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

VITOR DE MORAES ZAMARION

**Funcionalização de Nanopartículas Plasmônicas
para o Desenvolvimento de Sensores SERS**

Versão corrigida da Tese defendida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

02/05/2012

VITOR DE MORAES ZAMARION

**Funcionalização de Nanopartículas Plasmônicas
para o Desenvolvimento de Sensores SERS**

*Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Doutor em Ciências (Química)*

Orientador: Prof. Dr. Henrique Eisi Toma

São Paulo
2012

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Z23f Zamarion, Vitor de Moraes
Funcionalização de nanopartículas plasmônicas para o
desenvolvimento de sensores SERS / Vitor de Moraes Zamarion. –
São Paulo, 2012.
241p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade de
São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Toma, Henrique Eisi

1. Química inorgânica 2. Espectroscopia Raman intensificado
em superfície I. T. II. Toma, Henrique Eisi

546 CDD

Vitor de Moraes Zamarion

Funcionalização de Nanopartículas Plasmônicas para o Desenvolvimento de Sensores SERS

Aprovado em: 25 de maio de 2012

Banca Examinadora

Prof. Dr. Henrique Eisi Toma (Orientador e Presidente)

Instituição: IQ - USP

Prof. Dra. Paola Corio

Instituição: IQ - USP

Prof. Dr. Pedro Henrique Cury Camargo

Instituição: IQ - USP

Prof. Dra. Anamaria Dias Pereira Alexiou

Instituição: Mackenzie

Prof. Dr. Norberto Sanches Gonçalves

Instituição: UNIFESP - Diadema

Eu dedico esta tese à minha família.

AGRADECIMENTOS

Todos os meus agradecimentos não são apenas às pessoas que tiveram um envolvimento direto com a minha tese. Tratando-se de uma importante etapa da minha vida, eu agradeço a Deus e a todos que realmente me conhecem e entendem a importância que esse trabalho tem para mim.

Eu agradeço ao meu orientador, o Professor Henrique Toma, pela paciência, por nunca estar ocupado para me atender e pela empolgação transmitida, que se traduz na capacidade de incentivar as pessoas à sua volta a amar a ciência da mesma maneira que ele. Agradeço de todo coração por entender meus problemas familiares e por me dar liberdade para buscar as respostas para as minhas dúvidas onde quer que elas estivessem. Agradeço por me orientar a ser um formador de opinião com caráter e por me ensinar a importância de passar isso adiante.

Agradeço ao Professor Koiti Araki, por estar sempre disposto a discutir ciência no mais alto nível e respeitar as minhas opiniões não só como um aluno, mas como um verdadeiro cientista. Agradeço também, de forma muito pessoal, por entender meus problemas familiares e por me ajudar sempre que eu precisei.

Agradeço à Professora Anamaria Alexiou, a Aninha, pela amizade, pelos questionamentos produtivos, por esperar tanto tempo para obter uma cópia da minha dissertação e por ser a primeira pessoa a me fazer ir atrás do significado da palavra “plasmon”, o que na verdade fez toda a diferença em minha pesquisa, pois foi a partir daí, que eu diria que tudo começou.

Agradeço à Professora Viktoria Klara Lakatos Osorio por me ensinar muita química inorgânica básica e por me ajudar a propor atividades didáticas criativas para os alunos, de maneira que eles se sentissem motivados a aprender. Foram dois anos de monitoria ao seu lado que foram muito produtivos.

Agradeço ao Professor Fernando Rei Ornellas por me ensinar a não ter medo de equações e por me mostrar que uma vez que a gente sabe o que quer, só depende de nós mesmos irmos atrás dos nossos sonhos.

Agradeço à Professora Paola Corio e ao agora Professor Rômulo Augusto Ando pelas conversas sobre SERS desde o início do meu mestrado.

Agradeço ao professor Luiz Henrique Catalani por me acolher em seu laboratório e permitir que seus alunos me mostrassem a importância da pesquisa em biomateriais.

Agradeço ao Professor Wei David Wei, por ter me recebido tão bem em seu laboratório na Universidade da Flórida. Agradeço pela oportunidade de ter trabalhado em um laboratório de um professor novo que procura manter um nível de excelência em sua pesquisa através de reuniões de grupo vibrantes e uma gestão laboratorial invejável.

Agradeço à Prof. Iolanda M. Cuccovia que gentilmente cedeu o equipamento para as medidas de potencial zeta.

Agradeço muito à central analítica e à toda pré-disposição a ajudar sempre que necessário. Agradeço ao pessoal da Secretaria de Pós-graduação do IQ-USP pela ajuda e boa vontade dispendida sempre.

“A verdadeira família é aquela unida pelo espírito e não pelo sangue.”

Luiz Gasparetto

A minha família mudou muito e muita gente foi embora nos últimos anos, logo, eu agradeço ao fato dela ainda permanecer unida.

Agradeço com muita saudade à minha irmã Renata. Foi ela que viu antes de mim que eu passei no vestibular, foi ela que me deu o primeiro abraço e acreditava muito no meu futuro. Eu sinto muito a falta dela e espero que ela esteja realmente orgulhosa de mim.

Agradeço com muita saudade também à minha tia Alzira, a minha segunda mãe, que nunca mediu esforços para ajudar a família e que sempre tinha uma palavra amiga e uma oração na medida certa para me ajudar.

Agradeço também ao meu pai, outro que se foi recentemente, por fazer tudo por seus filhos, sempre, mesmo sem muitas condições financeiras.

Finalmente, agradeço à minha mãe Arnailde, às minhas irmãs Roberta e Valéria e aos meus sobrinhos Cauê e Marcella por existirem. Gostaria que soubessem que nunca vou deixá-los na mão e, por mais que a vida me leve para longe, eu nunca vou estar ausente. Amo vocês.

Agradeço aos meus tios de São Paulo, por me acolherem no meu primeiro ano aqui e por me deixarem claro que sempre estariam por perto se eu precisasse.

“A amizade não é uma relação com alguém a quem conheces por muito tempo, mas com alguém que você confia, em quaisquer circunstâncias, porque amigo, não é aquele que só é solidário na sua desgraça, amigo mesmo é aquele que suporta o seu sucesso e fica feliz por você”.

Eu agradeço ao casal Juliano Alves Bonacin e Renata Fogaça Bonacin (compadres) pela amizade verdadeira. Parafraseando outro amigo nosso, “por terem me ensinado coisas que vão além do conhecimento científico”.

Agradeço ao Manuel Fernando Gonzalez Huila e André Luiz Araújo Parussulo pela confiança, pela amizade e por me ensinarem a ser mais tolerante e profissional.

Agradeço à Caterina Gruenwaldt Cunha Marques Netto pela amizade e por acreditar na ciência com a mesma empolgação que eu. Agradeço principalmente pela confiança que ela deposita em mim, que é recíproca e para sempre.

Agradeço ao Ronaldo Adriano Timm pelo pontapé inicial na pesquisa (e por ele ter dito 2 vezes em toda a sua vida que eu estou certo) e ao Marcelo Nakamura pela amizade e por sempre “apostar as fichas dele em mim”.

Agradeço ao Bernardo Almeida Iglesias, por me mostrar a cada dia que confiança e cumplicidade são bases de uma amizade verdadeira.

Agradeço ao Vitor Hugo de Melo Soares por ter sido o primeiro a encarar o desafio de estudar SERS comigo, pelas inúmeras discussões e por compartilhar seu vasto conhecimento.

Agradeço aos amigos de república: Tiago Alves, Willian Hermoso, Jamir Oecksler e Hans Waldenmaier por todos os bons momentos juntos, pelas bobearias, imitações, bolos de aniversário, “idas à pizzaria”, churrascos, cervejadas, bate-papos (científicos ou não) e por terem sido amigos tão presentes por tantos anos. A essa família, acrescento também o Antonio G. S. O. Filho, o Fernando R. Scremin e a Marcela B. Prieto.

Agradeço aos amigos de sempre, Leandro, Leonardo, Wellington, Claudia, Oscar, Sumaya, Flavia, Ciniro, Douglas, Larissa, Thays, Julia, Luciana, Mariana, Carla e Rodrigo.

Agradeço aos alunos de iniciação científica que trabalharam ao meu lado e que foram os primeiros que pude incentivar a gostarem de pesquisa: Amanda, Caio, Shaina, Mikhael, Flavia e em especial, o Daniel Grasseschi, que hoje é aluno de doutorado do laboratório e trabalha ao meu lado. Desejo todo sucesso do mundo a ele, espero ter sido uma peça importante em seu aprendizado e que possamos trabalhar juntos por muitos anos, ainda.

Agradeço aos outros colegas do LQSN: Aline, Sergio, Paulo, Zuin, Ulisses, Jonnatan, Izilda, Daiana, Delmarcio, Rodrigo, Mayara, Silvia, Ana Paula, Marcos, Akira, Roberta, Robson e Alceu.

Agradeço de forma muito especial aos alunos do Laboratório de Biomateriais Poliméricos: Renata (porque eu nunca fiz amigos bebendo leite), Dani Juais, Ricardo, Mariana (com todos os nossos bate-papos enriquecedores), Vânia (que cordialmente leu a minha tese), Romeu, Ana, Flavia, Flavia, Daniel, Daniel, Jana, Patrícia e Alliny. Agradeço aos bons momentos, aos cafés, almoços, pães-de-queijo, doces de leite, amizade, bate-papos e ensinamentos científicos.

Agradeço também ao Joseph S. Duchene e ao Jinyong Wang da Universidade da Florida, pelas discussões de alto nível, pela amizade adquirida e pelos cafés.

Agradeço à Dona Sueli e à Odila por sempre rezarem por mim. Agradeço ao Paz e Alegria.

Agradeço à Fapesp pela bolsa concedida.

*“Escolha o trabalho de que gostas e não terás de trabalhar
um único dia em tua vida”. Confúcio*

*“Apenas aqueles que se arriscam ir tão longe podem
possivelmente saber quão longe podem ir”. Walter Bishop*

RESUMO

Zamarion, V. M. "Funcionalização de Nanopartículas Plasmônicas para o Desenvolvimento de Sensores SERS". 2012. 241p. Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O estudo de nanopartículas plasmônicas de ouro sob o ponto de vista conceitual foi o foco desta tese, explorando principalmente os efeitos do envoltório molecular e a intensificação dos espectros SERS tendo em vista aplicações em sensoriamento químico. Como moléculas sonda, foram selecionadas espécies multifuncionais, como a 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT), 4,5-diamino-2,6-dimercaptopyrimidina (DadMcP ou Dad) e a mercaptoetilpirazina (PZT), que apresentam grupos tióis capazes de ancorar nas nanopartículas de ouro, deixando outros sítios livres para interagir com substratos e complexos metálicos. Observou-se que o envoltório molecular formado no método de *Turkevich*, é bastante dependente das condições de síntese, tendo sido possível detectar a presença do intermediário da reação de oxidação do citrato na superfície das nanopartículas, sob condições controladas, influenciando drasticamente o comportamento SERS. Foi feito um estudo sistemático da molécula sonda 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina ancorada nas nanopartículas de ouro, tanto por troca da camada passivante (citrato), como por síntese *in situ* com e sem agente redutor. Esses sistemas foram investigados, sob diferentes condições, como sensores SERS para metais. Esse estudo foi ampliado para a molécula sonda 4,5-diamino-2,6-dimercaptopyrimidina (DadMcP), explorando a influência do tempo na coordenação dessa espécie na superfície e o efeito de diferentes eletrólitos nos processos de agregação. Finalmente, foram apresentadas fortes evidências da ocorrência de processos fotoinduzidos envolvendo as nanopartículas funcionalizadas, com destaque para a mercaptoetilpirazina (PZT), cujo comportamento mostrou-se bastante inusitado, gerando filmes fotoagregados sob influência da luz UV com possível aplicação em fotolitografia.

Palavras chave: funcionalização, SERS, sensores, nanopartículas, plasmon

ABSTRACT

Zamarion, V. M. "Functionalization of Plasmonic Nanoparticles for the Development of SERS Sensors". 2012. 241p. Ph.D Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The study of plasmonic gold nanoparticles under the conceptual point of view was the focus of this thesis, exploring mainly, the effects of molecular shell and the intensification of SERS spectra aiming at applications in chemical sensing. For the probe molecules, multifunctional species were selected, such as a 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazine (TMT), 4,5-diamine-2,6-dimercaptopyrimidine (DadMcP or Dad) and mercaptoethylpyrazine (PZT) which present thiol groups able to anchor onto gold nanoparticles, leaving available sites for further interaction with substrates and metal complexes. It was observed that the molecular shell in Turkevich's method is very dependent on the synthesis condition, being possible to detect the intermediate product of citrate oxidation reaction in the nanoparticle surface, under controlled conditions, dramatically influencing the SERS behavior. A systematic study was conducted with the probe molecule 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazine anchored to gold nanoparticles either by changing the passivating layer (citrate), or for in situ synthesis with and without a reducing agent. These systems were investigated under different conditions as SERS sensors for metals. This study was extended to the probe molecule 4,5-diamine-2,6-dimercaptopyrimidine, exploiting the influence of time in the coordination of such species and also the effect of different kinds of electrolytes in the aggregation process. Finally, it has been presented strong evidences for the occurrence of photoinduced processes involving functionalized nanoparticles with emphasis on mercaptoethylpyrazine, whose behavior has proved to be very unusual, generating photoaggregated films under UV light influence, with possible applications in photolithography.

Keywords: functionalization, SERS, sensors, nanoparticles, plasmon.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração mostrando suspensões de nanopartículas de ouro esféricas com diferentes tamanhos.	38
Figura 2 – Contração relativística da camada 6s dos elementos Cs ($z = 55$) ao Fm ($z = 100$). As setas azuis indicam a contração relativística dos elementos com configurações mais próximas ao ouro. O círculo aberto destacado em rosa indica a contração relativística da camada 6s no ^{79}Au , mostrando como os efeitos relativísticos nos elétrons são mais pronunciados nesse elemento. Adaptado de.	43
Figura 3 – Esquerda: Diagrama de refletividade de alguns metais em função da energia. Observa-se que para o cobre e o ouro há grande diminuição da refletividade com o aumento da energia da luz incidente em relação aos outros metais. Direita: Diagrama de bandas do ferro. Destaque para a energia do nível de Fermi do ferro ($E_f(\text{Fe})$) em comparação com a do cobre ($E_f(\text{Cu})$). Adaptado de	45
Figura 4 – Ilustração mostrando a cor da prata, do ouro e da platina.	45
Figura 5 – Separação de cargas na superfície das nanopartículas metálicas decorrente da incidência de uma onda eletromagnética ($D \ll \lambda$).	47
Figura 6 – Espectro de extinção de AuNps de várias formas e tamanhos (AR = aspect ratio, o que significa razão de aspecto, que é a relação entre o comprimento e a largura do nanorod). Fonte.....	48
Figura 7 – Ilustração de como a luz polarizada com vetor campo elétrico ao longo do eixo interpartículas, pode resultar em grandes intensificações no gap entre duas nanopartículas.....	57
Figura 8 – Ilustração do efeito da localização de hot-spots. A localização do fator de intensificação SERS (SERS EF – <i>enhancement factor</i>), dependente da posição na superfície da esfera é plotada em função de θ (eixo das abscissas) ou de maneira	

equivalente, distância a partir do hot-spot (eixo acima). O resultado é plotado para dímeros com gap (g) de 1, 3 e 10 nm para valores máximos de banda de acoplamento plasmônico em 604, 526 e 468 nm respectivamente. Para uma esfera isolada, a banda de LSPR está em 416 nm. $F(0)$ é o SERS EF no hot-spot, $\langle F \rangle$ é o SERS EF médio e a_{80} é a região que cobre o hot-spot, definida como a porcentagem de área superficial na partícula do qual 80 % do sinal SERS tem origem. Reproduzido de58

Figura 9 – Representação esquemática do mecanismo de transferência de carga (CT-SERS). A energia do laser pode estar diretamente em ressonância com uma transição eletrônica da molécula (representada pela flecha do HOMO para os LUMOS) no complexo metal-molécula ou se beneficiar da transferência de carga (flechas da banda de condução para o LUMO ou do HOMO para a banda de condução). Níveis vibracionais da molécula são caracterizados pela energia (E_v) e excitação (ν). Adaptado de60

Figura 10 – Esquema mostrando a utilização de nanopartículas de ouro como plataforma para reações químicas. Reproduzido de.....66

Figura 11 – Funcionalização de AuNPs com complexo de rutênio. Reproduzido de.67

Figura 12 – Esquema mostrando a formação do complexo heteronuclear de ouro e rutênio e funcionalização das nanopartículas de ouro com o complexo de rutênio. Adaptado de68

Figura 13 – Esquema mostrando a estratégia de reação para unir as nanopartículas de ouro e prata do artigo de *Sendroiu* e colaboradores. Im = imidazol e TA = ácido 6,8-ditióctico. Microscopia de transmissão de AgNPTA-Co-AuNPIM, sendo as AuNPs mais escuras. Espectros de extinção da interação de AgNPTA-Co-AuNPIM com tempos diferentes de interação, sendo B) 5 minutos e F) 6 horas. Adaptado de .69

Figura 14 – Exemplos de complexos imobilizados em nanopartículas. Adaptado de””.	
A coloração vermelha indica AuNPs, enquanto a coloração amarela, AgNPs.....	70
Figura 15 – Esquema ilustrando os possíveis mecanismos de desativação do fluoróforo fotoexcitado na superfície das nanopartículas de ouro. a) emissão; b) interações intermoleculares na superfície e emissão; c) transferência de energia do fluoróforo para o metal; d) transferência de elétrons do fluoróforo para o metal. Adaptado de	72
Figura 16 – Esquema mostrando a disposição do complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(4\text{MPy})]^{3-}$ na superfície de uma nanopartícula de ouro. Adaptado de	74
Figura 17 – Esquerda: Esquema mostrando a disposição do complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{PZT})]^{3-}$ na superfície de uma nanopartícula de ouro. Direita: Comparação entre o (a) espectro SERS do complexo e (b) espectro Raman do complexo. A intensidade é relativa. Adaptado de	74
Figura 18 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de alguns substratos SERS. A) AgFON (<i>film over nanosphere</i> de <i>Van Duyne</i> , B) Nanopartículas de sílica recoberta com ouro, de <i>N. Halas</i> , C) Nanocubos de prata de <i>Y. Xia</i> e D) Nanobastões de <i>C. Murphy</i> e <i>L. Liz-Marzan</i>	77
Figura 19 – Possíveis interações do ligante bptz com T AuNPs	78
Figura 20 – ilustração de uma suspensão de nanopartículas e como se dá a sua estabilização por carga (sinais negativos (–) representam moléculas carregadas como o citrato trissódico, cujo ânion está desenhado logo acima) e por impedimento estérico (estrelas azuis representam polímeros como por exemplo, a polivinilpirrolidona – PVP).	86

Figura 21 – Ilustração da estabilização eletrostática de colóides metálicos, em que atração de Van der Waals e repulsão eletrostática competem entre si. Reproduzido de	89
Figura 22 – Esquema da síntese de T AuNP2 (esquerda) e T AuNP3 (direita) pelo método de <i>Turkevitch</i> modificado.....	91
Figura 23 – Espectros de extinção de T AuNP1, T AuNP2 e T AuNP3 logo após a síntese (em preto) e depois de 6 dias (em vermelho). T AuNP1 contendo ao lado os dados de máximo de absorvância, potencial zeta, condutividade e condições de síntese. A velocidade em rotações por minuto (rpm) e a temperatura em graus Celsius (°C) são valores nominais referentes ao agitador magnético utilizado.	94
Figura 24 – Imagem de microscopia eletrônica de varredura mostrando a influência do substrato no preparo de amostras para caracterização do tamanho e individualidade das partículas. A imagem corresponde à síntese T AuNP1 com partículas de 25 nm em média. A amostra foi preparada por <i>dropcasting</i> sobre vidro recoberto com FTO.	96
Figura 25 – Imagem de microscopia eletrônica de varredura de T AuNP1. Amostra preparada por dropcasting sobre HOPG. (aumento de 100 e 15 mil vezes).....	97
Figura 26 – Microscopia eletrônica de varredura de T AuNP2. Amostra preparada por dropcasting sobre HOPG. (aumento de 75 mil vezes)	99
Figura 27 – Microscopias eletrônica de varredura de T AuNP2. Amostra preparada por dropcasting sobre HOPG. (aumento de 15 mil vezes).....	100
Figura 28 – Microscopias eletrônica de varredura de T AuNP3. Amostra preparada por dropcasting sobre HOPG. (aumento de 75 mil vezes).....	101
Figura 29 – Microscopias eletrônica de varredura de T AuNP3. Amostra preparada por dropcasting sobre HOPG. (aumento de 15 mil vezes).....	101

Figura 30 – Esquerda: T AuNP2 – Em vermelho, espectro de extinção inicial, em azul, espectro com 120 µL de NaCl 1 mol L ⁻¹ adicionado de uma vez. Direita: T AuNP3 – Em vermelho, espectro de extinção inicial, em azul, espectro com 100 µL de NaCl 1 mol L ⁻¹ adicionado de uma vez.....	103
Figura 31 – Representação da molécula cetoadicarboxilato contendo a numeração de cada átomo para comparação com a atribuição tentativa da Tabela 3 e Tabela 4.	104
Figura 32 – Proposta da reação de óxido-redução da síntese de <i>Turkevich</i> . O Au ³⁺ reduz a Au ⁰ , enquanto o citrato pode oxidar a cetoadicarboxilato (em vermelho), funcionalizando a superfície das nanopartículas de ouro formadas. Adaptado de.	104
Figura 33 – Espectro de massas do sobrenadante após centrifugar uma suspensão de T AuNPs2 que teve sua camada passivante trocada por um ligante contendo um grupamento tiol. A massa em 190.9 corresponde à massa do citrato, enquanto a massa em 144.9, corresponde à massa da cetoadicarboxilato.....	105
Figura 34 – Espectros SERS de T AuNP2 (pH 3.48) em comparação com espectros SERS de T AuNP2 em diferentes pHs. Todos os espectros foram obtidos com a adição de 120 µL NaCl 1molL ⁻¹	107
Figura 35 – Espectros SERS de T AuNP3 (pH 4.80) em comparação com espectros SERS de T AuNP3 em diferentes pHs. Todos os espectros foram obtidos com a adição de 100 µL NaCl 1molL ⁻¹	107
Figura 36 – Comparação entre os espectros SERS de T AuNP2 (em preto) e T AuNP3 (em azul).....	112
Figura 37 – Estrutura da molécula 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT).....	115
Figura 38 – Microscopias eletrônicas de varredura. Esquerda: T AuNPs1 e Direita: AuNPsTMT em diferentes magnificações. Amostras preparadas por <i>drop casting</i> sobre HOPG.....	119

Figura 39 – Espectro SERS de AuNPTMT da síntese por troca da camada passivante e as vibrações correspondentes a cada banda de acordo com atribuição tentativa. Em destaque, pode-se ver a vibração em 971 cm^{-1} , referente à respiração do anel centrada nos nitrogênios.	123
Figura 40 – Possíveis disposições do ligante TMT na superfície de AuNPs. A) TMT monodentado; B) tridentado e C) bidentado	124
Figura 41 – Esquema dos procedimentos realizados para adição de TMT aos poucos. Os experimentos foram separados em A e B, pois são apresentados dessa forma na seção de resultados. O retângulo aberto simboliza uma cubeta com TAuNPs1. A concentração da solução estoque de TMT era de $8,46 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$.126	126
Figura 42 – Titulação de TAuNP1 com TMT ($8,46 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$) depois de adicionado NaCl em uma suspensão de TAuNP1 mostrando a possibilidade de funcionalização híbrida. Destaque para a região em 1200 cm^{-1} , para a banda em 971 cm^{-1} e para as bandas em 433 e 485 cm^{-1} que surgem com o decorrer da titulação.....	127
Figura 43 – Titulação de TAuNP1 com TMT ($8,46 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$), adicionando dois volumes diferentes da mesma concentração de TMT e depois NaCl para aquisição de espectros. Destaque para as relações entre a banda em 971 cm^{-1} e as bandas em 443 e 485 cm^{-1}	128
Figura 44 – Espectro SERS de AuNPTMT no intervalo de pHs entre 2,5-12,0. As titulações foram realizadas adicionando HCl $0,01\text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $0,1\text{ mol L}^{-1}$ à suspensões de AuNPTMT em experimentos separados. Para a aquisição dos espectros, foram utilizadas alíquotas de 2 mL da suspensão com 150 μL de NaCl 1 mol L^{-1}	130
Figura 45 - Variação da banda em 443 cm^{-1} com o pH e a primeira derivada.	131

Figura 46 – Ilustração mostrando os deslocamentos dos máximos das bandas de LSPR e as variações nas bandas do ligante com o decorrer da titulação potenciométrica. Esquerda: AuNPsTMT, pH 3.5 a 7.0; Direita: AuNPsTMT, pH 7.5 a 11.5. (<i>inset</i> – bandas de absorção do TMT com o pH).	131
Figura 47 – Gráfico do ε aparente do ligante TMT versus o pH e primeira derivada.	132
Figura 48 – Possíveis coordenações do ligante TMT na superfície do ouro variando a concentração do ligante em pH 4,5.....	134
Figura 49 – Perfil dos espectros SERS com o decorrer da titulação das AuNPsTMT com A) concentrações de Cd^{2+} entre $2,5 \times 10^{-7}$ e $2,15 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; B) concentrações de Cd^{2+} entre $5,36 \times 10^{-4}$ e $2,73 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; C) concentrações de Hg^{2+} entre $4,5 \times 10^{-7}$ e $1,67 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; D) concentrações de Hg^{2+} entre $1,92 \times 10^{-6}$ e $5,36 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; E) concentrações de Zn^{2+} entre $2,5 \times 10^{-4}$ e $5,6 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. As setas indicam o sentido das titulações e as bandas destacadas serão discutidas no texto.	136
Figura 50 – Esquema mostrando a formação de complexos de AuNPTMT Cd^{2+} dependentes da concentração de Cd^{2+} . O arco simboliza a nanopartícula.....	138
Figura 51 – Esquema mostrando a formação dos complexos de AuNPTMT Hg^{2+} dependentes da concentração de Hg^{2+} . O arco simboliza a nanopartícula.....	139
Figura 52 – Esquema mostrando os complexos de AuNPTMT Zn^{2+} formados na superfície de AuNPs dependentes da concentração de Hg^{2+} . O arco simboliza a nanopartícula.	140
Figura 53 – ESQUERDA: Foto das AuNPsTMT sintetizadas <i>in situ</i> utilizando diferentes volumes de agente redutor ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) adicionados. Nas fotos, indo de maior para menor concentração, da esquerda para direita, no dia (acima) e após 20 h (abaixo). DIREITA: Espectros de extinção correspondentes às fotos (acima, há também espectros da solução de $\text{Au}^{3+} + \text{TMT}$, apenas para comparação antes da	

redução). As partículas sintetizadas adicionando 10 μL de agente redutor estão destacadas na foto (abaixo-esquerda) em amarelo, por ter sido a única condição experimental que apresentou espectro SERS. À essa condição, adicionou-se 150 μL de NaCl 1 mol L^{-1} (direita-abaixo com máximos de absorvância em 535 e 844 nm).143

Figura 54 – Microscopia eletrônica de varredura de AuNPTMT insitu utilizando 10 μL de NaBH_4 0.1 mol L^{-1} . Amostra preparada por *dropcasting* sobre FTO. (aumento de 55 mil vezes) 145

Figura 55 – Microscopia eletrônica de varredura de AuNPTMT *in situ* utilizando 10 μL de NaBH_4 0.1 mol L^{-1} . Amostra preparada por *dropcasting* sobre FTO. (aumento de 15 mil vezes) 145

Figura 56 – Espectro SERS da síntese de AuNPTMT *in situ* utilizando NaBH_4 na concentração de 2.49×10^{-4} mol L^{-1} 146

Figura 57 – Representação (fora de escala) da disposição do ligante TMT na superfície de AuNPs quando sintetizados pelo “método *in situ*”. 147

Figura 58 – Titulação de AuNPTMT insitu com Hg^{2+} 150

Figura 59 – Espectro UV-Vis correspondente à síntese AuNPTMT *in situ* sem agente redutor. 154

Figura 60 – Microscopia eletrônica de varredura de AuNPTMT insitu sem agente redutor adicionando 0.5 mL de TMT 10^{-4} mol L^{-1} sobre 2 mL de solução de $[\text{AuCl}_4]^-$ 5.88×10^{-4} mol L^{-1} agitando apenas para homogeneizar. Amostra preparada por *dropcasting* sobre FTO. (aumento de 23 mil vezes) 155

Figura 61 – Imagem de maior magnificação da amostra anterior. (aumento de 65 mil vezes)..... 155

Figura 62 – Esquerda: Espectro de extinção das AuNPSTMT sintetizadas por troca da camada passivante de citrato. *Inset*: Histograma de distribuição de tamanho das

nanopartículas com média em 30 nm. Direita: Espectros de extinção das AuNPSTMT sintetizadas *in situ*. Cada espectro corresponde aos tempos de reação de 30min, 1h, 1h30min e 1h40min, com os respectivos máximos de absorção, seguindo a seta. *Inset*: Histograma de distribuição de tamanho das nanopartículas sintetizadas com tempo de reação de 1h30min. 156

Figura 63 – Voltametria cíclica de uma solução saturada do ligante 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT). Dados: *Step potential* (V) = 0,00320; *Start potential* (V) = -.05000; *Scan rate* (V/s) = 0,05003; *Equilibration time* (s) = 10. Total de 30 scans..... 157

Figura 64 – Espectros de extinção das AuNPSTMT sintetizadas *in situ*. Cada espectro corresponde aos tempos de reação de 30min, 1h e 1h30min, com os respectivos máximos de absorção da banda de acoplamento plasmônico. Aglomeração induzida com aumento da força iônica, adicionando 100 µL de NaCl 1 mol L⁻¹. A linha pontilhada em vermelho indica a região do laser utilizado para estudos SERS..... 158

Figura 65 – Espectro SERS de AuNPSTMT sintetizado *in situ* após 30 min (acima), 1h (no meio) e 1h30 (abaixo) de reação. Todos os espectros foram obtidos adicionando 100 µL NaCl 1 mol L⁻¹ em 2 mL de suspensão de AuNPSTMT..... 159

Figura 66 – Espectros SERS da adição de Hg²⁺ (0,5 mmol L⁻¹) às AuNPSTMT sintetizadas *in situ*, após 1 h de reação. 162

Figura 67 – MEV do precipitado vermelho de AuNPSTMT *in situ* com uma concentração de TMT igual a 8,46x10⁻⁴ mol L⁻¹ em diferentes magnificações. Pode-se ver a formação de uma estrutura em forma de algodão (A) (macroscopicamente organizada como placas (acima). As amostras foram preparadas por *drop casting* sobre FTO (B). 163

Figura 68 - Espectros SMSERS ($8,46 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$) – em preto e após a adição de Hg^{2+} ($10 \text{ }\mu\text{L} - 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) – em vermelho.	168
Figura 69 – Estrutura da molécula 4,5-diamino-2,6-dimercaptopirimidina (DadMcP)	173
Figura 70 – Estruturas dos possíveis tautômeros da molécula de DadMcP. Adaptado de.	174
Figura 71 – Titulação espectrofotométrica de DadMcP com Pt^{2+} (1 m mol L^{-1}).....	177
Figura 72 – Esquerda: Espectro de extinção e Direita: Espectro SERS do experimento A: 1 mL de AuNPs + 1 mL de H_2O + 0,5 mL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado de uma vez.	179
Figura 73 – Esquerda: Espectro de extinção e Direita: Espectro SERS do experimento B: 0,5 mL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado de 10 em 10 μL	179
Figura 74 – Esquerda: Espectro de extinção e Direita: Espectro SERS do experimento C: 80 μL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado de 10 em 10 μL	180
Figura 75 – Espectros SERS do experimento D em que verificou-se a condição do item C com o tempo. Esquerda: 80 μL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado de uma vez, após 17 minutos e Direita: 80 μL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado de uma vez, após 3 dias.	180
Figura 76 – Esquema do procedimento experimental para a aquisição dos espectros SERS tendo como variáveis as duas partículas (TAuNP2 e TAuNP3), o sal (NaCl e NaI) e o tempo.	182
Figura 77 – Espectros SERS de TAuNP2DadMcP tirados com adição de 200 μL de NaCl 1 mol L^{-1} , na hora e depois de 48h.....	183
Figura 78 – Espectros SERS de TAuNP2DadMcP tirados com adição de 200 μL de NaI 1 mol L^{-1} , na hora e depois de 48h.	183

Figura 79 – Espectros SERS de T _{Au} NP2DadMcP com adição de NaI. Em preto, espectro inicial, em vermelho espectro após 10 minutos de exposição ao laser do espectrômetro Raman e em azul, após exposição ao laser por 4 minutos e guardado por 15 dias no escuro.....	191
Figura 80 – Espectros SERS de duas suspensões de T _{Au} NP2DadMcP com NaI. Em preto, espectro inicial; em azul, espectro de uma suspensão guardada no escuro, depois de 15 dias sem qualquer irradiação.....	192
Figura 81 – Comparação entre espectros SERS de T _{Au} NP2DadMcP _{-Cl} (esquerda) e T _{Au} NP2DadMcP _{-I} (direita) com o tempo, mostrando que em 1 hora os espectros com iodeto mudam e os com cloreto, não.....	193
Figura 82 – Espectros SERS de T _{Au} NP6DadMcP _{Cl} antes e depois de adicionar iodo sólido.	194
Figura 83 – Experimento de SPR associado a SERS para mostrar que as mudanças nos espectros são diferentes entre os sais e na forma como interagem com a superfície do ouro. Os discos de ouro foram modificados com 1,8-octanoditiol e caracterizados por variação no ângulo de contato. As etapas correspondem a: (a) adição de água, (b) adição das nanopartículas funcionalizadas e aglomeradas com os respectivos sais (c) retirada da tampa no SPR e inserção do laser do espectrômetro Raman incidindo sobre o disco de ouro (não afetou a refletividade), (d) irradiação das suspensões (e, f), região de saturação, em que não há mais SPR detectado por ter secado o solvente.	195
Figura 84 – Espectros SERS de T _{Au} NP2DadMcP adquiridos com NaCl, que foram acompanhados por SPR da Figura 83. O vigésimo quinto espectro (spec25) corresponde ao espectro das nanopartículas depois de evaporada a água.	196

Figura 85 – Espectros SERS de T AuNP2DadMcP adquiridos com NaI, que foram acompanhados por SPR da Figura 83.	197
Figura 86 – Espectro SERS de T AuNP3DadMcP depois de 48h.....	198
Figura 87 – Caso 1 – Acima: Dímero do ligante DadMcP otimizado (DFT_B3LYP_6-31G (d, p)). Abaixo e à esquerda: HOMO; Abaixo e à direita: LUMO.	198
Figura 88 – Caso 2 – Acima: Dímero do ligante DadMcP otimizado (DFT_B3LYP_6-31G (d, p)). Abaixo e à esquerda: HOMO; Abaixo e à direita: LUMO.	199
Figura 89 – Caso 3 – Acima: Dímero do ligante DadMcP otimizado (DFT_B3LYP_6-31G (d, p)). Abaixo e à esquerda: HOMO; Abaixo e à direita: LUMO.	199
Figura 90 – MEV de T AuNP2DadMcP + NaI + irradiação com laser 785 nm por 1 h com diferentes regiões e magnificações. Amostra preparada por <i>drop casting</i> sobre HOPG.....	201
Figura 91 – Imagem de MEV de T AuNP2DadMcP. Voltagem de 30 kV e magnificação de 30000 vezes.	202
Figura 92 – Espectros de EDS dos pontos 1(acima) e 4 (abaixo) da figura anterior.	203
Figura 93 - Representação das condições de funcionalização de T AuNP2 com DadMcP em função do sal adicionado, do tempo e da luz, sendo que a formação da ponte de dissulfeto pode ter sido formada com ligante em solução.	204
Figura 94 – Estrutura da molécula de mercaptoetilpirazina (PZT).	205
Figura 95 – Ilustração dos equipamentos de Espalhamento de luz dinâmico (DLS) indicado pela seta verde e espectrofotômetro, indicado pela seta vermelha. É possível ver pela foto a fibra ótica do DLS mergulhada na solução da cubeta do espectrofotômetro e os dois microcomputadores ligados e realizando as medidas simultaneamente.	208

Figura 96 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura da amostra T AuNP0. Amostra preparada por <i>drop casting</i> em FTO.....	209
Figura 97 – Esquema mostrando o experimento realizado na obtenção de padrões de AuNPPZT impressos na superfície da cubeta utilizando uma máscara de estrelas.....	210
Figura 98 - Estrutura da molécula trifenilmetilmercaptana (TFMT)	211
Figura 99 – Perfil cinético de AuNPsPZT com o tempo em função da irradiação com luz UV. Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 30 minutos.....	212
Figura 100 - Perfil cinético de AuNPsPZT com o tempo em função da irradiação com luz visível (utilizando um filtro para luz UV). Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 60 minutos.....	213
Figura 101 - Perfil cinético de AuNPsTFMT com o tempo em função da irradiação com luz UV. Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 30 minutos.	214
Figura 102 - Perfil cinético de AuNPsTFMT com o tempo em função da irradiação com luz visível (utilizando um filtro para luz UV). Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 30 minutos.....	215
Figura 103 - Perfil cinético de AuNPsTMT com o tempo em função da irradiação com luz UV. Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e	

acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 60 minutos.	216
Figura 104 - Perfil cinético de AuNPsTMT com o tempo em função da irradiação com luz visível (utilizando um filtro para luz UV). Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 60 minutos.....	217
Figura 105 – Histograma referente ao monitoramento simultâneo da distribuição de tamanho das T AuNP0PZT com o tempo em função das mudanças observadas nas bandas de ressonância plasmônica superficial e de acoplamento plasmônico. Experimento realizado a $T = 298\text{ K}$	218
Figura 106 - Espectros de extinção de T AuNP0PZT obtidos com o tempo sob irradiação com diferentes comprimentos de onda dentro da faixa do UV.	219
Figura 107 – Circuito impresso em uma cubeta após fotoagregação de AuNPs. Irradiação com fonte de luz UV de comprimento de onda igual a 254 nm.	220
Figura 108 – Esquema mostrando o procedimento para silanização de vidros com MPTS.	222
Figura 109 – Imagem de AFM de contato intermitente de filme de T AuNP0(15 nm)pzt. RMS 8 nm.	223
Figura 110 – Imagem de AFM de contato intermitente de filme de T AuNP1(25nm)pzt. RMS 18,6 nm.....	223
Figura 111 – Esquerda: Imagem de AFM de contato intermitente do filme de AuNPs(15 nm) pzt (RMS = 8 nm). Direita: Imagem óptica do padrão nanométrico (espessura do traço igual a 300 nm) escrito sobre o filme utilizando laser com comprimento de onda igual a 532 nm.	224
Figura 112 – Espectro de extinção por reflectância do filme de AuNP(15 nm)pzt. .	225

Figura 113 - Espectro SERS de T AuNP1PZT obtido com adição de 100 μL de NaCl

1 mol L⁻¹.226

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Configuração eletrônica de alguns metais de transição.	44
Tabela 2 – Efeito da temperatura na síntese de AuNPs utilizando citrato de sódio como agente redutor observado por Turkevitch.	87
Tabela 3 – Comparação entre o espectro SERS de T AuNP2 (pH3.48) com espectro Raman teórico da molécula de citrato e do produto de oxidação de citrato.	108
Tabela 4 – Comparação entre o espectro SERS de T AuNP3 (pH 4.48) com espectro Raman teórico da molécula de citrato e do produto de oxidação de citrato.	109
Tabela 5 – Comparação entre o espectro SERS experimental de AuNPTMT sintetizado por troca da camada passivante (TCP), com espectros Raman teóricos da molécula H ₃ TMT (C _{3h}) utilizando várias metodologias teóricas, com as moléculas hipotéticas H ₅ TMT ²⁺ (Cs), H ₃ TMTga e também com a literatura.	122
Tabela 6 – Valores de pKa do ligante TMT calculados por SERS e pela análise do espectro eletrônico.	132
Tabela 7 – Comparação entre o espectro SERS experimental de AuNPTMT sintetizado <i>in situ</i> utilizando agente redutor, com espectros Raman teóricos da molécula H ₃ TMT (C _{3h}) utilizando várias metodologias teóricas, com a molécula hipotética TMTga ₃ (Cs) e também com a literatura.	148
Tabela 8 – Comparação entre o espectro SERS experimental de AuNPTMT sintetizado <i>in situ</i> sem agente redutor , com espectros Raman teóricos da molécula H ₃ TMT (C _{3h}) utilizando várias metodologias teóricas, com a molécula hipotética TMTga ₃ (Cs) e também com a literatura.	160
Tabela 9 – Atribuição das bandas dos espectros vibracionais do ligante (L) DadMcP (C ₁).	185

LISTA DE ABREVIATURAS*

AuNPs – Nanopartículas de Ouro; AgNPs – Nanopartículas de Prata

TAuNP – Nanopartículas de Ouro sintetizadas pelo método de *Turkevich*.

