



PLANO DE TRABALHO

PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6

Nome do(a) Bolsista: **Jessica Dipold**

Código do Projeto vinculado: **33**

DESCRIÇÃO DO PROJETO

Título do Projeto

Validação de metodologia para caracterização físico-química de Nanoplásticos com análise de interações fisiológicas em cultivos celulares: testes in vitro e em amostras de necropsias de animais marinhos

Prazo Execução (meses): 36

Objetivo Geral

O principal objetivo deste projeto é a caracterização e classificação de nanoplásticos em cultivos celulares através de medidas TERS para obtenção de mapas espectrais.

Objetivos Específicos

- Realizar medidas TERS com amostras comerciais para iniciar o desenvolvimento de uma técnica para medição e também um sistema de banco de dados;
- Realizar medidas em amostras celulares, com ensaios bioquímicos e fisiológicos;
- Acompanhar o processo de marcação radioativa das amostras celulares;
- Realizar medidas TERS das amostras;
- Ampliar o banco de dados com os dados obtidos.

Palavras-chave

1 - Microplásticos

2 - TERS

3 - Espectroscopia Raman

4 -

5 -

Metas Físicas

1 - Realizar medidas TERS em amostras comerciais

2 - Realizar TERS em amostras celulares

3 - Criar banco de dados com informações obtidas

4 - Acompanhar processo de marcação radioativa de amostras

5 - Realizar medidas TERS nas amostras marcadas

Justificativa Resumida:

Por muito tempo aprendemos sobre os males físicos causados por detritos plásticos no meio-ambiente, mas recentemente passamos a perceber os males químicos que também acontecem. Isso passou a levantar preocupações, como o destino desses compostos químicos nos oceanos, assim em como as espécies marinhas são afetadas por eles, visto que ingerem esse tipo de material acidentalmente na natureza. A identificação destes micro e nanoplásticos (MPs e NPs) se tornou um tópico de extrema importância em âmbito de saúde mundial e conscientização ambiental. Nos últimos anos, tentativas em padronizar a detecção destes materiais tem sido feitas, mas devido à variedade de processos realizados ainda não existe um padrão adequado para identificação destes MPs, tornando os resultados atuais ainda não confiáveis estatisticamente, e deixando o campo aberto para novas pesquisas a serem realizadas.

A maioria dos estudos feitos para materiais biológicos consiste de células contaminadas propositalmente, e poucos estudos ainda existem de carcaças de animais silvestres para quantificar o consumo de MPs pelos mesmos quando estavam em um ambiente real.[1] Diferentes métodos de preparação e de medição vêm sendo feitos para identificação e classificação de micro e nanoplásticos, ainda sem um padrão e sem definição de qual técnica é a melhor para realizar a tarefa.[2] Do ponto de vista espectroscópico, as técnicas mais utilizadas atualmente são a espectroscopia Raman e FTIR. Essas técnicas permitem um estudo não destrutivo dos materiais, e permitem caracterizar morfológica e quimicamente as amostras. A técnica de FTIR mede transições entre níveis de energia moleculares através de absorção. Já a espectroscopia Raman é baseada em eventos de espalhamento inelástico de fótons interagindo com a matéria.[3] Estes fótons contém informação do modo vibracional dos materiais, permitindo sua identificação. Como o interesse atual se aproxima cada vez mais da escala nanométrica devido a presença de plásticos com menos de 1 μm encontrados, o sistema de FTIR encontra limitações, visto que sua resolução é ideal para partículas com mais de 10 μm . Por outro lado, a espectroscopia Raman permite uma maior resolução para detecção, particularmente utilizando técnicas como micro-raman ou TERS (Tip Enhanced Raman Spectroscopy), demonstrando possibilidade de medição para partículas tão pequenas quanto 1 μm [4]. A espectroscopia Raman ainda não é tão popular para a identificação de MPs e NPs quanto a de FTIR devido a maiores dificuldades em suas medições e na análise dos espectros obtidos, tais como fluorescência devido a materiais biológicos e corantes ligados aos plásticos, que geram grandes sinais de missão e mascaram os espectros reais, assim como longo tempo para aquisição dos dados.

