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

KLESTER DOS SANTOS SOUZA

**Junções Moleculares e Agregados de
Nanobastões de Ouro: um estudo SERS**

Versão corrigida da Tese defendida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

01/12/2015

KLESTER DOS SANTOS SOUZA

**Junções Moleculares e Agregados de
Nanobastões de Ouro: um estudo SERS**

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

*Orientadora: Profa. Dra. Marcia L. A. Temperini
Coorientador: Prof. Dr. Érico Teixeira Neto*

São Paulo

2015

Ao prof. Arnaldo Rabelo de
Carvalho (DQF-UFPE), por ter me
mostrado que era possível trilhar
este caminho.

Agradecimentos

“I am what I am because of who we are”

Desmond Tutu¹

Uma tese de doutorado não é algo simples, portanto não é de se admirar que não seja fruto de uma única pessoa, mas do esforço conjunto de muitas. Venho por meio deste agradecer àqueles que se envolveram direta e indiretamente comigo neste processo.

Em especial, agradeço a minha orientadora, professora Dra. Marcia L.A. Temperini, que de modo incansável me guiou durante o doutorado, não apenas em assuntos relacionados a pesquisa, mas também com relação a minha formação como um todo. Ao Prof. Dr. Érico Teixeira Neto pelas discussões e conselhos. Ao Prof. Dr. Alexandre G. Brolo (Universidade de Victoria/Canadá) pelo tempo de estágio em seu laboratório e pelas valiosas discussões. Aos professores Dr. Diego P. dos Santos (UNICAMP) e Dr. Gustavo Andrade (UFJF) pelas discussões, orientações e oportunidades de trabalho em colaboração. Aos aqui citados, em especial, por terem diretamente fornecido às ferramentas necessárias para apresentar o que aqui está escrito e por terem contribuindo, sob vários aspectos, para minha formação profissional, meu muito obrigado.

Minha gratidão também se estende ao Prof. Dr. Yoshio Kawano (USP), Profa. Dra. Michele Lemos (UFF), Prof. Dr. Rômulo A. Ando (USP), Dra. Mônica Mamián, Dr. Jonattan Julival dos Santos, Dr. Luiz Felipe de Oliveira Faria, Me. Alfredo Duarte, Vitor Hugo Paschoal por terem contribuído com esta tese de doutorado e/ou minha formação acadêmica.

Meus agradecimentos também se estendem à FAPESP, processo número 2011/17921-9 pela bolsa de doutorado concedida. E, ao Governo Canadense pela bolsa *Emerging Leaders in the Americas Program* (ELAP 2014) que me proporcionou seis meses de estágio na *University of Victoria / Canadá*.

Aos amigos que, embora não tenham contribuído diretamente para este projeto, me ensinaram a ser uma pessoa melhor e dividiram comigo, em muitos momentos, a

¹ Desmond Tutu (1999), *No Future Without Forgiveness*.

responsabilidade de ser um doutorando: Me. Tatiana Penna, Me. Luiz Fernando Lepre, Me. Isabela Sodré, Dr. Dayvson Palmeira, Me. Claudio Mendes, Me. Natália Monezi, Me. Jenniefer Rosendo, Dr. Tiago Puglieri, Me. Tiago Sawckzen, Me. Nathália D'Elboux Bernardino e aos demais professores do LEM e colegas de grupo.

E por fim, mas não menos importante, aos meus pais e irmãos que durante todo este processo me apoiaram, mesmo que tenha significado vir morar tão longe de todos. Com esta tese dou mais um passo na minha vida profissional e sei o quanto isto significa para mim e toda a minha família, obrigado a vocês por não terem me impedido de sonhar e acreditar que poderia desejar coisas maiores.

É assim que eu gostaria de saber lido esse meu trabalho;
sentidos que chegam com a mesma incerteza do viajante
que acaba por dizer sobretudo o que não sabe sobre aquilo
que desconhecido, veio a conhecer.” Eni Pulcinelli Orlandi
em Terra à Vista, 1990