Cit – citrato de sódio

AuNPsTMT – Nanopartículas de Ouro estabilizadas com 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina

TMT – 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina na forma genérica ou neutra

H₃TMT – Espécie neutra, com três grupos desprotonáveis.

H₂TMT⁻ – Espécie com dois grupos desprotonáveis.

HTMT²⁻ – Espécie com um grupo desprotonável.

TMT³⁻ – Espécie totalmente desprotonada

DadMcP ou Dad – 4,5-diamino-2,6-dimercaptopyrimidina

PZT – pirazinaetanotiol

LSPR – *Localized Surface Plasmon Resonance* (Ressonância Plasmônica Superficial Localizada)

DDA – *Discrete Dipole Approximation* (Aproximação de Dipolos Discretos)

DLS – *Dinamic Light Scattering* (Espalhamento de Luz Dinâmico)

SAMs – *Self Assembly Monolayer* (Monocamadas auto-montadas)

SERS – *Surface Enhanced Raman Scattering* (Espalhamento Raman Intensificado por Superfície) ou *Surface Enhanced Raman Spectroscopy* (Espectroscopia Raman por Intensificação de Superfície)

ga – *ghost atom*

* As abreviaturas estão de acordo com a maneira como são encontradas na literatura e nem sempre são traduzidas para não criar ambigüidades nas interpretações.

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO DA TESE	34
2 NANOPARTÍCULAS DE OURO	37
2.1 A COR DO OURO – PARTE 1	39
2.2 A COR DO OURO – PARTE 2	42
2.3 A COR DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO	46
3 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL POR INTENSIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE	52
3.1 MODELO ELETROMAGNÉTICO DE INTENSIFICAÇÃO POR SUPERFÍCIE (EM-SERS)	53
3.2 MODELO QUÍMICO DE INTENSIFICAÇÃO POR SUPERFÍCIE – CONTRIBUIÇÃO POR TRANSFERÊNCIA DE CARGA (CT-SERS)	59
4 QUÍMICA DE COORDENAÇÃO	64
DE SUPERFÍCIE	64
5 TÉCNICAS E EQUIPAMENTOS	80
5.1 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA	81
5.2 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL	81
5.3 ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO	82
5.4 MEDIDAS DE POTENCIAL ZETA	82
5.5 MICROSCOPIA DE VARREDURA POR SONDA	82
5.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA	83
5.7 ESPECTROMETRIA DE MASSAS	83
6 CONTROLE DA SÍNTESE E FUNCIONALIZAÇÃO DE COLÓIDES/ NANOPARTÍCULAS DE OURO – REDESCOBRINDO A SÍNTESE CLÁSSICA DE <i>TURKEVICH</i> – 4^o PAPEL DO CITRATO	84
6.1 CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO PELO MÉTODO DE <i>TURKEVITCH</i>	86
6.2 PARTE EXPERIMENTAL – MODIFICAÇÕES DA SÍNTESE DE <i>TURKEVICH</i>	90

6.2.1 Síntese de T AuNP1.....	90
6.2.2 Síntese de T AuNP2 e T AuNP3	91
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	92
6.3.1 Estudo das Interações de Superfície por Espectroscopia Eletrônica e Microscopia Eletrônica de Varredura	92
6.3.2 – Caracterização das Moléculas em Superfície	102
7 ESTUDO DA MOLÉCULA 2,4,6-TRIMERCAPTO-1,3,5-TRIAZINA (TMT) – COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES MÉTODOS DE SÍNTESE.....	114
7.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE AUNPTMT POR TROCA DA CAMADA PASSIVANTE (TCP)	116
7.1.1 Resultados e Discussão.....	117
7.2 SÍNTESE POR TROCA DA CAMADA PASSIVANTE ADICIONANDO TMT AOS POUCOS À SUSPENSÃO DE T AuNP1 .	125
7.2.1 Resultados e Discussão.....	126
7.3 TITULAÇÃO POR PH.....	129
7.3.1 Resultados e Discussão.....	129
7.4 FORMAÇÃO DE COMPLEXOS EM SUPERFÍCIE.....	134
7.4.1 Resultados e Discussão.....	135
7.5 SÍNTESE DE AUNPsTMT <i>IN SITU</i>	141
7.5.1 Síntese com a adição de agente redutor externo.....	141
7.5.1.1 Resultados e Discussão.....	142
7.5.2 Síntese sem a adição de agente redutor externo.....	152
7.5.2.1 Resultados e Discussão.....	153
7.6 ESTUDO DA MOLÉCULA 2,4,6-TRIMERCAPTO-1,3,5-TRIAZINA (TMT) EM CONDIÇÃO DE <i>SINGLE MOLECULE</i> .	164
7.6.1 Síntese de AuNPsTMT <i>in situ</i> em condição de single molecule	167
7.6.1.1 Resultados e Discussão.....	167
8 ESTUDO DA MOLÉCULA 4,5-DIAMINO-2,6-DIMERCAPTOPYRIMIDINA (DADMCP) – INFLUÊNCIA DO TEMPO, DA SUPERFÍCIE DA PARTÍCULA E DO ELETRÓLITO	172

8.1 PARTE EXPERIMENTAL.....	175
8.1.1 Síntese de AuNPDadMcP por troca da camada passivante de TAuNP1	175
8.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	176
8.2.1 Espectroscopia Eletrônica da Titulação de Pt^{2+} em DadMcP	176
8.2.2 Estudo da influência da agregação na obtenção dos espectros SERS e da taxa de adição do ligante DadMcP em diferentes concentrações na troca da camada passivante de TAuNP1.....	178
8.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE AUNPDADMCP POR TROCA DA CAMADA PASSIVANTE DE TAUNP2 E TAUNP3181	
8.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	181
9 EVIDÊNCIAS EXPERIMENTAIS DE PROCESSOS FOTOINDUZIDOS ENVOLVENDO A MOLÉCULA 4,5-DIAMINO-2,6-DIMERCAPTOPYRIMIDINA (DADMCP) E A MOLÉCULA MERCAPTOETILPIRAZINA (PZT)190	
9.1 FUNCIONALIZAÇÃO PLANEJADA DE TAUNP COM DADMCP	191
9.1.1 Resultados e Discussão.....	191
9.2 INFLUÊNCIA DA LUZ UV NA FUNCIONALIZAÇÃO DE AUNPS COM MERCAPTOETILPIRAZINA (PZT)	205
9.2.1 Parte Experimental.....	206
9.2.1.1 Síntese de AuNPs Passivadas com Mercaptoetilpirazina (PZT), 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT) e Trifenilmetanotiol (TFMT).....	206
9.2.1.2 Irradiação da Solução de Nanopartículas	207
9.2.1.3 Experimento Simultâneo de Monitoramento do tamanho das Nanopartículas em Função das Mudanças Observadas nas Bandas de Ressonância Plasmônica Superficial e de Acoplamento Plasmônico com radiação UV	207
9.2.2 Resultados e Discussão.....	208
9.2.2.1 Influência da Luz na Irradiação de AuNPs estabilizadas com PZT.....	210
9.2.2.2 Estudo da Formação de Filmes Fotoagregados de AuNPsPZT	221
10 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	227
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	231

ANEXOS	242
--------------	-----

1 APRESENTAÇÃO DA TESE

Foi respondendo questões básicas a respeito da combinação existente entre um sal de um metal de transição e diferentes moléculas, que *Jörgensen* e *Werner* contribuíram significativamente para a história da química de coordenação. A obtenção de compostos com novas propriedades e com questões a serem respondidas a respeito da estrutura e de como se formavam as ligações, deu a Alfred Werner (1866-1919) o prêmio Nobel em 1913 pelo o estudo da estrutura de complexos do tipo $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$. Ao admitir a possibilidade de haver várias combinações de compostos contendo os ligantes amônia e cloreto com características diferentes, que Werner propôs um modelo de esferas de coordenação e da existência de isômeros para muitos outros complexos¹.

Atualmente, o planejamento de produtos e a escolha de condições de reação apropriadas para obter o que se deseja ainda é motivo de muitas pesquisas. Porém, o conhecimento das propriedades dos metais de transição e seu comportamento frente a diferentes ligantes, têm sido suficientes para servir como referência para os outros compostos de coordenação que ainda estão por vir.

Em uma reflexão mais ampla, se esses compostos forem constituídos de nanopartículas de metais de transição, são os átomos superficiais que desempenham um papel importante na interação com ligantes. Como a ligação metálica está relacionada apenas com átomos internos, os orbitais externos estão disponíveis para formar ligações com ligantes doadores-aceptores². Essa pode ser a similaridade existente com os complexos do ponto de vista clássico e, apesar de haver uma vasta literatura tratando das propriedades de diferentes nanopartículas metálicas^{3,4,5}, a química de coordenação envolvida ainda é pouco compreendida.

O raciocínio da tese, portanto, está em entender o que é uma nanopartícula, porque dentre vários metais possíveis escolheu-se o ouro como foco de estudo,

como estudar a interação metal-ligante superficial e quais são os fatores a serem considerados para definir as melhores estratégias de funcionalização, utilizando diferentes planejamentos de síntese e as propriedades óticas das nanopartículas de ouro para gerar sensores SERS.

2 NANOPARTÍCULAS DE OURO

Nanopartículas ou *clusters* possuem entre 3 a 10^7 átomos. Com a diminuição do tamanho, a porcentagem de átomos na superfície aumenta consideravelmente; o que é um dos pontos mais importantes a ser discutido quando se considera as propriedades dos clusters metálicos⁶. Outro efeito de superfície importante é que clusters metálicos em geral possuem uma camada de moléculas que atuam como passivantes. De outra forma, não seria possível manter a individualidade das partículas na preparação por métodos químicos. O fato desses clusters apresentarem tamanho muito menor que o comprimento de onda da luz, faz com que efeitos de superfície sejam consideráveis.

Do ponto de vista científico, o relato histórico mais importante sobre a obtenção e propriedades de nanopartículas de ouro (Figura 1), foi publicado por *Faraday*⁷ em 1857. O método utilizado foi a redução química do ácido tetracloroáurico (HAuCl_4) com fósforo, utilizando dissulfeto de carbono como solvente. Hoje, vários métodos podem ser utilizados, variando principalmente o agente redutor e o meio. Essas soluções são intensamente coloridas, refletindo a natureza nanométrica^{7,8,9,10,11,12}.

Figura 1 – Ilustração mostrando suspensões de nanopartículas de ouro esféricas com diferentes tamanhos.

Para poder adotar estratégias de funcionalização planejada e possivelmente interpretar essa funcionalização como ligações metal-ligante locais, é importante primeiramente, entender o principal (e mais óbvio) efeito de tamanho, a sua interação com a luz.

2.1 A COR DO OURO – PARTE 1

Dentre os metais, apenas o cobre e o ouro são de fato coloridos. Os outros apresentam apenas uma aparência prateada. A cor no sentido clássico é produzida pela absorção parcial de luz por elétrons, resultando em uma visibilidade de parte complementar da luz.

Se em uma superfície metálica lisa a luz é totalmente refletida pela alta densidade de elétrons, não há coloração, pelo contrário, uma aparência espelhada é observada¹³. Quando a luz interage com um metal, seria esperado, entretanto, que ela fosse totalmente absorvida, pois os metais são condutores e a alta densidade eletrônica abaixo do nível de Fermi permite uma maior probabilidade de excitação para a banda de condução. Surge, porém, um paradoxo interessante dessa constatação, pois é devido exatamente à forte absorção dos metais que há também maior reflexão¹⁴. Reflexão é um tipo de espalhamento em que a luz refletida possui o mesmo ângulo da luz incidente.

Para primeiramente representar esse fenômeno, utiliza-se o coeficiente de reflexão, ou refletividade, $R^\dagger$. A porcentagem relativa R , para um feixe de luz incidente perpendicular à superfície de um material arbitrário, é dada por:

[†] R corresponde à relação entre a intensidade do feixe refletido e a do feixe incidente atingindo valor máximo quando a incidência ocorre perpendicularmente à uma superfície lisa.

$$R = 100 \times \frac{(n-1)^2}{(n+1)^2} \quad \text{Eq. 1}$$

Na equação 1, n representa o índice de refração. Para se ter uma ideia, o vidro apresenta $n = 1.5$ e possui $R = 4\%$, logo a maioria da luz é transmitida, como intuitivamente era de se esperar já que o vidro é transparente^{13,14}.

Para os metais, considerando uma superfície perfeitamente lisa e espelhada, a absorção de fótons é acompanhada de excitação de elétrons que retornam para os níveis de menor energia reemitindo os fótons e consequentemente, exibindo forte reflexão.

Para entender porque a maioria dos metais possui aparência prateada (refletora), em comparação com o ouro e o cobre, é importante diferenciar a localização dos elétrons de valência e de condução em função da sua configuração eletrônica. Dessa maneira, é necessário considerar duas abordagens: a primeira, diferenciando o papel dos elétrons superficiais daqueles internamente ligados utilizando os termos: condutividade (σ) e constante dielétrica[‡] (ϵ)¹⁵; a segunda, através da teoria de bandas e de efeitos relativísticos dos metais mais pesados. A necessidade dessa diferenciação apresenta fortes argumentos de que o modelo de elétrons livres¹⁶ não é suficiente para explicar a interação entre a luz e os metais.

Para baixos valores de frequência, ϵ é usualmente utilizado para descrever a polarização dos elétrons sujeitos ao campo, enquanto σ está relacionado aos elétrons livres do fluxo de corrente (ambas as situações geradas quando a luz interage com a superfície metálica).

[‡] A capacitância é determinada pela quantidade de energia elétrica que pode ser armazenada em si por uma determinada tensão e pela quantidade de corrente alternada que o atravessa numa determinada frequência. Em 1837, Michael Faraday verificou que a capacitância de um capacitor completamente preenchido por um dielétrico aumentava por um numérico ϵ , que ele chamou de **constante dielétrica** do material introduzido. A constante dielétrica do vácuo, por definição, é igual a 1.

Em frequências óticas do espectro eletromagnético (infravermelho ao ultravioleta), não se observa distinção entre os elétrons de valência e de condução¹⁵. Mesmo assim, há uma dependência da resposta ótica do metal em função da frequência do campo e, portanto, o tratamento se dá através de uma função complexa, já que números complexos permitem especificar a magnitude e a fase da frequência angular do campo aplicado.

Tratando-se de funções complexas, os dois termos podem ser descritos em função do espalhamento e da absorção, descritos pelas partes reais (ε_1 e σ_1) e imaginárias (ε_2 e σ_2) respectivamente, através de:

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_1(\omega) + i \varepsilon_2(\omega) \quad \text{e} \quad \text{Eq. 2}$$

$$\sigma(\omega) = \sigma_1(\omega) + i \sigma_2(\omega) \quad \text{Eq. 3}$$

A contribuição do espalhamento ou da absorção é inerente à natureza do átomo metálico, ou seja, depende da localização dos elétrons em diferentes orbitais.

Experimentalmente, ε , pode ser determinado por estudos de refletividade, absorção e pela determinação do índice de refração complexo $\tilde{n} = n(\omega) + i\kappa(\omega)$ do meio, definido como $\tilde{n} = \sqrt{\varepsilon}$. Isso leva às seguintes relações:

$$\varepsilon_1 = n^2 - \kappa^2 \quad \text{Eq. 4}$$

$$\varepsilon_2 = 2n\kappa \quad \text{Eq. 5}$$

$$n^2 = \frac{\varepsilon_1}{2} + \frac{1}{2}\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2} \quad \text{Eq. 6}$$

$$\kappa = \frac{\varepsilon_2}{2n} \quad \text{Eq. 7}$$

Em que κ é o coeficiente de extinção (relacionado às partes real e imaginária da constante dielétrica) e determina a absorção ótica de ondas eletromagnéticas. A variação de κ em função do comprimento de onda, explica porque apenas o ouro e

o cobre são de fato coloridos, isto é, mostra que são as contribuições de espalhamento e absorção que definem as cores observadas¹⁵.

Resta agora, provar que a natureza da absorção/espalhamento está na verdade, relacionada à distribuição eletrônica de cada átomo e que é importante compreender que são as transições interbanda e intrabanda, que explicam porque o ouro e o cobre são coloridos e os outros metais não.

2.2 A COR DO OURO – PARTE 2

A configuração de camada semi-preenchida dos metais de transição – exceto ouro e cobre – aumenta a probabilidade de transição eletrônica interbanda e consequentemente uma maior reflexão. Os metais que possuem a camada d preenchida e que possuem elétrons de valência nos orbitais 6s (mais externos), possuem efeitos relativísticos. Isso quer dizer que seus elétrons devem orbitar a uma velocidade próxima a da luz para equilibrar o efeito da forte atração dos seus grandes núcleos. Esses elétrons de alta energia agem como se tivessem uma massa muito maior¹⁷. Assim, em comparação com os elétrons mais lentos, seus orbitais devem diminuir de tamanho para manter o mesmo momento angular².

A Figura 2 mostra um gráfico da contração relativística da camada 6s de vários elementos em função de seu número atômico (Z).

Figura 2 – Contração relativística da camada 6s dos elementos Cs ($z = 55$) ao Fm ($z = 100$). As setas azuis indicam a contração relativística dos elementos com configurações mais próximas ao ouro. O círculo aberto destacado em rosa indica a contração relativística da camada 6s no ^{79}Au , mostrando como os efeitos relativísticos nos elétrons são mais pronunciados nesse elemento. Adaptado de¹⁷.

Comparando o ouro com a platina e o mercúrio (átomos com configurações eletrônicas muito próximas), a platina ainda possui elétrons d desemparelhados, um fator que auxilia na absorção de fótons e consequentemente na coloração prateada que possui. Já o mercúrio, por possuir orbitais d e orbitais s completos, unidos ao efeito relativístico de contração da camada 6s, dá uma estabilidade tamanha que faz com que o mercúrio seja líquido a temperatura ambiente e a componente de espalhamento seja favorecida no lugar da absorção.

A Tabela 1 mostra a configuração eletrônica de alguns metais de transição para melhor comparação.

Tabela 1 – Configuração eletrônica de alguns metais de transição.

zMetal	Configuração eletrônica
$_{26}\text{Fe}$	$[\text{Ar}] 3d^6 \underline{4s^2}$
$_{29}\text{Cu}$	$[\text{Ar}] 3d^{10} \underline{4s^1}$
$_{44}\text{Ru}$	$[\text{Kr}] 4d^7 \underline{5s^1}$
$_{47}\text{Ag}$	$[\text{Kr}] 4d^{10} \underline{5s^1}$
$_{77}\text{Ir}$	$[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^7 \underline{6s^2}$
$_{78}\text{Pt}$	$[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^9 \underline{6s^1}$
$_{79}\text{Au}$	$[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} \underline{6s^1}$
$_{80}\text{Hg}$	$[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} \underline{6s^2}$
$_{81}\text{Tl}$	$[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} \underline{6s^2 6p^1}$
$_{82}\text{Pb}$	$[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} \underline{6s^2 6p^2}$

O ouro, por sua vez, possui orbital 5d completo e um elétron desemparelhado no orbital 6s. Isso faz com que tenha o maior efeito de contração relativística da camada, diminuindo a densidade de estados que já é estreita e consequentemente a probabilidade de transição, considerando que o nível de Fermi se localiza em um valor alto de energia. Ao diminuir a probabilidade de transição interbanda para altos valores de energia, menos elétrons reemitem fótons, a absorção é maior que a reflexão e, portanto, o metal possui cor complementar observada, como pode ser visto na Figura 3a.

O raciocínio é parecido para o cobre e para a prata (que possui uma aparência prateada-amarelada que a diferencia da platina, por exemplo, Figura 4),

que também possuem orbital d completo, mas com 1 elétron desemparelhado no orbital s e sem efeitos relativísticos^{2,14,13,15,16,18}.

A Figura 3b, mostra uma comparação entre o diagrama de bandas do ferro e do cobre para ilustrar melhor a transição interbanda em função da densidade de estados, com destaque para a localização dos níveis de Fermi do cobre e do ferro.

Figura 3 – Esquerda: Diagrama de refletividade de alguns metais em função da energia. Observa-se que para o cobre e o ouro há grande diminuição da refletividade com o aumento da energia da luz incidente em relação aos outros metais. Direita: Diagrama de bandas do ferro. Destaque para a energia do nível de Fermi do ferro ($E_F(\text{Fe})$) em comparação com a do cobre ($E_F(\text{Cu})$). Adaptado de ¹⁴.

Figura 4 – Ilustração mostrando a cor da prata, do ouro e da platina.

Ao diminuir o tamanho das partículas, os elétrons da banda de condução passam a ser mais importantes para a resposta ótica dos metais, com ênfase para o ouro e a prata, como será visto a seguir.

2.3 A COR DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO

A distribuição eletrônica mostra que ao estudar o comportamento dos metais é necessário separar as contribuições das transições inter e intrabanda. Unido ao fato de que essas transições possuem natureza de espalhamento e absorção, a interação luz-metais não só explicou porque os metais possuem aparência prateada, mas também deixou claro porque o ouro, prata e cobre são tão diferentes.

Ao diminuir a escala de tamanho, essas diferenças se mantêm e se tornam especiais, por conta do elétron desemparelhado do orbital s (na banda de condução) dos três metais. Esse elétron fica muito mais susceptível à ação do campo elétrico externo e, por conta disso, um tratamento considerando os elétrons livres se faz mais necessário para descrever a cor de nanopartículas de ouro.

Os modelo dos elétrons livres considera um mar de elétrons se movimentando sob a influência de cátions fixos, sendo que a vibração de íons, ou fônons são ignoradas em uma primeira aproximação. Isso cria, por definição um plasma que pode ser chamado de plasma de elétrons livres ou por plasma de estado sólido^{16,19}. O plasmon, palavra encontrada em grande parte da literatura é

uma quasipartícula^{20§} resultante da quantização de oscilações do plasma; assim como fótons e fônons são quantizações de luz e vibrações mecânicas, respectivamente^{15,21}.

Para uma partícula esférica muito menor que o comprimento de onda da luz visível (diâmetro $D \ll \lambda$), um campo eletromagnético incidente de frequência ν é capaz de induzir uma oscilação coletiva desses elétrons livres (os plasmons), de maneira que todos os elétrons confinados ficam submetidos ao mesmo campo em um dado intervalo de tempo^{18,22,23}.

O movimento da nuvem eletrônica de nanopartículas esféricas (com tamanho entre 5-30 nm), sob influência do campo elétrico, leva a uma separação dipolar de cargas na superfície¹³ (Figura 5) que tende a se recombinar naturalmente por interação eletrostática. Porém, a nuvem eletrônica ainda está sujeita à ação do campo, o que leva à uma nova separação de cargas. Isso gera uma oscilação periódica superficial, ou, como é usualmente chamada, ressonância plasmônica superficial localizada (do inglês LSPR – *Localized Surface Plasmon Resonance*).

Figura 5 – Separação de cargas na superfície das nanopartículas metálicas decorrente da incidência de uma onda eletromagnética ($D \ll \lambda$).

[§] Na física da matéria condensada, quasipartícula é uma excitação de um sistema de muitos corpos que se comporta como uma partícula. Possui momento e posição, mas não existe como partícula livre.

Essa oscilação superficial é governada pela constante dielétrica do bulk (sólido estendido), cuja frequência cai na região visível do espectro eletromagnético para a prata, o ouro e o cobre, como visto anteriormente. Uma peculiaridade, entretanto, é que essa oscilação tem simetria dependente do tamanho, com excitações multipolares para partículas maiores que 30-35 nanômetros e da anisotropia da partícula, como pode ser visto na Figura 6.

Por enquanto, para fins didáticos, apenas excitações dipolares de nanopartículas esféricas serão levadas em consideração.

Figura 6 – Espectro de extinção de AuNps de várias formas e tamanhos (AR = aspect ratio, o que significa razão de aspecto, que é a relação entre o comprimento e a largura do nanorod). Fonte²⁴

Ao adotar uma aproximação quase-estática, é possível entender a resposta ótica de nanopartículas metálicas a um campo elétrico. Sob a influência do campo externo aplicado E_0 , o campo elétrico dentro da partícula E_i é dado pela seguinte equação:

$$E_i = E_0 \frac{3\varepsilon_m}{\varepsilon(\omega) + 2\varepsilon_m} \quad \text{Eq. 8}$$

Em que ε_m é a constante dielétrica do meio e ε , a constante dielétrica da nanopartícula metálica dependente da frequência ω .

No item 2.1, a primeira consideração a respeito dos elétrons do *bulk* foi a separação em termos de ε (constante dielétrica) e σ (condutividade), unicamente para destacar que existem os elétrons de valência e de condução como parte importante da explicação da cor do ouro bulk. Entretanto, é importante frisar que a constante dielétrica, ε , pode ser utilizada para representar o comportamento dos elétrons localizados na superfície também.

O campo eletromagnético ao redor da partícula pode ser obtido resolvendo a equação de Laplace, $\nabla^2 \varphi = 0$, em que φ é o potencial elétrico e o campo E_0 está relacionado a φ por $E_0 = -\nabla \varphi$, através de duas condições: Na primeira, φ é contínuo na superfície da esfera e na segunda, a componente normal do deslocamento elétrico (D) também é contínua, em que $D = \varepsilon_m E_0$.

O dipolo gerado (p) pela influência do campo eletromagnético a uma nanopartícula metálica esférica (separação de cargas) mencionado anteriormente, pode ser escrito como:

$$p = \alpha \varepsilon_m E_0 \quad \text{Eq. 9}$$

Em que a polarizabilidade estática da esfera, α , pode ser obtida pela resolução da equação de Laplace e é dada por:

$$\alpha = 4\pi\epsilon_0 R^3 \frac{\varepsilon - \varepsilon_m}{\varepsilon(\omega) + 2\varepsilon_m} \quad \text{Eq. 10}$$

O valor de ϵ leva em consideração as contribuições da parte real e imaginária e é dada pela Eq.2 ($\varepsilon = \varepsilon_1(\omega) + i\varepsilon_2(\omega) = (\eta + i\kappa)^2$), em que η é o índice

de refração e κ está relacionado à absorção de luz (como mencionado anteriormente na descrição do metal bulk).

A condição de ressonância se dá quando o termo $\varepsilon(\omega) + 2\varepsilon_m$ é mínimo, ou seja, a polarizabilidade possui um valor máximo e consequentemente, o dipolo gerado pela influência do campo, também^{5,13,15,16}.

Para os metais nobres, a ressonância cai dentro da faixa do visível do espectro eletromagnético e a consequência é a intensa coloração observada das partículas.

Quando a constante dielétrica de um metal possui uma componente negativa real combinada com uma componente imaginária pequena, o metal é capaz de sustentar uma ressonância plasmônica superficial.

De acordo com Maier²⁵, os processos de relaxação de uma oscilação plasmônica são compostos de decaimentos radiativos (espalhamento) e não-radiativos (absorção) temporais, compondo a “extinção”^{**} de luz visível. Para partículas metálicas com $D \ll \lambda$ ($5 \text{ nm} < D < 30 \text{ nm}$), a energia de relaxação é resultante principalmente de processos não-radiativos, por isso a banda observada nos espectros pode ser chamada de banda de absorção. É bom lembrar que nanopartículas são suspensões coloidais e, por conta disso, há uma distribuição de tamanhos entre as partículas, que consequentemente possuem absorção intrínseca ao seu tamanho.

Foi através da teoria de Mie²⁶, desenvolvida em 1908, que o espectro de extinção de uma nanopartícula esférica isolada utilizando as equações de Maxwell para sistemas esféricos menores que o comprimento de onda da luz, foi resolvido analiticamente, como pode ser visto no Anexo.

^{**} O termo extinção de luz é o nome dado ao espectro UV-vis das nanopartículas.

Algo interessante, entretanto, acontece quando as partículas são iluminadas em comprimentos de onda dentro da faixa de ressonância desses elétrons superficiais (os plasmons). Quando isso ocorre, há um aumento da intensidade do campo, próximo à superfície da partícula e muito maior que a intensidade da onda que a excitou. Esse campo é altamente dependente da forma, da dimensão, da proximidade, da magnitude do acoplamento entre os plasmons das partículas adjacentes e da natureza das moléculas presentes na superfície, o que vêm sendo intensamente estudado pelas espectroscopias de superfície^{27,28,29,30,31,32}.

3 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL POR INTENSIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE

O efeito SERS – *Surface Enhancement Raman Scattering* – consiste de uma intensificação significativa do espalhamento Raman e foi descoberto casualmente por *Fleischmann* e colaboradores³³ durante uma tentativa de estudar espécies adsorvidas em superfícies de eletrodos através da espectroscopia Raman. Apesar do efeito SERS ter sido observado pela primeira vez em eletrodos, outros tipos de superfícies podem ser empregadas como, por exemplo, colóides de alguns metais de transição. Existem dois modelos principais que buscam elucidar o mecanismo responsável pelo aparecimento do efeito SERS: o eletromagnético e o molecular^{16,31,32,34}.

3.1 MODELO ELETROMAGNÉTICO DE INTENSIFICAÇÃO POR SUPERFÍCIE (EM-SERS)

Um dos primeiros modelos gerados para explicação do fenômeno eletromagnético foi o dipolo-imagem (*image field*)³⁵, pelo qual o dipolo elétrico intrínseco da molécula adsorvida levaria ao surgimento de um dipolo induzido na superfície metálica. A soma vetorial de ambos geraria uma intensificação do dipolo quando estivessem alinhados à normal da superfície e a resultante seria zero quando estivessem paralelos à superfície. Essa regra de seleção justificaria a observação preferencial dos modos normais cuja resultante estivesse na direção normal à superfície. Este modelo é válido admitindo-se uma adsorção física da espécie molecular, e muito próxima à superfície (até 2Å), mas não explica intensificações observadas quando esta distância é maior³⁶.

Um ponto interessante da técnica é a busca constante pelo substrato universal, cujos estudos se iniciaram pelo aumento da rugosidade em eletrodos mas

hoje, através de técnicas litográficas modernas e com metodologias de síntese química de partículas das mais variadas formas e tamanhos, tem ido muito além na investigação da origem das intensificações observadas.

Dessa maneira, incorporou-se no modelo dipolo-imagem, fatores como a curvatura dos sítios de adsorção nos aglomerados metálicos (*lightning rod effect*) e a ressonância com os plasmons de superfície para explicar os espectros, flutuações e a origem de intensificações preferenciais de algumas bandas.

Procurando ilustrar os fatores de intensificação envolvidos através de relações matemáticas, chamaremos primeiramente o fator de modificação de campo sobre a superfície das partículas de g . A magnitude média do campo radiado pela partícula metálica, E_s , será então, $E_s = gE_0$, em que E_0 , é a magnitude do campo incidente (E_s é o campo próximo local – *near field* – na superfície da partícula). Portanto, a molécula diretamente adsorvida na superfície metálica será excitada por E_s e o espalhamento Raman produzido pela molécula possuirá uma força de campo $E_R \propto \alpha_R E_s \propto \alpha_R g E_0$, em que α_R é a combinação dos componentes do tensor Raman (a proposta é considerar a resultante global dos componentes da intensificação, do contrário deveria ser examinada a natureza vetorial dos campos envolvidos, que incluem vetores de onda e de polarização)^{††}.

O espalhamento Raman pode ser intensificado da mesma maneira que o campo incidente por um fator g' , logo a amplitude do campo espalhado SERS será dada por $E_{SERS} \propto \alpha_R g g' E_0$ e a intensidade SERS média será proporcional ao quadrado do módulo de E_{SERS} , isto é, $I_{SERS} \propto |\alpha_R|^2 |g g'|^2 I_0$, em que I_{SERS} e I_0 são as intensidades SERS espalhadas e do campo incidente respectivamente.

^{††} O símbolo $\propto$ significa proporcional, enquanto α significa polarizabilidade.

Define-se então, a “intensificação SERS devido ao efeito eletromagnético”, como a razão entre a intensidade do espalhamento Raman na presença e na ausência do metal, como pode ser visto na equação 11.

$$G = \left| \frac{\alpha_R}{\alpha_{R0}} \right| |gg'|^2 \quad \text{Eq. 11}$$

Em que α_{R0} é a polarizabilidade Raman da molécula isolada³².

Uma das mais importantes considerações a respeito do mecanismo eletromagnético está no fato do adsorbato não precisar necessariamente estar em contato com a superfície. Isso significa que o campo elétrico intensificado na superfície possui uma amplitude de alguns nanômetros, de acordo com *Van Duyne* e colaboradores³⁷. Porém, para que reações químicas na superfície sejam realizadas e essas possam ser monitoradas pela aquisição de espectros sequenciais, é necessário que se tenha conhecimento prévio da disposição molecular em superfície.

Os mesmos autores afirmam que a habilidade de intensificação do espalhamento Raman por moléculas não ligadas diretamente à superfície pode ser interessante para estudos de sistemas contendo moléculas biológicas imobilizadas³⁸. No entanto, para que isso seja possível, o substrato tem que ser personalizado para o sistema que se pretende estudar, uma vez que qualquer desvio da idealidade, pode levar à observação de um espectro ininterpretável, com muita variação temporal, sem contar com possíveis degradações locais, resultantes de aquecimento promovido por efeito térmico inerente à espectroscopia SERS³⁹.

A intensidade SERS espalhada para um dado modo Raman, I_{SERS} , mencionada anteriormente, é uma função da distância da superfície de acordo com a equação 12:

$$I_{SERS} = \left(\frac{a+r}{a}\right)^{-10} \quad \text{Eq. 12}$$

Em que " a " é a amplitude do campo intensificado que decai com a distância por uma razão r^3 da superfície nanoestruturada⁴⁰.

Para gerar sítios de altíssimo campo local são utilizados eletrodos com alta rugosidade, ou mesmo suspensões de nanopartículas aglomeradas. Esses sítios são conhecidos como "*hot-spots*" e sua reprodutibilidade depende da rugosidade do eletrodo, da quantidade e do tamanho dos agregados de partículas. No caso de agregados, é importante que não haja efeito de interferência destrutiva sobre as interações dipolo-dipolo dos plasmons⁴¹.

Cálculos teóricos^{42,43,44} que prevêm a interação entre dois ou mais centros metálicos, têm mostrado que o campo localizado na região entre duas partículas metálicas é muito maior que em um sistema sem interação por parte das mesmas, logo moléculas localizadas entre as esferas possuem uma intensificação muito maior do que moléculas localizadas perto de partículas isoladas (Figura 7).

O campo entre as duas esferas é dependente da polarização da luz incidente que precisa ter algum componente paralelo ao eixo inter-partícula^{45,46}, de onde vem a importância do entendimento das teorias de Mie²⁶ e (*discrete dipole approximation*) DDA^{45, 47}, que tentam explicar o formalismo teórico acerca do entendimento do processo de extinção de luz visível por nanopartículas (em anexo).

Figura 7 – Ilustração de como a luz polarizada com vetor campo elétrico ao longo do eixo interpartículas, pode resultar em grandes intensificações no gap entre duas nanopartículas³².

Essa é uma observação importante a respeito de agregados de partículas; tanto que Xu^{48,49} e Michaels⁵⁰ têm mostrado em estudos de espectroscopia de *single molecule* que são observados espectros apenas quando a molécula adsorvida situa-se entre um par de partículas.

Isso pode ser melhor ilustrado observando a distribuição da intensificação na superfície ao redor de um *hot-spot* tendo como modelo duas partículas. A Figura 8 mostra muito claramente esse conceito através da localização do fator de intensificação SERS (SERS EF – *enhancement factor*), dependente da posição (normalizada ao seu valor máximo) na superfície de umas das esferas, em função de um ângulo θ e de distâncias diferentes entre as partículas. O caso de uma esfera isolada também é mostrado para comparação.

Figura 8 – Ilustração do efeito da localização de hot-spots. A localização do fator de intensificação SERS (SERS EF – *enhancement factor*), dependente da posição na superfície da esfera é plotada em função de θ (eixo das abscissas) ou de maneira equivalente, distância a partir do hot-spot (eixo acima). O resultado é plotado para dímeros com gap (g) de 1, 3 e 10 nm para valores máximos de banda de acoplamento plasmônico em 604, 526 e 468 nm respectivamente. Para uma esfera isolada, a banda de LSPR está em 416 nm. $F(0)$ é o SERS EF no hot-spot, $\langle F \rangle$ é o SERS EF médio e a_{80} é a região que cobre o hot-spot, definida como a porcentagem de área superficial na partícula do qual 80 % do sinal SERS tem origem. Reproduzido de ¹⁶.

Os resultados da figura acima são conclusivos em dizer que altas intensificações promovem um forte grau de localização espacial, uma das características da importância do acoplamento plasmônico e consequentemente, do planejamento sintético necessário para obter bons substratos SERS.

Apesar de EM-SERS não levar em consideração a necessidade do contato entre superfície-molécula, experimentalmente, isso se faz muito necessário, pois a disposição molecular se restringe, as regras de seleção do EM podem se cumprir e os espectros podem ser atribuídos por simetria. Obviamente, a contribuição química da intensificação se faz presente, mas ainda é melhor do que ter um resultado randômico por não ter um sistema muito comportado.

3.2 MODELO QUÍMICO DE INTENSIFICAÇÃO POR SUPERFÍCIE – CONTRIBUIÇÃO POR TRANSFERÊNCIA DE CARGA (CT-SERS)

O modelo molecular ou modelo químico considera as modificações na polarizabilidade molecular, geradas pela interação da molécula espalhadora com a superfície. Essa interação pode ocorrer pela formação de complexos que possuem bandas de transferência de carga (CT) entre a nanopartícula e a molécula passivante, por ligações químicas convencionais com a superfície, ou ainda através de interações eletrostáticas (par iônico). No caso de haver qualquer uma dessas contribuições, o contato com a superfície é essencial e os espectros obtidos dessa maneira podem divergir daqueles registrados de solução, seja por mudanças em intensidades relativas, meia-larguras, deslocamentos de frequências ou mesmo pelo aparecimento de novas bandas^{51,52}.

O problema encontrado na elucidação desse fenômeno é a necessidade de unir as informações das propriedades eletrônicas, tanto da molécula adsorvida quanto da superfície metálica. Isso significa que a interação metal-adsorbato pode gerar excitações de transferência de carga MLCT do nível de Fermi para o LUMO ($E_F \rightarrow \text{LUMO}$) ou LMCT, do HOMO para o nível de Fermi ($\text{HOMO} \rightarrow E_F$).

Outra contribuição para a intensificação de espectros Raman é através da contribuição vinda de transições eletrônicas intrínsecas da molécula em ressonância com o laser de excitação. O espectro da molécula isolada nesse caso é Raman ressonante (RR) podendo também existir se essa molécula estiver adsorvida na superfície de um metal plasmônico constituindo o chamado efeito SERS ressonante (SERRS).

A Figura 9 mostra todas as possibilidades do mecanismo de CT.

Figura 9 – Representação esquemática do mecanismo de transferência de carga (CT-SERS). A energia do laser pode estar diretamente em ressonância com uma transição eletrônica da molécula (representada pela flecha do HOMO para os LUMOS) no complexo metal-molécula ou se beneficiar da transferência de carga (flechas da banda de condução para o LUMO ou do HOMO para a banda de condução). Níveis vibracionais da molécula são caracterizados pela energia (E_ν) e excitação (ν). Adaptado de ⁵³.

Com base no diagrama dessa figura, pode ser discutido de maneira muito simplificada as origens dos mecanismos de intensificação.

O primeiro tipo é o mais simples, e ocorre quando o adsorbato não se liga covalentemente ao metal. Nesse caso, a presença do metal age somente como uma perturbação da estrutura eletrônica do analito, causando uma pequena mudança em sua distribuição eletrônica. Isso causa uma mudança na polarizabilidade e na eficiência do espalhamento Raman do modo vibracional em questão. Como exemplo, pode ser citado que as mudanças de eficiência Raman relativas aos modos 1008 cm^{-1} e 1035 cm^{-1} da piridina adsorvida em eletrodo de prata, são atribuídas a esse efeito ^{16,54}.

