pressão mais alta permita uma troca de calor mais eficiente com o gás, diminuindo o raio da região de plasma em torno do arco elétrico. Uma purga eficiente antes do início da síntese também mostrou-se importante no rendimento do processo, evitando a presença de gases oxidantes, em especial o oxigênio, que pode reagir com o carbono atômico gerado pelo arco elétrico, competindo com a formação de fullerenos. Durante todas as sínteses foi possível perceber que uma síntese eficiente por arco elétrico gera um pó de cor avermelhada, enquanto baixos rendimentos são caracterizados por uma menor quantidade de pó, de cor cinzenta, semelhante à cor do eletrodo original.

O processo de purificação através de sublimação oferece vantagens em relação ao Soxhlet quando não é necessária a separação das diferentes espécies de fullerenos simultânea à extração. Sem a presença de solventes orgânicos ou filtros evita-se o risco de contaminação dos fullerenos por outras espécies de carbono. No caso de ser necessária a separação dos fullerenos de diferentes massas, a separação por coluna cromatográfica pode ser realizada após o processo de sublimação. Porém, a sublimação é uma etapa que pode gerar grande variação no rendimento. Isso é devido principalmente a variações na forma de recolhimento do material sublimado, que adere às paredes do forno de sublimação e deve ser cuidadosamente raspado. O rendimento obtido foi de $3,3 \pm 0,5\%$ e é comparável a resultados encontrados na literatura.³⁴

A rota de funcionalização escolhida atingiu os objetivos propostos ao produzir fullerenos hidrossolúveis do tipo $C_{60}(OH)_{18a\ 20}$ (fulleróis) de maneira facilmente reprodutível. O processo apresentou alto rendimento, 87%, maior que o rendimento apresentado por Zhang *et al.*⁵⁸ para a síntese não modificada.

As diferentes técnicas de análise adotadas em cada etapa do processo foram complementares na caracterização completa das espécies produzidas. Os resultados obtidos em IR, absorção óptica, NMR e TGA comprovam a síntese de fullerenos e fulleróis, porém uma análise mais detalhada dos espectros de NMR poderia fornecer mais informações sobre a estrutura molecular do fullerol. Como discutido no Capítulo 4, novas medidas utilizando apenas fullerenos C₆₀ ou C₇₀ para a funcionalização poderiam ajudar a explicar a presença de três picos distintos atribuídos a ligações tipo C-OH. Já a presença de isômeros de fulleróis necessita de cálculos teóricos para determinar os arranjos possíveis de hidroxilas nos sítios da molécula. E a separação de fulleróis de massas diferentes também poderia ser realizada para refinar estes resultados.

Uma vez sintetizados fullerenos hidrossolúveis passamos a experimentos *in vitro* e *in vivo*. O uso de fulleróis em PDT mostrou resultados excelentes e experimentos com outros microorganismos, como outros fungos e bactérias, estão sendo preparados. A geração de ROS na presença de luz ultravioleta de 366 nm pode ser explicada pelo largo pico de absorção óptica do C₆₀ centrado em 331 nm, como pode ser visto na Figura 4.2. Apesar dos fulleróis terem sido preparados com uma mistura de C₆₀ e C₇₀, a menor concentração de C₇₀ e mais baixa intensidade dos picos de absorção na região entre 400 e 500 nm explicam a pequena resposta da PDT quando utilizado o LED azul (470 nm). O efeito da PDT utilizando luz na faixa do espectro visível é de grande interesse tecnológico por permitir o trabalho com fontes mais seguras. Assim, o uso de fulleróis preparados apenas com fullerenos C₇₀ ou mesmo outros tipos de funcionalizações dos fullerenos seria um estudo interessante na busca de novos sensibilizadores com efeitos significativos em tratamentos com luz entre 400 e 800 nm. A utilização de fulleróis no lugar de fotosensibilizadores comerciais é pioneira no país e atualmente estamos em processo de preparação de uma patente para sua aplicação.