Porém, técnicas computacionais têm sido desenvolvidas [5] para subtrair as fluorescências dos sinais e deixar mais claros os sinais reais, assim como lasers com mais intensidade e novas técnicas de mapeamento vem sendo desenvolvidas para acelerar as medidas e permitir resultados mais imediatos. Uma técnica desenvolvida para aumentar a emissão Raman de materiais é a técnica de TERS. Nela, o espalhamento Raman acontece diretamente sob a ponta através da ressonância de plasmon localizada que ocorre ali, o que permite a detecção até mesmo de moléculas únicas. [6] Nesta medida, a ponta se move ao longo da amostra, fazendo a obtenção da imagem e do espectro Raman simultaneamente. Isso permite o estudo da estrutura e composição do material com resolução espacial em regime de sub difração, com resultados demonstrados com até 1.7 nm de resolução [7]. Esta técnica vem sendo utilizada em diversos campos, como na biologia em medidas de DNA e outros estudos celulares, em nanomateriais, e em moléculas de camada única, por exemplo [8]. No entanto, poucos estudos para NPs existem utilizando-se essa técnica, e nosso projeto busca viabilizar essa técnica para realizar essas medidas com grande precisão tanto em ambiente celular como de padrões para a geração de banco de dados e padronização das medidas para futuros estudos.



PLANO DE TRABALHO

PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOCTORADO – EDITAL 6

CRONOGRAMA FÍSICO

META FÍSICA 1 - TERS em nanoplásticos comerciais

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Realização de medidas TERS em NPs comerciais	Paper com as medidas	01	04
Criação de banco de dados	Entrega do trabalho	05	08

META FÍSICA: 2 - Realizar TERS em amostras celulares

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Ensaio bioquímico e fisiológico em meios celulares	Relatório	09	14
Medidas TERS nos materiais	Paper com os dados	14	18

META FÍSICA: 3 - Criar banco de dados com amostras obtidas

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Análise de dados e criação do banco	Relatório	18	21

META FÍSICA: 4 -

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
Acompanhar marcação radiativa em amostras	Relatório	22	25

META FÍSICA: 5 - Realizar medidas TERS em amostras marcadas

ATIVIDADES:	INDICADOR FÍSICO DE EXECUÇÃO	Duração Prevista	
		Início	Fim
TERS nas amostras marcadas	Paper com os dados	26	30
Análise dos dados		31	34



PLANO DE TRABALHO

PROJETO PARA BOLSA PÓS-DOUTORADO – EDITAL 6

Resultados Esperados

- 1 - Espectros Raman para partículas comerciais
- 2 - Espectros Raman para materiais celulares
- 3 - Espectros Raman com células marcadas radiativamente
- 4 - Banco de dados dos espectros medidos
- 5 -
- 6 -
- 7 -
- 8 -
- 9 -
- 10 -

Grau de Inovação (se houver):

Não existe um banco de dados de TERS de nano e microplásticos atualmente, logo, será inovador o desenvolvimento de um.

Bibliografia:

- [1] S. L. Wright, R. C. Thompson, and T. S. Galloway, "The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review," *Environmental Pollution*, 178, 483-492 (2013).
- [2] C. E. Enyoh, Q. Y. Wang, T. Chowdhury et al., "New Analytical Approaches for Effective Quantification and Identification of Nanoplastics in Environmental Samples," *Processes*, 9(11), (2021).
- [3] X. Wang, S. C. Huang, S. Hu et al., "Fundamental understanding and applications of plasmon-enhanced Raman spectroscopy," *Nature Reviews Physics*, 2(5), 253-271 (2020).
- [4] D. Schymanski, C. Goldbeck, H. U. Humpf et al., "Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water," *Water Research*, 129, 154-162 (2018).
- [5] C. F. Araujo, M. M. Nolasco, A. M. P. Ribeiro et al., "Identification of microplastics using Raman spectroscopy: Latest developments and future prospects," *Water Research*, 142, 426-440 (2018).
- [6] T. Y. Dou, Z. D. Li, J. J. Zhang et al., "Nanoscale Structural Characterization of Individual Viral Particles Using Atomic Force Microscopy Infrared Spectroscopy (AFM-IR) and Tip-Enhanced Raman Spectroscopy (TERS)," *Analytical Chemistry*, 92(16), 11297-11304 (2020).
- [7] C. Chen, N. Hayazawa, and S. Kawata, "A 1.7 nm resolution chemical analysis of carbon nanotubes by tip-enhanced Raman imaging in the ambient," *Nature Communications*, 5, (2014).
- [8] J. F. Schultz, S. Mahapatra, L. F. Li et al., "The Expanding Frontiers of Tip-Enhanced Raman Spectroscopy," *Applied Spectroscopy*, 74(11), 1313-1340 (2020).