O segundo tipo envolve ou uma ligação covalente direta metal-molécula ou indireta com a ajuda de eletrólito, como cloreto. Isso causa uma mudança

substancial na polarizabilidade da molécula, que ocorre exatamente quando há novas transições existentes a partir da sobreposição dos orbitais moleculares (CT, na Figura 9). Inclusive, é possível que a superfície complexa, molécula + superfície metálica, crie um novo estado eletrônico (similar à dopagem em semicondutores) que esteja em ressonância ou pré-ressonância com o laser de excitação e contribuindo com a intensificação Raman¹⁶.

O terceiro tipo é uma versão mais sofisticada do segundo tipo, envolvendo um processo de transferência de carga foto-induzida entre o analito e o metal. Isso ocorre quando a diferença de energia entre o nível de Fermi do metal e o HOMO e/ ou o LUMO da molécula coincide com o laser¹⁶. Esse mecanismo foi mencionado somente para experimentos utilizando células eletroquímicas em que é possível modular a diferença de energia entre o analito e o metal através da aplicação de um potencial externo.

Uma visão unificada do Efeito SERS foi recentemente proposta por *Lombardi e Birke*⁵⁵, incluindo as contribuições do efeito eletromagnético (EM) de ressonância plasmônica, de transferência de carga na interface entre a molécula e o metal (CT) e os mecanismos de Raman ressonante (RR) intrínseco da molécula isolada descrevendo o efeito através da seguinte equação:

$$R_{IFK}(\omega) = \frac{\mu_{KI}\mu_{FK}h_{IF}\langle i|Q_k|f\rangle}{[(\varepsilon_1(\omega)+2\varepsilon_m)^2+\varepsilon_2^2](\omega_{FK}^2-\omega^2+\gamma_{FK}^2)(\omega_{FK}^2-\omega^2+\gamma_{IK}^2)} \quad \text{Eq. 9}$$

Em que o termo $(\varepsilon_1(\omega) + 2\varepsilon_m)^2$ é a contribuição EM, o termo $(\omega_{FK}^2 - \omega^2 + \gamma_{FK}^2)$ refere-se a contribuição CT e o termo $(\omega_{FK}^2 - \omega^2 + \gamma_{IK}^2)$ à contribuição RR. Os subscritos I, F e K referem-se ao estado fundamental, estado de transferência de

carga e estado excitado da molécula no sistema molécula-metal, respectivamente. A variável ω é a frequência e ϵ as constantes dielétricas (Os subscritos 1 e 2 referem-se à componente real e à componente imaginária da constante dielétrica do metal respectivamente).

O ponto chave então para o desenvolvimento de sensores é a escolha certa das moléculas funcionais, pois é o papel dessas moléculas que define os materiais a serem criados e como os estudos serão direcionados.

O espectro SERS das moléculas, portanto, tem que ser muito bem estudado dependendo da aplicação a que se destina, uma vez que as condições para aquisição e interpretação de espectros SERS dependem do tipo de *hot-spot* criado pela molécula ao interagir com as nanopartículas em diferentes ambientes químicos⁵⁶.

A partir de todas as constatações vistas até então quanto aos materiais necessários e efeitos a serem levados em consideração, pode-se traçar dois perfis de sondas SERS: No primeiro tipo, a molécula serve indiretamente como um indicador de alguma interação química específica envolvendo o sistema estudado^{57,58}. A molécula é chamada de "SERS reporter" e seu papel é estar junto do analito para apenas indicar se houve ou não uma interação bem sucedida dele com o substrato. O princípio é similar ao de um marcador para fluorescência⁵⁹. No segundo tipo, o papel da molécula é mais importante, sendo que as mudanças ocorridas em seu espectro são os sinais de interação química específica com um determinado analito. A característica mais marcante desse último tipo de molécula sonda é a sua multifuncionalidade, necessária para se ligar à nanopartícula e a outras possíveis moléculas⁶⁰.

A vantagem do uso de tais sondas em comparação com sondas fluorescentes está no maior tempo de vida útil da sonda.

A dificuldade de se interpretar um espectro vibracional intensificado por superfície, está no fato do espectro não ser necessariamente fiel à molécula e sim dependente de um conjunto de fatores citados anteriormente.

O desafio está em unir a espectroscopia vibracional em superfície, a física do estado sólido e a química de coordenação para compreender o sistema como um todo.

4 QUÍMICA DE COORDENAÇÃO DE SUPERFÍCIE

A possibilidade de funcionalização da superfície de nanopartículas de ouro com ligantes que sejam complementares à moléculas de interesse, tem levado muitos pesquisadores a caracterizar complexos ligados em superfície e explorar a química de coordenação envolvendo nanopartículas como centros metálicos^{5,61}.

Alcanotióis são as moléculas mais estudadas quando se trata de estabilização de nanopartículas de ouro⁶², devido à sua habilidade de formar rapidamente monocamadas automontadas (SAMs). Entretanto, tióis modificados com outras moléculas através de reações orgânicas pré-estabelecidas^{63,64,65,66,67,68}, têm demonstrado que nanopartículas funcionalizadas podem agir como *building blocks* para construção de arquiteturas mais complexas⁶⁹.

O artigo de revisão de *Templeton* e colaboradores⁷⁰, mostra a utilização de nanopartículas de ouro como plataforma para diversas reações químicas, como mostra a Figura 10. Essas partículas são sintetizadas em meio orgânico, facilmente isoladas, diferente das sintetizadas em meio aquoso. São partículas geralmente pequenas, com tamanho entre 1.9 e 3.0 nm, derivadas do método de Brust^{62,71} e na grande maioria dos trabalhos encontrados na literatura, a caracterização do tamanho e forma é realizada basicamente por técnicas de raios x como XPS^{67,70} (*X-ray photoelectron spectroscopy*), espectroscopia UV-Vis^{64,65,66,67,70}, microscopia eletrônica e de sonda⁶⁷, eletroquímica⁷⁰ e, a funcionalização das nanopartículas, realizada por infravermelho⁶⁷, Raman, análise termogravimétrica e RMN.

Figura 10 – Esquema mostrando a utilização de nanopartículas de ouro como plataforma para reações químicas. Reproduzido de⁷⁰.

A Figura 10 é um bom exemplo da diversidade de moléculas que podem ser utilizadas para funcionalizar nanopartículas. Dentre essas possibilidades, existe uma ampla base de dados de reações inorgânicas abrangendo também a química dos organometálicos.

O trabalho de Wang⁶⁹ mostra a construção sequencial de um complexo de rutênio supramolecular na superfície de nanopartículas de ouro. A caracterização do

produto formado mostrou uma estrutura tipo *pseudo-core-shell* em que nanopartículas de ouro estão encapsuladas por um *shell* organometálico composto de oligômeros de rutênio dicarbonil carboxilato ligados na superfície do ouro por uma ponte tiolato. Um esquema da construção do complexo pode ser visto na Figura 11.

Figura 11 – Funcionalização de AuNPs com complexo de rutênio. Reproduzido de⁶⁹.

O objetivo do trabalho de *Wang* é gerar materiais que possam agir como catalisadores bimetálicos. A maior vantagem em sintetizar tais complexos, é eliminar a necessidade de *templates* para obtenção de estruturas organizadas. Apesar do conceito do trabalho ser interessante, a caracterização deixa a desejar. Mesmo utilizando várias técnicas, não são observadas informações conclusivas a respeito da funcionalização das partículas e nada foi encontrado posteriormente para comprovar o conceito apresentado nesse artigo ou em outro do mesmo autor.

Outros trabalhos como os de Knight e colaboradores⁷², têm estudado moléculas conhecidas na literatura por formar complexos com vários metais de transição⁷³. A recente contribuição dos autores está focada na utilização de espécies como ditiocarbamatos de fórmula $S_2CNC_4H_8NH_2$. Essas espécies permitem que sejam sintetizados compostos de coordenação com mais de um

centro metálico, assim como o exemplo anterior. Dessa forma, o artigo mostra a formação de complexos com ouro em mais de um estado de oxidação e complexos heteronucleares contendo ouro e rutênio, para posterior funcionalização de nanopartículas de ouro como mostra o esquema da Figura 12.

Figura 12 – Esquema mostrando a formação do complexo heteronuclear de ouro e rutênio e funcionalização das nanopartículas de ouro com o complexo de rutênio. Adaptado de ⁷².

Trabalhos desse tipo são interessantes para comparar as propriedades dos complexos sintetizados no sentido convencional com os sintetizados na superfície das partículas, porém, ainda falta uma caracterização aprofundada dessa funcionalização.

O artigo de *Sendroiu* e colaboradores ⁷⁴, entretanto, é particularmente interessante por mostrar a complexação de Co^{II} , utilizando nanopartículas de ouro e prata com ligantes complementares.

A comprovação da complexação se dá pela imagem de microscopia de transmissão, sendo as partículas de ouro mais escuras e pelos espectros de extinção, cujas bandas mudam com o tempo de interação, como mostra a Figura 13. Novamente, apesar da natureza das ligações ser pouco explorada, esse artigo tenta

mostrar através de uma caracterização indireta, um conceito de química de coordenação ainda pouco explorado.

Figura 13 – Esquema mostrando a estratégia de reação para unir as nanopartículas de ouro e prata do artigo de *Sendroiu* e colaboradores⁷⁴. Im = imidazol e TA = ácido 6,8-ditióctico. Microscopia de transmissão de AgNPTA-Co-AuNPIM, sendo as AuNPs mais escuras. Espectros de extinção da interação de AgNPTA-Co-AuNPIM com tempos diferentes de interação, sendo B) 5 minutos e F) 6 horas. Adaptado de ⁷⁴.

O que se observa até então, é que no momento, o que mais se busca na interação entre complexos clássicos e nanopartículas plasmônicas, é modular as propriedades intrínsecas dos complexos em função das propriedades óticas das partículas⁵, mas são poucos os exemplos que tornam isso concreto.

Os trabalhos de *Mayer* e colaboradores^{75,76,77}, por exemplo, mostram a construção de complexos polipiridínicos de rutênio, conhecidos por suas propriedades óticas, eletrônicas e eletroquímicas^{78, 79, 80}, na superfície de nanopartículas metálicas como mostra a Figura 14. A utilização de ligantes-ponte

deslocalizados pode facilitar a transferência eletrônica entre o centro metálico de rutênio e as nanopartículas, gerando um novo conceito de eletrônica. Para isso, os ligantes são planejados de forma a poderem se ligar fortemente na superfície de ouro, porém, como visto no exemplo anterior, a superfície da nanopartícula pode influenciar as propriedades dos complexos de tal forma, que os mecanismos de transferência de elétrons ainda precisam ser melhor elucidados.

Quanto à síntese, *Mayer*⁷⁶ mostrou uma dependência de diferentes proporções do sal precursor, AgNO_3 em função dos complexos de rutênio em solução. Os resultados mostraram que o tamanho das nanopartículas é dependente da relação entre as duas concentrações e ilustra a forte interação entre cada complexo e a superfície das nanopartículas.

Os complexos apresentavam grupos piridina ou fenantrolina como ponto de ligação com as nanopartículas, cujo efeito quelato permitiu uma ligação mais forte com o metal e consequentemente maior estabilidade dos sistemas em solução.

Figura 14 – Exemplos de complexos imobilizados em nanopartículas. Adaptado de^{75,76,77, 81}. A coloração vermelha indica AuNPs, enquanto a coloração amarela, AgNPs.

Seguindo a mesma linha, o trabalho de *Dong* e colaboradores⁸¹ mostra a síntese de complexos terpiridínicos de rutênio e a possibilidade de funcionalizar eletrodos e nanopartículas de ouro. Ele observou que o complexo de rutênio forma uma monocamada na superfície do eletrodo de ouro comprovada pela diminuição considerável da separação existente entre os picos de oxidação e redução quando o complexo foi imobilizado.

O mesmo autor observou também, que ao aumentar a concentração molar do complexo, os voltamogramas cíclicos se tornavam mais simétricos e com menor separação entre os processos de oxidação e redução. A concentração molar foi determinante também para definir a razão entre a corrente de pico catódico (i_{pc}) e a velocidade de varredura, pois determinou a maneira como o complexo se ligava na superfície do eletrodo de ouro e, conseqüentemente, a cinética de transferência de elétrons.

Estudos em eletrodo são interessantes e mais simples de serem realizados antes de serem incorporadas nanopartículas nos estudos. Porém, já se percebe a importância do profundo entendimento de tais sistemas para a construção de dispositivos fotônicos.

Propriedades fotoquímicas de diferentes moléculas estão sendo exploradas na superfície de nanopartículas metálicas com o intuito de se desvendar outros mecanismos de transferência eletrônica que possam intensificar ou diminuir a fluorescência.

O trabalho de *Thomas* e colaboradores⁸² mostra a importância da distância das moléculas em relação à nanopartícula e todos os possíveis mecanismos de desativação de fluorescência, como mostra o esquema da Figura 15.

Figura 15 – Esquema ilustrando os possíveis mecanismos de desativação do fluoróforo fotoexcitado na superfície das nanopartículas de ouro. a) emissão; b) interações intermoleculares na superfície e emissão; c) transferência de energia do fluoróforo para o metal; d) transferência de elétrons do fluoróforo para o metal. Adaptado de ⁸².

As consequências do que se observa na Figura 15 estão em outro trabalho desenvolvido por *Pramod* e colaboradores⁸³, que relata o estudo fotoquímico de nanopartículas de ouro funcionalizadas com o complexo $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$. A espectroscopia de tal complexo é bem conhecida⁸⁴ e seus derivados são extensamente estudados como fotossensibilizadores de células solares.

Nesse trabalho, *Pramod* mostrou uma transferência de elétrons foto-induzida capaz de gerar uma alta concentração local dos produtos oxidados e reduzidos ($[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ e $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^+$) na superfície das nanopartículas. Essas espécies foram caracterizadas espectroscopicamente e se mostraram suficientemente estáveis, sendo que experimentos utilizando apenas o complexo $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ indicaram claramente o papel das nanopartículas e do arranjo *core-shell* para a transferência de carga fotoinduzida.

Murray e colaboradores⁸⁵ mostraram a formação de nanopartículas funcionalizadas por atração eletrostática entre $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ e o ligante ácido acético

2-(2-aminopropanosulfanil), através da diminuição da banda de MLCT ($\text{Ru} \rightarrow \text{bpy}$) via transferência de energia.

O “Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia” (LQSN) também vem realizando alguns trabalhos^{86, 87} ao mostrar a interação de nanopartículas de ouro com pentacianoferratos modificados. O objetivo é explorar exatamente as propriedades dos complexos de metais de transição na superfície das nanopartículas. Os complexos derivados de pentacianoferratos foram amplamente estudados e suas propriedades eletrônicas e eletroquímicas são bem conhecidas^{88,89,90}.

As nanopartículas utilizadas foram sintetizadas em meio aquoso, diferente das citadas anteriormente. A vantagem é a possibilidade de melhor controlar o tamanho e conseqüentemente modular a banda de LSPR, além da superfície ser lábil e permitir simples troca de ligantes⁵, tópico que será bem discutido no decorrer da tese.

Para os complexos de $[\text{Fe}(\text{CN})_5(4\text{MPy})]^{3-}$ e $[\text{Fe}(\text{CN})_5(2\text{MPy})]^{3-}$ observou-se primeiramente a interação entre os ligantes 2 e 4-mercaptopiridina (2 e 4-MPy) com superfície das nanopartículas de ouro e constatou-se que apesar do ligante 4-MPy induzir agregação em comparação com o 2-Mpy, os complexos apresentaram comportamento diferente.

O espectro de extinção, juntamente com o espectro SERS, mostrou que apenas o complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(4\text{MPy})]^{3-}$ (Figura 16), foi capaz de estabilizar as nanopartículas; um resultado bastante interessante visto que blocos de montagem podem ser gerados a partir desse sistema. O complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(2\text{MPy})]^{3-}$ não foi capaz de estabilizar as nanopartículas.

Figura 16 – Esquema mostrando a disposição do complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(4\text{MPy})]^{3-}$ na superfície de uma nanopartícula de ouro. Adaptado de ⁵.

Algo muito interessante foi observado quanto ao complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{PZT}]^{3-}$, sendo PZT, o ligante pirazinaetanol, na superfície das nanopartículas. Primeiro, que é um dos únicos exemplos na literatura que mostra troca do ligante coordenante por outro através da diminuição da MLCT, segundo que o espectro SERS do complexo imobilizado é completamente diferente do complexo livre. Essa diferença observada no espectro pode ser um indicativo de uma interação química muito significativa do complexo com o ouro⁵.

Figura 17 – Esquerda: Esquema mostrando a disposição do complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{PZT})]^{3-}$ na superfície de uma nanopartícula de ouro. Direita: Comparação entre o (a) espectro SERS do complexo e (b) espectro Raman do complexo. A intensidade é relativa. Adaptado de ⁸⁷.

Todos os trabalhos apresentados até então mostram que a química de coordenação de superfície pode revisitar conceitos clássicos e pré-estabelecidos de química analítica, fotoquímica e fotofísica, através da influência que um complexo causa na superfície das nanopartículas e vice-versa. Porém, como visto no capítulo anterior, a interação entre as moléculas e superfície do ouro é um tanto complexa e precisa ser caracterizada por métodos espectroscópicos de superfície, como SERS.

Para isso, passou a ser mais interessante estudar moléculas mais simples, tendo como inspiração os clássicos trabalhos envolvendo derivados piridínicos em eletrodos, que tanto ajudaram a entender os fenômenos de intensificação e que abriram portas para o desenvolvimento de substratos SERS^{91,92}, estudos de *single molecule*^{93,94}, de química de coordenação de superfície⁹⁵, dentre outras aplicações. Uma vez que exista a compreensão global da interação de moléculas mais simples com nanopartículas de ouro, o estudo de moléculas maiores como complexos de metais de transição pode ser melhor planejado.

Nesse sentido, os trabalhos de *Corio* e colaboradores têm mostrado uma interessante aplicação ambiental na detecção de herbicidas por SERS^{96,97}. Variando a forma das partículas, os autores verificaram a influência da natureza do metal e da superfície na interação com as moléculas.

Por sua vez, os trabalhos de *Shen*⁹⁸ e *Bell*⁹⁹ são típicos exemplos do efeito do tamanho de partículas esféricas na intensidade relativa dos espectros SERS obtidos. Eles observaram que para estruturas muito grandes, excitações multipolares, podem diminuir a intensificação SERS e estruturas muito pequenas, com poucos átomos na composição do cluster metálico, apresentam um comportamento molecular frente à luz, sem ressonância plasmônica.

Logo, partículas esféricas e anisotrópicas são as bases dos substratos SERS utilizados. Imobilizados, na forma de suspensões coloidais, ou litograficamente construídos, a busca por reprodutibilidade, é ainda o maior desafio na obtenção desses substratos.

Os trabalhos de *R. Van Duyne* e colaboradores^{100,101,102} possuem grande relevância na literatura, utilizando substratos SERS previamente estudados como o AgFON (*silver film over nanosphere*) para uso como biomarcadores e biosensores.

N. Halas e colaboradores¹⁰³ utilizam substratos SERS compostos de *nanoshells* de sílica recoberta com ouro, para as mais diversas aplicações.

Y. Xia é conhecido por sua pesquisa com nanocubos de prata/ ouro e jaulas de ouro cujos plasmons absorvem no infravermelho e podem ser utilizados como agentes de contraste para tomografia fotoacústica^{††}, luminescência multifotônica^{§§} e também como agente fototérmico para tratamento terapêutico, dentre outras aplicações como biosensores¹⁰⁴.

Da mesma forma, *L. Liz-Marzan*¹⁰⁵ e *C. Murphy*¹⁰⁶, são conhecidos por desenvolver metodologias para síntese de bastões de ouro e prata de tamanho controlado, para o desenvolvimento de sensores SERS.

A Figura 18 mostra imagens de microscopia eletrônica dessas partículas.

^{††} Xu, M.; Wang, L. V.; "Photoacoustic imaging in biomedicine", *Rev. Sci. Instrum.* **2006**, 77, 041101.

^{§§} DENK, W.; STRICKLER, J.; WEBB, W.; "Two-photon laser scanning fluorescence microscopy". *Science*, 1990, 248, 73.

Figura 18 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de alguns substratos SERS. A) AgFON (*film over nanosphere* de *Van Duyne*, B) Nanopartículas de sílica recoberta com ouro, de *N. Halas*, C) Nanocubos de prata de *Y. Xia* e D) Nanobastões de *C. Murphy* e *L. Liz-Marzan*.

São muitos os artigos que utilizam SERS para aplicações nobres e apesar de haver muitos substratos e esses serem bastante difundidos, o estudo da formação de algumas partículas anisotrópicas, por exemplo, ainda não é claro na literatura. Obviamente, sabe-se que algumas moléculas presentes na síntese se ligam preferencialmente em alguns planos cristalinos específicos de partículas utilizadas como sementes, obrigando o crescimento preferencial em determinadas formas, mas isso ainda não é uma química pré-estabelecida.

O erro em talvez caracterizar um substrato SERS acreditando ter controle sobre ele, está no fato de cada molécula poder interagir de forma muito diferente com a superfície. Isso significa que para um mesmo substrato SERS e para uma mesma molécula, é possível ter materiais diferentes.

Então, independente do substrato utilizado, é importante frisar que o espectro SERS envolve um conjunto de fatores que não depende apenas do substrato e sim da disposição das moléculas em sua superfície.

Um bom exemplo disso foi um trabalho recente realizado por *Melo* e colaboradores⁵⁶, que mostrou como a interação e os mecanismos de intensificação envolvidos entre um ligante simples como o bptz (Figura 19) e nanopartículas de ouro sintetizadas pelo método de *Turkevich*¹⁰⁷ (TAuNP), podem ser diferentes, dependendo de como se dá a troca do ligante lábil da superfície das TAuNPs, o que remonta na origem dos *hot-spots* discutido anteriormente.

Figura 19 – Possíveis interações do ligante bptz com TAuNPs

O objetivo principal durante o desenvolvimento desta tese foi elucidar ao máximo um assunto extremamente complexo que é o desenvolvimento de sensores SERS. O foco esteve não apenas no estudo do tipo de substrato nanoestruturado, mas principalmente no papel da molécula sonda que deveria apresentar um caráter multifuncional. Percebeu-se que, para cada molécula funcional estudada, haviam novos materiais compostos do conjunto molécula + nanopartícula. Assim, apesar do objetivo do estudo ser o desenvolvimento de sensores, muitos conceitos de química de coordenação poderiam ser estudados/elucidados.

Portanto, a tese divide-se em quatro partes:

A primeira mostra a modificação de uma síntese clássica de nanopartículas de ouro contendo ligantes lábeis em superfície.

A segunda mostra um ligante simétrico capaz de estabilizar nanopartículas de ouro quando realizada uma troca da camada passivante inicial; mostrando também como diferentes métodos de síntese influenciam a funcionalização pelo mesmo ligante. Além disso, a multifuncionalidade do ligante é explorada em todas as condições de síntese.

A terceira parte apresenta um ligante sem simetria que estabiliza partículas pela troca da camada passivante, dependendo da superfície lábil dessa partícula inicial. É apresentada a influência do tempo na coordenação do ligante em superfície e de diferentes eletrólitos nos processos de agregação.

A quarta e última parte finaliza o trabalho mostrando evidências de processos fotoinduzidos envolvendo a funcionalização pelos ligantes estudados anteriormente e por um outro, que aparentemente estabiliza as nanopartículas, mas que, diferentemente das condições dos capítulos anteriores, sofre influência da luz UV gerando filmes fotoagregados.

Em suma, serão apresentados diferentes moléculas sonda e estratégias de funcionalização para controle de interfaces e quais as preocupações experimentais que se deve ter para a obtenção de resultados confiáveis e reprodutivos, sempre monitorados por espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS).

O entendimento da natureza da cor do ouro, dos mecanismos de intensificação e de como a literatura trata a química de coordenação de superfície, se fazem especiais no exato momento em que as diferentes ciências se cruzam.

5 TÉCNICAS E EQUIPAMENTOS

Os materiais e reagentes serão descritos nas subseções experimentais de cada capítulo.

5.1 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA

Os espectros eletrônicos e de extinção foram obtidos com um espectrofotômetro com detector de rede de diodos da marca *Hewlett Packard* modelo 8453A para estudos na região de 190 a 1100 nm, utilizando cubetas de quartzo de duas faces com caminho ótico de 1,0 cm. Para os espectros de sólidos e filmes foi utilizado um espectrofotômetro de fibra ótica (*Field Spec*) da *Analytical Spectral Devices* (ASD) na região do visível e infravermelho próximo, de 400 a 1500 nm.

5.2 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL

Para espectros Raman e SERS foram utilizados dois espectrômetros Raman: um espectrômetro portátil da marca *In Photonics* com laser de excitação em 785 nm na faixa de 2000 a 350 cm^{-1} , potência máxima de 250 mW, operando com fibras ópticas e um Microscópio Raman Confocal da marca *Witec* com laser de excitação em 532 nm na faixa de 0 a 4000 cm^{-1} e potência máxima de 100 mW. A objetiva utilizada possui aumento 100 vezes e resolução lateral de 400 nm.

5.3 ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO

Os histogramas de distribuição de tamanho das partículas foram registrados em um equipamento que mede o Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) modelo *Nanotrak 252* da *Microtrac*, operando com configurações do tipo *heterodyne* e com sensibilidade entre 0,8 nm e 6,0 μm .

5.4 MEDIDAS DE POTENCIAL ZETA

As medidas de potencial zeta foram realizadas em um equipamento *Zetasizer Nano ZS* com sensibilidade para partículas entre 0,3 nm a 10 μm .

5.5 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

As imagens de Microscopia de Força Atômica (AFM) foram realizadas com a modalidade de AFM de contato intermitente. As pontas utilizadas eram de Silício da fabricante *Nanosensors*, modelo NCL-W, com frequência de ressonância em torno de 190 kHz e constante de força de 45 N/m. As imagens foram adquiridas em um microscópio de varredura por sonda (SPM), modelo PicoSPM I, acoplado aos controladores PicoScan 3200 e MACMode, da *Molecular Imaging*.

As imagens obtidas foram registradas com resolução que variava de 256 a 1024 pontos por linha, enquanto a velocidade de varredura usada foi em torno de 0,5Hz.

5.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas utilizando um microscópio com emissão de campo da marca *JEOL*, modelo 7200, assim como as análises de espectroscopia de energia dispersiva (EDS). As condições de aquisição das imagens estão apresentadas nas figuras e legendas das mesmas.

5.7 ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Os espectros de massa foram adquiridos utilizando um equipamento Esquire 3000 plus – Bruker Daltonics com ionização por *electrospray*. A amostra foi diluída 1:1, água e etanol, capilaridade 4000 V, nebulizador em 12 psi, fluxo de gás seco: 5 L min⁻¹ à temperatura de 300 °C. Os espectros foram obtidos no modo negativo.

**6 CONTROLE DA SÍNTESE E FUNCIONALIZAÇÃO
DE COLÓIDES/ NANOPARTÍCULAS DE OURO –
REDESCOBRINDO A SÍNTESE CLÁSSICA DE
TURKEVICH – 4^o PAPEL DO CITRATO**

Por um bom tempo, a ciência dos colóides era um assunto quase inteiramente descritivo, que aparentemente não se ajustava ao esquema geral da física e da química. O emprego de materiais de composição duvidosa, que introduzia considerável incerteza em questões de reprodutibilidade e interpretação, tirava a credibilidade e o empenho em se aprofundar os estudos desses sistemas.

É devido à grande complexidade dos sistemas coloidais, que o assunto não pode, muitas vezes, ser tratado com a exatidão associada a certos ramos da físico-química. É essa falta de exatidão e não uma possível falta de importância, a responsável pela incompreensão muitas vezes dos fenômenos associados aos colóides¹⁰⁸.

Porém, com o advento da nanociência e desenvolvimento de técnicas de microscopia eletrônica, de sonda e espalhamento de luz, passou a ser possível pesquisar, enxergar e controlar a forma e a distribuição de tamanho das partículas, tratando a química de colóides como um novo braço da química de materiais^{108,109}.

A característica essencial comum a todas as dispersões coloidais é a grande relação área/volume para as partículas envolvidas. Na superfície de separação entre a fase dispersa e o meio de dispersão, manifestam-se fenômenos de superfície característicos, tais como efeitos de adsorção e dupla camada elétrica.

A maneira de enxergar esses efeitos, pode ser repaginada com a abordagem da nanociência. Suspensões de nanopartículas de ouro são suspensões coloidais, por exemplo. Isso significa que nesse contexto, um colóide não é apenas uma partícula estabilizada por carga ou por impedimento estérico, mas por moléculas carregadas e/ou moléculas grandes como polímeros, (Figura 20).

Figura 20 – ilustração de uma suspensão de nanopartículas e como se dá a sua estabilização por carga (sinais negativos (-) representam moléculas carregadas como o citrato trissódico, cujo ânion está desenhado logo acima) e por impedimento estérico (estrelas azuis representam polímeros como por exemplo, a polivinilpirrolidona – PVP).

A carga superficial, que no sentido clássico compõe a dupla camada elétrica, tem agora identidade e vai ser estudada como tal.

6.1 CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO PELO MÉTODO DE *TURKEVITCH*

Juntamente com a síntese pelo método de *Brust*¹¹⁰ em meio orgânico, o método de *Turkevitch*¹⁰⁷, posteriormente modificado por *Frens*¹¹¹, é o método mais clássico de síntese em meio aquoso.

Turkevitch e colaboradores¹⁰⁷ foram os pioneiros a mostrar que a variação de tamanho das partículas era controlada pela concentração e natureza do agente redutor, pela temperatura e diluição dos reagentes.

Nesta tese serão discutidos os efeitos apenas das partículas obtidas utilizando citrato de sódio como agente redutor, por ser a síntese mais comumente estudada.

O método consiste na redução do ácido tetracloroáurico (HAuCl_4) por citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) em meio aquoso, utilizando agitação controlada e aquecimento à ebulição, para o desenvolvimento de nanopartículas. Os autores¹⁰⁷ observaram que diminuindo a temperatura, havia um aumento substancial do tempo de reação, considerada completa, dependendo da profundidade da coloração final. O tamanho médio das partículas também diminuiu consideravelmente, como pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2 – Efeito da temperatura na síntese de AuNPs utilizando citrato de sódio como agente redutor observado por Turkevitch¹⁰⁷.

Temperatura (°C)	Tempo aproximado para completar a reação (min)	Tamanho médio das partículas (nm)
100 (padrão)	5	200
80	25	165
70	45	180

Adaptado de¹⁰⁷.

Partindo de uma condição de síntese padrão (100°C, agitação vigorosa, 1Au:10cit), não só a temperatura, mas também a concentração do sal de ouro em relação ao citrato, foi um parâmetro de estudo da síntese. Variando a concentração, observou-se uma mudança na coloração das suspensões obtidas, indo do vermelho rubi forte (síntese padrão), até o roxo.

A coloração final costuma ser um indicativo de diferenças de tamanho, na maioria das vezes, e, apesar das condições experimentais não serem as melhores, é um artigo bem consistente que abriu portas para novas investigações^{111,112,113,114,115,116}.

Recentemente, o artigo de *Xiaohui Ji* e colaboradores¹¹³ mostrou que a proporção entre os reagentes de ouro e citrato pode também afetar a forma das partículas, gerando não apenas esferas, mas fios. Mostrou também que o citrato pode influenciar o pH da solução, dependendo do momento em que for adicionado à síntese.

O maior interesse nessa síntese, na verdade, é o fato do citrato ser o agente redutor e, um dos produtos de sua oxidação, ser a molécula que estabiliza a nanopartícula de ouro (poucos reagentes utilizados e fácil controle da síntese).

Na literatura¹¹⁷, entretanto, é comum mencionar que é o citrato que estabiliza as partículas e não um produto de sua oxidação. As partículas resultantes dessa estabilização são bastante utilizadas como *templates* para outras funcionalizações, isto é, tanto o citrato quanto o produto de sua oxidação são empiricamente ligantes lábeis, facilmente trocados por tióis. Essa é uma estratégia bastante utilizada para gerar funcionalidade^{118,119,120,121,122}, já que o controle de tamanho já foi bastante estudado e descrito¹¹³.

Olhando mais a fundo a superfície de um colóide/ nanopartícula, eles são circundados por uma dupla camada elétrica proveniente de cloreto e citrato (e possíveis produtos da oxidação desse último), adsorvidos, além de seus cátions correspondentes. A força coulômbica de repulsão resultante entre as partículas previne floculação, agregação e coalescência e vai ser diferente dependendo do tamanho da dupla camada. A Figura 21 mostra a situação existente entre duas partículas.

Figura 21 – Ilustração da estabilização eletrostática de colóides metálicos, em que atração de Van der Waals e repulsão eletrostática competem entre si. Reproduzido de ².

A repulsão coulômbica entre as partículas decai quase exponencialmente com a distância entre as partículas. O mínimo de energia potencial define uma situação estável. Portanto, se o potencial elétrico resultante da dupla camada elétrica for grande o suficiente, a repulsão eletrostática previne agregação. Porém, a carga superficial pode ser diminuída se os ânions adsorvidos são trocados por ligantes que se liguem mais fortemente e a dinâmica existente nessa troca passa a ser dependente da síntese inicial.

Será apresentado a seguir, um outro papel do citrato nas sínteses de nanopartículas de ouro de *Turkevich* (TAuNP), em que a sua concentração não afeta só o tamanho das partículas, mas a sua superfície e consequentemente a dinâmica da troca de ligantes.

6.2 PARTE EXPERIMENTAL – MODIFICAÇÕES DA SÍNTESE DE *TURKEVICH*

6.2.1 Síntese de T AuNP1

Primeiramente, toda a vidraria que seria utilizada na síntese foi lavada com água régia ($3\text{HCl}:1\text{HNO}_3$), de forma a garantir que não houvesse qualquer substância que pudesse interferir na redução do ouro. Preparou-se 10,0 mL de uma solução de citrato de sódio – $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich) de concentração $0,034 \text{ mol L}^{-1}$. Preparada essa solução, pesou-se 10,0 mg de HAuCl_4 (Aldrich) em um frasco de 25,0 mL e transferiu-se para um erlenmeyer de 200 mL seco. Então, foram adicionados 50,0 mL de água (*Milipore, Direct-Q – Ultrapure water systems*), submetendo a solução a uma agitação vigorosa e aquecimento até ebulição ($[\text{HAuCl}_4] = 5,88 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). Adicionou-se então, 2,0 mL da solução de citrato e rapidamente a solução ficou incolor, depois azul escura, roxa e finalmente vermelha. O aquecimento foi desligado, porém, a agitação foi mantida por mais 5 minutos. A reação foi resfriada à temperatura ambiente e depois mantida sob refrigeração.

O controle da reprodutibilidade da síntese foi feito utilizando o mesmo agitador, a mesma barra magnética e a mesma condição de ebulição; condições estas que necessitaram de maior empenho e tempo para sua definição.

Os primeiros estudos com a molécula 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT) utilizam essa suspensão de nanopartículas.

6.2.2 Síntese de T AuNP2 e T AuNP3

Os procedimentos de limpeza da vidraria utilizados foram os mesmos da síntese anterior.

Preparou-se uma solução de citrato de sódio $0,034 \text{ mol L}^{-1}$ e uma solução estoque de HAuCl_4 $5,88 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para as duas reações. Adicionou-se 50 mL da solução de ouro em dois balões de fundo redondo de 200 mL secos, submetendo a refluxo (banho de areia) em diferentes condições de temperatura e agitação (conforme o esquema da Figura 22). Então, adicionou-se a uma 1,0 e à outra 1,7 mL da solução aquosa de citrato de sódio (em uma adição só, no seio da solução) para sintetizar duas partículas com superfície reativa diferente (T AuNP2 e T AuNP3 respectivamente), que foram rapidamente formadas. O aquecimento foi desligado e a agitação mantida por mais 2 minutos. As reações foram resfriadas à temperatura ambiente e depois mantidas na geladeira.

Figura 22 – Esquema da síntese de T AuNP2 (esquerda) e T AuNP3 (direita) pelo método de *Turkevitch*¹⁰⁷ modificado.

Ambas as sínteses foram feitas sob refluxo para evitar evaporações, padronizando metodologias de síntese.

As duas sínteses T AuNP2 e T AuNP3 foram comparadas com a T AuNP1 e os resultados foram bastante interessantes. Entretanto o aprofundamento da caracterização de superfície se deu apenas com as sínteses T AuNP2 e T AuNP3, já que essas sínteses se mostraram altamente reprodutíveis comparando-se ao esforço necessário para reproduzir as partículas T AuNP1.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.3.1 Estudo das Interações de Superfície por Espectroscopia Eletrônica e Microscopia Eletrônica de Varredura

O controle do tamanho e da superfície reativa está intimamente relacionado aos procedimentos de síntese e à intensa coloração que apresenta a solução obtida. A coloração revela-se interessante não apenas por refletir o tamanho final que as partículas podem apresentar, mas também por mostrar diferentes estágios da síntese, sugerindo um processo de nucleação (formação de centros iniciais de cristalização) e crescimento (deposição de material sobre esses cristais/ partículas) de partículas de ouro. De maneira geral, há um elevado grau de dispersão quando a velocidade de nucleação é elevada e a velocidade de crescimento dos cristais é baixa¹⁰⁷.

As três partículas possuem máximos de absorvância distintos e seus espectros mudam um pouco em 6 dias (Figura 23). Para as partículas T AuNP1 e T AuNP3 houve um pequeno deslocamento da linha de base do espectro com o tempo, o que pode ser um indicativo de uma ligeira agregação das partículas. A

diminuição de intensidade das bandas em 536 e 528 nm para as partículas T AuNP2 e T AuNP3, respectivamente, pode ser um indicativo de uma reconstrução da superfície, evidenciado pelas mudanças nos valores do potencial zeta com o tempo (Figura 23).

Figura 23 – Espectros de extinção de TAU-NP1, TAU-NP2 e TAU-NP3 logo após a síntese (em preto) e depois de 6 dias (em vermelho). TAU-NP1 contendo ao lado os dados de máximo de absorvância, potencial zeta, condutividade e condições de síntese. A velocidade em rotações por minuto (rpm) e a temperatura em graus Celsius (°C) são valores nominais referentes ao agitador magnético utilizado.

A primeira síntese, das partículas T AuNP1, foi realizada sem refluxo e, ao entrar em ebulição, uma parcela dos 50 mL de água adicionados evaporou. Essa síntese, como mencionado anteriormente, precisou de empenho e tempo para definir as exatas condições de reprodutibilidade, uma vez que qualquer variação da taxa de evaporação, poderia concentrar a solução de ouro e alterar as características das partículas obtidas.

Entretanto, para essa síntese, a mudança de seu espectro de extinção com o tempo é menor, comparando-se às demais sínteses. Apesar de essa parecer a melhor síntese a ser utilizada, deve-se lembrar que, nesse caso, as condições estão otimizadas e, mesmo sem valores precisos de temperatura e velocidade de agitação, como as demais, um cuidado importante foi tomado para garantir uma maior homogeneidade: a concentração de citrato adicionada.

Inicialmente, o objetivo era obter partículas grandes e estáveis o suficiente para que ao modificar a força iônica, as partículas se aglomerassem e a banda de acoplamento plasmônico coincidissem com o laser de excitação, satisfazendo o mecanismo eletromagnético de intensificação. Por isso, inicialmente eram sintetizadas partículas sem refluxo, já que não havia preocupação com efeitos de superfície para a troca de ligantes, e sim, apenas com o tamanho que as partículas iriam apresentar.

O tamanho das nanopartículas T AuNP1 foi obtido através de imagens de microscopia eletrônica de varredura, utilizando dois métodos para o preparo de amostras.

O primeiro método foi *dropcasting* (gotejamento e evaporação) sobre vidro recoberto com FTO (óxido de estanho dopado com flúor). Como o substrato é um óxido, há uma afinidade pelos carboxilatos presentes na superfície das

nanopartículas, o que faz com que elas não interajam muito com elas mesmas e seja possível observar facilmente as diferenças de tamanho (Figura 24).

Figura 24 – Imagem de microscopia eletrônica de varredura mostrando a influência do substrato no preparo de amostras para caracterização do tamanho e individualidade das partículas. A imagem corresponde à síntese T AuNP1 com partículas de 25 nm em média. A amostra foi preparada por *dropcasting* sobre vidro recoberto com FTO.

É bem conhecido que a quantidade de citrato adicionada pode modificar o tamanho das partículas. Sabe-se também que a temperatura e a agitação são fatores importantes nos processos de crescimento e nucleação das partículas¹³. Não se sabe, entretanto, o que isso causa na reatividade delas.