Por fim, a diminuição do efeito inflamatório obtida nos experimentos de I/R comprovou a aplicabilidade dos fulleróis como absorvedores de radicais livres, mostrando a possibilidade da utilização dessas moléculas como drogas anti-inflamatórias e anti-oxidantes em medicina. Esse resultado confirma estudos semelhantes encontrados na literatura, todos objetivando o uso de fullerenos e derivados como antioxidantes em sistemas biológicos.⁶⁶

Apêndice

A - Técnicas de caracterização

A.1 - Ressonância magnética nuclear (NMR)

A técnica de ressonância magnética nuclear (NMR, do inglês *Nuclear Magnetic Resonance*) se baseia no princípio que os núcleos de *spin* nuclear I ocupam $2I + 1$ auto-estados degenerados de energia. Com a aplicação de um campo magnético externo, ocorre um desdobramento destes auto-estados, que assumem valores de energia proporcionais ao campo magnético aplicado e à razão giromagnética γ , específica para cada tipo de núcleo. Dois tipos de experimentos de NMR são utilizados, os chamados NMR contínuos utilizam um campo magnético constante aplicado à amostra, enquanto as técnicas pulsadas, mais comuns atualmente, partem da aplicação de sequências de pulsos de radiofrequência (RF) na presença de um campo magnético externo estático que gera a separação dos níveis nucleares. Ambos têm funcionamento similar e dessa forma apenas será explicado o NMR contínuo. Em experimentos de NMR estudam-se núcleos de número quântico $I = 1/2$, sendo os mais comuns: ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P . Estes produzem dois estados de números quânticos $m = + 1/2$ e $m = - 1/2$, com energias dadas por:

$$E = - \gamma \hbar B_0 m$$

Pode-se perceber que os níveis de energia com $m = + 1/2$ terão energias mais baixas que os níveis com $m = - 1/2$, para γ maior que zero. Para que a separação entre os níveis seja apreciável, os campos magnéticos aplicados estão na faixa de 4 Tesla. Fazendo o uso da equação de Boltzmann podemos calcular a população de cada um dos níveis, o que gera uma razão entre a ocupação dos níveis de mais alta (N_j) e mais baixa (N_0) energia dada por

$$\frac{N_j}{N_0} = \exp\left(-\frac{\Delta E}{kT}\right);$$

onde ΔE é a diferença de energia entre os dois estados, k é a constante de Boltzmann e T é a temperatura.

Fazendo a expansão da exponencial em série de Maclaurin e tomando apenas os dois primeiros termos, encontra-se a relação:

$$\frac{N_j}{N_0} = 1 - \frac{\nu \hbar B_0}{kT}$$

Dessa forma, aplicando uma radiação de frequência ν , que resulta numa transição entre estados, podemos medir uma variação na população desses estados. Para que essa medida possa ocorrer, utiliza-se uma fonte de radiação eletromagnética do tipo RF. Mede-se a energia de separação dos níveis através da absorção da radiação eletromagnética de comprimento de onda correspondente. No caso de fontes linearmente polarizadas, a radiação pode ser decomposta em uma onda circularmente polarizada para a direita e outra circularmente polarizada para a esquerda. Como um dos estados só sofrerá uma transição quando excitado por radiação circularmente polarizada em uma direção, e que o oposto ocorre para o outro estado, é possível medir a absorção da radiação incidente para cada uma das polarizações circulares.

O ambiente químico onde está localizado o núcleo tem grande influência na separação entre os níveis de energia. Ele é responsável por dois tipos de interações com o núcleo: campos magnéticos e interações spin-spin. Campos magnéticos são gerados pelos elétrons em movimento na vizinhança do núcleo. Interações spin-spin são geradas pela proximidade entre os núcleos, que causam o acoplamento entre os vários momentos magnéticos intrínsecos. A influência do ambiente químico é denominada desvio químico (δ) e é medido em relação ao valor da frequência de ressonância do núcleo livre, em unidades de partes por milhão (ppm). O desvio químico é essencial para a determinação das espécies presentes na vizinhança dos núcleos, permitindo a caracterização das ligações químicas da molécula.

A ressonância nuclear magnética utilizada neste trabalho foi feita para o ^{13}C em um equipamento de 300 MHz, com D_2O como solvente, no Departamento de Química da UFMG, em colaboração com a Profa. Rossimiriam P. De Freitas Gil.