Resumo

Souza S Klester. Junções moleculares e agregados de nanobastões de ouro: um estudo SERS. 2015. 139p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A Espectroscopia Raman Intensificada pela Superfície (SERS) é um efeito de intensificação da intensidade Raman de uma molécula adsorvida numa superfície metálica nanoestruturada. Esta característica permite a utilização do SERS na caracterização vibracional de sistemas como junções moleculares (JM) (JM são sistemas constituídos de fios moleculares sintetizados em junções do tipo metal|fio-molecular|metal) e, no entendimento de quais características morfológicas de agregados metálicos mais influenciariam no sinal SERS obtido. Portanto, esta tese apresenta os seguintes objetivos: (a) síntese e caracterização de substratos SERS ativos, nanoesferas (AuNE) e nanobastões (AuNB) de ouro e eletrodo de ouro ativado eletroquimicamente; (b) síntese e caracterização SERS de fios moleculares em JM; (c) estudo do acoplamento plasmônico entre as superfícies metálicas em JM; (d) correlação entre SERS – morfologia de agregados individuais de AuNB. Os fios moleculares estudados foram os da família das oligofeniliminas (OPI) e, no melhor do nosso entendimento, esta foi a primeira vez que fios moleculares desta família foram caracterizados por Raman e SERS. As JM apresentaram um comportamento SERS não esperado. Enquanto para o modo vibracional, $\nu(\text{CS})$, a intensidade da banda se apresentou constante com o aumento do espaçamento entre as nanoestruturas metálicas (para distâncias de até 5 nm), o modo vibracional, $\beta(\text{CH})$, teve a intensidade de sua banda aumentada. Este comportamento foi explicado considerando a diferente natureza da interação dos plasmons nas JM, sendo estas interações do tipo, ressonância de plasmon de superfície (LSPR) – dipolo imagem, para ambos os modos. No entanto, para o modo $\beta(\text{CH})$ existe também uma intensificação extra devido ao aumento da polarizabilidade dos fios moleculares com o aumento do número de unidades. A correlação SERS – morfologia dos agregados de AuNB indicam que, para agregados onde predominam interações ponta a ponta, os espectros SERS apresentavam uma maior intensidade quando comparados com aqueles em que interações lado a lado predominavam. No entanto, este comportamento não foi observado para agregados contendo mais do que cinco nanopartículas onde estes dois tipos de interações ocorrem indicando que deve existir um acoplamento dos plasmons destes dois tipos de interações contribuindo para maiores valores de intensidade SERS.

Palavras-chave: SERS, Junção Molecular, Microscopia Eletrônica, Ressonância de plasmon, Nanopartículas de ouro

Abstract

Souza S Klester. Molecular Junctions and gold nanorods aggregates: SERS Study. 2015. 139p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) is a Raman enhancing effect of molecules adsorbed on nanostructured metal surfaces. This characteristic allows the use of SERS in the vibrational study of Molecular Junction systems (MJ) (MJ is a system formed by Molecular Wires (pi-conjugated molecules) synthesized in metal junctions like metal|molecular-wire|metal). In addition, we can also use SERS to understand the influence of morphological characteristic of gold nanostructures. This thesis aims: (a) synthesis and characterization of gold nanospheres (AuNS), nanorods (AuNR) and gold electrode (electrochemically activated); (b) synthesis and vibrational studies of molecular wires in JM; (c) plasmon coupling studies between flat surface and gold nanorods; (d) correlation SERS - AuNR morphology of individual aggregates. For the best of our knowledge, this was the first time that oligophenilenelimine (OPI) as molecular wire was characterized by Raman and SERS. The MJ showed an unusual behavior such that the $\nu(\text{CS})$ vibrational mode remained constant in intensity with the increasing of the gap spacing (within 5 nm) while the $\beta(\text{CH})$ increased with the increase of the gap. This behaviour was related to the different nature of the interaction between plasmons resonances in JM (surface plasmon resonance (LSPR) - dipole image) for the first case and due to chemical contributions by the molecular wires for the second vibrational mode. The results for SERS - morphology AuNR aggregates correlation showed (for small aggregates) that when in the aggregate predominated end-by-end interaction SERS spectra showed a higher intensity when compared to those in which interactions side-by-side predominated. Although, this behavior was not observed for aggregates containing more than five nanoparticles indicating that there is not a preferential interaction between the nanorods for such aggregates and that a mixture of both will be preferable for large SERS intensities.

Keywords: SERS, Molecular Junctions, Electronic Microscopy, Plasmon ressonance, gold nanoparticle

Lista de Tabelas

Tabela 1: Valores de comprimento, largura, razão de aspecto dos AuNB e comprimento de onda máximo para vários tempos de síntese. Os valores são a média de 400 partículas. _____ 65

Tabela 2: Tentativa de atribuição das bandas Raman para o fio molecular OPI-2p no estado sólido, calculado por DFT e nos substratos SERS. Valores em cm^{-1} . _____ 81