Para uma melhor comparação entre as diferentes superfícies, o segundo método de preparo de amostras consistiu em utilizar também *dropcasting*, mas em um substrato mais hidrofóbico e sem afinidade pelos carboxilatos (HOPG – grafite pirolítico altamente organizado), para que ao evaporar a água, as partículas tivessem mais afinidade por elas mesmas do que pelo substrato e os efeitos de superfície se fizessem presentes para diferenciá-las (Figura 25).

Figura 25 – Imagem de microscopia eletrônica de varredura de TAU NP1. Amostra preparada por dropcasting sobre HOPG. (aumento de 100 e 15 mil vezes)

As imagens da Figura 25 mostram as mesmas partículas TAU NP1, agora preparadas sobre HOPG em que grandes diferenças podem ser observadas em função da forma como as partículas interagem com elas mesmas. Isso permite que a microscopia eletrônica seja utilizada não apenas para fazer imagens e definir

tamanho e morfologia, mas sim para observar propriedades de superfície, como será feito para T AuNP2 e 3.

O preparo da amostra faz bastante diferença nas imagens obtidas, como esperado, sendo difícil inclusive medir o tamanho das partículas, que aglomeram e, aparentemente chegam a fundir. Antes de inferir a respeito de qualquer efeito superficial, portanto, é importante escolher direito o substrato, para não ter conclusões precipitadas sobre o tamanho das partículas.

Como discutido anteriormente, uma caracterização mais profunda será dada para as partículas T AuNP2 e T AuNP3.

Pelas condições de síntese, esperava-se que o produto T AuNP2 fosse termodinâmico, já que a temperatura e a agitação são altas, ou seja, as condições são perfeitas para obter nanopartículas¹⁰⁷. O que se poderia prever, então, ao propor essa síntese, é que a superfície fosse mais homogênea, provavelmente com poucos domínios cristalográficos e consequentemente 1 valor de potencial zeta¹²³.

Outro fator a se prever é que as partículas teriam um tamanho relativamente grande (em torno de 30 nm) pela baixa quantidade de citrato adicionada. Isso poderia gerar uma heterogeneidade na distribuição de tamanho não muito homogênea, o que implicaria em processos do tipo *Ostwald ripening* ao buscar estabilidade¹⁰⁸.

De fato, há um valor apenas de potencial zeta (Figura 23), que muda pouco com o tempo e as imagens de microscopia eletrônica de varredura mostram partículas com uma média de 35 nm e boa dispersão sobre o substrato de HOPG, Figura 26 e Figura 27.

As amostras foram preparadas por *dropcasting* (10 μ L da suspensão, evaporado à temperatura ambiente em câmara de fluxo laminar para evitar contaminações).

Figura 26 – Microscopia eletrônica de varredura de TAuNP2. Amostra preparada por dropcasting sobre HOPG. (aumento de 75 mil vezes)

Figura 27 – Microscopias eletrônica de varredura de T AuNP2. Amostra preparada por dropcasting sobre HOPG. (aumento de 15 mil vezes)

Para a síntese realizada com uma maior quantidade de citrato adicionada (TAuNP3) espera-se a formação de partículas um pouco menores em relação à síntese anterior. No entanto, pensando em manter um tamanho próximo às partículas T AuNP2, as variáveis temperatura e agitação na síntese, foram modificadas.

Porém, uma agitação menor pode levar a uma homogeneidade menor, o que implica em núcleos maiores de crescimento de partículas. Aliado a uma temperatura menor, a ação do citrato como agente redutor é mais lenta, já que a reação é temperatura-dependente (energia de ativação igual a 15 kcal mol^{-1} ou $62,8 \text{ kJ mol}^{-1}$)¹²⁴.

Assim, visando manter um tamanho próximo às partículas T AuNP2, as variáveis temperatura e agitação na síntese foram modificadas de acordo com esses preceitos. Como a concentração de citrato é alta, o esperado era obter uma distribuição de tamanhos grande, proveniente de um produto cinético, cujas partículas provavelmente apresentariam superfície irregular e vários domínios cristalográficos, tendo como consequência mais de um valor de potencial zeta.

De fato, há uma distribuição larga de potencial zeta (com três valores máximos), que mudam um pouco com o tempo. As imagens de microscopia eletrônica de varredura mostram uma dispersão sobre o substrato de HOPG muito diferente da condição de síntese anterior, como se tivesse ocorrido uma fusão das partículas ao secar o solvente no preparo da amostra para a microscopia.

Essas amostras também foram preparadas por *dropcasting* (10 μL da suspensão, evaporado à temperatura ambiente em câmara de fluxo laminar para evitar contaminações) e podem ser vistas na Figura 28 e na Figura 29.

Figura 28 – Microscopias eletrônica de varredura de TAU NP3. Amostra preparada por dropcasting sobre HOPG. (aumento de 75 mil vezes)

Figura 29 – Microscopias eletrônica de varredura de TAU NP3. Amostra preparada por dropcasting sobre HOPG. (aumento de 15 mil vezes)

Por conta da aglomeração, a medida do tamanho é difícil de ser feita na imagem, portanto, não se sabe exatamente o tamanho das partículas, assim como aconteceu com a amostra T AuNP1.

De qualquer forma, deve-se salientar que apesar de ter sido provado que as superfícies são diferentes, ainda falta mostrar se há diferença na molécula passivante.

6.3.2 – Caracterização das Moléculas em Superfície

Um fato que ainda não foi citado para distinguir T AuNP2 e T AuNP3 é o pH de cada suspensão (3.48 e 4.80, respectivamente). Como os pHs são diferentes, estudou-se o espectro SERS em função do pH com o intuito de relacionar os espectros nos diferentes valores de pH com possíveis modos de coordenação do citrato em superfície.

Para a aquisição de cada espectro foi definida a condição que tivesse um máximo da banda de acoplamento plasmônico sem haver precipitação, através de testes de adição de NaCl 1 mol L^{-1} . As melhores condições foram obtidas quando 120 μL e 100 μL da solução salina eram adicionados de uma vez às soluções de T AuNP2 e T AuNP3, respectivamente (Figura 30).

Figura 30 – Esquerda: TAU NP2 – Em vermelho, espectro de extinção inicial, em azul, espectro com 120 μL de NaCl 1 mol L^{-1} adicionado de uma vez. Direita: TAU NP3 – Em vermelho, espectro de extinção inicial, em azul, espectro com 100 μL de NaCl 1 mol L^{-1} adicionado de uma vez.

Como cada suspensão possui um pH diferente, o que já pode ser um indicativo de superfícies distintas, estudou-se os espectros SERS das sínteses, comparando com os espectros SERS em pHs próximos.

A atribuição foi realizada comparando os espectros obtidos com outros espectros: espectro Raman do citrato, com espectros SERS de moléculas com longas cadeias alifáticas^{125, 126}, com espectro SERS de citrato adsorvido em nanopartículas de prata¹²⁷, com espectros de ácidos carboxílicos^{128, 129, 130, 131, 132} e com espectro Raman teórico da molécula cetona dicarboxilato (Figura 31), produto intermediário de oxidação do citrato, na reação redox com o ouro¹³³, cuja existência foi demonstrada por estudos de RMN ^1H na reação de redução de AgNO_3 para obter AgNPs¹³⁴.

Figura 31 – Representação da molécula cetoadicarboxilato contendo a numeração de cada átomo para comparação com a atribuição tentativa da Tabela 3 e Tabela 4.

A literatura mostra, entretanto, que isolar a molécula da mistura reacional pode ser um tanto complexo, devido à possível decomposição em acetona e acetoacetato¹³³. O mecanismo da reação proposta para a síntese de *Turkevich* pode ser vista na Figura 32.

Figura 32 – Proposta da reação de óxido-redução da síntese de *Turkevich*. O Au^{3+} reduz a Au^0 , enquanto o citrato pode oxidar a cetoadicarboxilato (em vermelho), funcionalizando a superfície das nanopartículas de ouro formadas. Adaptado de¹³³.

O primeiro procedimento adotado para comprovar a presença de moléculas diferentes em superfície foi o seguinte: primeiramente, realizou-se a troca da camada passivante do ligante superficial da síntese T AuNP2 por um tiol que se ligasse fortemente à superfície do ouro. Dessa forma, o produto da oxidação do ouro, mais lábil, não estaria mais na superfície das partículas. Em seguida, centrifugando a suspensão e coletando o sobrenadante, analisou-se o produto por espectrometria de massas, como pode ser visto na Figura 33.

Figura 33 – Espectro de massas do sobrenadante após centrifugar uma suspensão de T AuNPs2 que teve sua camada passivante trocada por um ligante contendo um grupamento tiol. A massa em 190.9 corresponde à massa do citrato, enquanto a massa em 144.9, corresponde à massa da cetonicarboxilato.

A massa em 190.9 corresponde ao citrato, enquanto a massa em 144.9 à cetonicarboxilato.

A presença da cetonicarboxilato na superfície de T AuNP2 foi um tanto surpreendente, pois isso significa ser possível isolar o produto intermediário da reação em superfície, algo nunca relatado na literatura.

Observou-se também uma quantidade de citrato remanescente, o que é natural, já que os mecanismos de nucleação e crescimento de colóides não podem ser estequiométricos para o controle de tamanho das partículas².

Para provar que de fato, a cetonadicarboxilato estava na superfície das T AuNP2, foram feitos estudos vibracionais. A Figura 34 e a Figura 35 mostram os espectros SERS das sínteses T AuNP2 e T AuNP3 em comparação com espectros em diferentes pHs. Considerando que o citrato possui três valores de pK_a ¹¹³ e que os espectros poderiam ser interpretados em função de equilíbrios ácido-base ao invés de diferentes produtos em superfície para cada síntese.

A Tabela 3 e a Tabela 4 mostram a atribuição tentativa das bandas.

Figura 34 – Espectros SERS de TAU2NP2 (pH 3.48) em comparação com espectros SERS de TAU2NP2 em diferentes pHs. Todos os espectros foram obtidos com a adição de 120 μL NaCl 1molL⁻¹.

Figura 35 – Espectros SERS de TAU3NP3 (pH 4.80) em comparação com espectros SERS de TAU3NP3 em diferentes pHs. Todos os espectros foram obtidos com a adição de 100 μL NaCl 1molL⁻¹.

Tabela 3 – Comparação entre o espectro SERS de TAU NP2 (pH3.48) com espectro Raman teórico da molécula de citrato e do produto de oxidação de citrato.

Raman citrato	Atribuição Tentativa	cetona dicarboxilato	Atribuição Tentativa	pH2	pH3	pH4	pH5	TAuNP2
898	$\nu\text{C-COOH} + \nu\text{CC}(\text{trans-trans})$	888	$\nu\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3\text{sym}_{\text{ip}} + \nu\text{C}^{4,5}\text{C}^{3,1} + \nu\text{C}^{4,5}\text{O}^{9,7} + \beta\text{O}^{7,9}\text{H}^{15,16}$	855	853	855	853	851
943	$\nu\text{C-COO}^- + \text{CH}_2\text{rock}$	917	$\nu\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3\text{sym} + \nu\text{O}^7\text{C}^5\text{C}^1\text{sym} + \nu\text{C}^3\text{C}^4\text{O}^9\text{sym} + \beta\text{O}^{7,9}\text{H}^{15,16}$					
955	$\nu\text{CCsym} + \nu\text{CCOtrans}$	997	$\nu\text{C}^5\text{C}^1\text{C}^2 + \text{C}^2\text{C}^3\text{C}^4\text{wagg}^{(5,4,2)}_{\text{iphop}} + 2(\text{CH}_2)\text{twist} + \beta\text{O}^7\text{C}^5\text{O}^1_{\text{op}} + \beta\text{C}^3\text{C}^4\text{O}^9_{\text{op}} + 3(\beta\text{OH})_{\text{op}}$	1010	1010	1008	1008	1010sh
		1020	$\nu\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3\text{as} + 2(\text{CH}_2)\text{wagg} + \nu\text{C}^{4,5}\text{O}^{9,7} + 7(\text{vw}) + 2(\beta\text{OH})(\text{w}) + \beta\text{C}^2=\text{O}^6$	1018	1020	1018	1016	1020
1063	νCCsym parafina							
1095	$\nu\text{CC trans}$, parafina							
1151	νCCO álcool	1150	$\nu\text{C}^{4,5}\text{O}^{9,7}(\text{s}) + 2(\text{CH}_2)\text{wagg}(\text{s}) + \beta\text{C}^{4,5}=\text{O}^{10,8}$					
		1162	$\nu\text{C}^{4,5}\text{O}^{9,7}(\text{vs}) + \beta\text{O}^{7,9}\text{H}^{15,16}(\text{vs}) + 3(\beta\text{C}=\text{O})(\text{m}) + \nu\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3_{\text{oph}}$	1160	1160	1156	1156	1156
1191	CH_2twist	1184						
		1261	$2(\text{CH}_2)\text{twist} + \nu\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3_{\text{op}}(\text{w}) + \nu\text{O}^7\text{C}^5\text{C}^1_{\text{op}}(\text{vw}) + \nu\text{C}^3\text{C}^4\text{O}^9_{\text{op}}(\text{vw}) + 2\beta\text{OH}(\text{s})$	1233	1230	1233	1230	1233
		1276	$\nu\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3\text{sym} + 2\nu\text{OCO} + \text{CH}_2\text{wagg}$		1267			1269
1288	$\nu\text{CO} + \beta_{\text{ip}}\text{OH}$	1287	$2(\beta\text{OH}(\text{vs}))_{\text{ip}} + 2(\nu\text{OCO}) + \nu\text{CCCas}$	1292	1291	1293	1291	1284
1304	$\text{CH}_2\text{ twist}$, parafina							
1388	$\nu\text{CO}_2^- \text{ sim} + \beta\text{CH}_{2\text{ip}} + \text{CH}_2\text{wagg}$	1398	$\nu\text{C}^{5,4}\text{O}^{7,9} + \beta\text{C}^5\text{O}^8 + \nu\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3\text{sym} + \beta\text{C}^{4,5}\text{C}^{3,1} + 2\text{CH}_2\text{sc}_{\text{ip}}$		1384 sh	1384	1384 sh	(1380-1367)

		1397	2(CH ₂)sci _{oph}	1367	1369	1367	
1441	βCH _{2ip} as			1440	?	?	?
1571	νCO ₂ ⁻ as			1567	?	?	?
1601	νCO ₂ ⁻ as						
				1610	1610	1614	1605 1609

v = estiramento, β = dobramento, ip = in plane, op = out-of-plane, iph = in-phase, oph = out-of-phase, sym = symmetric, as = asymmetric

Tabela 4 – Comparação entre o espectro SERS de TAU_{NP3} (pH 4.48) com espectro Raman teórico da molécula de citrato e do produto de oxidação de citrato.

Raman citrato	Atribuição tentativa	cetona dicarboxilato	Atribuição tentativa	pH3	pH4	pH5.5	pH6	TAU _{NP3}
411	β _{ip} CCC							
		471	2(CH ₂)rock _{oph} +βO ⁷ C ⁵ C ¹ + βC ³ C ⁴ O ⁹ + β _{ip} O ^{7,9} H ^{15,16}					
					505	505	505	
525	β _{ip} CCC				517	518	518	512
545	β _{op} CCO+β _{ip} CCO	547	β _{op} C ¹ C ² C ³ (vw)+ βO ^{7,9} H ^{15,16} _{opiph} +2(CH ₂)twist _{oph}					
595	β _{ip} CCO+CCCCtwist	552	βO ^{7,9} C ^{5,4} O ^{8,10} sym+βC ² =O ⁶					
898	νC-COOH+νCC(trans-trans)	888	νC ¹ C ² C ³ sym _{ip} +νC ^{4,5} C ^{3,1} +νC ^{4,5} O ^{9,7} + βO ^{7,9} H ^{15,16}					
		917	νC ¹ C ² C ³ sym+νO ⁷ C ⁵ C ¹ sym+ νC ³ C ⁴ O ⁹ sym+ βO ^{7,9} H ^{15,16}					
943	νC-COO ⁻ + CH ₂ rock			?	?	?	?	943
955	νCCsym+νCCOtrans			?	?	?	?	?
				970	?	?	?	?
		997	C ⁵ C ¹ C ² +C ² C ³ C ⁴ wagg ^(5,4,2_{iphop}) + 2(CH ₂)twist+βO ⁷ C ⁵ O ¹ _{op} +βC ³ C ⁴ O ⁹ _{op} +3(βOH) _{op}					

		1020	$\nu C^1C^2C^3as+2(CH_2)wagg+\nu C^{4,5}O^{9,7}$ (vw)+2(βOH)(w)+ $\beta C^2=O^6$	1023	1022	1023	1022	1023
1063	$\nu CCsym$ parafina							
1095	νCC trans, parafina							
1151	νCCO álcool	1150	$\nu C^{4,5}O^{9,7}(s)+2(CH_2)wagg(s)+$ $\beta C^{4,5}=O^{10,8}$			1150	1150	1153
		1162	$\nu C^{4,5}O^{9,7}(vs)+\beta O^{7,9}H^{15,16}$ (vs)+3($\beta C=O$)(m)+ $\nu C^1C^2C^3_{oph}$					
1191	CH_2 twist	1184						
				1228	1231			1233
		1261	$2(CH_2)twist+\nu C^1C^2C^3_{op}(w)+$ $\nu O^7C^5C^1_{op}(vw)+\nu C^3C^4O^9_{op}(vw)$					
		1276	$2\beta OH(s)+\nu C^1C^2C^3sym+2\nu OCO+C$ H_2wagg					
1288	$\nu CO+\beta_{ip}OH$	1287	$2(\beta OH(vs))_{ip}+2(\nu OCO)+\nu CCCas$	1293	1293	1294	1293	1293
1304	CH_2 twist, parafina			1304 sh	?	1301 sh	1306 sh	?
				1332	1334	1333	1334	1329
1388	$\nu CO_2^-sim +$ $\beta CH_{2ip}+CH_2wagg$	1398	$\nu C^{5,4}O^{7,9}+\beta C^5O^8+\nu C^1C^2C^3sym+$ $\beta C^{4,5}C^{3,1}+2CH_2sci_{iph}$			1373	1373	?
		1398	$2(CH_2)sci,oph$					
1441	$\beta CH_{2ip}as$							
				1529	1531		1527	
1571	νCO_2^-as							
1601	νCO_2^-as			1605	1605	1606	1605	1604
				1611	1611	1611	1611	1607

ν = estiramento, β = dobramento, ip = in plane, op = out-of-plane, iph = in-phase, oph = out-of-phase, sym = symmetric, as = asymmetric

A Figura 36 mostra uma comparação entre os espectros SERS das duas condições de síntese, destacando os deslocamentos entre algumas bandas e a existência ou não de outras.

Por exemplo, as bandas de T AuNP3 em 512 e 943 cm^{-1} , referentes a $\beta_{\text{ip}}\text{CCC}$ e $\nu\text{C-COO}^- + \text{CH}_2\text{rock}$, são inexistentes em T AuNP2, independente do pH. Isso significa que não são bandas provenientes de diferentes interações com a superfície (o que sugeriria diferentes modos de coordenação do citrato, apenas), mas sim da existência de outra molécula em superfície.

Um outro exemplo são as bandas em 1156 cm^{-1} de T AuNP2 e 1153 cm^{-1} de T AuNP3, que só puderam ser atribuídas com o auxílio dos espectros nos diferentes valores de pH, juntamente com os espectros teóricos do citrato e da cetonadicarboxilato. O citrato possui uma banda teórica referente a νCCO álcool em 1151 cm^{-1} , enquanto a cetonadicarboxilato possui uma banda em 1150 e outra em 1162 cm^{-1} , referentes a $\nu\text{C}^{4,5}\text{O}^{9,7}(\text{s}) + 2(\text{CH}_2)\text{wagg}(\text{s}) + \beta\text{C}^{4,5}=\text{O}^{10,8}$ e $\nu\text{C}^{4,5}\text{O}^{9,7}(\text{vs}) + \beta\text{O}^{7,9}\text{H}^{15,16}(\text{vs}) + 3(\beta\text{C}=\text{O})(\text{m}) + \nu\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3_{\text{oph}}$, respectivamente.

Os espectros de T AuNP2 nos diferentes valores de pH mostram bandas mais deslocadas para 1160 cm^{-1} , enquanto os espectros de T AuNP3 nos diferentes valores de pH, mostram bandas mais deslocadas para 1150 cm^{-1} , o que auxiliou e muito a atribuição, desconsiderando novamente modos de coordenação de uma espécie apenas e sim contribuindo para diferenciar as duas espécies, citrato e cetonadicarboxilato, em superfície.

Figura 36 – Comparação entre os espectros SERS de TAU NP2 (em preto) e TAU NP3 (em azul).

Foi realmente possível diferenciar a superfície das partículas observando os espectros SERS. As bandas que possuem um “ponto de interrogação” (indicadas nas tabelas), não puderam ter um máximo identificado, como por exemplo, entre 1340 e 1570 cm^{-1} , para TAU NP2, o que significa que pode haver uma mistura de produtos.

A análise fina dos espectros pôde ser realizada sem muita dificuldade, pois sendo os dois ligantes (citrato e cetoadicarboxilato) de natureza mais dura em relação aos átomos de ouro superficiais (Au^0 ou Au^+), a interação com a superfície seria mais fraca e a caracterização por intensificação dos modos vibracionais, mais direta apenas pelo efeito eletromagnético de intensificação.

Tanto a análise do espectro de massas do sobrenadante quanto dos espectros SERS das partículas, mostram que não há a presença da molécula acetoacetato (massa 101), que, de acordo com *Ojea-Jiménez*¹³³ seria mais

facilmente observado por ser o produto da decomposição de cetonadicarboxilato. Isso indica que, para essa metodologia de síntese, é o intermediário da reação (cetonadicarboxilato) que está presente na superfície. Um cálculo e uma análise da literatura¹³⁵, também mostraram que não há bandas coincidentes com a molécula acetoacetato nos espectros de Raman/SERS das nanopartículas.

TAuNP2 possui então, majoritariamente cetonadicarboxilato em sua superfície, enquanto TAuNP3, possui citrato na superfície.

Esse resultado foi realmente interessante e de grande relevância para a literatura de nanopartículas de ouro, uma vez que foi acrescentado mais um papel à concentração de citrato na síntese além de regular forma, tamanho e pH. A conclusão é que quanto mais estequiométrica for a relação entre ouro e citrato e quanto maior a temperatura e a agitação, maior é o produto de oxidação na superfície. Já para excesso de citrato, em condições de temperatura e agitação mais brandas, uma quantidade maior de citrato pode ser encontrada na superfície das partículas formadas.

Outro ponto importante é que modificando uma síntese clássica foi possível isolar o intermediário de uma reação, provavelmente estabilizado pela coordenação. Isso é um sinal de que a síntese de *Turkevich* ainda merece ser estudada, uma vez que a labilidade e mobilidade dos ligantes frente a outras moléculas que estabilizam melhor as partículas podem ser diferentes, como será visto adiante.

**7 ESTUDO DA MOLÉCULA 2,4,6-TRIMERCAPTO-
1,3,5-TRIAZINA (TMT) – COMPARAÇÃO ENTRE
DIFERENTES MÉTODOS DE SÍNTESE**

A molécula 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT) - Figura 37 - possui três átomos de nitrogênio e três átomos de enxofre, apresentando diversos tautômeros¹³⁶. Na presença de um solvente prótico, como a água, a forma presente em maior quantidade passa a depender do pH do meio. Essas espécies também foram previamente estudadas na literatura¹³⁷ e são conhecidas quais espécies preponderam em meio ácido, neutro e básico. Se o pH da solução estiver acima de 10, a espécie mais abundante é o triânion $C_3N_3S_3^{3-}$ (TMT^{3-}). Para valores de pH entre 5 e 10 as espécies mais abundantes são $HN_3S_3^{2-}$ ($HTMT^{2-}$) e $H_2N_3S_3^{-}$ (H_2TMT^{-}). Em pHs abaixo de 5 a espécie $H_3C_3N_3S_3$ (H_3TMT) está em maior quantidade.

Figura 37 – Estrutura da molécula 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT).

Essa molécula é extremamente interessante para servir como sonda, pois além de ser eficiente como modelo de estudo, não é tão simples a ponto de tornar a proposta pouco genérica. Esse é um dos pontos mais intrigantes: como uma molécula com seis pontos de coordenação pode ser capaz de estabilizar nanopartículas de ouro sem desestabilizar o sistema coloidal?

Os seis átomos doadores de elétrons da molécula a tornam muito versátil do ponto de vista da química de coordenação (átomos de enxofre hexocíclicos e nitrogênio heterocíclicos coordenantes, capazes de formar complexos). Também

podem ser obtidos sistemas supramoleculares estruturados por camadas, canais ou cápsulas, que podem ser obtidos por co-cristalização do ligante com moléculas orgânicas através de interações de hidrogênio^{138,139,140,141,142}.

Complexos de metais moles como o Cu (I) e o Au (I) são normalmente formados pela coordenação do metal ao átomo de enxofre, enquanto metais duros como o Li (I), são encontrados coordenados ao átomo de nitrogênio heterocíclico^{138,143,144,145,146}.

O ligante já foi estudado em função de seu pH isoladamente e na presença de nanopartículas de ouro¹⁴⁷. Espectros vibracionais (FTIR, Raman e NIR, em anexo) do ligante livre foram adquiridos e atribuídos para comparação com o espectro SERS do ligante coordenado ao ouro, sendo que inclusive um sensor SERS quantitativo foi criado para cádmio e mercúrio¹⁴⁸.

Essa tese vem mostrar, entretanto, que esse ligante ainda poderia ser muito explorado, servindo inclusive como um modelo para o desenvolvimento de uma metodologia de trabalho para a funcionalização de nanopartículas de ouro com confiabilidade.

Assim, experimentos já realizados anteriormente¹⁴⁷ serão utilizados nesta tese para comparação, visando um melhor entendimento.

7.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE AUNPTMT POR TROCA DA CAMADA PASSIVANTE (TCP)

Uma das estratégias clássicas de funcionalização está em trocar um ligante lábil por outro em superfície, mantendo a estabilidade das partículas. Para isso, o

método de *Turkevich* é amplamente utilizado, uma vez que a síntese, o controle de tamanho e da superfície lábil, são facilmente obtidos.

Preparou-se então, uma solução aquosa do ligante 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT) ($C_3N_3S_3H_3$) – Aldrich de concentração $8,45 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, diluiu-se 1:10 e guardou-se as duas soluções em local escuro. Para 40,0 mL de solução adicionou-se 10,0 mL da solução TMT ($8,45 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) a uma mistura de 20,0 mL de TAuNP1 e 10,0 mL de água.

7.1.1 Resultados e Discussão

O espectro SERS é um espectro de um conjunto molécula + ouro e está sujeito a todos os efeitos de intensificação discutidos anteriormente, por isso a grande dificuldade de interpretá-los. Logo, um procedimento lógico de interpretação é necessário, de forma a caracterizar da melhor maneira possível todos os sistemas que foram estudados e fazer comparações realistas entre espectros Raman e SERS. Tudo isso visando criar um protocolo em que ao se trabalhar com sistemas parecidos, deve-se ter pelo menos um caminho para interpretar os resultados. Logo, ao planejar um experimento:

1. Obtém-se espectros UV-Vis do ligante no solvente que será estudado em diferentes concentrações e pHs, para prever possíveis efeitos ressonantes (RR) no espectro SERS (em anexo).
2. Obtém-se um espectro Raman da amostra (*in natura*) utilizando a mesma linha de laser que será realizado o estudo SERS e, se possível, também da amostra em solução (concentrada $\sim 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) para melhorar a interpretação e comparação entre os espectros Raman e SERS (em anexo).

3. Obtém-se um espectro na região do infravermelho (em anexo).
4. Otimiza-se e calcula-se um espectro Raman e infravermelho teórico da molécula isolada.
5. Relaciona-se, então, os resultados experimentais com os teóricos e com os da literatura, tentando atribuir a vibração que o software mostra para cada frequência (utilizando fatores de escala para corrigir as frequências em função do método e do conjunto de bases utilizado).
6. Passos 4 e 5 são refeitos quantas vezes forem necessários em função dos dados experimentais e condições de síntese.

A Figura 38 possui imagens de MEV da síntese T AuNP1 e após a troca da camada passivante por TMT. As microscopias mostram claramente o papel do TMT em melhor passivar a superfície das partículas ao impedir que elas aglomerem. O raciocínio do preparo de amostra foi similar ao do capítulo anterior, ao utilizar um substrato hidrofóbico como HOPG e verificar pelas imagens, as diferentes interações superficiais.

Figura 38 – Microscopias eletrônicas de varredura. Esquerda: TAuNPs1 e Direita: AuNPsTMT em diferentes magnificações. Amostras preparadas por *drop casting* sobre HOPG.

Na formação de uma monocamada, há uma troca das substâncias adsorvidas da superfície do ouro pelo tiol que adsorve rapidamente na superfície. Essa passivação leva de 5 a 6 minutos com 90 % da superfície coberta pelas moléculas de tiol^{149,150,151,152}.

A ligação formada pela quimissorção do tiol no substrato de ouro tem dois efeitos: 1º) Induzir uma tensão local na superfície de ouro que é aliviada libertando átomos de ouro sobre a superfície para formar uma cova ou “ilha” de vacância; e 2º) Aumentar a mobilidade do complexo ouro-tiolato na superfície. Essas vacâncias coalescem durante a passivação do tiol com a movimentação dos átomos de ouro e se reorganizam formando rugosidades diferentes das originais.

O estudo teórico da molécula de TMT foi realizado para auxiliar na interpretação dos espectros SERS. Sendo o TMT uma molécula simétrica, sua perda de simetria poderia trazer muitas informações quanto à diferentes funcionalizações.

A molécula de H₃TMT foi desenhada no software *HyperChem* 8.0 e pré-otimizada por mecânica molecular. Posteriormente, utilizando o software *Gaussian 03W* e *Gaussview 04*, a estrutura da molécula foi reotimizada (simetria C_{3h}) e sua energia e o espectro Raman teórico também foram calculados através de três metodologias: *Hartree Fock* restrito (do inglês, *restricted hartree fock* – RHF), Teoria do Funcional da Densidade^{153,154} (do inglês, *density functional theory* – DFT) e RHF em seguida DFT. Todos os cálculos foram realizados utilizando dois conjuntos de bases 631-G e 6-311-G com orbitais d e p adicionais. O cálculo DFT utilizou o funcional híbrido B3LYP¹⁵⁵, que combina o híbrido de troca de Becke de três parâmetros (B3)¹⁵⁶ e o funcional de correlação não-local (LYP)¹⁵⁷ de Lee-Yang-Parr. Os fatores de correção das bases podem ser encontrados na literatura^{158,159}.

A quantidade de variáveis se fez necessária para verificar qual metodologia se adequava melhor à molécula estudada, além de procurar garantir um menor custo computacional e uma interpretação comparativa, sem um aprofundamento teórico muito grande por enquanto, focando o trabalho nas diferentes metodologias experimentais para aquisição de diferentes informações a respeito das mesmas moléculas.

Simular o que seria uma coordenação com a superfície de uma nanopartícula ainda é um desafio, uma vez que o ouro é um átomo pesado e com efeitos relativísticos a serem considerados; que implicam em separar a contribuição das bases no cálculo.

Alguns trabalhos, entretanto, procuram simular o espectro experimental incluindo diferentes superfícies do metal¹⁶⁰. Porém, não é bem estabelecido quantos átomos são suficientes para simular uma superfície e se essa superfície representa de

fato a realidade¹⁶¹. Outro importante fator a ser considerado é o alto custo computacional desses cálculos, apesar de serem mais corretos e que podem inclusive verificar teoricamente bandas de transferência de carga que experimentalmente podem ser encobertas pelo espectro de extinção e interpretar melhor os espectros SERS¹⁶².

É importante lembrar que há sempre uma comparação entre a molécula livre e as diferentes possibilidades de coordenação no ouro. A molécula livre, na forma de tiol, possui simetria C_{3h} . Se coordenada por três tióis na superfície do ouro, admite-se que essa simetria se mantenha, apesar do anel poder interagir com a superfície do ouro por interação π ^{163,164}. Admite-se também que a molécula perca a simetria se coordenada por um ou dois tióis ou por um tiol e um nitrogênio.

A Figura 39 mostra uma comparação entre o espectro SERS experimental de AuNPTMT sintetizado por troca da camada passivante (TCP), com espectros Raman teóricos da molécula H_3TMT com simetria C_{3h} utilizando várias metodologias, H_3TMT com simetria C_s e H_2TMT^- com simetria C_{2v} , ambas por DFT. Essas últimas estruturas foram desenhadas partindo-se da estrutura otimizada por DFT com simetria C_{3h} . A molécula H_3TMT com simetria C_s foi obtida modificando o ângulo da ligação de um dos tióis C-S-H, quebrando a simetria, e a molécula H_2TMT^- com simetria C_{2v} foi obtida desprotonando um tiol e mantendo os ângulos e as distâncias de ligação S-H restantes simétricos.

Tabela 5 – Comparação entre o espectro SERS experimental de AuNPTMT sintetizado por troca da camada passivante (TCP), com espectros Raman teóricos da molécula H₃TMT (C_{3h}) utilizando várias metodologias teóricas, com as moléculas hipotéticas H₅TMT²⁺(Cs), H₃TMTga e também com a literatura.

H ₃ TMT(C _{3h})	H ₃ TMT(C _{3h})	H ₃ TMT(C _{3h})	H ₃ TMT	H ₃ TMT(Cs)	H ₂ TMT (C _{2v})	SERS	tiol calc. Literat ¹⁷⁴ ¹³⁶ C _{3h}	Atribuição tentativa literatura (tiol
RHF 6-31G (d,p)	DFT 6-31G(d,p)	RHF-DFT 6-31G(d,p)	Raman sólido	DFT 6-31G(d,p)	DFT 631G(d,p)	TCP	DFT 6-31G++(d,p)	C _{3h} e/ou cálculo*
			1354		1361	1350(w)		$\nu_{\text{assim anel}} + 2(\nu\text{C-S}) + \beta\text{C-S}^*$
1314 E'	1257 E'	1257 E'		1253	1284		1282 E'	$\beta\text{C}^1\text{-S} + \nu_{\text{anel}} + \beta\text{S}^{8,9}\text{-H}^{11,12} + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{s}) + \nu\text{C}^5\text{-S}^9(\text{vs})$
1314 E'	1257 E'	1257 E'		1244	1256	1258	1282 E'	$\nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{vs}) + \nu_{\text{anel}} + (\beta\text{S}^{8,9}\text{-H}^{11,12}) + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{s}) + \beta\text{C}^5\text{-S}^9$
1289 A'	1248 A'	1248 A'	1272	1233		1219	1272 A'	$\nu_{\text{sim anel}} \text{ nos "C"}$
1119 A'	1185 A'	1185 A'		1171		1150	1208 A'	$\nu_{\text{assim anel}} + 3(\beta\text{C-S}) + 3(\beta\text{S-H})$
991 A'	953 A'	953 A'	979	945	1012 e 1041	971	972 A'	$\nu_{\text{sim anel}} \text{ nos "N"} + 3(\beta\text{S-H})$
846 E'	820 E'	821 E'		855	897	896	837 E'	$\nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{w}) + \nu\text{C}^5\text{-S}^9(\text{s}) + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{m}) + \beta_{\text{anel}} + 3(\beta\text{S-H})$
846 E'	820 E'	821 E'		832	759	872	837 E'	$\nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{vs}) + \nu\text{C}^5\text{-S}^9(\text{s}) + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{m}) + \beta_{\text{anel}} + 3(\beta\text{S-H})$
				799				$3(\nu\text{C-S}) + \nu_{\text{anel}}(\text{w})$
				768				$\nu_{\text{op anel}} + \beta\text{S}^9\text{-H}^{12}$
				718				$\nu_{\text{anel}}(\text{vw}) + \beta\text{S-H}$
636 E''	610 E''	610 E''		619	682	605	620 E''	$\beta_{\text{op anel}}$
636 E''	610 E''	610 E''		610	643		620 E''	$\beta_{\text{op anel}}$
442 E'	432 E'	432 E'		429		485(vs)	440 E'	$\nu\text{C}^{5,3}\text{-S}^{9,8} + \nu_{\text{anel}}$
442 E'	432 E'	432 E'	442	424		432(vs)	440 E'	$\nu\text{C}^{1,3}\text{-S}^{7,8} + \nu_{\text{anel}}$
420 A'	412 A'	412 A'		393			420 A'	$3(\beta\text{C-S}) + 3(\beta\text{S-H})$
383 A'	375 A'	375 A'		370	351		383 A'	$3(\nu\text{C-S})$

Sendo op = fora do plano, sim = simétrico, assim = assimétrico, w = weak, vw = very weak, s = strong, vs = very strong

A Figura 39 mostra o espectro da síntese por troca da camada passivante (TCP), em que a maioria das bandas puderam ser atribuídas à molécula com simetria Cs. Para chegar a essa conclusão, além das metodologias discutidas anteriormente considerando a molécula de TMT com simetria C_{3h} , moléculas hipotéticas foram construídas com o intuito de considerar a quebra da simetria e a inserção de carga na molécula.

Figura 39 – Espectro SERS de AuNPTMT da síntese por troca da camada passivante e as vibrações correspondentes a cada banda de acordo com atribuição tentativa. Em destaque, pode-se ver a vibração em 971 cm^{-1} , referente à respiração do anel centrada nos nitrogênios.

Apesar da atribuição por simetria indicar que a espécie presente possui simetria Cs, não se pode afirmar, contudo, a disposição da molécula em superfície apenas pela análise desse espectro. A força de ligação Au-S provavelmente faria com que o ligante coordenasse tridentado pelos dois tióis e por um nitrogênio heterocíclico, porém, o caráter doador dos tióis pode mudar com a coordenação e a resposta não ser tão óbvia quanto parece.

O primeiro experimento utilizado para desvendar a coordenação do ligante em superfície, foi através da aquisição dos espectros com o tempo. Observou-se que o espectro não muda com o tempo, indicando que a troca da camada passivante de citrato, gera apenas um produto superficial ou uma média, que nunca muda.

Analisando as bandas na região de 440 e 837 cm^{-1} do espectro teórico da molécula com simetria C_{3h} , pode-se ver que elas são degeneradas (Tabela 5). O cálculo para a espécie H_3TMT (Cs) mostra que a degenerescência quebra, assim como no espectro experimental. Vale lembrar que a molécula H_3TMT (Cs) calculada é um caso hipotético em que não foi encontrado um mínimo absoluto estável, apresentando frequências imaginárias e serviu para comparação.

Era esperado que a análise da quebra de degenerescência das bandas auxiliasse na interpretação das três possibilidades de coordenação (Figura 40). Porém, isso não foi possível, pois as vibrações não são independentes e os modos de coordenação com o ouro alteram as duas bandas ao mesmo tempo, já que ambas as vibrações envolvem pelo menos dois dos três tióis da molécula.

Figura 40 – Possíveis disposições do ligante TMT na superfície de AuNPs. A) TMT monodentado; B) tridentado e C) bidentado

Analizando a Figura 39 e a Figura 40 mais de perto e contrastando as possibilidades de coordenação com as vibrações e a intensidade relativa das bandas do espectro, pode-se inferir que a banda que mais traz informações a respeito das possíveis coordenações é a banda em 971 cm^{-1} . Essa banda é atribuída a um estiramento simétrico do anel centrado nos nitrogênios (destacado na Figura 39), cuja intensidade é dependente de maior ou menor simetria que a vibração pode ter.

No caso da disposição do ligante mostrado na Figura 40A, o estiramento simétrico do anel, mostrado em destaque na Figura 39, teria maior simetria e, portanto, seria mais intenso. Assim, descarta-se a primeira possibilidade de coordenação por um tiol apenas, uma vez que a intensidade da banda referente a essa configuração é baixa.

Para tirar todas as dúvidas a respeito da segunda e da terceira possibilidade de coordenação e confirmar que uma maior simetria do estiramento simétrico do anel, de fato aumentaria a intensidade da banda em 971 cm^{-1} , recorreu-se a dois experimentos: Primeiro, realizou-se uma titulação das T AuNP1 com solução de TMT em baixas concentrações e segundo, reinterpreto-se a titulação por pH realizada anteriormente¹⁴⁷.

7.2 SÍNTESE POR TROCA DA CAMADA PASSIVANTE ADICIONANDO TMT AOS POCOS À SUSPENSÃO DE T AuNP1

Em um primeiro experimento, agregou-se uma suspensão de T AuNP1 com NaCl 1 mol L^{-1} (obtendo o espectro SERS) e em seguida, adicionou-se TMT de 10 em 10 μL ($8,46 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$) até totalizar 500 μL .