A.2 - Absorção óptica

Nos experimentos de absorção óptica utiliza-se uma fonte de luz polarizada monocromática de comprimento de onda variável, ou luz branca monocromatizada por uma grade de difração ou prisma, para se medir as energias das transições ópticas permitidas entre os níveis eletrônicos das moléculas a serem estudadas. Fótons com energia que correspondem à diferença de energia entre dois níveis eletrônicos são absorvidos pelas moléculas em solução através de excitações eletrônicas. Posicionando a solução entre a fonte de luz e o sensor e variando-se o comprimento de onda, é possível medir a mudança na intensidade da luz transmitida através da amostra, identificando comprimentos de onda referentes às energias em que ocorre as bandas de absorção. A maioria dos espectrômetros de absorção óptica trabalha na faixa da luz visível e infravermelho próximo até o ultravioleta, ou seja, entre 800 nm e 200 nm.

Como as moléculas do solvente usado como veículo para a amostra também podem sofrer excitações e gerar picos de absorção ou espalhar luz, o experimento se inicia com a medida de uma linha de base, fazendo-se o espectro apenas do solvente que será utilizado. Esse espectro pode então ser subtraído do espectro medido na solução, resultando em um espectro que contém apenas excitações eletrônicas provenientes das moléculas estudadas.

Para a análise do espectro de absorção óptica, consideram-se as regras de seleção entre os níveis de energia eletrônicos e as probabilidades de transição, para se identificar a intensidade de cada pico de absorção e, assim, determinar as espécies presentes na amostra. A concentração da amostra também está associada à intensidade dos picos de absorbância através da Lei de Beer:

$$\frac{P}{P_0} = e^{-A}$$

Na equação acima, P é a intensidade da luz ao atravessar o analito e P_0 é a intensidade da luz ao atravessar o solvente de calibração. A constante A é chamada absorbância ou densidade óptica e é uma medida da concentração da amostra, sendo proporcional ao caminho óptico, a área da seção de choque da luz incidente e o número de partículas por volume no analito.

O equipamento de absorção óptica utilizado na caracterização do fullereno foi um espectrômetro Jenway.

A.3 – Espectrometria no infravermelho (IR)

A espectrometria no infravermelho é uma técnica utilizada para identificar os modos normais de vibração moleculares. Ela trabalha com comprimentos de onda na região do espectro do infravermelho, acima dos 3000 nm. Nessas regiões, os fótons têm energia menores que 0,5 eV, compatíveis com transições entre os auto-estados vibracionais moleculares. Do ponto de vista de teoria de grupo, as excitações dos modos vibracionais em um espectro de IR são resultado do produto direto entre as representações irreduzíveis do grupo de ponto da molécula e suas representações com funções base lineares em x, y e z em coordenadas cartesianas. Os modos vibracionais opticamente ativos em um experimento serão aqueles em que o resultado deste produto direto também contenha aquelas representações com funções bases lineares em x, y e z. Isso significa que um fóton incidente de polarização plana de comprimento de onda ν pode interagir com as moléculas da amostra causando a geração de um fônon de igual energia se as regras de seleção forem satisfeitas. Modos vibracionais ativos em primeira ordem serão aqueles resultantes da geração direta de um fônon pelo fóton incidente. Modos ativos em segunda ordem surgem da geração de mais de um fônon. Também pode haver a ocorrência de harmônicos, quando os fótons incidentes têm energia igual a múltiplos inteiros de outros modos ativos. Medindo-se a radiação espalhada é então possível encontrar os modos ativos em infravermelho, o que traz informações sobre a simetria das espécies estudadas e as energias associadas aos modos vibracionais.

É comum em espectros de IR que as medidas de comprimento de onda sejam dadas em termos do número de onda, que tem dimensão de cm^{-1} . Para os experimentos de espectrometria deste trabalho utilizou-se um espectrômetro de infravermelho de transformada de Fourier (FTIR), de uso padrão neste tipo de medidas. Este tipo de equipamento utiliza uma fonte de luz branca para iluminação da amostra, que é submetida a um movimento relativo à fonte como em um interferômetro de Michelson-Morley.