Em um segundo experimento, foram adicionadas quantidades menores de TMT à suspensão de ouro, agregou-se a suspensão e obteve-se o espectro SERS dessas concentrações menores de TMT adicionados.

Um esquema dos dois procedimentos ser visto na Figura 41.

Figura 41 – Esquema dos procedimentos realizados para adição de TMT aos poucos. Os experimentos foram separados em A e B, pois são apresentados dessa forma na seção de resultados. O retângulo aberto simboliza uma cubeta com TAuNPs1. A concentração da solução estoque de TMT era de $8,46 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

7.2.1 Resultados e Discussão

O mesmo experimento por troca da camada passivante foi realizado adicionando concentrações diferentes do ligante TMT às suspensões de TAuNPs1 para verificar como o ambiente químico poderia influenciar a coordenação do ligante adicionado.

Fazendo uma compilação desses experimentos e unindo à interpretação proposta nos experimentos anteriores, a Figura 42 e a Figura 43 trazem valiosas informações.

Os espectros da Figura 42 mostram que ao adicionar NaCl antes de adicionar o ligante de interesse, o que se observa é o espectro do citrato e depois uma mistura do

citrato e do TMT, pela quantidade de bandas em comum. Ao induzir aglomeração de TAuNP1 antes de adicionar TMT, menos sítios de ouro estão acessíveis sendo observado sinal apenas depois de 100 μL adicionados. A variação nos espectros entre a adição de 100 e 500 μL é praticamente imperceptível (mesmo com o tempo), provavelmente por ter saturado os sítios de *hot spots*.

Figura 42 – Titulação de TAuNP1 com TMT ($8,46 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) depois de adicionado NaCl em uma suspensão de TAuNP1 mostrando a possibilidade de funcionalização híbrida. Destaque para a região em 1200 cm^{-1} , para a banda em 971 cm^{-1} e para as bandas em 433 e 485 cm^{-1} que surgem com o decorrer da titulação.

Os espectros da Figura 43 mostram a adição do ligante antes de adicionar NaCl e uma certa diferença nos espectros de mesma concentração do ligante, comparando as duas figuras.

Figura 43 – Titulação de TAuNP1 com TMT ($8,46 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), adicionando dois volumes diferentes da mesma concentração de TMT e depois NaCl para aquisição de espectros. Destaque para as relações entre a banda em 971 cm^{-1} e as bandas em 443 e 485 cm^{-1} .

O que ambas figuras têm em comum é a relação entre as bandas em 971 cm^{-1} e as bandas 433 e 485 cm^{-1} . Essas bandas apresentam intensidade relativa bem diferentes da condição em que um volume maior do ligante é adicionado de uma vez só. A intensidade da banda em 971 cm^{-1} pode ser um indicativo de maior simetria da vibração que só é possível se o ligante estiver coordenado por apenas um tiol.

Esse é um resultado interessante, porque mostra que a concentração influencia na coordenação e, indiretamente, ajuda a interpretar a condição anterior. Em outras palavras, o ligante TMT coordena por um tiol (Figura 40A), se estiver em baixa concentração em relação ao citrato superficial.

7.3 TITULAÇÃO POR PH

Um estudo de titulação potenciométrica realizado durante o mestrado mostrou que o ligante coordenado era sensível a mudanças de pH¹⁴⁷. As titulações foram realizadas adicionando HCl 0,01 mol L⁻¹ e NaOH 0,1 mol L⁻¹ à suspensões de AuNPTMT em experimentos separados. Para a aquisição dos espectros, foram utilizadas alíquotas de 2 mL da suspensão com 150 µL de NaCl 1 mol L⁻¹.

7.3.1 Resultados e Discussão

Dentre as mudanças observadas, as bandas em 443 e 485 cm⁻¹ decaíam linearmente com o aumento do pH. Porém, como o comportamento espectral frente à variação de pH afetava todas as bandas do espectro (mesmo que não linearmente, Figura 44), um tratamento matemático um pouco mais rigoroso poderia auxiliar na interpretação da coordenação do ligante, fundamentando a atribuição dos valores de pK_as do ligante coordenado.

Figura 44 – Espectro SERS de AuNPTMT no intervalo de pHs entre 2,5-12,0. As titulações foram realizadas adicionando HCl 0,01 mol L⁻¹ e NaOH 0,1 mol L⁻¹ à suspensões de AuNPTMT em experimentos separados. Para a aquisição dos espectros, foram utilizadas alíquotas de 2 mL da suspensão com 150 µL de NaCl 1 mol L⁻¹.

Anteriormente¹⁴⁷, o tratamento foi realizado através de uma analogia ao “método do gráfico”¹⁶⁵ de absorbância em função do pH, em que o formato do gráfico, assim como o perfil obtido pela intensidade relativa do espectro SERS em função do pH, tem o formato de “S” (ou “S” invertido). Por esse método, os pontos de inflexão da curva sigmoidal forneceram os valores de pKa sugeridos como sendo pKa₁ ~ 4,48, pKa₂ ~ 6,50 e pKa₃ ~ 10,0.

Para confirmar os valores obtidos pelos pontos de inflexão do perfil da diminuição da banda em 443 cm⁻¹ dos espectros SERS, dois experimentos foram realizados. Utilizando o método da 1ª derivada¹⁶⁶, foram obtidos os valores de pKa como sendo pKa₁ ~ 4,48, pKa₂ ~ 8,48 e pKa₃ ~ 11,38 (Figura 45).

Figura 45 - Variação da banda em 443 cm^{-1} com o pH e a primeira derivada.

Como contra-prova, em um segundo experimento calculou-se os valores de pKa através do ε aparente das bandas de absorção do ligante com o pH (Figura 46), descontando a contribuição do espalhamento do espectro de extinção.

Figura 46 – Ilustração mostrando os deslocamentos dos máximos das bandas de LSPR e as variações nas bandas do ligante com o decorrer da titulação potenciométrica. Esquerda: AuNPsTMT, pH 3.5 a 7.0; Direita: AuNPsTMT, pH 7.5 a 11.5. (inset – bandas de absorção do TMT com o pH).

Através do espectro eletrônico do ligante, mesmo desconsiderando a contribuição do espalhamento, apenas dois valores de pH puderam ser calculados como sendo 5.53 e 8.56, próximos dos valores do ligante livre. O último pKa é muito

básico e a suspensão de nanopartículas estava começando a precipitar, não dando um resultado confiável (Figura 47).

Figura 47 – Gráfico do ϵ aparente do ligante TMT versus o pH e primeira derivada.

Isso pode ser um indicativo que esses valores calculados de pKa podem ser relacionados a uma mistura de ligantes livres e coordenados e que os valores de pKa calculados por SERS são de fato do ligante coordenado.

A primeira derivada mostrou o primeiro valor de pKa como sendo mais ácido e os outros dois mais próximos dos valores do ligante livre. A Tabela 6 mostra os valores dos pKas obtidos por SERS e pela análise do espectro eletrônico do ligante.

Tabela 6 – Valores de pKa do ligante TMT calculados por SERS e pela análise do espectro eletrônico.

METODOLOGIA	pKa1	pKa2	pKa3
1ª derivada – espec. eletrônicos	5.53	8.56	-
1ª derivada – banda em 443 cm ⁻¹ – espec. SERS	4.48	8.48	11.50
Ligante livre	5.71	8.36	11.38

A conclusão que se tira desse experimento é que nas condições de síntese padrão de troca da camada passivante (adição de um volume fixo de 0,5 mL de TMT com concentração igual a $8.46 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), o pH da suspensão está em torno de 4.5, e, portanto, é mais provável que ele coordene por um tiol, já que apenas o primeiro valor de pka é mais ácido, e também por um nitrogênio, já que a banda em 971 cm^{-1} é pouco intensa, sinal de menor simetria da vibração.

Outra conclusão importante é que é necessário estudar o espectro SERS do ligante em várias condições para poder afirmar como ele está ligado ao ouro.

Sumarizando, para a síntese de AuNPTMT por troca da camada passivante:

- Espectros SERS de T_{AuNP1}TMT utilizando NaCl como sal para modificar a força iônica, não mudam com o tempo.
- Foi necessário estudar as possíveis simetrias do ligante livre e coordenado para comparar espectros teóricos e experimentais.
- Foi necessário contrastar o aumento ou diminuição de simetria de algumas vibrações com as possibilidades de coordenação do ligante no ouro.
- Foi necessário estudar o comportamento frente ao pH.
- Foi necessário estudar a ordem de adição de reagentes e o efeito da concentração de TMT adicionado.

Todas essas constatações foram importantes para finalmente compreender que funcionalizar nanopartículas com um ligante multifuncional exige um cuidadoso estudo e uma ampla gama de experimentos complementares entre si. A Figura 48 finalmente resume as possibilidades de coordenação do ligante TMT na superfície de nanopartículas de ouro pela troca da camada passivante de citrato.

Figura 48 – Possíveis coordenações do ligante TMT na superfície do ouro variando a concentração do ligante em pH 4,5.

7.4 FORMAÇÃO DE COMPLEXOS EM SUPERFÍCIE

A condição quantitativa de análise por SERS descrita anteriormente¹⁴⁷ é muito interessante pois poucos são os exemplos analítico-quantitativos envolvendo SERS encontrados na literatura. Isso se dá exatamente por haver flutuação espectral com o tempo, devido às condições de agregação que provocam precipitação, sendo complicado definir um comportamento linear sem a utilização de um padrão interno. Como já mencionado, essa tese tem por objetivo apresentar uma caracterização mais aprofundada do que foi realizado¹⁴⁷, que foi a possibilidade de gerar sensores SERS.

Para tanto, após traçar estratégias experimentais para descrever o que deveria ser mais simples: a forma como o ligante se coordena à superfície do ouro, surgiu uma nova motivação: interpretar a interação das AuNPTMT com metais da família do Zn, por SERS, por uma visão clássica da química de coordenação.

7.4.1 Resultados e Discussão

Primeiramente, estudou-se novamente a interação do mercúrio, cádmio e zinco, em diferentes concentrações, para que em outras metodologias de síntese ou imobilizações do material Au-TMT, esse estudo fosse o principal parâmetro comparativo e um exemplo para o que viesse a seguir.

A Figura 49 mostra a titulação de AuNPTMT por Cd^{2+} , Hg^{2+} e Zn^{2+} , em concentrações diferentes.

Os espectros A e C correspondem aos espectros da titulação com íon cádmio e mercúrio realizados durante o mestrado, respectivamente, para baixas concentrações de ambos os metais. O limite encontrado foi de $2,5 \times 10^{-7}$ para o cádmio e $4,5 \times 10^{-7}$ para o mercúrio^{5,148}.

Os espectros B e D correspondem aos espectros da titulação com íon cádmio e mercúrio, respectivamente, para concentrações mais altas, em que observou-se um comportamento espectral um pouco diferente para cada metal na coordenação com o TMT, o que sugere mais de um equilíbrio de coordenação dependente da concentração do metal (a concentração e o pH do TMT não foram alteradas).

Os espectros E correspondem à titulação com Zn^{2+} e seu estudo foi essencial para uma análise mais detalhada de como os complexos são formados de acordo com as características básicas de cada metal da família.

Figura 49 – Perfil dos espectros SERS com o decorrer da titulação das AuNP1TMT com A) concentrações de Cd^{2+} entre $2,5 \times 10^{-7}$ e $2,15 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} ; B) concentrações de Cd^{2+} entre $5,36 \times 10^{-4}$ e $2,73 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} ; C) concentrações de Hg^{2+} entre $4,5 \times 10^{-7}$ e $1,67 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} ; D) concentrações de Hg^{2+} entre $1,92 \times 10^{-6}$ e $5,36 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} ; E) concentrações de Zn^{2+} entre $2,5 \times 10^{-4}$ e $5,6 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} . As setas indicam o sentido das titulações e as bandas destacadas serão discutidas no texto.

Essas informações são valiosas, pois permitem afirmar que o TMT é um ligante *probe* ativo para diferentes concentrações de metais pesados e não apenas para baixas concentrações, como se pensava. Além disso, caso fosse necessário, ajudaria a

desvendar indiretamente, a coordenação com o ouro pela forma como se dá a coordenação com esses outros metais.

Analisando os espectros em baixas concentrações, pode-se observar que para a titulação com cádmio, ocorre um aumento da banda em 971 cm^{-1} , de estiramento simétrico do anel centrado nos átomos de “N” e uma inversão de intensidade relativa das bandas em 1258 e 1119 cm^{-1} , que foram atribuídas como sendo respectivamente estiramento simétrico do anel centrado nos átomos de “C” e uma composição de dobramento no plano do anel com dobramento no plano de C-S (ver Figura 39).

Essa inversão entre as duas bandas, só existe para o Cd^{2+} , mesmo para altas concentrações, indicando coordenações diferentes entre os três metais. Vale lembrar que tanto o Hg^{2+} , quanto o Cd^{2+} são íons metálicos moles (sendo o mercúrio mais mole), enquanto o Zn^{2+} é um metal duro segundo a classificação de Pearson¹⁶⁷.

Apesar de o ligante possuir 6 átomos doadores, os tióis são mais moles e consequentemente seria de se esperar que eles coordenassem preferencialmente ao Hg^{2+} e ao Cd^{2+} . Porém, depois de coordenado (no caso do ouro), o caráter doador dos átomos disponíveis para coordenação do ligante, pode mudar ao coordenar com outros metais¹⁶⁸. A análise dos espectros leva a crer que o cádmio está coordenado aos nitrogênios no anel, fazendo com que o TMT fique mais simétrico e a banda de respiração centrada nos “N” (971 cm^{-1}) aumente bastante com o tempo para concentrações menores. Sendo essa vibração mais simétrica, é esperada a inversão das bandas em 1258 e 1119 cm^{-1} . Outro ponto que fortalece essa atribuição é o fato das bandas em 443 e 485 cm^{-1} , que envolvem principalmente estiramentos de C-S, não sofrerem alteração com o decorrer da titulação.

Em altas concentrações, a inversão das bandas 1258 e 1119 cm^{-1} também ocorre, mas as bandas em 443 e 485 cm^{-1} diminuem, indicando que também há

coordenação com os tióis também, ou seja, é provável que haja uma mistura de complexos formados (Figura 50). É bom lembrar que em água, a alta solubilidade do CdCl_2 é devido em parte à formação do íon complexo $[\text{CdCl}_4]^{2-}$.

Figura 50 – Esquema mostrando a formação de complexos de AuNPTMTCd^{2+} dependentes da concentração de Cd^{2+} . O arco simboliza a nanopartícula.

Como os três metais possuem configuração d^{10} , os complexos não são estabilizados por campo cristalino, sendo a estereoquímica dependente do tamanho e poder polarizante do cátion metálico e do tamanho e polarizabilidade do ligante¹⁶⁹.

Tanto o Zn^{2+} quanto o Cd^{2+} podem formar complexos tetraédricos, porém, no entanto, sendo o íon Cd^{2+} maior, este pode formar complexos octaédricos mais facilmente que o Zn^{2+} . Entretanto, o que é mais comum, são os complexos tetraédricos para o Cd^{2+} . Seguindo o mesmo raciocínio, há exemplos de complexos tetraédricos de mercúrio, porém, poucos de complexos octaédricos, uma vez que há

uma grande distorção nas ligações, com duas mais curtas e duas maiores que acabam levando à formação de complexos lineares, estereoquímica mais encontrada¹⁶⁹.

Analisando os complexos de mercúrio em diferentes concentrações, pode-se ver que as bandas em 443 e 485 cm^{-1} diminuem ligeiramente com a titulação, enquanto a banda em 971 cm^{-1} , aumenta um pouco para baixas concentrações de mercúrio adicionado e continua aumentando para concentrações maiores. Isso significa que a coordenação é bidentada desde o início e ao aumentar a concentração de Hg^{2+} , a molécula de TMT fica mais simétrica, pelo aumento da banda em 971 cm^{-1} . Como podem ser vistos na Figura 49 D e Figura 51.

Figura 51 – Esquema mostrando a formação dos complexos de AuNPTMTHg^{2+} dependentes da concentração de Hg^{2+} . O arco simboliza a nanopartícula.

A coordenação com o Zn^{2+} traz muitas respostas para a interpretação do sistema todo. Sendo um metal mais duro, sua afinidade pelo ligante se traduz na baixa constante de formação, já que é necessário uma concentração mil vezes maior para observar mudança no espectro.

O perfil da interação com Zn^{2+} , é inicialmente parecido com a titulação com Hg^{2+} pela diminuição das bandas em 443 e 485 cm^{-1} e a não-inversão das bandas em 1258 e 1119 cm^{-1} . A banda em 971 cm^{-1} , entretanto, não aumenta com o

decorrer da titulação. Para concentrações muito maiores, há a inversão das bandas, mas a banda em 971 cm^{-1} continua com baixa intensidade.

Em água, o íon Zn^{2+} encontra-se¹⁶⁹ como $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ e, provavelmente, se liga ao TMT como mostra a Figura 52. Dessa forma, a molécula não fica mais simétrica com o decorrer da titulação, mas ao mesmo tempo afeta as bandas em 443 e 485 cm^{-1} (referentes principalmente a $\nu\text{C-S}$, ver Figura 39). Sendo o Zn^{2+} um metal mais duro, é provável que a ligação tenha um caráter mais eletrostático.

Figura 52 – Esquema mostrando os complexos de AuNPTMTZn^{2+} formados na superfície de AuNPs dependentes da concentração de Hg^{2+} . O arco simboliza a nanopartícula.

Esse estudo de formação de diferentes níveis de complexos apresentou além de um estudo quantitativo¹⁴⁸, uma possibilidade de caracterizar através de uma visão clássica de química de coordenação a interação com metais em diferentes concentrações. A vantagem de se utilizar SERS para tal propósito é observar por uma análise fina dos resultados, várias esferas de coordenação.

Aos poucos, a versatilidade do ligante TMT como um *probe* está sendo apresentada em função de como se deve interpretar a funcionalização e a sua multifuncionalidade. Resta agora, verificar como outra metodologia de síntese, sem utilizar a estratégia de troca da camada passivante de um ligante lábil, influencia a sua disposição na superfície das nanopartículas de ouro.

7.5 SÍNTESE DE AUNPSTMT *IN SITU*

A intenção inicial desse experimento era formar um complexo de Au-TMT em solução, antes do ouro ser reduzido. Essa estratégia permite que ao ser reduzido, o ouro já esteja na presença do ligante funcional (por isso síntese *in situ*) e a sua maior importância está na possibilidade da inclusão de nanopartículas funcionalizadas em matrizes poliméricas ou inorgânicas com bom grau de dispersão, sem outras moléculas em superfície e em solventes não-aquosos.

A ideia também, era a de estudar espectroscopicamente, o complexo de Au-TMT, porém, descobriu-se que o ligante é capaz de reduzir o ouro sob determinadas condições experimentais (que serão discutidas). Portanto, o experimento se subdividiu em dois: síntese de AuNPTMT *in situ* com e sem agente redutor.

Para ambas as condições, lavou-se toda a vidraria que seria utilizada na síntese com água régia (3HCl:1HNO₃), lavando copiosamente em seguida com água (*Milipore, Direct-Q – Ultrapure water systems*) e secando em estufa até a utilização.

7.5.1 Síntese com a adição de agente redutor externo

Preparou-se uma solução estoque de [AuCl₄]⁻ de concentração 0,01 % (5,88x10⁻⁴ mol L⁻¹). Preparou-se uma solução de TMT 8,46 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ e diluiu-se 10 vezes.

Lavou-se 4 tubos de ensaio com água régia e depois copiosamente com água ultrapura. Secou-se os tubos em estufa até a sua utilização. Enquanto isso,

preparou-se 1,5 mL de uma solução aquosa de borohidreto de sódio (NaBH_4) – Aldrich, de concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em um eppendorf.

O procedimento a seguir é o mesmo modificando a quantidade de agente redutor adicionado.

Adicionou-se 16 mL de solução de Au^{3+} a um balão de fundo redondo e em seguida, 4 mL de solução de TMT ($8,46 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Agitou-se por dois minutos. Em seguida, adicionou-se 2 mL dessa solução a um tubo de ensaio, adicionou-se 5 μL da solução de NaBH_4 e rapidamente agitou-se com a ajuda de um agitador de tubos *Vortex-mixer* (Labnet). Adicionou-se mais 2 mL da solução e em seguida, mais 5 μL da solução de NaBH_4 .

Repetiu-se o procedimento anterior, mas adicionando 10, 20 e 40 μL da solução de NaBH_4 e guardou-se as suspensões até o dia seguinte para completa ação do agente redutor.

7.5.1.1 Resultados e Discussão

Alíquotas de uma solução de Au^{3+} e TMT de mesma concentração da síntese realizada por troca da camada passivante, foram separadas e colocadas em tubos de ensaio previamente limpos. A essas soluções foram adicionadas diferentes quantidades de agente redutor, como descrito anteriormente, e foram obtidos os seus espectros de extinção. As suspensões foram deixadas em repouso por 20 h para garantir completo consumo do agente redutor.

A Figura 53 mostra fotos das suspensões no dia 1 e depois de 20h (dia 2) e seus respectivos espectros de extinção com o tempo. Pode-se ver que as

colorações das suspensões são bem diferentes, indicando tamanhos diferentes de partículas.

Figura 53 – ESQUERDA: Foto das AuNPstMT sintetizadas *in situ* utilizando diferentes volumes de agente redutor ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) adicionados. Nas fotos, indo de maior para menor concentração, da esquerda para direita, no dia (acima) e após 20 h (abaixo). DIREITA: Espectros de extinção correspondentes às fotos (acima, há também espectros da solução de $\text{Au}^{3+} + \text{TMT}$, apenas para comparação antes da redução). As partículas sintetizadas adicionando $10 \text{ }\mu\text{L}$ de agente redutor estão destacadas na foto (abaixo-esquerda) em amarelo, por ter sido a única condição experimental que apresentou espectro SERS. À essa condição, adicionou-se $150 \text{ }\mu\text{L}$ de $\text{NaCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$ (direita-abaixo com máximos de absorvância em 535 e 844 nm).

Os valores máximos de absorvância de cada síntese sofreram um deslocamento em função do tempo, indicando o que ação do agente redutor se prolongou por um tempo, como esperado.

A primeira conclusão é que existe uma concentração perfeita para que a síntese fosse bem sucedida e pudesse ser analisada pelo espectrômetro Raman

existente no laboratório. Essa condição é a que possui menos agente redutor na síntese, o que geraria partículas maiores, com plasmons mais polarizáveis, cujos espectros SERS puderam ser analisados.

Uma reação de óxido-redução muito rápida leva a uma alta taxa de nucleação, diminuindo a quantidade de íons Au^{3+} em solução, precursores para o crescimento, levando à obtenção de partículas menores. Tal argumento pode explicar o tamanho pequeno das partículas obtidas utilizando um forte agente redutor como o borohidreto¹⁷⁰, em comparação com um agente redutor mais fraco, que precisa de uma maior energia de ativação, como o citrato.

Entretanto, uma quantidade menor de borohidreto, diminui a taxa de nucleação e aumenta a de crescimento, explicando o tamanho maior das partículas obtidas.

Essa constatação quanto à quantidade de borohidreto adicionada foi altamente empírica em um cuidadoso procedimento sintético, já que o borohidreto contribui com 8 elétrons na síntese de redução do Au^{3+} .

As imagens da Figura 54 e Figura 55, mostram a caracterização por microscopia eletrônica de varredura das partículas obtidas adicionando 10 μL de NaBH_4 0,1 mol L^{-1} (concentração = 2.49×10^{-4} mol L^{-1} na suspensão), que foram utilizadas para os posteriores estudos vibracionais.

Figura 54 – Microscopia eletrônica de varredura de AuNPTMT insitu utilizando 10 μ L de NaBH₄ 0.1 mol L⁻¹. Amostra preparada por *dropcasting* sobre FTO. (aumento de 55 mil vezes)

Figura 55 – Microscopia eletrônica de varredura de AuNPTMT *in situ* utilizando 10 μ L de NaBH₄ 0.1 mol L⁻¹. Amostra preparada por *dropcasting* sobre FTO. (aumento de 15 mil vezes)

Como já mencionado, espectros SERS foram obtidos de cada condição, sendo que apenas para adições de 10 μL de BH_4^- , 0.1 mol L^{-1} pode ser visto um bom espectro (Figura 56). Isso ocorreu, porque para concentrações maiores de borohidreto adicionadas, partículas menores foram obtidas e, por conta disso, não há ressonância entre os plasmons e o laser de excitação.

Figura 56 – Espectro SERS da síntese de AuNP_TMT *in situ* utilizando NaBH_4 na concentração de $2.49 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Olhando para o espectro da Figura 56, percebe-se que ele é bem diferente da condição anterior, indicando que a metodologia de síntese faz bastante diferença na disposição da molécula em superfície.

Imaginando que não havia nenhum impedimento para o TMT estar coordenado pelos três tióis, foi realizada uma atribuição tentativa das bandas (Tabela 7) em que o ligante teria uma simetria C_{3h} na superfície como pode ser visto

na Figura 57. Tentou-se também, adicionar Hg^{2+} como na condição anterior, de forma a mostrar indiretamente que se a hipótese proposta estivesse correta, não seria observada qualquer mudança nos espectros por não haver sítios livres para coordenação.

Figura 57 – Representação (fora de escala) da disposição do ligante TMT na superfície de AuNPs quando sintetizados pelo “método *in situ*”.

É bom ressaltar que nesse caso pode haver alguma contribuição dos modos vibracionais do agente redutor ou de algum produto de sua oxidação. De acordo com a literatura¹⁷¹, a única banda do espectro Raman do borohidreto de sódio dentro da região espectral estudada está em 1278 cm^{-1} e poderia ser atribuída à banda em 1271 cm^{-1} . Porém, o borohidreto, além de estar em baixíssima concentração em relação ao ouro, foi reduzido, gerando borato. Assim, atribui-se essa banda ao ligante, e o espectro não apresenta, portanto, nenhum interferente.

Tabela 7 – Comparação entre o espectro SERS experimental de AuNPTMT sintetizado *in situ* utilizando agente redutor, com espectros Raman teóricos da molécula H₃TMT (C_{3h}) utilizando várias metodologias teóricas, com a molécula hipotética TMTga₃(Cs) e também com a literatura.

H ₃ TMT(C _{3h})	H ₃ TMT(C _{3h})	H ₃ TMT(C _{3h})	SERS	TMTga ₃	Atribuição tentativa TMTga ₃	Atribuição tentativa literatura ¹⁷⁴ (tiol C _{3h}) e/ou cálculo *
RHF 631G (d,p)	DFT631G(d ,p)	RHF-DFT 631G(d,p)	<i>In situ</i> c/ ag.red.	DFT 631G(d,p)	DFT 631G(d,p)	
			1600			
1559	1527	1527	1564	1529		
			1463			
			1443			
			1326			$\nu_{\text{assim anel}} + 2(\nu\text{C-S}) + \beta\text{C-S} *$
1314 E'	1257 E'	1257 E'	1289			$\beta\text{C}^1\text{-S} + \nu_{\text{anel}} + \beta\text{S}^{8,9}\text{-H}^{11,12} + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{s}) + \nu\text{C}^5\text{-S}^9(\text{vs})$
1314 E'	1257 E'	1257 E'	1271			$\nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{vs}) + \nu_{\text{anel}} + (\beta\text{S}^{8,9}\text{-H}^{11,12}) + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{s}) + \beta\text{C}^5\text{-S}^9$
1289 A'	1248 A'	1248 A'				$\nu_{\text{sim anel}}$ nos "C"
				1219	$\nu_{\text{assim.anel}}$	
1119 A'	1185 A'	1185 A'		1176	$(\nu_{\text{assim.}} + \beta)_{\text{anel}} + \beta\text{C}^1\text{-S}^7 + (\nu\text{C}^{3,5}\text{-S}^{8,9})$	$\nu_{\text{assim anel}} + 3(\beta\text{C-S}) + 3(\beta\text{S-H})$
			1125	1120	$\nu_{\text{anel}} + \nu\text{C}^{3,5}\text{-S}^{8,9}(\text{s}) + \nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{m})$	
991 A'	953 A'	953 A'	1028 e 1043	922	$\nu_{\text{sim.anel}}$ nos três "N"	$\nu_{\text{sim anel}}$ nos "N" + 3(βS-H)
846 E'	820 E'	821 E'		807	$\beta_{\text{anel}} + 2(\nu\text{C}^{5,8}\text{-S}^{3,9})$	$\nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{w}) + \nu\text{C}^5\text{-S}^9(\text{s}) + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{m}) + \beta_{\text{anel}} + 3(\beta\text{S-H})$
846 E'	820 E'	821 E'				$\nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{vs}) + \nu\text{C}^5\text{-S}^9(\text{s}) + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{m}) + \beta_{\text{ipanel}} + 3(\beta\text{S-H})$
			762	767	$\beta_{\text{op anel}}$	
636 E''	610 E''	610 E''	?	610	$\beta_{\text{op anel}}$	$\beta_{\text{op anel}}$
636 E''	610 E''	610 E''	?	559	$\beta_{\text{op anel}}$	$\beta_{\text{op anel}}$
442 E'	432 E'	432 E'		436	$\beta_{\text{anel}} + 2(\beta\text{C}^{3,5}\text{-S}^{8,9}) + 2(\nu\text{C}^{3,5}\text{-S}^{8,9}) + \beta\text{C}^1\text{-S}^7$	$\nu\text{C}^{5,3}\text{-S}^{9,8} + \nu_{\text{anel}}$
442 E'	432 E'	432 E'		427	$\beta_{\text{anel}} + 3(\nu\text{C-S})$	$\nu\text{C}^{1,3}\text{-S}^{7,8} + \nu_{\text{anel}}$
420 A'	412 A'	412 A'		418	$\beta_{\text{anel}} + 2(\nu\text{C}^{3,5}\text{-S}^{8,9}) + \nu\text{C}^1\text{-S}^7$	$3(\beta\text{C-S}) + 3(\beta\text{S-H})$
383 A'	375 A'	375 A'	356	382	$\nu_{\text{anel}} + 3(\nu\text{C-S})$	$3(\nu\text{C-S})$

A evidência mais óbvia da coordenação por três tióis, como mostra a Figura 58, foi exatamente o fato de não haver resposta para mercúrio mesmo para concentrações da ordem de $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (3 ordens de grandeza maior que a concentração mínima detectada pelo tiol na síntese por TCP). O que se vê na Figura é apenas uma oscilação da banda em 356 cm^{-1} , o que não é indício de coordenação. Caso ocorresse, a molécula mudaria de simetria em superfície e mesmo se algum tiol fosse descoordenado, haveria deslocamento para maior energia observado nessa banda.

Figura 58 – Titulação de AuNPTMT insitu com Hg^{2+} .

Essa coordenação mais simétrica na superfície do ouro, faz com que as vibrações simétricas, mas fora de fase, sejam menos pronunciadas, ou desapareçam. Isso ocorre com as bandas em 433 e 485 cm^{-1} que não existem no espectro experimental, mas dão espaço à banda em 356 cm^{-1} , resultante de três estiramentos simétricos de $\nu\text{C-S}$ em fase.

A banda em 356 cm^{-1} é relativamente intensa no espectro experimental; por proximidade, a primeira atribuição tentativa seria em favor da banda em 382 cm^{-1} . A diminuição da frequência em comparação, se deve ao fato de que os três átomos de enxofre estão coordenados ao ouro e como a vibração envolve basicamente $\nu\text{C-S}$, é natural a diminuição significativa de energia das vibrações.

Quando a frequência de estiramento diminui, ou é porque houve diminuição da constante de força de ligação C-S ou é porque há uma estabilização da ligação C-S (se ela for conjugada e os modos vibracionais envolverem a maioria dos átomos). Com isso, há redistribuição de energia, o que na verdade diminui novamente a constante de força da ligação. É importante ressaltar que a frequência é inversamente proporcional às massas dos átomos que compõem a ligação, por isso, a frequência da ligação metal-ligante é tão baixa. Logo, a frequência da ligação C-S diminuiu consideravelmente, porque são três átomos de enxofre ligados ao ouro, o que exerce maior influência na ligação¹⁷².

O impedimento estérico para a adsorção do TMT não existe para essa síntese, favorecendo uma disposição coplanar evidenciada também pela intensificação das bandas fora do plano em 762 cm^{-1} , e na região em torno de 600 cm^{-1} . A regra de seleção do mecanismo EM está na intensificação dos modos normais de moléculas que possuem os componentes de polarizabilidade na mesma direção do campo elétrico induzido no substrato¹⁷³, ou seja, na adsorção coplanar do TMT sobre AuNPs, há coincidência entre os planos metálico e o molecular.

A análise por simetria é satisfatória para diferenciar os dois métodos de síntese, mas não explica a origem de muitas bandas da síntese *in situ*. Essas bandas também não são originadas por um mecanismo Raman ressonante e o fato de apresentar muitos átomos coordenantes, dificulta a interpretação.

A origem das outras bandas, provavelmente está atrelada à forte interação existente na ligação Au-S e, talvez um cálculo (que não foi realizado), simulando uma possível transferência de carga, poderia ajudar na interpretação.

Voltando ao experimento com o mercúrio, as forças de ligação entre Au-S e Hg-S são muito próximas, porém, mesmo uma alta concentração de mercúrio não foi capaz de deslocar o ligante da superfície do ouro.

Outra alternativa bem interessante seria sintetizar um complexo de Au-TMT e estudar alguma possível banda de transferência de carga, porém, observou-se que o ligante pode reduzir o ouro dependendo das condições experimentais.

7.5.2 Síntese sem a adição de agente redutor externo

Pesou-se 10,0 mg de HAuCl_4 em um frasco de 25,0 mL e transferiu-se para um erlenmeyer de 100,0 mL seco. Então, foram adicionados 50,0 mL de água ultrapura, submetendo a solução a uma agitação branda, mas sem aquecimento. A solução foi dividida em duas alíquotas. À primeira, foram adicionados 12,5 mL de TMT $8,46 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e à segunda, 12,5 mL de TMT $8,46 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Agitou-se a primeira solução para homogeneizar e observou-se uma mudança de coloração do amarelo (proveniente da solução de Au^{3+}) para vermelho alaranjado instantaneamente, indicando ou a formação de um complexo ou que o ligante reduziu o ouro formando nanopartículas relativamente pequenas, pela coloração¹³. Deixou-se a suspensão descansando até o dia seguinte no escuro (o ligante polimeriza com luz¹⁷⁴) e à temperatura ambiente.

Quanto à segunda solução, após meia-hora, agitação branda e protegida da luz, ela começa a adquirir uma coloração rosada e vai escurecendo até dar uma

hora e meia de reação (A coloração poderia ser devido à formação de nanopartículas maiores). A suspensão também foi deixada no escuro e à temperatura ambiente até o dia seguinte.

7.5.2.1 Resultados e Discussão

Muitos experimentos foram realizados para se certificar em que condições, o ligante estava de fato agindo como um agente redutor, porém, duas apenas foram escolhidas e discutidas, por serem condições extremas que poderiam dar informações tanto quanto à possível formação de um complexo, quanto a de uma nanopartícula.

O espectro da Figura 59 mostra o que poderia ser o espectro de extinção das nanopartículas reduzidas e estabilizadas por TMT com concentração $8,46 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A idéia foi adicionar uma concentração 10 vezes maior que a síntese anterior com agente redutor para ter uma relação Au-TMT 1:1. A solução mudou instantaneamente de coloração (de amarelo claro para amarelo escuro e depois para laranja-avermelhado) e uma banda em 515 nm apareceu, podendo ser indicativo da formação de um complexo ou de nanopartículas muito pequenas.

Figura 59 – Espectro UV-Vis correspondente à síntese AuNPTMT *in situ* sem agente redutor.

Para confirmar que de fato o ligante poderia ter reduzido o ouro, tentou-se agregar a possível suspensão (se fossem nanopartículas, apareceria a banda de acoplamento plasmônico) e obter uma imagem de microscopia eletrônica de varredura.

Os dois experimentos foram bem sucedidos. A Figura 60 e a Figura 61 mostram imagens de MEV confirmando a presença de partículas bem pequenas.

Figura 60 – Microscopia eletrônica de varredura de AuNPTMT insitu sem agente redutor adicionando 0.5 mL de TMT 10^{-4} mol L^{-1} sobre 2 mL de solução de $[AuCl_4]^-$ 5.88×10^{-4} mol L^{-1} agitando apenas para homogeneizar. Amostra preparada por dropcasting sobre FTO. (aumento de 23 mil vezes)

Figura 61 – Imagem de maior magnificação da amostra anterior. (aumento de 65 mil vezes)

Uma vez confirmada a hipótese do ligante TMT reduzir o ouro, sintetizou-se nanopartículas utilizando uma concentração do ligante 10 vezes menor (a mesma dos experimentos *in situ* com agente redutor), com a intenção de diminuir a taxa de nucleação, obter partículas maiores e os espectros SERS pudessem ser melhor estudados. A reação foi feita aumentando um pouco a temperatura, observando algo no mínimo bem interessante. A suspensão amarela, ficou transparente, depois preta, roxa e vermelho-rosada. Essa mudança observada é a mesma das partículas sintetizadas pelo método de *Turkevich*¹⁰⁷, indicando um processo de nucleação e crescimento de nanopartículas.

A Figura 62 mostra os espectros de extinção da síntese por troca da camada passivante e da nova condição de síntese e os correspondentes histogramas de distribuição de tamanho para ilustrar a mudança do máximo em função da não-homogeneidade do tamanho.

Figura 62 – Esquerda: Espectro de extinção das AuNPSTMT sintetizadas por troca da camada passivante de citrato. *Inset*: Histograma de distribuição de tamanho das nanopartículas com média em 30 nm. Direita: Espectros de extinção das AuNPSTMT sintetizadas *in situ*. Cada espectro corresponde aos tempos de reação de 30min, 1h, 1h30min e 1h40min, com os respectivos máximos de absorção, seguindo a seta. *Inset*: Histograma de distribuição de tamanho das nanopartículas sintetizadas com tempo de reação de 1h30min.

A reação demorou um pouco mais para acontecer, adquirindo inicialmente uma coloração rosada e escurecendo até dar uma hora e meia de reação.

A voltametria de uma solução saturada apenas do ligante TMT (Figura 63), mostra que o ligante possui uma onda irreversível de oxidação em aproximadamente 0,2 V (sem contar que eletropolimeriza com sucessivas varreduras), em contraste com o ouro que é um metal nobre e possui um potencial de oxidação em torno de -1,4V (vs Ag/AgCl).

Figura 63 – Voltametria cíclica de uma solução saturada do ligante 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT). Dados: *Step potential* (V) = 0,00320; *Start potential* (V) = -.05000; *Scan rate* (V/s) = 0,05003; *Equilibration time* (s) = 10. Total de 30 scans.

O deslocamento para o vermelho dos espectros de extinção com o tempo é um indicativo de uma polidispersão, como pode ser visto pelo *inset* (direita) da Figura 62. Admitindo que essa polidispersão pudesse afetar o ambiente químico no qual as moléculas de TMT se encontram, modificou-se a força iônica em cada tempo de reação, adquiriu-se espectros de extinção (Figura 64) e obteve-se espectros SERS para observar como isso refletia no espectro intensificado.

Figura 64 – Espectros de extinção das AuNPSTMT sintetizadas *in situ*. Cada espectro corresponde aos tempos de reação de 30min, 1h e 1h30min, com os respectivos máximos de absorção da banda de acoplamento plasmônico. Aglomeração induzida com aumento da força iônica, adicionando 100 μL de NaCl 1 mol L^{-1} . A linha pontilhada em vermelho indica a região do laser utilizado para estudos SERS.

Quanto mais deslocado para o vermelho se encontra o máximo da absorção correspondente às nanopartículas individuais, mais deslocado será também o máximo da banda de acoplamento plasmônico. Isso pode ser visto na Figura 64, chegando ao ponto de coincidir com o comprimento de onda do laser do espectrômetro Raman utilizado ($\lambda = 785 \text{ nm}$), nos experimentos com SERS (Figura 65).

Diferentemente dos experimentos anteriores, esperava-se obter novamente variação espectral, já que para que o ouro reduzisse, o ligante tinha que ter oxidado. As mudanças existentes nos espectros com o tempo de reação não eram significativas e a caracterização vibracional (Tabela 8), além de todas as considerações a respeito da metodologia de síntese, foram feitas com a condição em 1h30 de reação.

Figura 65 – Espectro SERS de AuNPTMT sintetizado *in situ* após 30 min (acima), 1h (no meio) e 1h30 (abaixo) de reação. Todos os espectros foram obtidos adicionando 100 μL NaCl 1 mol L⁻¹ em 2 mL de suspensão de AuNPTMT.

Tabela 8 – Comparação entre o espectro SERS experimental de AuNPTMT sintetizado *in situ* **sem agente redutor**, com espectros Raman teóricos da molécula H₃TMT (C_{3h}) utilizando várias metodologias teóricas, com a molécula hipotética TMTga₃(Cs) e também com a literatura.

H ₃ TMT(C _{3h})	H ₃ TMT(C _{3h})	H ₃ TMT(C _{3h})	SERS	TMTga ₃	Atribuição tentativa TMTga ₃	Atribuição tentativa literatura ¹⁷⁴ (tiol C _{3h}) e/ou cálculo *
RHF 631G (d,p)	DFT 631G(d,p)	RHF-DFT 631G(d,p)	<i>In situ</i>	DFT 631G(d,p)	DFT 631G(d,p)	
			1361			$\nu_{\text{assim.anel}} + 2(\nu\text{C-S}) + \beta\text{C-S}^*$
1314 E'	1257 E'	1257 E'	1284			$\beta\text{C}^1\text{-S} + \nu_{\text{anel}} + \beta\text{S}^{8,9}\text{-H}^{11,12} + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{s}) + \nu\text{C}^5\text{-S}^9(\text{vs})$
1314 E'	1257 E'	1257 E'	1256			$\nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{vs}) + \nu_{\text{anel}} + (\beta\text{S}^{8,9}\text{-H}^{11,12}) + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{s}) + \beta\text{C}^5\text{-S}^9$
1289 A'	1248 A'	1248 A'				$\nu_{\text{sim.anel}}$ nos "C"
				1219		
1119 A'	1185 A'	1185 A'		1176	$(\nu_{\text{assim.}} + \beta)_{\text{anel}} + \beta\text{C}^1\text{-S}^7 + (\nu\text{C}^{3,5}\text{-S}^{8,9})$	$\nu_{\text{assim.anel}} + 3(\beta\text{C-S}) + 3(\beta\text{S-H})$
				1120	$\nu_{\text{anel}} + \nu\text{C}^{3,5}\text{-S}^{8,9}(\text{s}) + \nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{m})$	
991 A'	953 A'	953 A'	1012 e 1041	922	$\nu_{\text{sim.anel}}$ nos três "N"	$\nu_{\text{sim.anel}}$ nos "N" + 3(βS-H)
846 E'	820 E'	821 E'	897	807	$\beta_{\text{anel}} + 2(\nu\text{C}^{5,8}\text{-S}^{3,9})$	$\nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{w}) + \nu\text{C}^5\text{-S}^9(\text{s}) + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{m}) + \beta_{\text{anel}} + 3(\beta\text{S-H})$
846 E'	820 E'	821 E'	759	767	β_{opanel}	$\nu\text{C}^1\text{-S}^7(\text{vs}) + \nu\text{C}^5\text{-S}^9(\text{s}) + \nu\text{C}^3\text{-S}^8(\text{m}) + \delta_{\text{ipanel}} + 3(\beta\text{S-H})$
636 E''	610 E''	610 E''	682	610	β_{opanel}	$\beta_{\text{op.anel}}$
636 E''	610 E''	610 E''	643	559	β_{opanel}	$\beta_{\text{op.anel}}$
442 E'	432 E'	432 E'		436	$\beta_{\text{anel}} + 2(\beta\text{C}^{3,5}\text{-S}^{8,9}) + 2(\nu\text{C}^{3,5}\text{-S}^{8,9}) + \beta\text{C}^1\text{-S}^7$	$\nu\text{C}^{5,3}\text{-S}^{9,8} + \nu_{\text{anel}}$
442 E'	432 E'	432 E'		427	$\beta_{\text{anel}} + 3(\nu\text{C-S})$	$\nu\text{C}^{1,3}\text{-S}^{7,8} + \nu_{\text{anel}}$
420 A'	412 A'	412 A'		418	$\beta_{\text{anel}} + 2(\nu\text{C}^{3,5}\text{-S}^{8,9}) + \nu\text{C}^1\text{-S}^7$	$3(\beta\text{C-S}) + 3(\beta\text{S-H})$
383 A'	375 A'	375 A'	351	382	$\nu_{\text{anel}} + 3(\nu\text{C-S})$	$3(\nu\text{C-S})$

Os espectros SERS correspondentes a cada tempo de reação mostram que a única variação observada está na intensidade relativa dos espectros, que aumenta com o tempo de reação (maior concentração de nanopartículas formadas). Isso é um indicativo de que o produto foi formado em 30 minutos e o crescimento foi gradual e pouco homogêneo, evidenciado também pelo deslocamento para o vermelho da banda de LSPR, sendo que a disposição do ligante era sempre a mesma.

Apesar de algumas bandas não serem passíveis de atribuição, esse experimento foi bem interessante, pois mostrou que realmente não há contribuição do agente redutor no espectro e que é importante a preocupação com a natureza dos reagentes envolvidos para não se obter falsos resultados de funcionalização.

Analisando os espectros, pouco se pôde concluir a respeito da atribuição dessas bandas sem considerar o espectro como resultante da forte interação com o ouro, uma vez que há pouquíssima concordância com o tratamento teórico. Entretanto, as bandas em 1012 e 351 cm^{-1} , puderam ser atribuídas à espécie $\text{C}_{3\text{h}}$, o que é coerente, uma vez que não há citrato ou seu produto de oxidação remanescente, nem o produto de oxidação do agente redutor, o que poderia impedir a molécula de TMT de se coordenar por três pontos na superfície da nanopartícula. As bandas fora do plano em 759, 682 e 643 cm^{-1} também foram intensificadas, mostrando a mesma disposição do ligante na superfície das nanopartículas.

O experimento indireto da interação com Hg^{2+} também foi realizado como mostra a Figura 66.

Figura 66 – Espectros SERS da adição de Hg^{2+} ($0,5 \text{ mmol L}^{-1}$) às AuNPsTMT sintetizadas *in situ*, após 1 h de reação.

A resposta foi a mesma da síntese utilizando agente redutor, ou seja, não é possível afirmar que o ligante descoordenou com o ouro para coordenar com o mercúrio adicionado.

A maior lição até agora foi que é possível trabalhar a superfície de uma nanopartícula utilizando uma mesma molécula em diferentes condições de síntese.

A síntese *in situ* oferece vantagens quando é interessante gerar nanopartículas em materiais hóspedes, ou mesmo compósitos, desde que não seja alterada a estrutura de nenhuma parte desse material pela ação do agente redutor ou por alguma reação redox, uma vez que sendo o ouro pode ser facilmente reduzido.

Observou-se algo bastante interessante quanto à síntese sem agente redutor, pois uma mínima energia de ativação é suficiente para observar um mecanismo de nucleação e crescimento muito parecido com a síntese de *Turkevich* com as mudanças de coloração características de amarelo, para transparente, preto, azul, roxo e vermelho.

Isso significa que é possível controlar tanto funcionalização quanto tamanho de partículas, mas essa discussão é tópico para pesquisas futuras.

Ao reduzir o ouro, o ligante é oxidado nos tióis, gerando pontes de dissulfeto e dependendo da concentração do ligante, uma espécie de agregado de coloração vermelha precipita, como se fosse uma rede. As imagens da Figura 67, mostram estruturas como se fossem placas sobre o FTO ao fundo. Nesse caso, a concentração de TMT era de $8,46 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 67 – MEV do precipitado vermelho de AuNPTMT *in situ* com uma concentração de TMT igual a $8,46 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes magnificações. Pode-se ver a formação de uma estrutura em forma de algodão (A) (macroscopicamente organizada como placas (acima). As amostras foram preparadas por *drop casting* sobre FTO (B).

Dessa forma, outro sistema foi criado, com a síntese de AuNPTMT *in situ*, mas utilizando a mínima quantidade possível de TMT para estabilizar as partículas. O objetivo agora era deixar a molécula de TMT como reagente limitante da competição entre possíveis complexos de TMT-M com $M = \text{Hg}$ ou Au .

O mais interessante, entretanto, foi que a mínima concentração de TMT, necessária para estabilizar AuNPs, foi uma condição de *single molecule*¹⁷⁵, como será tratado a seguir.

7.6 ESTUDO DA MOLÉCULA 2,4,6-TRIMERCAPTO-1,3,5-TRIAZINA (TMT) EM CONDIÇÃO DE *SINGLE MOLECULE*.

Uma vez sendo possível sintetizar AuNPTMT utilizando um agente redutor, verificou-se que a mínima concentração de TMT para estabilizar nanopartículas de ouro era $8,46 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$, uma concentração muito baixa, na condição da espectroscopia Raman intensificada por uma molécula ou *single molecule* SERS (SMSERS)^{175,176}.

Quando se fala em “uma molécula” é importante que se entenda isso como um dado estatístico, ou seja, nessa concentração, há uma nanopartícula de ouro por molécula de TMT, aproximadamente, como mostram as equações a seguir:

Para uma partícula esférica de 30 nm de diâmetro ($r = 15 \text{ nm}$)

$$d = \frac{59 \text{ átomos}}{\text{nm}^3} \quad \text{Eq. 1}^*$$

O volume de uma nanopartícula é dado por: $V = \frac{4}{3} \pi r^3$ Eq. 2

Pode-se calcular o número de átomos em uma AuNP (30 nm) relacionando-se a Eq. 1 e a Eq. 2.

$$V = \frac{4}{3} \pi 15^3 = 14137,17 \text{ nm}^3 \left(\frac{59 \text{ átomos}}{\text{nm}^3} \right) \quad \text{Eq. 3}$$

= 834.092,85 átomos de Au em uma nanopartícula de 30 nm

Na síntese, utiliza-se 10 mg de Au^{3+} / 50 mL de solução

$$\frac{5,88 \times 10^{-4} \text{ mols de Au}}{1 \text{ L}} \times 50 \times 10^{-3} \text{ L} = 2,94 \times 10^{-5} \text{ mols de Au} \times \frac{6,02 \times 10^{23} \text{ átomos de Au}}{1 \text{ mol de Au}}$$

Eq. 4

= $1,77 \times 10^{19}$ átomos de Au na síntese

$$= 1,77 \times 10^{19} \text{ átomos de Au} \times \frac{1 \text{ partícula}}{834092,85 \text{ átomos de Au}} = \quad \text{Eq. 5}$$

= $2,122 \times 10^{13}$ partículas de Au em uma síntese típica

$$\frac{8,46 \times 10^{-10} \text{ mols de TMT}}{1 \text{ L solução}} \times 50 \times 10^{-3} \text{ L de solução} \times \frac{6,02 \times 10^{23} \text{ moléculas de TMT}}{1 \text{ mol de TMT}} =$$

Eq. 6

= $2,55 \times 10^{13}$ moléculas de TMT

A razão entre moléculas e partículas é então:

$$\frac{2,55 \times 10^{13} \text{ moléculas}}{2,122 \times 10^{13} \text{ partículas}} = 1 \text{ molécula/partícula}$$

* HÖVEL, H.; BARKE, I. *Prog. Surf. Sci.* **2006**, 81, 53.

Essa condição é muito especial porque se uma molécula pode ser detectada, significa que traços de outras moléculas podem ser sérios interferentes. Logo, o principal cuidado em tais experimentos foi a utilização de vidraria nova (além dos procedimentos padrões de limpeza, como utilizar água régia para lavar toda a vidraria).

Então, salvo algumas dificuldades experimentais, como o extremo cuidado com as nanopartículas produzidas, SMSERS é bastante interessante por ser uma ferramenta analítica no limite máximo de detecção e por permitir o entendimento de fenômenos isolados ao invés de uma média. No caso particular de SERS, há competição com a espectroscopia de fluorescência de uma molécula, em que SERS possui como vantagem a especificidade espectral e também a possibilidade de utilizar radiação no infravermelho, importante para analisar biomoléculas.

Porém, por mais interessante que a técnica de *single molecule* seja, é muito difícil interpretar a natureza do espectro como sendo de uma molécula apenas.

Além das estratégias de interpretação de um espectro SERS realizadas até agora, é necessário levar em consideração as flutuações dos espectros tanto pelas intensidades relativas dos picos, quanto pela posição dos picos, o fato das moléculas estarem ou não em um *hot-spot* e a possibilidade de existirem efeitos cooperativos. Se em um substrato sólido, devem ser considerados também fenômenos de fotodegradação, aquecimento do substrato, mudanças na morfologia do substrato (foto-oxidação) e a união de um ou mais desses efeitos¹⁶.

Felizmente, não era o objetivo detectar uma molécula, mas sim, observar como era o espectro no limite da funcionalização de uma nanopartícula e como era o comportamento frente a outro metal que oferecesse constante de formação próxima, independente do espectro ser de uma única molécula ou de uma média dessas, bem separadas umas das outras.

7.6.1 Síntese de AuNPsTMT *in situ* em condição de *single molecule*

Em um erlenmeyer de 150 mL, adicionou-se 10 mg de Ácido tetracloroáurico a 50 mL de água e manteve-se agitação constante sob temperatura ambiente. A essa solução adicionou-se 12,5 mL de TMT ($8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, concentração final igual a $8 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$). Retirou-se uma alíquota de 2,0 mL da solução de $[\text{AuCl}_4]^-$ + TMT para um balão de fundo redondo de 50 mL e a esse balão, adicionou-se 40 μL de uma solução de NaBH_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Agitou-se vigorosamente até o surgimento de uma coloração vermelha, indicativo da formação de nanopartículas (temperatura ambiente). Repetiu-se o procedimento anterior de forma a aumentar o volume de nanopartículas obtidas, porém, controlando a adição de NaBH_4 e visando a formação de partículas com uma distribuição de tamanho por volta de 30 nm, com máximo de absorção no espectro entre 524 nm e 530 nm.

7.6.1.1 Resultados e Discussão

O que se observou como intrínseco da espectroscopia de uma molécula foi a flutuação de espectro para espectro, que foi interpretado sempre como sendo resultante de uma média de moléculas presentes em *hot spots* que estavam no caminho óptico do laser durante os 2 minutos do tempo de integração para a aquisição dos espectros (já que fora da ressonância não seria observado espectro pelas condições experimentais utilizadas). Todavia, o experimento será chamado de SMSERS para facilitar as comparações.

Os espectros a seguir são espectros SMSERS antes e depois de se adicionar mercúrio (Figura 68). Pode-se observar as flutuações do espectro no experimento SMSERS com aparecimento e desaparecimento de algumas bandas.

Figura 68 - Espectros SMSERS ($8,46 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$) – em preto e após a adição de Hg^{2+} ($10 \text{ }\mu\text{L} - 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) – em vermelho.

Estar coordenado por três pontos é a confirmação necessária para compreender porque quando foi adicionado mercúrio às nanopartículas sintetizadas *in situ*, quase nenhuma alteração ocorreu (Figura 58). Apesar do espectro não ter sofrido mudanças, a banda em 354 cm^{-1} diminuiu um pouco quando uma grande quantidade de mercúrio foi adicionada. Essa diminuição foi acompanhada de uma queda da intensidade relativa do espectro e foi atribuída a uma perturbação da superfície das nanopartículas ao adicionar mercúrio em uma tentativa de deslocar o equilíbrio da ligação com ouro.

Analisando os espectros da síntese SMSERS, podem-se ver algumas flutuações de algumas bandas na região entre 1400 e 1100 cm^{-1} , região em que vibrações do anel são mais frequentes, sinal que as moléculas possuem certo grau de liberdade na superfície, pouco impedida pela baixa concentração de TMT.

É bom lembrar que é muito provável que agente redutor remanescente da síntese esteja ajudando a estabilizar as nanopartículas, mas não há contribuição de seus modos vibracionais nas bandas observadas. A única banda do espectro Raman do borohidreto de sódio dentro da região espectral estudada¹⁷⁷ está em 1278 cm^{-1} e não pode ser atribuída no espectro SMSERS, porque as bandas nessa região são as que sofrem maior flutuação, o que não condiz com a alta concentração do agente redutor. Em outras palavras, o espectro é definitivamente da molécula de TMT, especialmente por algumas semelhanças como a banda abaixo de 400 cm^{-1} .

Um tratamento por simetria também foi realizado para as bandas dos espectros SMSERS e foi observado algo muito curioso quando adicionado mercúrio.

A Figura 68 mostra claramente um deslocamento da banda em 354 (aproximadamente) para 369 cm^{-1} . A atribuição para simetria C_{3h} se mantém, uma vez que a probabilidade da molécula se coordenar pelos três tióis é a mesma. Porém, ao adicionar mercúrio, há um deslocamento significativo de 15 cm^{-1} que pode ser um indicativo de grande competição de mercúrio pelo ligante TMT em baixíssima concentração na superfície das nanopartículas.

Outro resultado que se poderia esperar de sistemas desse tipo é a coordenação preferencial dos três tióis com o mercúrio. No entanto, se isso acontecesse, um mecanismo de substituição completo seria observado e ao contrário do observado nesse experimento, a intensidade de todas as bandas iria diminuir com adição do mercúrio.

As bandas que não puderam ser interpretadas por simetria provavelmente são resultantes de intensificação devido à forte interação química entre o ligante e a superfície das nanopartículas por um mecanismo de transferência de carga. Experimentalmente, uma banda de transferência de carga não pode ser vista, por ser muito fraca e por ser encoberta pela banda de acoplamento plasmônico, como já mencionado para todas as condições de síntese *in situ*.

Experimentalmente, observou-se durante o doutorado, que é possível listar os passos necessários para interpretar um espectro SERS utilizando uma suspensão de nanopartículas de ouro esféricas e laser em 785 nm, como pode ser visto a seguir:

1. Obter espectro Raman da molécula. Se possível em solução, utilizando o mesmo solvente em que foi obtido o espectro SERS. Verificar se existe Raman Ressonante pelo espectro eletrônico.
2. Sintetizar nanopartículas com uma distribuição de tamanho suficientemente estável para durar todo o experimento ($\lambda > 522$ nm).
3. Sintetizar utilizando um ligante lábil em várias concentrações como estabilizante e funcionalizar posteriormente trocando a camada passivante pela molécula alvo.
4. Verificar a possibilidade de síntese *in situ*, ou seja, síntese na presença da molécula que se pretende estudar.
5. Adquirir espectro de extinção das nanopartículas nas duas condições.
6. Induzir efeito eletromagnético de intensificação (EM) modificando a força iônica do meio ao adicionar quantidade suficiente de NaCl 1 mol L^{-1} para atingir o máximo da banda de acoplamento plasmônico e consequentemente máxima intensidade espectral.

7. Variar concentração da molécula estudada e condições de pH na aquisição dos espectros.
8. Realizar modelagem molecular da molécula alvo, otimizando a geometria no vácuo e calculando espectro Raman teórico.
9. Comparar os espectros experimentais em função dos espectros teóricos verificando similaridade (EM) e por simetria, recalculando as possíveis formas nas quais a molécula poderia estar ligada na superfície das nanopartículas.
10. Interpretar os espectros em função dos modos normais de vibração, avaliando a contribuição de cada átomo na vibração.
11. Verificar a possibilidade de utilização de tais nanopartículas estabilizadas como sondas SERS.

Essas constatações são baseadas em diversos experimentos de caracterização da superfície de nanopartículas utilizando espectros SERS e se mostraram extremamente satisfatórias nas interpretações.

O estudo desse ligante permitiu, sob diversas condições sintéticas, explorar todas as possibilidades de coordenação, atentando para a importância de uma interpretação completa de como a molécula realmente pode estar disposta em superfície.

O próximo capítulo, mostra a molécula 4,5-diamino-2,6-dimercaptopirimidina e um passo a mais nos estudos de funcionalização.

**8 ESTUDO DA MOLÉCULA
4,5-DIAMINO-2,6-DIMERCAPTOPYRIMIDINA
(DADMCP) – INFLUÊNCIA DO TEMPO, DA
SUPERFÍCIE DA PARTÍCULA E DO ELETRÓLITO**

O ligante 4,5-diamino-2,6-dimercaptopirimidina (DadMcP) é muito versátil e possui vários sítios de coordenação, assim como o TMT. Possui simetria C_1 e por conta disso, todos os seus modos vibracionais são ativos no Raman.

Figura 69 – Estrutura da molécula 4,5-diamino-2,6-dimercaptopirimidina (DadMcP)

Devido às suas muitas aplicações, as mercapto-pirimidinas têm sido muito estudadas ao longo dos últimos anos¹⁷⁸. Sua química incorpora tanto átomos de S como de N em sua estrutura, o que as coloca como ligantes monodentados, ou mais frequentemente, como polidentados para formação de complexos com metais de transição.

Estes compostos apresentam equilíbrio tautomérico entre o tiol ($>C-SH$) e a tiona ($>C=S$) como consequência da alta mobilidade dos prótons que possuem^{179,180,181}. A forma predominante depende das condições em que se encontra a molécula, cujos tautômeros já foram estudados pelo grupo^{182,183}, como pode ser visto na Figura 70.

Figura 70 – Estruturas dos possíveis tautômeros da molécula de DadMcP. Adaptado de¹⁸³.

Através de difrações de raios X foi demonstrado que na 2-mercaptopirimidina, em estado sólido, há predomínio da tiona, que também pode formar estruturas diméricas através de ligações de hidrogênio^{184,185}. Em fase líquida, no entanto, existem muitos fatores adicionais envolvidos no equilíbrio tautomérico; entre eles, solvente, pH e concentração.

Estudos de espectroscopia eletrônica indicam que a tiona predomina em relação ao tiol e que o equilíbrio pode ser deslocado em favor do tiol através de aumento de temperatura do solvente ou pelo decréscimo da concentração em um solvente apolar¹⁸⁶.

A interação com nanopartículas de ouro é inédita na literatura, portanto, unir as propriedades coordenativas da molécula de DadMcp e óticas das nanopartículas, pode vir a gerar um material interessante do ponto de vista da química de

coordenação de nanopartículas. Essa molécula pode formar complexos com platina e pode ser uma boa opção como sonda para biomoléculas como DNA.

Para isso, uma estratégia de funcionalização foi realizada tendo como exemplo a molécula de TMT estudada anteriormente.

8.1 PARTE EXPERIMENTAL

8.1.1 Síntese de AuNPDadMcP por troca da camada passivante de T AuNP1

Preparou-se uma solução aquosa do ligante 4,5-diamino-2,6-dimercaptopirimidina (DadMcP) ($C_4N_4S_2H_6$) – Aldrich, de concentração 1 mmol L^{-1} , diluiu-se 10 e 100 vezes e guardou-se as soluções em local escuro. O ligante foi solubilizado a quente, antes da ebulição e pode ser utilizado por mais de um mês, desde que guardado no escuro. Uma série de experimentos de troca da camada passivante foram realizados, já que foi observado que nas concentrações estudadas, 10^{-4} e $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, ele agregava a suspensão de T AuNPs1.

Os experimentos foram os seguintes:

- A. Adicionou-se 1 mL de T AuNPs1 + 1 mL de H_2O + 0,5 mL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) de uma vez.
- B. Adicionou-se 0,5 mL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) de 10 em 10 μL .
- C. Adicionou-se 80 μL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) de 10 em 10 μL .
- D. Verificou-se a condição do item C com o tempo.
- E. Adicionou-se 500 μL de DadMcP ($1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) de uma vez e verificou-se sua estabilidade com o tempo. Verificou-se também como se dava a

estabilidade utilizando 5 μL de DadMcP ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Dois volumes finais diferentes.

Todos os experimentos foram realizados utilizando 1 mL de AuNPs + 1 mL de H_2O ($A \sim 0,9$).

8.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

8.2.1 Espectroscopia Eletrônica da Titulação de Pt^{2+} em DadMcP

Realizou-se uma titulação do ligante DadMcP (1 mmol L^{-1}) com Pt^{2+} ($[\text{PtCl}_4]^{2-}$, 1 mmol L^{-1} , previamente sintetizado pelo grupo), para verificar o comportamento eletrônico frente a uma possível formação de um complexo, como mostra a Figura 71. Esse experimento foi feito em virtude de existir complexos na literatura de ligantes dimercaptopyrimidínicos com platina que possuem atividade antitumoral; de onde veio o interesse inicial em promover uma interação de partículas funcionalizadas com biomoléculas¹⁸⁷.

O estudo foi o primeiro passo para a formação de complexos de platina na superfície de nanopartículas de ouro e a caracterização passou a ser, indiretamente, do ligante também.

Figura 71 – Titulação espectrofotométrica de DadMcP com Pt^{2+} (1 m mol L⁻¹)

De acordo com antigos estudos realizados no grupo¹⁸⁸, o espectro da molécula de DadMcP possui uma mistura de tautômeros presentes em solução. No entanto, o comportamento das bandas em função da adição de platina é linear.

As bandas entre 200 e 240 nm podem ser atribuídas à transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel, porém, a diminuição e deslocamento com o decorrer da titulação pode estar relacionada à coordenação da platina com os átomos de nitrogênio heterocíclicos e com o átomo de enxofre exocíclico que contribuem para transições internas do ligante. O trabalho de Cervantes e colaboradores¹⁸⁷ mostra as combinações possíveis de complexos formados entre 2-dimercaptopirimidina e Pt^{2+} .

A banda em 287 nm pode ser atribuída à transição $n(\text{S}) \rightarrow \pi^*$ (anel), enquanto a banda em 351 nm pode ser atribuída a $n(\text{S}) \rightarrow \pi^*$ (anel), mas também a $\pi \rightarrow \pi^*$ (anel), pelo efeito doador da amina primária (ligante substituinte no anel), que causa um deslocamento da banda para o vermelho¹⁸⁸. A coordenação da

platina com o tiol e/ ou com o nitrogênio heterocíclico, pode aumentar o caráter doador da amina primária e aumentar a intensidade das transições.

8.2.2 Estudo da influência da agregação na obtenção dos espectros SERS e da taxa de adição do ligante DadMcP em diferentes concentrações na troca da camada passivante de T AuNP1.

O ligante DadMcP interage muito fortemente com as T AuNP1, porém a extensão da agregação é dependente da concentração final do ligante e de como ele é adicionado à suspensão de T AuNPs. Essa é uma observação importante, uma vez que podem ser gerados diferentes *hot spots* dependendo de como se dá a interação molécula+nanopartícula⁵⁶.

Obter uma condição em que a suspensão se mantinha estável e o espectro não mudasse com o tempo era primordial para um maior entendimento da incubação de tal material com DNA. Então, para maior acurácia dos resultados foram propostos os experimentos citados no item 8.1.1.

Para os experimentos A, B e C, serão apresentados os espectros de extinção correspondentes aos espectros SERS.

Figura 72 – Esquerda: Espectro de extinção e Direita: Espectro SERS do experimento A: 1 mL de AuNPs + 1 mL de H₂O + 0,5 mL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado de uma vez.

Figura 73 – Esquerda: Espectro de extinção e Direita: Espectro SERS do experimento B: 0,5 mL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado de 10 em 10 μL .

Comparando a Figura 72 e a Figura 73 os espectros SERS possuem apenas diferentes intensidades, porém, analisando os espectros de extinção, mais especificamente a banda de acoplamento plasmônico, observou-se que o patamar de agregação para o experimento B é atingido antes, indicando certa instabilidade da suspensão em função da taxa de adição.

O máximo da agregação no experimento B é atingido com 80 μL em contraste com o máximo ao se adicionar 0,5 mL de uma vez (experimento A). O experimento C (Figura 74) mostra o espectro SERS da adição de 80 μL , enquanto o experimento D (Figura 75) avalia se essa suspensão é estável ou não com o tempo.

Figura 74 – Esquerda: Espectro de extinção e Direita: Espectro SERS do experimento C: 80 μL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado de 10 em 10 μL.

Figura 75 – Espectros SERS do experimento D em que verificou-se a condição do item C com o tempo. Esquerda: 80 μL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado de uma vez, após 17 minutos e Direita: 80 μL de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado de uma vez, após 3 dias.

Até então, verificou-se para uma mesma concentração de DadMcP ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) que tanto a taxa de adição quanto o tempo (Figura 75), influenciam e muito os espectros vibracionais, ou seja, essa condição não é apropriada para qualquer estudo, uma vez que o espectro muda com o tempo e qualquer mudança observada, poderia ser atribuída erroneamente à uma interação.

Para um ligante que perturba o equilíbrio coloidal ao ser adicionado às nanopartículas de *Turkevich*, a concentração e o volume adicionado podem gerar

produtos diferentes de interação com o ouro⁵⁶. No caso do DadMcP, o espectro muda com o tempo, mas não com a forma com que o ligante é adicionado.

Viu-se necessário, então, utilizar as partículas T AuNP2 e T AuNP3, em que a reprodutibilidade da síntese não seria uma variável e sim, a superfície das partículas.

8.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE AUNPDADMCP POR TROCA DA CAMADA PASSIVANTE DE T AuNP2 E T AuNP3

Preparou-se uma solução aquosa do ligante 4,5-diamino-2,6-dimercaptopirimidina (DadMcP) de concentração 1 mmol L^{-1} , diluiu-se 10 e 100 vezes e guardou-se as soluções em local escuro. O ligante foi solubilizado a quente, antes da ebulição e pode ser utilizado por mais de um mês, desde que guardado no escuro.

Todos os experimentos que serão mostrados utilizaram 1 mL de H_2O + 1 mL T AuNP2 ou T AuNP3 + $0,5 \text{ mL}$ DadMcP $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ + $200 \text{ }\mu\text{L}$ NaCl ou NaI 1 mol L^{-1} (para promover aglomeração das partículas caso necessário).

8.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

8.4.1 Estudo vibracional

A primeira observação direta, foi que $0,5 \text{ mL}$ da solução de DadMcP com concentração $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ é suficiente para promover aglomeração de T AuNP3, mas

não de T AuNP2. Para um estudo vibracional, portanto, a modificação da força iônica, necessária para alcançar o efeito eletromagnético, se deu com a adição de NaCl e NaI.

Sabe-se pelos estudos anteriores, que o espectro SERS com NaCl mudava com o tempo, o que significa que é provável que haja à primeira instância, um produto cinético e depois um produto termodinâmico. Isso foi intensamente investigado através de experimentos comparativos utilizando NaI e também com o tempo, para melhor entendimento e interpretação. O esquema da Figura 76 mostra o planejamento desse estudo comparativo:

Figura 76 – Esquema do procedimento experimental para a aquisição dos espectros SERS tendo como variáveis as duas partículas (TAuNP2 e T AuNP3), o sal (NaCl e NaI) e o tempo.

A Figura 77 e a Figura 78 mostram as primeiras investigações pontuais com o tempo utilizando as partículas T AuNP2 ao adicionar NaCl e NaI para induzir aglomeração.

Figura 77 – Espectros SERS de TAU NP2DadMcP tirados com adição de 200 μL de NaCl 1 mol L^{-1} , na hora e depois de 48h.

Figura 78 – Espectros SERS de TAU NP2DadMcP tirados com adição de 200 μL de NaI 1 mol L^{-1} , na hora e depois de 48h.

Inicialmente, os espectros são bem parecidos, apresentando inclusive a mesma intensificação relativa, sinal que a princípio, o ligante está ligado da mesma

forma e com a mesma concentração superficial, salvo que menores concentrações tendem a apresentar maiores intensificações de acordo com o mecanismo eletromagnético de intensificação³¹.

Timm e colaboradores¹⁸³ estudaram o espectro eletrônico e vibracional teórico do ligante com ênfase para as três formas mais estáveis (estruturas 1, 2 e 3 da Figura 70). Então, duas hipóteses iniciais foram consideradas para explicar os diferentes espectros com o tempo. Na primeira, poderia haver conversão entre as estruturas, já que as energias (teóricas) são muito próximas. Na segunda hipótese, (considerando apenas a forma tiol em solução aquosa), o ligante poderia estar coordenado primeiramente por um tiol e depois por outro, com o tempo. A segunda hipótese parecia mais lógica, uma vez que havendo conversão entre estruturas, é bem provável que os espectros com NaCl e NaI fossem similares.

A Tabela 9 mostra uma atribuição tentativa dos espectros com base na literatura¹⁸³ destacando em verde, um aumento ou diminuição com deslocamento da banda com o tempo; em vermelho, só diminuição e em roxo, existência ou não da banda.

Tabela 9 – Atribuição das bandas dos espectros vibracionais do ligante (L) DadMcP (C₁).

TAuNP2 LNaCl Dia1	TAuNP2 LNaCl 48h	TAuNP2 LNaCl Dia 1	TAuNP2 LNaCl 48h	L FTIR	L Raman literat ¹⁸³	Atribuições ¹⁸³
1580sh	1580sh	1580sh			1577	$(\nu C^{2,3,4} + \delta C^2N^8H^{10} + \nu C^3-N^{13}H^{14,15}) [70,35] + \nu N^1C^{2,3} [16,7] + \delta S^7H^{16} [8,3] +$
1521	1521	1519	1519	1525	1541	$\delta N^8H^{10,11} [30,3] + \delta N^{13}H^{14,15} [28,6] + \nu C^{2,3,4} [19,3] + \nu N^1C^2N^5 [16,5] + \delta S^9H^{12} [3,5]$
1500	1472	1472	1472	1462	1471	$(\nu C^2N^8 + \delta N^8H^{10,11}) [61,3] + (\nu C^{3,4} + \nu C^3-N^{13}H^{14,15}) [18,7] + \nu N^1C^6N^5 [12,1]$
1449	1449	1446	1446	1430		
1351	1334	1352	1344	1346	1370	$(\nu C^{2,3,4} + \nu C^3-N^{13}H^{14,15}) [45,4] + \nu N^1C^6N^5 [34,2] + \delta N^8H^{10,11} [14,6]$
1296		1292		1300	1294	$(\nu C^4N^5C^6 + \nu C^6S^9) [45,8] + \nu N^1C^{2,3} [21,3] + \delta N^8H^{10,11} [16,2] + \delta N^{13}H^{14,15} [12,2]$
	1268		1276	1276	1270	$\rho N^8H^{10,11} [40,9] + \nu C^4N^5C^6 [22,9] + \nu N^1C^{2,3} [17,5] + \delta N^{13}H^{14,15} [8,4] + \delta S^7H^{16} [8,1]$
	1230vw		1228m	1232	1218	$\nu C^3-N^{13}H^{14,15} [31,7] + \rho N^8H^{10,11} [31,1] + \nu C^4N^5C^6 [19,7] + \delta S^7H^{16} [8,8] + \nu N^1C^2 [5,8]$
1193	?	1188	1175	1182	1153	$\nu N^{13}H^{14,15} [92,4]$
1130	1130	1130	1128	1152	1084	$\rho N^8H^{10,11} [55,8] + \nu N^1C^2N^5 [13,8] + \delta S^7H^{16} [10,1] + \delta S^9H^{12} [5,8] + \nu C^{2,3,4} [9,2]$
1064vw	1064vw	1061vw	1061vw	1015	1028	$\delta S^7H^{16} [43,9] + (\nu C^{2,3,4} + \nu C^2-N^8H^{10,11}) [28,8] + \nu N^1C^6N^5 [15,3] + \delta N^{13}H^{14,15} [8,9]$
			1006			
	998		998		981	$\delta S^7H^{16} [45,3] + \rho N^8H^{10,11} [17,0] + \nu C^4N^5C^6 [13,96] + \delta S^9H^{12} [12,6] + \nu N^1C^{2,3} [7,9]$
	922		922	910	917	$\delta S^9H^{12} [59,5] + \delta S^7H^{16} [11,9] + \nu C^4N^5C^6 [10,7] + \rho N^8H^{10,11} [9,6] + \nu N^1C^{2,3} [4,5]$

853	853	853	847	863	863	$\omega N^{13}H^{14,15} [27,0] + (\delta S^9H^{12} + \nu C^6S^9) [20,2] + (\delta S^7H^{16} + \nu C^4S^7) [21,0] + \nu N^1C^{2,3} [16,4] \rho N^8H^{10,11}$
				806	790	$\omega N^{13}H^{14,15} [72,8] + \rho N^8H^{10,11} [9,5] + \nu N^1C^{2,3} [8,2] + \delta S^9H^{12} [3,0]$
734	730	734	?	746	782	$\tau \text{ anel} [56,6] + \tau N^{13}H^{14,15} [34,5]$
		702	?	712	718	$\omega N^{13}H^{14,15} [32,4] + \text{respiração de anel} [35,4] + \rho N^8H^{10,11} [20,9] + \delta S^7H^{16} [11,1]$
653		657	657	639	681	$\tau \text{ anel} [52,3] + \tau N^8H^{10,11} [30,5] + \tau N^{13}H^{14,15} [17,1]$
				621	629	$\tau N^8H^{10,11} [75,4] + \rho N^{13}H^{14,15} [12,4] + \tau \text{ anel} [10,2]$
				600	608	$\tau \text{ anel} [60,7] + \rho N^{13}H^{14,15} [27,1]$
560	560	572	572	571	577	$\text{respiração de anel} [38,6] + \rho N^8H^{10,11} [27,7] + \omega N^{13}H^{14,15} [19,4] + (\delta S^7H^{16} + \delta S^9H^{12}) [14,7]$
	555	555	545	545	555	$\rho N^8H^{10,11} [31,3] + \nu \text{ anel} [28,9] + \omega N^{13}H^{14,15} [21,1] + (\delta S^7H^{16} + \delta S^9H^{12}) [18,63]$
	487		485			
432	?	436		446	408	$\delta \text{anel} [44,3] + \nu CS [13,6] + \delta S^7H^{11} [14,6] + \delta N^{10}H^{14} + [13,5] + \delta N^9H_2^{13,15} [14]$
411	?	412	391	412	395	$\text{Respiração de anel} [76,81] + \nu C^3-S^8 \text{as} [23,19]$

Sendo, ν = estiramento; δ = deformação angular simétrica no plano; ω = deformação angular simétrica fora do plano; ρ = deformação angular assimétrica no plano; τ = deformação angular assimétrica fora do plano¹⁸³.

A banda em 853 cm^{-1} diminui no espectro com NaCl e desloca para 847 cm^{-1} , além de diminuir, no espectro com NaI. Essa banda possui contribuição das vibrações N-H (das duas aminas) fora do plano e no plano bem como de estiramento da ligação C-S dos dois tióis. A porcentagem da natureza de cada vibração na composição do modo normal é bem dividida, logo, sua diminuição com o tempo pode ser por coordenação com dois tióis, mas também pela diminuição das vibrações envolvendo as aminas com a aglomeração das partículas.

A banda em 1130 cm^{-1} diminui em ambas as condições sendo mais pronunciada na condição com NaCl. Essa banda tem contribuição significativa de deformação assimétrica no plano de N-H (55,8%), além de pequenas contribuições (5,8 e 10,1%) de vibrações envolvendo S-H no plano. Uma primeira sugestão, é que a presença de um íon mais polarizável como o iodeto, pode promover uma agregação mais controlada em que o precipitado pode ser ressuspensionado mais facilmente que se tiver NaCl.

Essa é uma observação empírica que foi feita inclusive por muito mais que apenas 48 horas. Essa constatação pode afetar as vibrações N-H, mas pouco pode-se dizer a respeito das vibrações envolvendo S-H, já que mesmo em uma porcentagem menor, por estar mais próximos da superfície poderiam ter uma certa intensificação, como aconteceu com a banda em 1061 cm^{-1} .

A banda em 1061 cm^{-1} do espectro com NaI poderia ser analisada com o tempo por apresentar uma contribuição da vibração S-H significativa teoricamente (43,9%). Porém, a intensidade nos espectros experimentais, mesmo com o tempo é muito baixa, podendo ser confundida com alguma flutuação da linha de base.

As bandas em 1296 e 1292 cm^{-1} , do espectro com NaCl e NaI, respectivamente, são bandas difíceis de se atribuir. Aparentemente, elas diminuem

de frequência com o tempo para 1268 e 1276 cm^{-1} pelo perfil dos espectros experimentais, porém, o espectro teórico mostra duas bandas em 1294 e 1270 cm^{-1} , o que confunde a interpretação. De qualquer forma, se não há um deslocamento e as bandas em 1296 e 1292 cm^{-1} forem atribuídas à banda em 1294 cm^{-1} , pode haver uma coerência na interpretação da coordenação por um e depois por dois tióis, já que a composição da vibração contém contribuição de estiramento C-S que diminui com a coordenação por dois tióis.

A análise da banda em 1519 cm^{-1} parece interessante a princípio, por diminuir com NaCl e aumentar com NaI. A sua interpretação de acordo com a atribuição da literatura, entretanto, ainda é inconclusiva.

Assim como esta, outras bandas com comportamento diferente para os dois sais poderiam dar a resposta para a coordenação por um ou dois tióis, desde que nada mais esteja acontecendo na superfície das partículas com o tempo.