A.4 - Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica é a medida da variação da massa de uma amostra como função de sua temperatura. A montagem experimental consiste de um forno de atmosfera controlada, uma balança de precisão e um sistema de aquisição de dados. A amostra é colocada dentro do forno, sobre a balança analítica, que mede a massa da amostra. A atmosfera dentro do forno é purgada e utiliza-se um gás inerte. À medida que a amostra é aquecida, a massa da amostra é medida continuamente para estabelecer sua diminuição pela sublimação das espécies presentes. Assim, é possível determinar quantitativamente a presença de espécies com diferentes temperaturas de sublimação.

A análise termogravimétrica utilizada neste trabalho foi feita em um equipamento modelo TA-Instruments 2100 Thermal Analysis, com um fluxo de nitrogênio de 50 mL min⁻¹.

B - Patente de processo

B.1 - “Processo e sistema de produção contínua em larga escala de nanoestruturas de carbono constituído de dispositivos para efetuar o processo”

No início deste trabalho foi desenvolvida uma patente de processo, descrevendo uma câmara de síntese de fullerenos, nanotubos de carbono e outras nanoestruturas. O objetivo desse novo processo foi propor uma solução para o acúmulo de carbono amorfo formado no catodo durante a síntese por arco elétrico, que impede a produção contínua e em larga escala dessas nanoestruturas. Neste invento, a remoção do depósito sobre o catodo é feita mecanicamente, através de uma haste rígida inserida na câmara, que quebra este depósito, e permite que o catodo possa ser utilizado novamente sem a abertura da câmara. O dispositivo também é composto de um sistema de disco giratório onde são montados vários anodos que são utilizados durante a síntese, novamente com o objetivo de evitar a abertura freqüente da câmara e, conseqüentemente, aumentar sua eficiência. A troca dos catodos é feita através de um eixo ligado ao disco de suporte dos catodos, que é movimentado do exterior da câmara. Esta patente foi registrada no INPI sob o número de processo PI 0404543-2.

Após a realização da patente, foi desenvolvido o projeto para a construção da câmara no programa AutoCAD 2004, possibilitando sua construção no Laboratório de Nanomateriais. A Figura B.1.1 mostra o projeto final da câmara com as principais peças indicadas.