Para a coordenação mono ou bidentada, é bem provável que as vibrações contendo S-H sofram alguma perturbação com a coordenação por dois tióis. Vale lembrar que não há necessariamente uma desprotonação do ligante decorrente da coordenação¹⁸⁹.

As bandas em 998 e 922 cm^{-1} do espectro em 48h com a adição de NaI possuem no espectro teórico 45,3 e 59,5% de contribuição de vibração S-H (deformação simétrica no plano) respectivamente. Essas vibrações não existem nos espectros iniciais de ambas as condições e apresentam intensidades mais baixas nos espectros em 48h com NaCl. O aumento dessas bandas levaria a crer que o ligante está inicialmente coordenado por dois e depois por um tiol, com a adição de NaI, mas isso ainda precisa ser melhor verificado.

Uma outra evidência dessa possível coordenação monodentada é a banda em 391 cm^{-1} na síntese com NaI, inexistente com NaCl. Essa banda é atribuída a uma respiração de anel (76,81%) e ao estiramento de C-S (23,19%). Um aumento dessa banda, portanto, faz sentido para uma coordenação monodentada, em que há uma maior simetria para a vibração e uma vibração C-S não coordenada.

De forma geral, o espectro muda com o tempo para os dois casos. A diminuição da maioria das bandas pode estar associada à uma coordenação por um e depois por dois tióis com o tempo, tendo NaCl. Para o NaI, se inicialmente a coordenação for por um tiol, parece que algo mais aconteceu, pois a interpretação leva a crer que o ligante ainda está coordenado por um tiol. Porém, se isso é verdade, o espectro não deveria ter mudado.

A alternativa foi retornar a discussão ao espectro inicial e à natureza da banda em 702 cm^{-1} , por exemplo, existente apenas no espectro com NaI. Para isso, foi realizado um experimento mais detalhado quanto ao tempo e as mudanças associadas.

Buscando evidências de uma funcionalização específica e dependente de algumas condições experimentais, o próximo capítulo contrasta as variáveis: superfície da partícula de *Turkevich*, eletrólito e tempo, com algo pouco tratado até então, a influência da luz. Portanto, dando continuidade ao estudo da molécula DadMcP será apresentado também o estudo da molécula mercaptoetilpirazina (pzt) e sua interação com nanopartículas de ouro.

**9 EVIDÊNCIAS EXPERIMENTAIS DE PROCESSOS
FOTOINDUZIDOS ENVOLVENDO A MOLÉCULA
4,5-DIAMINO-2,6-DIMERCAPTOPYRIMIDINA
(DADMCP) E A MOLÉCULA
MERCAPTOETILPIRAZINA (PZT)**

9.1 FUNCIONALIZAÇÃO PLANEJADA DE TAU NP COM DADMcP

9.1.1 Resultados e Discussão

O primeiro experimento foi feito com intervalos de tempo mais curtos entre os espectros e os resultados mostram o mesmo comportamento para a adição de NaCl, mas algo interessante aconteceu no experimento com NaI. Todos os experimentos que serão mostrados utilizaram 1 mL de H₂O + 1mL TAU NP2 ou TAU NP3 + 0,5 mL DadMcP 1×10^{-5} mol L⁻¹ + 200 μ L NaCl ou NaI 1 mol L⁻¹ (para promover aglomeração das partículas caso necessário).

A Figura 79 mostra que a exposição ao laser do espectrômetro Raman ($\lambda = 785$ nm) é suficiente para mudar o espectro.

Figura 79 – Espectros SERS de TAU NP2DadMcP com adição de NaI. Em preto, espectro inicial, em vermelho espectro após 10 minutos de exposição ao laser do espectrômetro Raman e em azul, após exposição ao laser por 4 minutos e guardado por 15 dias no escuro.

Com quatro minutos de exposição (esse espectro não aparece na Figura 79) a banda em 702 cm^{-1} já aparece com bastante intensidade. Essa mesma suspensão foi guardada no escuro por 15 dias e um espectro foi tirado, em azul, indicando claramente que há uma mistura de produtos: o produto com o tempo e o produto resultante da interação com a luz (também chamado de "ativado", na Figura 79). Em dez minutos, entretanto, é possível ver que o produto resultante da interação com a luz se faz mais presente.

Para verificar se era possível separar os produtos sob a ação do tempo e da luz, preparou-se uma suspensão das partículas com o ligante e NaI e guardou-se no escuro por 15 dias. O resultado pode ser visto na Figura 80.

Figura 80 – Espectros SERS de duas suspensões de TAuNP2DadMcP com NaI. Em preto, espectro inicial; em azul, espectro de uma suspensão guardada no escuro, depois de 15 dias sem qualquer irradiação.

As suspensões são diferentes, ou seja, a que corresponde ao espectro com 15 dias e no escuro, não foi submetida a irradiação nem ao menos para um

espectro inicial. O tempo de 15 dias foi escolhido arbitrariamente, para verificar até que ponto o tempo influenciava.

De qualquer forma, a Figura 81 mostra espectros SERS com o tempo de T_{AuNP2DadMcP} adicionando cloreto e iodeto, em que em uma hora, apenas os espectros com iodeto adicionado mudam enquanto os com cloreto, mudam em um tempo maior, como já observado anteriormente.

Figura 81 – Comparação entre espectros SERS de T_{AuNP2DadMcP}-Cl (esquerda) e T_{AuNP2DadMcP}-I (direita) com o tempo, mostrando que em 1 hora os espectros com iodeto mudam e os com cloreto, não.

Um outro ponto analisado, foi que T_{AuNP2DadMcP}-I possui um limite de mudança espectral com a luz, sinal de que estabilizou com o tempo, assim como a preparada com NaCl. Isso fez lembrar que realmente o ligante pode estar ligado por um ponto de coordenação inicialmente e as mudanças associadas separadamente ao tempo no escuro e ao tempo sob irradiação, podem ser devido a uma coordenação bidentada e, como nova proposta, à uma possível oxidação do grupamento tiol livre com a formação de pontes de dissulfeto, respectivamente.

Como isso ocorre apenas quando há iodeto na superfície da partícula, propôs-se um modelo em que o iodeto estivesse sendo fotooxidado a iodo e que este, oxidasse o ligante de acordo com as reações propostas para tentar explicar as mudanças espectrais:

Para comprovar essa hipótese, foi adicionado iodo sólido à suspensão contendo T AuNP2DaDMcPCI e obtidos os espectros SERS, como mostra a Figura 82.

Figura 82 – Espectros SERS de T AuNP6DadMcPCI antes e depois de adicionar iodo sólido.

O que se observou é um espectro similar à situação com a luz, indicando que está de fato havendo uma reação de óxido-redução, porém muito mais intenso (a banda em 702 cm^{-1} chega inclusive a estourar a escala).

Imaginando que ao formar pontes de dissulfeto o ligante poderia formar uma espécie de rede em suspensão, realizou-se um experimento de SPR associado ao SERS (Figuras 82 a 84) para ver se havia uma maior deposição de partículas em comparação com às que foram adicionadas NaCl.

Figura 83 – Experimento de SPR associado a SERS para mostrar que as mudanças nos espectros são diferentes entre os sais e na forma como interagem com a superfície do ouro. Os discos de ouro foram modificados com 1,8-octanoditiol e caracterizados por variação no ângulo de contato. As etapas correspondem a: (a) adição de água, (b) adição das nanopartículas funcionalizadas e aglomeradas com os respectivos sais (c) retirada da tampa no SPR e inserção do laser do espectrômetro Raman incidindo sobre o disco de ouro (não afetou a refletividade), (d) irradiação das suspensões (e, f), região de saturação, em que não há mais SPR detectado por ter secado o solvente.

A linha azul (com NaI) mostra claramente um maior aumento do ângulo associado ao índice de refração necessário para que haja excitação dos plasmons de superfície em um menor tempo. Isso significa que pode estar havendo deposição de material, que no caso se propõe que seja como uma rede de partículas e

moléculas. Os espectros SERS correspondentes (após a letra d) podem ser vistos na Figura 84 e na Figura 85.

Figura 84 – Espectros SERS de TAuNP2DadMcP adquiridos com NaCl, que foram acompanhados por SPR da Figura 83. O vigésimo quinto espectro (spec25) corresponde ao espectro das nanopartículas depois de evaporada a água.

A Figura 84 mostra os espectros SERS do experimento em conjunto com o SPR a partir da letra d, sendo spec1 o primeiro espectro e spec20, o vigésimo ainda em solução. O vigésimo quinto espectro (spec25) corresponde ao espectro das nanopartículas depois de evaporada a água. Isso acaba concentrando as partículas e conseqüentemente aumentando a intensidade do espectro.

A Figura 85 mostra os espectros SERS do experimento em conjunto com o SPR a partir da letra d, mas tendo adicionado NaI, para relacionar as mudanças no SPR com as mudanças espectrais.

Figura 85 – Espectros SERS de TAU NP2DadMcP adquiridos com NaI, que foram acompanhados por SPR da Figura 83.

O spec1 (em preto) da Figura 85 é o espectro SERS inicial do experimento em conjunto com o SPR, mas agora com NaI ao invés de NaCl. Já no terceiro espectro (spec3), é possível verificar um aumento da banda em 700 cm^{-1} e uma mudança nas bandas em torno de 600 cm^{-1} , como era de se esperar.

Foram obtidos espectros com TAU NP3 com o tempo (Figura 86), mas como o ligante agrega a suspensão sem a adição de sal, pode-se ver que o produto é o mesmo da síntese TAU NP2 com NaCl adicionado.

Figura 86 – Espectro SERS de TAU NP3DadMcP depois de 48h.

Quanto à formação de pontes de dissulfeto, não se sabe ainda se há alguma espécie preferencial de dímero formado, havendo três possibilidades, como será visto a seguir.

Figura 87 – Caso 1 – Acima: Dímero do ligante DadMcP otimizado (DFT_B3LYP_6-31G (d, p)). Abaixo e à esquerda: HOMO; Abaixo e à direita: LUMO.

Figura 88 – Caso 2 – Acima: Dímero do ligante DadMcP otimizado (DFT_B3LYP_6-31G (d, p)).
Abaixo e à esquerda: HOMO; Abaixo e à direita: LUMO.

Figura 89 – Caso 3 – Acima: Dímero do ligante DadMcP otimizado (DFT_B3LYP_6-31G (d, p)).
Abaixo e à esquerda: HOMO; Abaixo e à direita: LUMO.

O cálculo das três possibilidades mostra que o caso 2 foi descartado como uma das possibilidades, o que facilita (um pouco) as interpretações dos espectros, porque a ligação S-S se desfaz.

Os espectros vibracionais teóricos dos dímeros mostram bandas em torno de 700 cm^{-1} como sendo de respiração de anel com contribuições de estiramento de C-S dos átomos de S do dímero e uma pequena contribuição dos tióis livres, ajudando a confirmar a atribuição.

Foram realizados também, experimentos de microscopia eletrônica de varredura para verificar se era possível ver alguma diferença na imagem formada em relação a qualquer outra imagem de nanopartículas funcionalizadas feitas até então.

Aparentemente nada se pode ver de diferente na Figura 90, exceto uma morfologia estranha próxima às nanopartículas de ouro.

Figura 90 – MEV de TAuNP2DadMcP + NaI + irradiação com laser 785 nm por 1 h com diferentes regiões e magnificações. Amostra preparada por *drop casting* sobre HOPG.

As imagens de MEV mostram que há uma região com uma morfologia bem diferente das AuNPs, como pode ser visto diferenciando a imagem acima (que só contém nanopartículas), das imagens do meio e de baixo que mostram diferentes magnificações. Para se certificar da natureza de tal morfologia, realizou-se uma análise por EDS, como pode ser visto a seguir.

Figura 91 – Imagem de MEV de T AuNP2DadMcP. Voltagem de 30 kV e magnificação de 30000 vezes.

A resolução do MEV está diretamente relacionada com as dimensões da região atingida pelo feixe primário sobre a amostra. Quando um feixe de elétrons incide sobre a superfície da amostra, os vários processos de interação com os seus átomos fazem com que os elétrons do feixe primário se espalhem dentro de um volume que tem a forma de uma gota. Como o volume característico dos raios x está no final da gota, a resolução da imagem é menor.

Dentre os pontos analisados, serão mostrados apenas os pontos 1 e 4, pois os pontos 2 e 3 são iguais ao ponto 1 e os pontos 5 e 6, iguais ao ponto 4.

Figura 92 – Espectros de EDS dos pontos 1(acima) e 4 (abaixo) da figura anterior.

A análise pode ser vista na Figura 92 em que no ponto 1 pode-se ver picos de ouro e iodo nos espectros de EDS (além dos componentes do porta amostras Cu e Zn) e no ponto 4, apenas picos de iodo, tirando a dúvida do que era aquela morfologia pouco comum.

O que se vislumbra com tal controle de superfícies é a possibilidade de utilizar essa rede de partículas como se fosse um grande capacitor sem a necessidade de eletropolimerizar o ligante para obter pontes de dissulfeto. Isso potencializa o seu uso em baterias, permitindo maior acumulação de cargas.

Outra aplicação interessante para tal sistema é a utilização como um *input* químico, já que se for imobilizado, o sinal proveniente dos espectros com NaCl e NaI podem ser interpretados como portas lógicas e, novamente, sem interface eletroquímica.

A última e mais esperada aplicação é a de reconhecimento molecular, pois sabendo como o ligante está disposto e poder controlar a sua funcionalização, passou a ser o fator determinante para dar confiabilidade a esses estudos.

Finalmente, a conclusão obtida é que a molécula DadmcP pode funcionalizar AuNPs de maneiras diferentes, dependendo de inúmeras variáveis experimentais, como pode ser visto na Figura 93.

Figura 93 - Representação das condições de funcionalização de TAU NP2 com DadMcP em função do sal adicionado, do tempo e da luz, sendo que a formação da ponte de dissulfeto pode ter sido formada com ligante em solução.

9.2 INFLUÊNCIA DA LUZ UV NA FUNCIONALIZAÇÃO DE AuNPS COM MERCAPTOETILPIRAZINA (PZT)

Complexos de bis(bipiridina)rutênio(II) com ligantes pirazínicos, estudados pelo grupo¹⁹⁰ nos anos 90, apresentaram propriedades fotoquímicas interessantes e serviram de inspiração para iniciar estudos de interação com AuNPs.

Complexos utilizando o ligante mercaptoetilpirazina (PZT) (Figura 94), como o $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{PZT}]^{3-}$, foram estudados recentemente na estabilização de AuNPs⁸⁷, em que os autores acreditam que os mecanismos de transferência de carga associados com o caráter eletrônico do estado excitado do complexo podem ser os responsáveis pela intensificação observada nos espectros SERS.

Figura 94 – Estrutura da molécula de mercaptoetilpirazina (PZT).

As propriedades químicas dos produtos de $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{L}]^{3-}$ são fortemente influenciadas pela natureza do L. Os íons pentacianoferratos (II) possuem grande afinidade por ligantes N-heterocíclicos, amino ácidos e ligantes contendo enxofre como sulfóxidos, tioéters e tioamidas^{191, 192, 193}. Porém, a afinidade por tióis é relativamente pequena em contraste com a alta afinidade por fortes ligantes aceptores π como a pirazina⁸⁷.

Portanto, ideia de estudar apenas o ligante, era a de coordená-lo às AuNPs pelo grupamento tiol, deixando livre a porção pirazínica para posterior construção de complexos em superfície. O objetivo era obter um entendimento sequencial do papel do ligante e depois do complexo na funcionalização.

Esse sistema (AuNPPZT) mereceu destaque nesse capítulo da tese, por sua peculiar interação com a luz UV, em que serão apresentados diversos experimentos para comprovar que novamente, dependendo da natureza do ligante, são criadas novas variáveis a serem estudadas na funcionalização de nanopartículas.

9.2.1 Parte Experimental

9.2.1.1 Síntese de AuNPs Passivadas com Mercaptoetilpirazina (PZT), 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT) e Trifenilmetanotiol (TFMT)

Foram preparadas soluções aquosas dos ligantes mercaptoetilpirazina (PZT) – Aldrich, 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT) e trifenilmetanotiol (TFMT) – Aldrich, de concentração 3 mmol L^{-1} . Para 2,0 mL de solução de nanopartículas de *Turkevitch* (TAuNP), adicionou-se 10 μL da solução dos ligantes.

Um ponto importante a ser considerado é que as TAuNPs utilizadas foram as TAuNP1 e outra chamada de TAuNP0, cuja síntese é similar à TAuNP1, mas adicionando 3 mL da solução de citrato $0,034 \text{ mol L}^{-1}$. Essa síntese gerava partículas menores e foi com essa que todo o fenômeno da interação com luz UV aconteceu.

9.2.1.2 Irradiação da Solução de Nanopartículas

Em um primeiro experimento, submeteu-se as soluções de nanopartículas à radiação visível e UV com temperatura controlada a 298 K, utilizando um espectrofotômetro no modo cinético, registrando espectros a cada segundo por uma hora. Em um segundo experimento, utilizou-se um monocromador para variação de diferentes comprimentos de onda dentro da faixa do UV utilizando uma lâmpada de xenônio, irradiando por até uma hora.

9.2.1.3 Experimento Simultâneo de Monitoramento do tamanho das Nanopartículas em Função das Mudanças Observadas nas Bandas de Ressonância Plasmônica Superficial e de Acoplamento Plasmônico com radiação UV

O experimento consistiu na aquisição de espectros de extinção das nanopartículas com o tempo, simultaneamente à medida de distribuição de tamanho. Para isso, utilizou-se o modo cinético do espectrofotômetro, registrando espectros a cada minuto durante aproximadamente duas horas com a sonda do DLS mergulhada na cubeta e registrando as mudanças na distribuição de tamanho das partículas a cada minuto também. A Figura 95 mostra a montagem do experimento.

Figura 95 – Ilustração dos equipamentos de Espalhamento de luz dinâmico (DLS) indicado pela seta verde e espectrofotômetro, indicado pela seta vermelha. É possível ver pela foto a fibra ótica do DLS mergulhada na solução da cubeta do espectrofotômetro e os dois microcomputadores ligados e realizando as medidas simultaneamente.

9.2.2 Resultados e Discussão

Ao adicionar 10 μL de PZT (3 mmol L^{-1}) (Figura 94) a 2 mL de uma suspensão de T AuNP0 (imagem de MEV na Figura 96), a coloração da solução se manteve a mesma, entretanto, observou-se com o tempo e exposição ao ambiente, que a solução se tornou roxa, indicando que o ligante PZT não estabiliza T AuNP0. Adicionando PZT à uma suspensão de T AuNP1, a agregação é mais rápida.

Diversos experimentos foram realizados com o intuito de avaliar a razão da agregação (muito mais lenta que a interação de T AuNP1 e T AuNP3 com DadMcP, por exemplo).

Figura 96 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura da amostra TAuNP0. Amostra preparada por *drop casting* em FTO.

As primeiras variáveis estudadas foram a influência da temperatura e da concentração de PZT adicionada. Observou-se que tanto o aumento da temperatura, quanto da concentração de PZT levava a um aumento da velocidade de agregação. Esses experimentos foram feitos acompanhando as bandas de ressonância plasmônica individual e de acoplamento plasmônico com o tempo. No entanto, ao final de cada experimento observava-se uma agregação preferencial na superfície do vidro da cubeta e outra variável passou então, a ser estudada: a influência da luz.

A luz (ainda não se sabia qual comprimento de onda específico), se mostrou determinante para a agregação da solução de nanopartículas passivadas com PZT e passou então, a ser o fator limitante.

Foi estudando a influência da luz que foi possível criar padrões de formação na superfície da cubeta utilizando uma máscara impressa em um papel transparente, como mostra o esquema da Figura 97.

Figura 97 – Esquema mostrando o experimento realizado na obtenção de padrões de AuNPPZT impressos na superfície da cubeta utilizando uma máscara de estrelas.

Novos ensaios foram feitos então, para desvendar os mecanismos de agregação, ou seja, qual comprimento de onda da luz seria capaz de agregar a solução de nanopartículas e se a presença do ligante PZT era imprescindível.

9.2.2.1 Influência da Luz na Irradiação de AuNPs estabilizadas com PZT

Além da molécula de mercaptoetilpirazina (PZT), as moléculas 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT) e trifenilmetilmercaptana (TFMT) (Figura 98), também foram estudadas para tentar desvendar a influência da luz nos processos de agregação. A escolha por tais moléculas se deve ao fato dessas se ligarem às nanopartículas de ouro sem promover agregação não importa a concentração empregada.

Figura 98 - Estrutura da molécula trifenilmetilmercaptana (TFMT)

Dois experimentos foram realizados, irradiando as soluções de nanopartículas com luz visível e luz UV. Acompanhou-se a evolução das bandas de ressonância plasmônica individual e de acoplamento plasmônico com o tempo, coletando espectros a cada segundo.

Os experimentos foram realizados utilizando um banho termostatzado à temperatura de 298 K e agitação controlada para manter homogeneidade da solução. Os perfis cinéticos estão apresentados na Figura 99, Figura 100, Figura 101, Figura 102, Figura 103 e Figura 104

Figura 99 – Perfil cinético de AuNPsPZT com o tempo em função da irradiação com luz UV. Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 30 minutos.

Figura 100 - Perfil cinético de AuNPsPZT com o tempo em função da irradiação com luz visível (utilizando um filtro para luz UV). Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 60 minutos.

Figura 101 - Perfil cinético de AuNPsTFMT com o tempo em função da irradiação com luz UV. Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 30 minutos.

Figura 102 - Perfil cinético de AuNPsTFMT com o tempo em função da irradiação com luz visível (utilizando um filtro para luz UV). Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 30 minutos.

Figura 103 - Perfil cinético de AuNPsTMT com o tempo em função da irradiação com luz UV. Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 60 minutos.

Figura 104 - Perfil cinético de AuNPsTMT com o tempo em função da irradiação com luz visível (utilizando um filtro para luz UV). Acima: Evolução das bandas de ressonância plasmônica e acoplamento plasmônico. Abaixo: Curva cinética com o tempo. Espectros registrados a cada segundo por 60 minutos.

Curiosamente, observou-se que a luz UV foi responsável pelo fenômeno observado na Figura 97 e que nenhuma outra molécula mostrou efeito semelhante na faixa de comprimentos de onda estudados.

Realizou-se, então, um experimento simultâneo em que a cinética lenta de agregação foi monitorada com o tempo acompanhando a distribuição de tamanho das partículas com a irradiação UV para mostrar que mesmo havendo fotoagregação de AuNPPZT preferencialmente na superfície da cubeta, a suspensão também se apresentava agregada. A Figura 105 mostra o histograma de distribuição de tamanho das partículas com o tempo.

Figura 105 – Histograma referente ao monitoramento simultâneo da distribuição de tamanho das T AuNP0PZT com o tempo em função das mudanças observadas nas bandas de ressonância plasmônica superficial e de acoplamento plasmônico. Experimento realizado a $T = 298\text{ K}$.

O comprimento de onda da radiação UV também se mostrou importante, uma vez que quanto mais energético, mais espesso o filme formado na superfície da cubeta e menos agregação era observada. A Figura 106 mostra os espectros de extinção de duas suspensões de AuNPPZT irradiadas com $\lambda = 254$ nm e $\lambda = 334$ nm, em que claramente pode-se observar que para um comprimento de onda mais energético, a extensão da agregação é menor exatamente porque a agregação acontece preferencialmente na superfície da cubeta impedindo que a suspensão continuasse a ser irradiada.

Figura 106 - Espectros de extinção de TAuNP0PZT obtidos com o tempo sob irradiação com diferentes comprimentos de onda dentro da faixa do UV.

Classicamente, o conceito de fotolitografia é uma técnica utilizada na confecção de circuitos integrados. Através dessa técnica o circuito é desenhado, fotografado e reduzido a um negativo com o tamanho final requerido. Esse negativo é conhecido por **fotomáscara**. Em seguida, a luz atravessa a **fotomáscara** sobre uma lâmina de material semiconductor revestida com um material fotorresistente. Ao atingir esse material, sua composição se modifica. A seguir, o material fotorresistente não atingido pela luz é retirado. Ao final, o material semiconductor é

exposto a uma solução de gravação química que marca a superfície não protegida pelo material fotorresistente, criando o molde do circuito desejado da lâmina.

Através desse experimento, sem empregar o procedimento clássico de fotoimpressão, o que se vislumbra é a obtenção de novos circuitos integrados compostos por nanopartículas e moléculas como mostra a Figura 107.

Figura 107 – Circuito impresso em uma cubeta após fotoagregação de AuNPs. Irradiação com fonte de luz UV de comprimento de onda igual a 254 nm.

A união entre moléculas conectoras/ condutoras e nanopartículas de ouro pode oferecer as melhores condições para gerar tais materiais, tanto por delimitarem um espaçamento definido pelo tamanho da molécula quanto por permitirem que a amplitude do acoplamento plasmônico seja controlada.

Porém, os mecanismos que regem o fenômeno ainda não estão compreendidos.

Foi verificado o papel da luz UV e da molécula de PZT como sendo essenciais para que a fotoagregação preferencial na superfície da cubeta acontecesse. O interessante é que máscaras puderam ser criadas e padrões de nanopartículas agregadas puderam ser obtidos. Isso é bastante interessante uma vez que a busca por organização é importante para a espectroscopia intensificada por superfície e a integração para a plasmônica.

Dessa maneira, as estruturas fotoagregadas apresentadas anteriormente foram reproduzidas de maneira sistemática na construção de um filme homogêneo por etapas. A intenção era ter um filme homogêneo. Porém, novamente foram obtidos resultados inesperados, como será visto a seguir.

9.2.2.2 Estudo da Formação de Filmes Fotoagregados de AuNPsPZT

O primeiro passo foi silanizar um filme de vidro com mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTS) – Aldrich.

Para isso, mergulharam-se lâminas de vidro com dimensões $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2$ em álcool isopropílico, que foram mantidos em banho de ultrassom por 20 min e secos utilizando papel próprio para limpar lentes. Em seguida, preparou-se uma solução 5 % (v/v) de MPTS em CHCl_3 – Synth e as lâminas de vidro foram mergulhadas nessa solução por 3 min. As lâminas de vidro modificadas foram então submetidas a 5 rápidos banhos sucessivos em um béquer contendo água ultra pura e, depois, o mesmo procedimento foi repetido utilizando outro béquer com água. A comprovação da silanização veio pela hidrofobicidade aparente. Os vidros foram

colocados em uma estufa pré-aquecida a 180 °C por 2 horas. Após esfriar, passou-se um fluxo de nitrogênio guardou-se as lâminas até o uso. O esquema da Figura 108 mostra o procedimento.

Figura 108 – Esquema mostrando o procedimento para silanização de vidros com MPTS.

A vantagem de tal método é a possibilidade de obter filmes modificados e organizados de tal forma que grupamentos tióis estariam disponíveis para coordenação com ouro. As lâminas silanizadas foram mergulhadas em uma suspensão contendo AuNPs estabilizadas por citrato (TAuNPs) e logo em seguida, adicionou-se PZT (3 mmol L^{-1}), irradiando-se com luz UV por 30 minutos. Para medidas de comparação foram utilizados dois tamanhos de nanopartículas e também agregação química das nanopartículas de citrato apenas, adicionando $\text{NaCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$.

A rugosidade dos filmes foi estudada por AFM de contato intermitente e suspensões de nanopartículas de ouro com tamanhos diferentes (TAuNP0 e TAuNP1), quando irradiadas na presença de PZT, apresentaram filmes com espessuras diferentes, como pode ser visto na Figura 109 e na Figura 110.

Figura 109 – Imagem de AFM de contato intermitente de filme de TAuNP0(15 nm)pzt. RMS 8 nm.

Figura 110 – Imagem de AFM de contato intermitente de filme de TAuNP1(25nm)pzt. RMS 18,6 nm.

Uma vez tendo os filmes de ouro fotoagregados, esperava-se estudar por microscopia confocal a distribuição da molécula de PZT no filme. Porém, ao incidir o laser sobre a amostra descobriu-se que era possível escrever na superfície do filme criando padrões submicrométricos (traço com 300 nm de espessura) como pode ser visto na Figura 111.

Figura 111 – Esquerda: Imagem de AFM de contato intermitente do filme de AuNPs(15 nm) pzt (RMS = 8 nm). Direita: Imagem óptica do padrão nanométrico (espessura do traço igual a 300 nm) escrito sobre o filme utilizando laser com comprimento de onda igual a 532 nm.

Foi um resultado inesperado, que acontecia apenas com filmes de TAuNP0(15nm)PZT (o mesmo foi feito com TAuNP0 e TAuNP1 sem resultado positivo). O tamanho da partícula também influenciou o experimento, não acontecendo nada no filme TAuNP1(25nm)PZT. Atribui-se esse resultado então, à homogeneidade da agregação na formação do filme com nanopartículas pequenas.

Como o experimento foi realizado utilizando um laser de um equipamento Raman Confocal, sabe-se que se a amostra tivesse queimado, bandas características de estiramento C-C, indicando danos na amostra, seriam vistas, o que não aconteceu.

O espectro do filme (Figura 112) mostra uma banda larga indicando grande integração das nanopartículas no filme.

Figura 112 – Espectro de extinção por reflectância do filme de AuNP(15 nm)pzt.

Até o presente momento, o estudo vibracional da molécula sob essas condições de interação com a luz não foi realizado, porque para que o fenômeno de fotoagregação acontecesse, era necessário utilizar partículas não muito grandes, que ao agregar, não possuíam banda de acoplamento plasmônico coincidente com o laser de excitação do espectrômetro Raman presente no laboratório até o momento de realização desses experimentos (785 nm).

Porém, para mostrar ao menos que as partículas estão passivadas com tal ligante, foi obtido um espectro SERS de T AuNP1PZT (Figura 113), que por ser muito similar ao espectro Raman da literatura⁸⁷, foi facilmente atribuído.

Figura 113 - Espectro SERS de TAU NP1PZT obtido com adição de 100 μL de NaCl 1 mol L^{-1} .

Em uma atribuição mais direta e baseada na literatura⁸⁷, destacam-se as bandas em 1581 cm^{-1} referente a um estiramento de anel com deformação angular simétrica no plano e a banda em 1521 cm^{-1} , referente à uma deformação simétrica no plano de C-H₂. As bandas em 1060 e 1018 cm^{-1} , de mais alta intensidade no espectro, foram atribuídas ao estiramento C-C do etano + deformação angular no plano de C-H da pirazina e à respiração do anel, respectivamente. Outra banda que se destaca é a banda em 715 cm^{-1} atribuída a estiramento de C-S + deformação angular no plano do anel.

Os próximos passos serão tornar esse capítulo de evidências em algo real. Para isso, será estudado o espectro SERS de TAU NP0PZT e, também, filmes das duas partículas TAU NP2DadMcP_I e TAU NP0PZT, irradiando em 785 e 254 nm respectivamente e esperando que haja uma fotocorrente para cada situação.

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

- O estudo sistemático de variações da síntese der *Turkevich* mostrou a possibilidade de isolar um intermediário da reação de oxidação de citrato na superfície das AuNPs.
- A otimização da síntese permitiu também uma boa reprodutibilidade de resultados, o que foi importante para posteriores estudos de funcionalização.
- A molécula de TMT se mostrou um excelente modelo para estudar diferentes condições de síntese.
- Na condição de síntese por troca da camada passivante, os estudos de concentração, pH e a simulação dos espectros teóricos para diferentes simetrias do TMT, ajudaram a interpretar e caracterizar os espectros SERS de todas as condições experimentais.
- Para baixas concentrações de TMT, foi observada uma coordenação monodentada, enquanto para concentrações maiores, uma coordenação bidentada por um tiol e um nitrogênio.
- Os experimentos realizados no mestrado de maneira quantitativa para detectar metais foram realizados novamente buscando uma abordagem clássica de caracterização de complexos por SERS. Para diferentes concentrações de metais, o que se observou foi a formação de diferentes esferas de coordenação.
- Na condição de síntese *in situ*, as nanopartículas de ouro estabilizadas por TMT foram sintetizadas com e sem agente redutor.
- Para concentrações de TMT equivalentes as de ouro, o ligante pode reduzir o Au^{3+} formando nanopartículas. Um precipitado vermelho foi obtido e atribuído à oxidação do ligante, que poderia polimerizar e formar uma espécie de rede com as AuNPs.

- Para concentrações menores de TMT foi observada uma dependência com a temperatura na formação de nanopartículas, sendo que à temperatura ambiente, a reação só ocorreu com a ajuda de um agente redutor.
- Todas essas condições foram caracterizadas e não houve resposta para metais, o que indica uma coordenação pelos três tióis na superfície das nanopartículas.
- Foi verificado que a mínima concentração de TMT necessária para estabilizar nanopartículas utilizando um agente redutor foi em uma condição de *single molecule*. Essa condição é bastante interessante, pois estando o TMT como reagente limitante, foi observado, nesse caso, uma resposta quando adicionado íons mercúrio.
- O estudo da funcionalização de AuNPs com DadMcP foi realizado apenas por troca da camada passivante e sua funcionalização se mostrou dependente da superfície das partículas de Turkevich utilizadas, sendo inclusive influenciado pelo tempo na coordenação, tipo de eletrólito e pela incidência do laser do espectrômetro Raman utilizado.
- Para partículas contendo cetonadicarboxilato em superfície e iodeto como eletrólito, os espectros SERS de AuNPDadMcP mostraram um produto inicial e outro com o tempo se não forem expostas ao comprimento de onda do laser do espectrômetro Raman (785nm), indicando coordenação por um e depois por dois tióis.
- Em contrapartida, nas mesmas condições e havendo exposição ao laser, um outro produto foi formado, atribuído à oxidação do ligante, que forma pontes de dissulfeto com possível formação de uma rede de partículas.
- Tendo cloreto como eletrólito, o espectro muda apenas com o tempo.

- As partículas que contêm citrato em superfície agregam na presença de DadMcP (nas concentrações estudadas) e o espectro também muda apenas com o tempo.
- Os estudos com a molécula mercaptoetilpirazina (PZT) mostraram que após a troca da camada passivante de citrato, a suspensão de nanopartículas não permanecia estável por muito tempo.
- Verificou-se também que quanto menor o tamanho das partículas (distribuição de tamanhos por volta de 15 nm) menor era essa taxa de agregação.
- De maneira ainda exploratória, descobriu-se que a agregação era causada pela forte interação com a luz UV e que a suspensão fotoagregava preferencialmente na superfície da cubeta.
- Filmes fotoagregados foram construídos sobre uma superfície de vidro modificada e foi possível escrever sobre esses filmes com um laser verde (532 nm), não sendo possível escrever sobre um filme contendo partículas maiores, tendo ou não o PZT ancorado.
- Todos os processos fotoinduzidos serão melhor estudados com possíveis aplicações em litografia.
- Estudar a interação metal-ligante local se mostrou parte importante dos estudos de estabilidade e funcionalização de nanopartículas, requisitos importantes para o desenvolvimento de sensores SERS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ WERNER, A. *Zeitschrift für anorganische Chemie*, **1893**, 3, 267.
- ² IBACH, H. *Physics of Surfaces and Interfaces*. Heidelberg: Springer, **2006**.
- ³ DANIEL, M.C.; ASTRUC, D. *Chem. Rev.*, **2004**, 104, 293.
- ⁴ DESCALZO, A. B.; MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R.; SANCENÓN, F.; HOFFMANN, K.; RURACK, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 5924.
- ⁵ TOMA, H. E.; ZAMARION, V. M.; TOMA, S. H.; Araki, K. *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, 21, 1158.
- ⁶ WHITESIDES, G. M. *Small*, **2005**, 1, 172.
- ⁷ FARADAY, M. *Phil. Trans. of the Royal Soc. of London*. **1857**, 147, 145.
- ⁸ EUSTIS, S.; EL-SAYED, M.A. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 35, 209.
- ⁹ WATANABE, K.; et al. *Chem Rev.* **2006**, 106, 4301.
- ¹⁰ QUINTEN, M. *Appl. Phys. B.*, **2001**, 73, 317.
- ¹¹ DANIEL, M.C.; ASTRUC, D. *Chem. Rev.*, **2004**, 104, 293.
- ¹² TOMA, H.E. *O Mundo Nanométrico*. São Paulo: Oficina de Textos, **2004**.
- ¹³ KREIBI, U.; VOLLMER, M. *Optical Properties of Metal Clusters*. Berlin: Springer, **1995**.
- ¹⁴ NASSAU, K. *The Physics and Chemistry of Color – The Fifteen Causes of Color*. New York: John Wiley & Sons, Inc., **2001**.
- ¹⁵ MAIER, S. A. *Plasmonics, Fundamentals and Applications*. New York: Springer, 2007.
- ¹⁶ RU, E. L.; ETCHEGOIN, P. *Principles of Surface Enhanced Raman Spectroscopy*. Amsterdam: Elsevier, **2009**.
- ¹⁷ COTTON, D. A. *Chemistry of Precious Metals*, London: Chapman & Hall, **1997**.
- ¹⁸ KLABUNDE, K. J. *Nanoscale Materials in Chemistry*. Kansas: John Wiley & Sons, **2001**.
- ¹⁹ TONKS, L., LANGMUIR, I.: *Phys. Rev.* **1929**, 33, 195.

-
- ²⁰ RODITI, I. *Dicionário Houaiss de Física*, Rio de Janeiro: Objetiva, **2005**.
- ²¹ HELSEY, C. N. *Plasmons: theory and Applications*, New York: Nova Science Pub Inc, **2010**.
- ²² JAIN, P K; EL-SAYED, I H; A EL-SAYED, M. *Nanotoday*, **2007**, 2, 18.
- ²³ MOORES, A; GOETTMANN, F. *New J. Chem.*, **2006**, 30, 1121.
- ²⁴ EUSTIS, S.; EL-SAYED, M.A. *Chem. Soc Rev.* **2005**, 35, 209.
- ²⁵ MAIER, S. A. *Guiding of Electromagnetic Energy in Subwaveleght Periodic Metal Structures*. PhD Thesis, California Institute of Technology – Pasadena, California, **2003**.
- ²⁶ MIE, G. *Ann Phys.*, **1908**, 25, 377.
- ²⁷ BOHREN, C.F.; HUFFMAN, D.R. *Adsorption and Scattering of Light by Small Particles*, Wiley, New York, **1983**.
- ²⁸ GRADY, N. K.; GOODRICH, G. P.; HALAS, N. J. *Nano Letters*, **2006**, 6, 2338.
- ²⁹ YANG, W.; HULTEEN, J.; SCHATZ, G. C.; VAN DUYNE, R. P. *J Chem. Phys.*, **1996**, 104, 4313.
- ³⁰ BROLO, A. G.; GERMAIN, P.; HAGER, G. *J. Phys. Chem. B*, **2002**, 106, 5982.
- ³¹ AROCA, R. *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*, John Wiley&Sons Ltd: Windsor, **2006**.
- ³² MOSKOVITS, M., *J. Raman Spectroc.* **2005**, 36, 485.
- ³³ FLEISCHMANN, M.; HENDRA, P. J.; McQUILLAN, A. J., *Chem. Phys. Lett.* **1974**, 26, 163.
- ³⁴ OTTO, A. *Appl Surf. Sci.* **1980**, 6, 309.
- ³⁵ KING, F. W.; VAN DUYNE, R. P.; SCHAZ, G. C.; *J. Chem. Phys.* **1978**, 69, 4472.
- ³⁶ SANT'ANA, A. C.; CORIO, P.; TEMPERINI, M. L. A., *Quim. Nova* **2006**, 29, 805.
- ³⁷ CAMDEN, J.P.; DIERINGER, J. A.; ZHAO, J.; VAN DUYNE, P. R. *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 1653.
- ³⁸ DICK, L. A.; HAES, A. J.; VAN DUYNE, R. P. *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104, 11752.
- ³⁹ KANG, T.; HONG, S.; CHOI, Y.; LEE, L. P. *Small*, **2010**, 6, 2622.

-
- ⁴⁰ KENNEDY, B. J.; SPAETH, S.; DICKEY, M.; CARRON, K. T. *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103, 3640.
- ⁴¹ KARPOV, S. V.; GERASIMOV, V. S.; ISAEV, I. L.; PODAVALOVA, O. P.; SLABKO, V. V. *Colloid Journal*, **2006**, 69, 159.
- ⁴² ARAVIND, P. K.; NITZAN, A.; METIU, H. *Surf. Sci.* **1981**, 110, 189.
- ⁴³ ARAVIND, P. K.; METIU, H. *Surf. Sci.* **1983**, 124, 506.
- ⁴⁴ ARAVIND, P. K.; METIU, H. *J. Phys Chem.* **1982**, 86, 5076.
- ⁴⁵ JENSEN, T.; KELLY, L.; LAZARIDES, A.; SCHATZ, G. C. *J. Cluster Sci.* **1999**, 10, 295.
- ⁴⁶ TALLEY, C. E.; JACKSON, J. B.; OUBRE, C.; GRADY, N. K.; HOLLARS, C. W.; LANE, S. M.; HUSER, T. R.; NORDLANDER, P.; HALAS, N. J. *Nano Letters*, **2005**, 5, 1569.
- ⁴⁷ FÉLIDJ, N.; AUBARD, J.; LÉVI, G. *J. Chem. Phys.* **1999**, 111, 1195.
- ⁴⁸ XU, H.; BJERNELD, E. J.; KÄLL, M. BÖRGESSON, L.; *Phys. Rev. Lett.* **1999**, 83, 4357.
- ⁴⁹ XU, H.; AIZPURUA, J.; KÄLL, M.; APELL, P. *Phys Rev. E* **2000**, 62, 4318.
- ⁵⁰ MICHAELS, A. M.; NIRMAL, M.; BRUS, L. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 9932.
- ⁵¹ FARIA, D. L. A.; TEMPERINI, M. L. A.; SALA, O. *Quím. Nova.* **1999**, 22, 54.1
- ⁵² CAMPION, A.; KAMBHAMPATI, P. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 241.
- ⁵³ ADRIAN, F. J. *J. Chem. Phys.* **1982**, 77, 5302.
- ⁵⁴ WU, D-Y.; DUAN, S.; REN, B.; TIAN, Z-Q. *J. Raman Spectrosc.* **2005**, 36, 533.
- ⁵⁵ LOMBARDI, J. R.; BIRKE, R. L. *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42, 734.
- ⁵⁶ MELO, V. H. S.; ZAMARION, V. M.; ARAKI, K.; TOMA, H. E. *J. Raman Spectrosc.* **2011**, 42, 644.
- ⁵⁷ GRAHAM, D.; FAULDS, K. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 1042–1051.
- ⁵⁸ SCHLÜCKER, S.; KÜSTNER, B.; PUNGE, A.; BONFIG, R.; MARX, A.; STRÖBEL, P. *J. Raman Spectrosc.* **2006**, 37, 719–721.
- ⁵⁹ DYLLA-SPEARSD, R.; TOWNSEND, J. E.; SOHN, L. L.; JEN-JACOBSON, L.; MULLER, S. *J. Anal. Chem.* **2009**, 81, 10049.

-
- ⁶⁰ MATSCHULAT, A.; DRESHER, D.; KNEIPP, J. *ACS Nano*, **2010**, 4, 3259.
- ⁶¹ SON, S. K.; JANG, Y.; YOON, K. Y.; KANG, E.; HYEON, T. *Nano Lett.* **2004**, 4, 1147.
- ⁶² BRUST, M.; et al. *Chem. Soc.-Chem. Commun.* **1994**, 801.
- ⁶³ BRUST, M.; FINK, J.; BETHELL, D.; SCHIFFRIN, D. J.; KIELY, C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1655.
- ⁶⁴ TEMPLETON, A. C.; HOSTETLER, M. J.; KRAFT, C. T.; MURRAY, R. W. *J. Am. Soc.* **1998**, 120, 1906.
- ⁶⁵ TEMPLETON, A. C.; HOSTETLER, M. J.; WARMOTH, E. K.; CHEN, S.; HARTSHORN, C. M.; KRISHNAMURTHY, V. M.; FORBES, M. D. E.; MURRAY, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 4845.
- ⁶⁶ OTSUKA, H.; AKIYAMA, Y.; NAGASAKI, Y.; KATAOKA, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8226.
- ⁶⁷ JOHNSON, S. R.; EVANS, S. D.; MAHON, S. W.; ULMAN, A. *Langmuir*, **1997**, 13, 51.
- ⁶⁸ CHEN, S.; KIMURA, K. *Langmuir*, **1999**, 15, 1075.
- ⁶⁹ WANG, S.; SIM, W. S. *Langmuir*, **2006**, 22, 7861.
- ⁷⁰ TEMPLETON, A.C.; WUELFING, W. P.; MURRAY, R. W. *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33, 27.
- ⁷¹ ARAKI, K.; MIZUGUSHI, E.; TANAKA, H.; OGAWA, T. *J. Nanosci. Nanotech.* **2006**, 6, 1.
- ⁷² KNIGHT, E. R.; LEUNG, N. H.; THOMPSON, A. L.; HOGARTH, G.; WILTON-ELY, J. E.D. E. T. *Inorg. Chem.* **2009**, 48, 3866.
- ⁷³ HOGARTH, G. *Prog. Inorg. Chem.* **2005**, 53, 71.
- ⁷⁴ SENDROIU, I. E.; SCHIFFRIN, D. J.; ABAD, J. M. *J Phys. Chem. C.* **2008**, 112, 10100.
- ⁷⁵ MAYER, C. R.; DUMAS, E.; MICHEL, A.; SÉCHERESSE, F. *Chem. Comm.*, **2006**, 40, 4183.
- ⁷⁶ MAYER, C. R.; DUMAS, E.; SÉCHERESSE, F. *Chem. Comm.* **2005**, 3, 345.
- ⁷⁷ MAYER, C. R.; DUMAS, E. SÉCHERESSE, F. *J. Col. Interf. Sci.*, **2008**, 328, 452.
- ⁷⁸ ARAKI, K ; TOMA, H. E. *J. Electroanal. Chem.* **2004**, 562, 145.

-
- ⁷⁹ NOGUEIRA, A. F.; FORMIGA, A. L. B.; WINNISCHOFER, H.; NAKAMURA, M.; ENGELMANN, F. M.; ARAKI, K.; TOMA, H. E. *Photochem. & Photobio. Sci.*, **2004**, 3, 56.
- ⁸⁰ ROCHA, R. C.; TOMA, H. E. *Trans. Met. Chem.*, **2003**, 28, 43.
- ⁸¹ DONG, T.Y.; HUANG, C.; CHEN, C. P.; LIN, M. C. *J. Org. Metal. Chem.* **2007**, 692, 5147.
- ⁸² THOMAS, K. G.; KAMAT, P. V. *Acc. Chem. Res.*, **2003**, 36, 888.
- ⁸³ PRAMOD, P.; SUDEEP, P. K.; THOMAS, K. G.; KAMAT, P. V. *J Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 20737.
- ⁸⁴ KRAUSZ E.; FERGUSON J. *Prog. Inorg. Chem.*, **1989**, 37, 293.
- ⁸⁵ HUANG, T.; MURRAY, R. W. *Langmuir*, **2002**, 18, 7077.
- ⁸⁶ NUNES, F.N.; BONIFÁCIO, S. L.; ARAKI, K.; TOMA, H.E., *Inorg. Chem.* **2006**, 46, 94.
- ⁸⁷ TOMA, S. H; BONACIN, J. A.; ARAKI, K.; TOMA, H. E., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2007**, 3356.
- ⁸⁸ TOMA, H. E.; CAMERA, S. G. *J. Photochem. Photobio: A*, **2002**, 151, 57.
- ⁸⁹ TOMA, H. E.; COELHO, A.; MALIN, J. M. *Inorg. Chem.*, **1983**, 22, 2703.
- ⁹⁰ TOMA, H. E.; BATISTA, A. A.; GRAY, H. B. *J. Am. Chem. Soc*, **1982**, 104, 7509.
- ⁹¹ GRABAR, K. C.; FREEMAN, G. R.; HOMMER, M. B.; NATAN, M. J. *Anal. Chem.* **1995**, 67, 735.
- ⁹² TALLEY, C. E.; JACKSON, J. B.; OUBRE, C.; GRADY, N. K.; HOLLARS, C. W.; LANE, S. M.; HUSER, T. R.; NORDLANDER, P.; HALAS, N. J. *Nano Lett.*, **2005**, 5, 1569.
- ⁹³ SONNTAG, M.; KLINGSPORN, J.; GARIBAY, L.; ROBERTS, J.; DIERINGER, J.; SCHEIDT, K.; JENSEN, L.; SCHATZ, G. C.; SEIDEMAN, T.; VAN DUYN, R. P. *J. Phys. Chem. C*, **2012**, 116, 478,
- ⁹⁴ SANTOS, D. P.; ANDRADE, G. F. S.; TEMPERINI, M. L. A.; BROLO, A. G. *J. Phys. Chem. C*, **2009**, 113, 17737.
- ⁹⁵ GRASSESCHI, D.; ZAMARION, V. M.; ARAKI, K.; TOMA, H. E. *Anal. Chem.* **2010**, 82, 9146.

-
- ⁹⁶ COSTA, J. C. S.; ANDO, R. A.; CAMARGO, P. H. C.; CORIO, P. *J. Phys. Chem. C*, **2011**, 115, 4184.
- ⁹⁷ COSTA, J. C. S.; ANDO, R. A.; SANTANA, A. C.; ROSSI, L. M.; SANTOS, P. S.; TEMPERINI, M. L. A.; CORIO, P. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, 11, 7491.
- ⁹⁸ SHEN, X. S.; WANG, G. Z.; HONG, X.; ZHU, W. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2009**, 11, 7450.
- ⁹⁹ BELL, S. E. J.; McCOURT, M. R. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2009**, 11, 7455.
- ¹⁰⁰ ZHANG, X.; YOUNG, M. A.; LYANDRES, O.; VAN DUYNE, R. P. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 4484.
- ¹⁰¹ HAYNES, C.L.; YONZON, C. R.; ZHANG, X. Y.; VAN DUYNE, R.P. *J. Raman Spectrosc.*, **2005**, 36, 471.
- ¹⁰² ANTHRAX. Disponível em: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Anthrax>>. Acesso em 21 jan. **2012**.
- ¹⁰³ KNIGHT, M.; HALAS, N. J. *New J. Phys.*, **2008**, 105006.
- ¹⁰⁴ NANOCAGES. Disponível em: <<http://www.nanocages.com/research.shtml>> Acesso em 21 jan. **2012**.
- ¹⁰⁵ PÉREZ-JUSTE, J.; PASTORIZA-SANTOS, I.; LIZ-MARZÁN, L. M.; MULVANEY, P. *Coord. Chem. Rev.* **2005**, 249, 1870.
- ¹⁰⁶ MURPHY, C. J.; JANA, N. R. *Adv. Mater.* **2002**, 14, 80.
- ¹⁰⁷ TURKEVITCH J.; STEVENSON, P. C.; HILIER J., *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, 11, 55.
- ¹⁰⁸ SHAW, D. J. *Introdução à Química dos Colóides e de Superfícies*. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, **1975**.
- ¹⁰⁹ KREIBI, U.; VOLLMER, M. *Optical Properties of Metal Clusters*. Berlin: Springer, **1995**.
- ¹¹⁰ BRUST, M.; WALKER, M.; BETHELL, D.; SCHIFFRIN, D. J.; WHYMAN, R. *J. Chem. Soc.; Chem. Commun.* **1994**, 801.
- ¹¹¹ FRENS, G. *Nature (London), Phys. Sci.* **1973**, 241, 20-22.
- ¹¹² HENGLEIN, A.; GIERSIG, M. *J. Phys. Chem. B*, **1999**, 103, 9533.
- ¹¹³ JI, X.; SONG, X.; LI, J.; BAY, Y.; YANG, W.; PENG, X. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 13939.

-
- ¹¹⁴ CHOW, M. K.; ZUKOSKI, C. F. *J. Colloid Interface Sci.* **1994**, 165, 97.
- ¹¹⁵ PONG, B.-K.; ELIM, H. I.; CHONG, J.-X.; JI, W.; TROUT, B. L.; LEE, J.-Y. *J. Phys. Chem. C*, **2007**, 111, 6281.
- ¹¹⁶ BIGGS, S.; MULVANEY, P.; ZUKOSKI, C. F.; GRIESER, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 9150.
- ¹¹⁷ GOSH, S. K.; PAL, T. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 4797.
- ¹¹⁸ ELGHANIAN, R.; STORHOFF, J. J.; MUCIC, R. C.; LETSINGER, R. L.; MIRKIN, C. A. *Science*, **1997**, 277, 1078.
- ¹¹⁹ CHECHIK, V. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 7780.
- ¹²⁰ WANG, Y.; NEYMAN, A.; ARKHANGELSKY, E.; GITIS, V.; MESHI, L.; WEINSTOCK, I. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 17412.
- ¹²¹ PERUMAL, S.; HOFMANN, A.; SCHOLZ, N.; RÜHL, E.; Graf, C. *Langmuir*, **2011**, 27, 4456.
- ¹²² YAN, H.; WONG, C.; CHIANESE, A. R.; LUO, J.; WANG, L.; YIN, J.; ZHONG, C. *Chem. Mater.* **2010**, 22, 5918.
- ¹²³ KLABUNDE, K. J. *Nanoscale Materials in Chemistry*. Kansas: John Wiley & Sons, **2001**.
- ¹²⁴ KUMAN, C. S. S. R. *Metallic Nanoparticles*, Weinheim: Wiley – VCA, **2009**.
- ¹²⁵ YAMAMOTO S, Watari H. *Langmuir* **2006**, 22, 6562.
- ¹²⁶ FAOLÁIN, E. Ó.; HUNTER M.B.; BYRNE J.M.; KELEHAN P., LAMBKIN H.A.; BYRNE H.J.; LYNG, F.M. *J HistochemCytochem.* **2005**, 53, 121.
- ¹²⁷ KERKER, M.; SIIMAN, O.; BUMM, L. A.; WANG, D. S. *Appl Opt.* **1980**, 19, 3253.
- ¹²⁸ ILIESCU T., BAIA M, MICLĂU V. *Eur J Pharm Sci.* **2004**, 22: 487-95.
- ¹²⁹ VOGEL-WEILL C., CORSET, T.J. *Spectrochim. Acta A.* **1995**, 51: 2357-77.
- ¹³⁰ CASTRO J. L.; LÓPEZ-RAMIREZ, M. R.; CENTENO, S. P.; OTERO, J. C. **2004**, **74**, 141.
- ¹³¹ WRZOSEK, B.; BUKOWSKA, J.; KUDELSKI, A. *J Raman Spectrosc.* **2005**, 36, 1040.
- ¹³² KUDELSKI, A. *Surf Sci.* **2002**, 502–503, 219.

-
- ¹³³ OJEA-JIMÉNEZ, J.; ROMERO, F. M.; BASTÚS, N. G.; PUNTES, V. *J. Phys. Chem. C*, **2010**, 114, 1800.
- ¹³⁴ WU, X.; REDMOND, P. L.; LIU, H.; CHEN, Y.; STEIGERWALD, M.; BRUS, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 9500.
- ¹³⁵ CALVINO-CASILDA, V.; BAÑARES, M. A.; LOZANODIZ, E. *Cat. Today*, **155**, **2010**, 279.
- ¹³⁶ ROSTKOWSKA, H.; LAPINSKI, L.; KHVOROSTOV, A.; NOWAK, M. J. *J. Phys. Chem. A*. **2005**, 109, 2160
- ¹³⁷ HENKE, K. R.; HUTCHISON, A. R.; KREPPS, M. K.; PARKIN, S.; ATWOOD, D. A., *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 4443.
- ¹³⁸ IENCO, A.; MIDOLLINI, S.; ORLANDINI, A.; VACCA, A., *Inorg. Chim. Acta*, **2004**, 357, 2615.
- ¹³⁹ PEDIREDDI, V.R.; CHATTERJEE, S.; RANGANATHAN, A.; RAO, C. N. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, 10867.
- ¹⁴⁰ RANGANATHAN, A.; PEDIREDDI, V.R.; CHATTERJEE, S.; RAO, C. N. R., *J. Mater. Chem.*, **1999**, 9, 2407.
- ¹⁴¹ AOKI, S.; SHIRO, M.; KIMURA, E. *Chem. Eur. J.*, **2002**, 8, 929.
- ¹⁴² PEDIREDDI, V. R.; CHATERJEE, S.; RANGANATHAN, C.; RAO, C. N. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 10867.
- ¹⁴³ TZENG, B-C; CHE, M-C; PENG, M-C., *Chem. Comm.*, **1997**, 1771.
- ¹⁴⁴ LI, D.; SHI, W.; HOU, L., *Inorganic Chemistry*, **2005**, 44, 3907.
- ¹⁴⁵ AKRIVOS, P. D., *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 213, 181.
- ¹⁴⁶ PRUSHAN, M.; et al., *Inorganic Chemistry Communications*, **2007**, 10, 631.
- ¹⁴⁷ ZAMARION, V.M. *Estudos e Aplicações de Ressonância Plasmônica Superficial em Nanosondas SERS*. Dissertação de mestrado, **2008**, Instituto de Química da Universidade de São Paulo.
- ¹⁴⁸ ZAMARION, V. M.; TIMM, R. A.; ARAKI, K.; TOMA, H. *Inorg. Chem.* **2008**, 47, 2934.
- ¹⁴⁹ KRIEBEL, J. K. Charge Transport Through Self-Assembled Monolayers. PhD thesis, Department of Chemistry and Chemical Biology – Harvard University, Cambridge, 2006.
- ¹⁵⁰ BOURG, M. C.; BADIA, A.; LENNOX, R., *J. Phys. Chem. B*, **2000**, 104, 6565.

-
- ¹⁵¹ DUBOIS, L. H.; NUZZO, R. G., *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **1992**, 43, 437.
- ¹⁵² YAMADA, R.; UOSAKI, K., *Phys. Chem. B*, **2000**, 104, 6021.
- ¹⁵³ HOHENBERG, P.; KOHN, W.; *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **1964**, 136, 864.
- ¹⁵⁴ KOHN, W.; SHAM, L.; *Phys. Rev. A: At., Mol., Opt. Phys.* **1965**, 140, 1133.
- ¹⁵⁵ BECKE, A. D.; *J. Chem. Phys.* **1997**, 107, 8554
- ¹⁵⁶ BECKE, A. D.; *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 5648.
- ¹⁵⁷ LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G.; *Phys. Rev. B: At., Mol., Opt. Phys.* **1988**, 37, 785
- ¹⁵⁸ SUBRAMANIAN, M. K.; AMBARASAN, P. M.; MANIMEGALAI, S.; *Pranama – J. Phys.* **2010**, 74, 845.
- ¹⁵⁹ ANDERSON, M. P.; VIDAL, P. J. *Phys. Chem. A*, **2005**, 109, 2937.
- ¹⁶⁰ HÄKKINEN, H. *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, 37, 1847.
- ¹⁶¹ MORTON, S. M.; JENSEN, L. *J. Chem. Phys.* **2010**, 133, 74103.
- ¹⁶² MORTON, S. M.; JENSEN, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 4090.
- ¹⁶³ GAO, P.; WEAVER, M. J. *J Phys Chem.* **1985**; 89, 5040.
- ¹⁶⁴ GAO, X.; DAVIES, J.P.; WEAVER, M. J. *J Phys Chem.* **1990**, 94, 6858.
- ¹⁶⁵ PREVIDELLO, B. A. F.; CARVALHO, F. R.; TESSARO, A. L.; SOUZA, V. R.; HIOKA, N. *Quim. Nova*, **2006**, 29, 600.
- ¹⁶⁶ PREVIDELLO, B. A. F.; CARVALHO, F. R.; TESSARO, A. L.; SOUZA, V. R.; HIOKA, N. *Quim. Nova*, **2006**, 29, 600.
- ¹⁶⁷ HUHEEY, J. E. *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*, London: Harper & Row, **1972**.
- ¹⁶⁸ LEON, C. P.; KADOR, L.; PENG, B.; THELAKKAT, M. *J. Phys. Chem. B*, **2005**, 109, 5783.
- ¹⁶⁹ GREENWOOD, N. N.; EARNSHAW, A. *Chemistry of the Elements*, Oxford: Butterworth-Heinemann, **1997**.
- ¹⁷⁰ JANA, N. R.; GEARHEART, L.; MURPHY, C. J. *Langmuir*, **2001**, 17, 6782.
- ¹⁷¹ HARVEY, K. B.; MCQUAK, N. R. *Canadian J. Chem.* **1971**, 49, 3272.

-
- ¹⁷² KRIZ, G. S.; LAMPMAN, G. M.; PAVIA, D. L. *Introduction to Spectroscopy*, Brooks/ Cole: EUA, **2001**.
- ¹⁷³ MOSKOVITS, M. *Rev. Mod. Phys.* **1985**, 57, 783.
- ¹⁷⁴ ROSTKOWSKA, H.; LAPINSKI, L.; KHVOROSTOV, A.; NOWAK, M. J. *J. Phys. Chem. A* **2005**, 109, 2160.
- ¹⁷⁵ NIE, S.; EMORY, S. R. *Science*, **1997**, 275, 1102.
- ¹⁷⁶ KNEIPP, K.; WANG, Y.; KNEIPP, H.; PERELMAN, L. T.; ITZKAN, I.; DASARI, R. R.; FELD, M. S. *Phys. Rev. Lett.* **1997**, 78, 1667.
- ¹⁷⁷ HARVEY, K. B.; MCQUAK, N. R. *Canadian J. Chem.* **1971**, 49, 3272.
- ¹⁷⁸ SENGE, M.O. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*; **1996**, 35, 1923
- ¹⁷⁹ SPINNER, E. *J. Chem. Soc.*; **1960**, 1237.
- ¹⁸⁰ STOYANOV, S.; PETROV, I.; ANTONOV, L.; STOYANOV, T.; KARAGIANNIDIS, P.; ASLANIDIS, P. *Can. J. Chem.* **1990**, 68, 1492.
- ¹⁸¹ STOYANOV, S.; STOYANOV, T.; AKRIVOS, P. D. *Trends Appl. Spectrosc.* **1998**, 2, 89.
- ¹⁸² TIMM, R. *Sensores amperométricos baseados em nanocompósitos híbridos metal-orgânicos*. Tese de doutoramento, **2008**, Instituto de Química da Universidade de São Paulo.
- ¹⁸³ TIMM, R.; BONACIN, J. A.; FORMIGA, A. L. B.; TOMA, H. E. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2008**, 19, 287.
- ¹⁸⁴ BEAK, P.; FRY, I. S.; LEE, J.; STEELA, F. *J. Am. Chem. Soc.*; **1976**, 98, 171.
- ¹⁸⁵ CALVENTE, R. M.; PENAOSHEA, V. A.; CAMPOSMARTINS, J. M.; FIERRO, J. L. G. *J. Phys. Chem. A*, **2003**, 107, 7490.
- ¹⁸⁶ GREEN, M.; LIU, F.M.; COHEN, L.; KÖLLENSPERGER, P.; CASS, T. *Faraday Discuss*, **2006**, 132, 269.
- ¹⁸⁷ CERVANTES, G.; PRIETO, M. J.; MORENO, V. *Metal Based Drugs*, **1997**, 4, 9.
- ¹⁸⁸ TIMM, R. *Sensores amperométricos baseados em nanocompósitos híbridos metal-orgânicos*. Tese de doutoramento, **2008**, Instituto de Química da Universidade de São Paulo.
- ¹⁸⁹ PETROSKI, J.; CHOU, M.; CREUTZ, C. *J. Organ. Chem.* **2009**, 694, 1138.

¹⁹⁰ CÂMERA, S. G. Propriedades Fotofísicas e Eletroquímicas de Complexos de Bis(bipiridina)rutênio(II) com ligantes Pirazínicos, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química – Universidade de São Paulo, São Paulo, **1994**.

¹⁹¹ TOMA, H. E.; MALIN, J. M. *Inorg. Chem.* **1973**, 12, 1039.

¹⁹² TOMA, H. E.; MALIN, J. M. *Inorg. Chem.* **1973**, 12, 2080.

¹⁹³ TOMA, H. E.; BATISTA, A. A; GRAY, H. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 7509.

ANEXOS

Figura 1 – Espectro Near IR (6700 – 4000 cm⁻¹) da molécula de TMT sólida.

Figura 2 – Espectro de FTIR (3500-1750 cm⁻¹) da molécula de TMT sólida.

Figura 3 – Espectros de FTIR (acima) e Raman do ligante TMT sólido, no intervalo espectral (1700–350 cm⁻¹).

Figura 4 – Espectros eletrônicos de soluções aquosas da molécula de 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazina (TMT) na concentração $8,46 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes pHs e preparadas na ausência de luz.

Teoria de Mie

Todo o formalismo teórico acerca do entendimento do processo de extinção de luz visível por nanopartículas foi primeiramente tratado pelo físico Alemão Gustave Mie. Ele resolveu as equações de Maxwell para sistemas esféricos individuais, com dimensões da ordem ou menores do que o comprimento de onda da radiação incidente. Estabelecendo condições de contorno adequadas, foi possível realizar o cálculo do coeficiente de extinção dependente da frequência incidente C_{ext} , que é uma combinação dos coeficientes de absorção C_{abs} e de espalhamento da radiação C_{esp} :

$$C_{abs} = C_{ext} - C_{esp} \quad \text{Eq.1}$$

$$C_{ext} = \frac{2\pi}{k^2} \sum (2L+1) \text{Re}(a_L + b_L) \quad \text{Eq.2}$$

$$C_{esp} = \frac{2\pi}{k^2} \sum (2L+1)(a_L^2 + b_L^2) \quad \text{Eq.3}$$

Nessa equação, k é um parâmetro diretamente proporcional à dimensão da partícula, L refere-se à ordem de excitação ($L=1$, excitação dipolar) e a_L e b_L são parâmetros expressos por funções do tipo Ricatti-Bessel empregadas na resolução das equações de Maxwell (Re indica que a parte real dos parâmetros é empregada).

Considerando tanto as excitações dipolares quanto as multipolares, Mie foi capaz de prever com alto grau de concordância os espectros de extinção para partículas de diferentes tamanhos, partindo apenas das constantes dielétricas do meio e da partícula (componentes reais e imaginárias dependentes da frequência), já que a intensidade de extinção da luz está relacionada ao coeficiente de extinção:

$$A = \log \frac{I_i}{I_t} = 0,43 \cdot N \cdot d \cdot C_{ext}. \quad \text{Eq.4}$$

Em que I_i e I_t são as intensidades incidentes e transmitidas, N é a densidade de partículas e d é o caminho óptico. A teoria de Mie considera os processos de relaxação como resultantes de colisões entre elétrons, e permite prever corretamente o aumento da largura de banda para partículas maiores, já que as colisões intereletrônicas seriam mais frequentes.

A teoria de Mie falha ao considerar interações entre as esferas, bem como para descrever o comportamento espectral de partículas menores que 10 nm. Portanto, para estruturas mais complexas, vários métodos numéricos têm sido desenvolvidos, dentre os quais, destaca-se o *discrete dipole approximation* (DDA).

Teoria da Aproximação de Dipolos Discretos – *Discrete Dipole Approximation* (DDA)

Na DDA toda a partícula e seu ambiente são divididos em pequenas caixas ou volumes cúbicos elementares com N dipolos, caracterizados por sua posição (r_i)

e polarizabilidade (α_i). Se o tamanho da caixa é pequeno o suficiente, consideram-se apenas os dipolos do sistema, sem a necessidade de considerar as polarizabilidades multipolares. A interação do campo elétrico local ($E_{loc,i}$), com cada dipolo (P_i), gera uma polarização induzida, como mostra a equação 5.

$$P_i = \alpha_i E_{loc}(r_i) \quad \text{Eq. 5}$$

Cada dipolo possui uma polarização oscilante em resposta à onda incidente $E_{loc,i}$ e ao campo elétrico devido aos outros $N-1$ dipolos do sistema, ou seja, o campo para partículas isoladas pode ser visto como a soma de um campo externo e a contribuição dos outros dipolos na mesma partícula (E_{self}), como mostra a equação 6.

$$E_{loc(r_i)} = E_{loc,i} = E_{inc,i} + E_{self,i} \quad \text{Eq. 6}$$

$$E_{loc,i} = E_0 \exp(ikr_i) - \sum A_{ij} \cdot P_j \quad \text{com } j \neq i \quad \text{Eq. 7}$$

Sendo - $A_{ij} P_j$, a contribuição do campo elétrico na posição r_i devido ao dipolo P_j na posição r_j , E_0 , a amplitude e k o vetor de onda (ω/c) da onda incidente. Então, cada elemento A_{ij} é uma matriz 3x3 definida por:

$$A_{ij} P_j = \frac{\exp(ikr_{ij})}{r_{ij}^3} \{k^2 r_{ij} x(r_{ij} x P_j) + \frac{(1 - ikr_{ij})}{r_{ij}^2} [r_{ij}^2 P_j - 3r_{ij} (r_{ij} \cdot P_j)]\} \quad \text{Eq. 8}$$

com $r_{ij} = r_i - r_j$ e considerando:

$$P_i = \alpha_i (E_{loc,i} - \sum A_{ij} \cdot P_j) \quad \text{Eq. 9}$$

$$\sum A_{ij} P_j = E_{loc,i} \quad \text{com } j = 1 \text{ até } N \quad \text{Eq. 10}$$

Uma vez que a equação 10 pode ser resolvida para descobrir o valor de P_i , os coeficientes de extinção (C_{ext}) e absorção (C_{abs}), podem ser reescritos como:

$$C_{ext} = \frac{4\pi k}{|E_0|^2} \sum_{i=1}^N \text{Im}(E_{loc,i}^* \cdot P_i) \quad \text{Eq. 11}$$

$$C_{\text{abs}} = \frac{4\pi k}{|E_0|^2} \sum_{i=1}^N \left\{ \text{Im}[P_i \cdot (\alpha_i^{-1})^* P_i^*] - \frac{2}{3} k^3 |P_i|^2 \right\} \quad \text{Eq. 12}$$

Substituindo as equações 7 e 8, na equação 5 e rearranjando os termos, surge outra equação:

$$A' P = E \quad \text{Eq. 13}$$

Em que A' é uma matriz diferente da matriz A da equação 7. Para um sistema de N elementos, E e P na equação 13 são vetores $3N$ dimensionais e A' , uma matriz $3N \times 3N$. Resolvendo esse sistema, o vetor de polarização P é obtido e com isso, espectros de extinção de luz podem ser calculados para partículas de várias formas, isoladas ou não, diferente da Teoria de Mie. A grande maioria das simulações de espectros encontradas na literatura é através da aplicação dos algoritmos da teoria de DDA.

SÚMULA CURRICULAR

1. DADOS PESSOAIS

Vitor de Moraes Zamarion

Local e data de nascimento: São José dos Campos, SP - 30/07/1981

2. EDUCAÇÃO

Mar/ 2008 – Maio/ 2012

Doutorado – *Departamento de Química Fundamental, Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, Laboratório de Nanotecnologia Supramolecular* (Exploração da Ressonância Plasmônica e do Efeito SERS em Nanopartículas Metálicas). Fapesp

Ago/ 2010 – Dez/ 2010

Estágio de doutorado sanduíche, *Departamento de Físico-Química, Universidade da Flórida, Gainesville – FL, USA* (Síntese de Nanopartículas Anisotrópicas em *templates* de AAO por *On Wire Lithography* para Formação de Substratos *SERS* Organizados e Estudos de *PEEM*). Fapesp

Mar/2006 – Mar/2008

Mestre em Química Inorgânica – *Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, Laboratório de Nanotecnologia Supramolecular* (Estudos e Aplicações de Ressonância Plasmônica Superficial em Nanosondas SERS). CNPq

Mar/2002 – Dez/2005

Bacharel com atribuições tecnológicas em Química – Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR.

3. FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2007 - Microscopia Eletrônica de Varredura (carga horária 28 h) - Universidade de São Paulo

2006 - Curso de Espectroscopia Vibracional - Vibros I (carga horária: 30 h) - Universidade de São Paulo

2004 - Origem e Evolução do Universo da Terra e da Vida (carga horária: 15 h) - Universidade Estadual de Londrina

4. PRÊMIOS E DISTINÇÕES

- Prêmio Qualidade em Publicação – Instituto de Química da USP – 2011.
- Melhor painel em Pesquisa de Base, 2º Congresso da Pós Graduação do Instituto de Química da USP – 2010.
- 1º Lugar no Prêmio MERCOSUL de Ciência e Tecnologia – 2010 (co-orientador).
- 2º Lugar nas Olimpíadas USP de Inovação – 2008.
- Melhor aluno do Ensino Médio – Prefeitura de Campos do Jordão – 1999.
- Melhor aluno do 3º ano do ensino médio – 1999.

5. PUBLICAÇÕES E PATENTES

GRASSESCHI, D.; **ZAMARION, V. M.**; ARAKI, K.; TOMA, H. E. **Surface Enhanced Raman Scattering Spot Tests: Expanding Feigl's Analysis using Gold Nanoparticles.** *Analytical Chemistry*, **2010**, 82, 9146.

TOMA, H. E.; **ZAMARION, V. M.**; TOMA, S. H.; ARAKI, K. **Coordination chemistry at gold nanoparticles.** *J. Brazilian Chemical Society*, **2010**, 21, 1158. (artigo de revisão)

MELO, V. H. S.; **ZAMARION, V. M.**; ARAKI, K.; TOMA, H. E. **New insights on surface-enhanced Raman scattering based on controlled aggregation and spectroscopic studies, DFT calculations and symmetry analysis for 3,6-bis-2-pyridyl-1,2,4,5-tetrazine adsorbed onto citrate stabilized gold nanoparticles.** *J. Raman Spectroscopy*, **2010**, 42, 644.

ZAMARION, V. M.; TIMM, R. A.; ARAKI, K.; TOMA, H. E. **Ultrasensitive SERS Nanoprobes for Hazardous Metal Ions Based on Trimercaptotriazine Modified Gold Nanoparticles.** *Inorganic Chemistry*. **2008**, 47, 2934.

ROSSET, M.; ZAMARION, V. M.; FACCIONE, M.; FARIA, T. J.; PINTO, J. P.; BARBOSA, A. M.; SOUZA, J. R. P. **Phytochemical investigation of dichloromethanic fraction on *Ocimum gratissimum* L. extract.** *Semina. Ciências Agrárias*, 2005, 26, 515.

GRASSESCHI, D.; **ZAMARION, V. M.**; ARAKI, K.; TOMA, H. E. **The Fundamental Role of Ligand Exchange Mechanisms on the Behaviour of Citrate Stabilized Gold Nanoparticles as SERS Probes: A Case Study with Dithiooxamide.** *Submetido-2012*.

BURROWS, M. C.; **ZAMARION, V. M.**; MONTEIRO, F. B. F.; SCHUCK, D.C.; GARCIA, C. R. S.; TOMA, H. E.; CAMPA, A.; CATALANI, L. H. **Hybrid scaffolds built from PET**

and collagen as a model for the ideal vascular graft architecture. *Aceito: Macromol. Biosci, 2012.*

Patent: Protocol to the National Institute of Industrial Property - INPI / SP (2011 – Protocol nº 10050930) – “**Method of Manufacturing Antimicrobial Thermoplastics by in situ Formation of Silver Nanoparticles, Masterbatches and/ or Polymeric Antimicrobial Nanocomposites and Their Uses**”. 2010 Authors: Sergio Hiroshi Toma, **Vitor de Moraes Zamarion**, Koiti Araki, Henrique Eisi Toma.

Patent: Protocol to the National Institute of Industrial Property - INPI / SP (2009 – Protocol nº 018090007918) – “**Intelligent-based Dressings Hydrogels**”. Authors: Renata Fogaça, **Vitor de Moraes Zamarion**, Koiti Araki, Henrique Eisi Toma and Luiz Henrique Catalani.

Patent: Protocol to the National Institute of Industrial Property - INPI / SP (2009 – Protocol nº 018090002317) – “**SERS Sensors with Nanoparticles of Surface Molecularly Functionalized**”. Authors: **Vitor de Moraes Zamarion**, Ronaldo Adriano Timm, Koiti Araki and Henrique Eisi Toma.

6. CONTRIBUIÇÕES RELEVANTES EM CONFERÊNCIAS CIENTÍFICAS

CARA, F. C.; FOGAÇA, R.; **ZAMARION, V. M.**; TOMA, H. E.; CATALANI, L. H. *Inclusion of gold nanoparticles functionalized with 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazine in PVP hydrogels: A nanocomposite for metal chelation*, 2011, Strasbourg, Hybrid Materials, 2011.

ZAMARION, V. M.; TOMA, S. H.; BONACIN, J. A.; SANTOS, J. J.; NAKAMURA, M.; ARAKI, K.; TOMA, H. E. *Photo Imprinting and Optical Writing with Molecularly Modified Gold Nanoparticles*. In: Molecular Materials, 2010, Montpellier, MOLMAT, 2010.

ZAMARION, V. M.; SCREMIN, F. R.; TORRESI, R. M.; TOMA, H. E. *Simple and Rapid Method for Obtaining Anodized Alumina Templates*. In: 33^a Brazilian Chemical Society Annual Meeting, 2010, Águas de Lindóia. RASBQ, 2010.

ZAMARION, V.M.; GRASSESCHI, D.; TOMA, H. E. *Extending Feigl Tests through SERS Detection: 1) Identification of Metals with Dithizone*. In: 33^a Brazilian Chemical Society Annual Meeting, 2010, Águas de Lindóia. RASBQ, 2010.

OAKE, S.; FOGAÇA, R.; **ZAMARION, V. M.**; ARAKI, K.; TOMA, H. E.; CATALANI, L. H. *Silver Nanoparticles Functionalized with Imidazoles in PVP Electrospun Hydrogels for Use as Bactericidal-Fungicidal Dressings*. In: International Workshop on Nanomaterials and Functional Materials, 2009, Campinas.

BENTINI, R.; **ZAMARION, V. M.**; HUILA, M. F. G.; TOMA, H. E.; CATALANI, L. H. *Confocal Raman Microscopy Characterization of the Hydroxyapatite Nanoparticles*

Grafting in PLLA Electrospun Fibers. In: 32^a Brazilian Chemical Society Annual Meeting, 2009, Fortaleza. RASBQ, 2009.

FOGAÇA, R.; **ZAMARION, V. M.**; ARAKI, K.; TOMA, H. E.; CATALANI, L. H. PVP/AgNP/ Papain hydrogel as an intelligent system for treatment of chronic wounds. In: 32^a Brazilian Chemical Society Annual Meeting, 2009, Fortaleza. RASBQ, 2009.

ZAMARION, V. M.; TIMM, R. A.; BONACIN, J. A.; TOMA, S. H.; ARAKI, K.; TOMA, H. E. *SERS Nanoprobes for pH Sensors based on Trimercaptotriazine Modified Gold Nanoparticles*. In: 9th International Conference on Nanostructured Materials, 2008, Rio de Janeiro. Nano-2008, 2008. p. 187-187.

MELO, V. H. S.; **ZAMARION, V. M.**; TOMA, H. E. *Modulating the SERS Effect of 3,6-bi-2-pyridyl-1,2,4,5-tetrazine Adsorbed onto Gold By Steric Hindrance*. In: XIV BMIC - Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry and I LABIC - Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry, 2008, Foz do Iguaçu. XIV BMIC - I LABIC, 2008.

ARAKI, K.; TOMA, H. E.; **ZAMARION, V. M.**; SANTOS, J. J. *Gold Nanoparticles as Building-Block of Nanosystems*. In: XIV BMIC - Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry and I LABIC - Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry, 2008, Foz do Iguaçu. XIV BMIC - I LABIC, 2008.

ZAMARION, V. M.; TIMM, R. A.; ARAKI, K.; TOMA, H. E. *SERS Nanoprobe based on coordinative interaction of Hg and Cd with 2,4,6-trimercapto-1,3,5-triazine modified gold nanoparticles. Sensors over sensors concept*. In: 31^a Brazilian Chemical Society Annual Meeting, 2008, Águas de Lindóia. SBQ, 2008.

ZAMARION, V. M.; NAKAMURA, M.; VERÍSSIMO, A. V.; ARAKI, K.; TOMA, H. E. *AFM Topographic Evaluation of PVA/AgNps Nanocomposite Films in Several Silver Concentrations*. In: 2ND French-Brazilian Meeting on Polymers, 2008, Florianópolis. FBPol, 2008.

ZAMARION, V. M.; ALEXIOU, A. D. P.; TOMA, H. E. *Supramolecular Hybrid Films of AuNp11-MUDA and $[Ru_3OAC_6(py)_2](C_{10}H_8N_2S_2)](PF_6)_2$ for amperometric sensors*. In: 2nd International Symposium on Advanced Materials and Nanostructures, 2007, São Carlos. ISAMN, 2007.

ZAMARION, V. M.; SANTOS, J. J.; TOMA, H. E.; ARAKI, K. *Chemical Control of SERS Effect on Gold Nanoparticles*. In: International Conference on Advanced Materials, Bangalore. ICAM, 2007