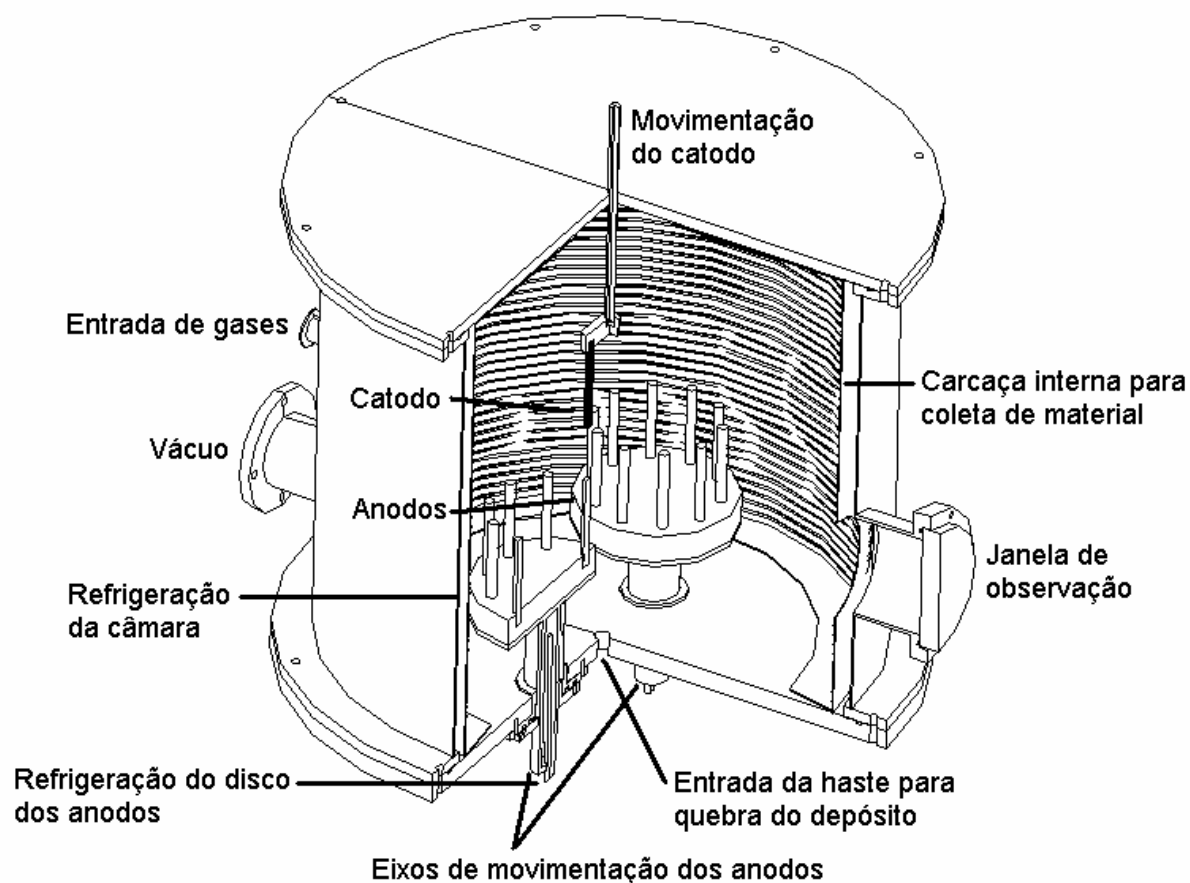


Figura B.1.1 - Diagrama da câmara de arco elétrico desenvolvida no Laboratório de Nanomateriais.

Registro no INPI: PI 0404543-2.

Bibliografia

- ¹ Feynman RP; 1960, Engineering and Science Magazine, **5**, vol. XXIII.
- ² Wang IC, Tai LA, Lee DD, Kanakamma PP, Shen CK-F, Luh, T-Y, Cheng CH, Hwang KC; 1999, J. Med. Chem., **42**, 4614-4620.
- ³ Kroto HW, Heath JR, O'Brien SC, Curl RF, Smalley RE, 1987, Astrophys. J., **314**, 352–355.
- ⁴ Vilenó B, Sienkiewicz A, Lekka M, Kulik AJ, Forró L; 2004, Carbon, **42**, 1195-1198.
- ⁵ Bolskar RD, Benedetto AF, Husebo LO, Price RE, Jackson EF, Wallace S, Wilson LJ, Alford JM; 2003, J. Am. Chem. Soc., **125**, 5471-5478.
- ⁶ Wharton T, Kini VU, Mortis RA, Wilson LJ; 2001, Tetrahedron Letters, **42**, 5159-5162.
- ⁷ Yu H, Gan LH, Hu X, Venkatraman SS, Tam KC, Gan YY; 2005, Macromolecules, **38**, 9889-9893.
- ⁸ Hasobe T, Imahori H, Kamat PV, Ahn TK, Kim SK, Kim D, Fujimoto A, Hirakawa T, Fukuzumi S; 2005, J. Am. Chem. Soc., **127**, 1216-1228.
- ⁹ Takehara H, Fujiwara M, Arikawa M, Diener MD, Alford JM; 2005, Carbon, **43**, 311-319.
- ¹⁰ Lu C-Y, Yao S-D, Lin W-Z, Wang W-F, Lin N-Y, Tong Y-P, Rong T-W; 1998, Radiation Phys. and Chem., **53**, 137-143.
- ¹¹ Dresselhaus MS, Dresselhaus G, Eklund PC, "Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes", Academic Press, San Diego, 1996.
- ¹² Kroto H; 1997, Rev. Modern Phys., **69**, 703-722.
- ¹³ Bochvar DA, Gal'pern EG; 1973, Proc. Acad. Sci. USSR, **209**, 239-241.
- ¹⁴ Cheung AC, Rank DM, Townes CH, Thornton DD, Welch WJ; 1968, Phys. Rev. Lett., **21**, 1701.
- ¹⁵ Krätschmer W, Fostiropoulos K, Huffman DR, 1990, Chem. Phys. Lett., **170**, 176–170.
- ¹⁶ Taylor R, Hare JP, Abdul-Sada AK, Kroto HW; 1990, J. Chem. Soc. Chem. Commun., **20**, 1423–1425.
- ¹⁷ Tycko R, Haddon RC, Dabbagh G, Glarum SH, Douglass DC, Mujisce AM; 1991, J. Phys. Chem., **95**, 518.
- ¹⁸ David WIF, Ibberson RM, Matthewman JC, Prassides K, Dennis TJS, Hare JP, Kroto HW, Taylor R, Walton DRM; 1991, Nature, **353**, 147.
- ¹⁹ Dresselhaus MS, Dresselhaus G, Saito R; 1992, Phys. Rev. B, **45**, 6234.
- ²⁰ Bethune DS, Meijer G, Tang WC, Rosen HJ, Golden WG, Seki HJ, Brown CA, de Vries MS; 1991, Chem. Phys. Lett., **179**, 181-186.

- ²¹ Brockner W, Menzel F; 1996, *J. Molecular Structure*, **378**, 147-163.
- ²² Saito R, Dresselhaus G, Dresselhaus MS; 1992, *Phys. Rev. B*, **46**, 9906.
- ²³ Kittel C; "Introduction to Solid State Physics", John Wiley and Sons, New York, 6th ed., 1986.
- ²⁴ Haddon RC, Brus LE, Raghavachari K; 1986, *Chem. Phys. Lett.*, **125**, 459.
- ²⁵ Akasaka T, Nagase S; "Endofullerenes - A New Family of Carbon Clusters", Kluwer Acad. Publishers, Dordrecht, 2002.
- ²⁶ Leach S, Vervloet M, Desprès A, Bréheret E, Hare JP, Dennis TJ, Kroto HW, Taylor R, Walton DRM; 1992, *Chem. Phys.*, **160**, 451.
- ²⁷ Arbogast JW, Darmanyan AP, Foote CS, Rubin Y, Diederich FN, Alvarez MM, Anz SJ, Whetten RL; 1991, *J. Phys. Chem.*, **95**, 11.
- ²⁸ Akselrod L, Byrne HJ, Thomsen C, Mittelbach A, Roth S; 1993, *Chem. Phys. Lett.*, **212**, 384.
- ²⁹ Wasielewski MR, O'Neil MP, Lykke KR, Pellin MJ, Gruen DM; 1991, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 2772.
- ³⁰ Churilov GN, Novikov PV, Tarabanko VE, Lopatin VA, Vnukova NG, Bulina NV; 2002, *Carbon*, **40**, 891.
- ³¹ Kroto HW, Heath JR, O'Brien SC, Curl RF, Smalley RE; 1985, *Nature*, **318**, 162.
- ³² Khemani KC, Prato M, Wudl F; 1992, *J. Org. Chem.*, **57**, 3254.
- ³³ Scrivens WA, Cassell AM, North BL, Tour JM; 1994, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 6939.
- ³⁴ Koch AS, Khemani KC, Wudl FC; 1991, *J. Org. Chem.*, **56**, 4543.
- ³⁵ Arapov OV, Pronkin AA, Charykov NA, Seregin VI, Strel'nikov KB; 2003, *Russian J. Appl. Chem.*, **76**, 37.
- ³⁶ Eston A, Murthy M, 1996, *Carbon*, **34**, 1267.
- ³⁷ Whetten RL, Alvarez MM, Anz SJ, Schriver KE, Beck RD, Diederich F, Rubin Y, Ettl R, Foote CS, Darmanyan AP, Arbogast JW; 1991, *Mater. Res. Soc: Symp Proc.*, **206**, 639.
- ³⁸ Belz T, Schlögl R; 1996, *Synthetic Metals*, **77**, 223.
- ³⁹ United States Patent 5,482,601, 9 Jan. 1996.
- ⁴⁰ United States Patent 6,451,175, 17 Set. 2002.
- ⁴¹ Oyama T, Ishii T, Takeuchi T; 1997, *Fullerene Science and Technology*, **5**, 919.
- ⁴² Kasuya D, Kokai F, Takahashi K, Yudasaka M, Iijima S; 2001, *Chem. Phys. Lett.*, **337**, 25.
- ⁴³ Baum T, Löffler S, Weilmünster P, Homann KH; 1991, *Prepr. Pap. Am. Chem. Soc. Div. Fuel Chem.*, **36**, 1533.

- ⁴⁴ Goel A, Hebggen P, Sande JBV, Howard JB; 2002, Carbon, **40**, 177.
- ⁴⁵ Takada H, Shibahara M, Katsuki M, Takehara H, Kuniyoshi N, Yoshikawa S, Iritani T; 2005, "Experimental Study On Pah And Fullerene Formation Process In Toluene Flame At Low Pressure Condition, 6th W. Conf. Exp. Heat Transfer, Fluid Mechanics and Thermodynamics, April 17-21, Matsushima, Japão.
- ⁴⁶ Takehara H, Fujiwara M, Arikawa M, Diener M.D, Alford JM; 2005, Carbon, **43**, 311.
- ⁴⁷ Ajie H, Alvarez MM, Anz SJ, Beck RD, Diederich F, Fostiropoulos K, Huffman DR, Krätschmer W, Rubin Y, Schriver KE, Sensharma D, Whetten RL; 1990, J. Phys. Chem., **94**, 8630.
- ⁴⁸ Khemani KC, Prato M, Wudl F; 1992, J. Org. Chem., **57**, 3254.
- ⁴⁹ Dias GHM; 1995, Química Nova, **18**, 592.
- ⁵⁰ Sayes CM, Fortner JD, Guo W, Lyon D, Boyd AM, Ausman KD, Tão YJ, Sitharaman B, Wilson LJ, Hughes JB, West JL, Colvin VL; 2004, Nano Lett., **10**, 1881-1887.
- ⁵¹ Isakovic A, Markovic Z, Todorovic-Markovic B, Nicolice N, Vranjes-Djuric S, Mirkovic M, Dramicanin M, Harhaji L, Raicevic N, Nikolic Z, Trajkovic V; 2006, Toxicological Sciences, **91**, 173-183.
- ⁵² Ikeda A, Hatano T, Kawaguchi M, Suenaga H, Shinkai S; 1999, Chem. Comm., 1403-1404.
- ⁵³ Bosi S, Da Ros T, Spalluto G, Balzarini J, Prato M; 2003, Bioorganic & Medical Chem. Lett. **13**, 4437-4440.
- ⁵⁴ Chiang LY, Upasani RB, Swirczewski JW; 1992, J. Am. Chem. Soc., **114**, 10154.
- ⁵⁵ Chen B-H, Huang J-P, Wang LY, Shiea J, Chen T-L, Chiang LY; 1998, J. Chem. Soc.-Perkin Transactions, **1**, 1171-1174.
- ⁵⁶ Schneider NS, Darwish AD, Kroto HW, Taylor R, Walton DRM; 1994, J. Chem. Soc. Chem. Commun., **4**, 463.
- ⁵⁷ Li J, Takeuchi A, Ozawa M, Li X, Saigo K, Kitazawa K; 1993, J. Chem. Soc. Chem. Commun., **24**, 1784.
- ⁵⁸ Zhang J-M, Yang W, He P, Zhu S-Z; 2004, Chin. J. Chem., **22**, 1008.
- ⁵⁹ Chiang LY, Swirczewski JW, Hsu CS, Chowdhury SK, Cameron S, Creegan K; 1992, J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1791.
- ⁶⁰ Chiang LY, Upasani RB, Swirczewski JW, Soled S; 1993, J. Am. Chem. Soc., **115**, 5453.
- ⁶¹ Chen B-H, Canteenwala T, Patil S, Chiang LY; 2001, Synth. Commun., **31**, 1659.
- ⁶² Goswami TH, Singh R, Alam S, Mathur GN; 2004, Thermochemica Acta, **419**, 97.
- ⁶³ Johnson RD, Meijer G, Salem JR, Bethune DS; 1991, J. Am. Chem. Soc., **113**, 3619.

⁶⁴ Pickering KD, Wiesner MR; 2005, *Env. Sc. & Tec.*, **39**, 1359-1365.

⁶⁵ Irazuzta JE, Mirkin LD, Zingarelli B; 2000, *Life Sciences*, **67**, 365-372.

⁶⁶ Lai Y-L, Murugan P, Hwang KC; 2003, *Life Sciences*, **72**, 1271-1278.