Lista de Figuras

<i>Figura 1: Esquema da interação de uma radiação incidente monocromática em uma amostra, sistema sob estudo e as radiações espalhadas, como consequência desta interação.....</i>	<i>25</i>
<i>Figura 2: Tipos de espalhamento Raman. ω_1 é a frequência da radiação incidente.....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 3: Representação esquemática das principais aplicações do efeito SERS.</i>	<i>32</i>
<i>Figura 4: (a) partes real e (b) imaginária da função dielétrica para a Ag e o Au. Reproduzido com autorização da referência (47).....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 5: Representação esquemática da excitação da ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR), em uma nanoesfera de ouro, devido ao campo elétrico da radiação incidente.</i>	<i>36</i>
<i>Figura 6: Representação esquemática do espalhamento inelástico Raman com frequência angular ($\omega_{inc}-\omega_{vib}$) como consequência do LSPR da NP.....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 7: (a) Esquema da configuração de um dímero (eixo Z) formado por duas esferas de raio a e separadas por g. A radiação incidente é polarizada ao longo do eixo z (eixo do dímero) e com um vetor de onda k ao longo de x. (b) Coeficientes de extinção para vários g como função do comprimento de onda incidente. (c) EF-SERS, F_{E4}^0, na superfície das partículas na região do gap (no eixo dímero), isto é, no hotspot. Também é mostrado (linha tracejada) EF-SERS médio, $\langle F_{E4}^0 \rangle$, para $g = 2$ nm. Reproduzido com permissão da referência (45).....</i>	<i>39</i>
<i>Figura 8: Diagrama esquemático do mecanismo de transferência de carga entre uma molécula adsorvida em um eletrodo metálico num sistema eletroquímico-SERS. À esquerda: o modelo conceitual da variação dos níveis de energia com a variação do potencial do eletrodo em processos de CT. À direita os estados de energia relevantes envolvidos nos níveis eletrônicos e vibracionais no processo de CT. À direita inferior, corresponde ao perfil de intensidade SERS – potencial aplicado. Reproduzido da referência (66) com permissão da Royal Society of Chemistry, 2015.</i>	<i>41</i>
<i>Figura 9: Diagrama de energia do sistema metal molécula dos termos A, B e C para a polarizabilidade apresentando os momentos de transição eletrônica e os parâmetros de acoplamento de Herzberg-Teller. I e K são estados da molécula, μ são estados de transferência de carga e E_F o nível de Fermi do metal.....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 10: Sinais gerados quando da interação de um feixe de elétrons de alta energia (keV) com a superfície da amostra.</i>	<i>49</i>
<i>Figura 11: Representação esquemática de um porta amostra para obtenção de imagens STEM-SEM. O feixe não espalhado transmitido passa através da abertura e atinge a superfície de silício coberta de ouro, criando uma alta emissão de BSE e de SE, que é recolhida pelo detector E-T convencional. O detector TLD também pode ser operado para recolher o sinal acima da amostra.</i>	<i>53</i>
<i>Figura 12: Voltamograma cíclico do eletrodo de ouro em solução de KCl 0,1 M, 100 mV/s. A figura mostra o último ciclo de uma sequência de 25 ciclos. O sentido da varredura foi no sentido catódico.</i>	<i>57</i>
<i>Figura 13: Imagens de elétrons secundários obtidas por SEM da superfície de ouro antes (A) e após ciclos de oxidação/redução em meio de KCl (B) e (C).</i>	<i>58</i>

Figura 14: Voltamograma do Au(ORC) em solução 0,5 M de H ₂ SO ₄ para determinação do fator de rugosidade. A área assinalada refere-se ao pico catódico utilizado na determinação da área real.	59
Figura 15: Imagens SEM, com diferentes magnificações da superfície de ouro plano antes (A) e (B) e após (C) e (D) o tratamento térmico para tornar a superfície plana. .	60
Figura 16: Representação esquemática da síntese das nanopartículas de ouro obtida pelo método de solução semente estabilizado por CTAB. Figura adaptada da referência (78).	61
Figura 17: Espectro de extinção das nanopartículas de ouro 60 nm de tamanho, obtidos em suspensão coloidal.....	61
Figura 18: Imagens SEM com várias magnificações (A-C) e histograma da distribuição de tamanhos (D) da síntese das AuNE sintetizadas com CTAB.	62
Figura 19: Representação esquemática da síntese de AuNB mediada por solução semente e utilizando o CTAB como agente estabilizante. Figura adaptada da referência (87)...	63
Figura 20: (A) Os AuNB possuem duas bandas plasmônicas distintas, um correspondente ao plasmon transversal, referente ao eixo mais curto e o correspondente ao eixo longitudinal. A razão de aspecto (RA) é dada pela relação l/d. (B) imagens SEM e (C) espectros de extinção UV-VIS-NIR para AuNBs com diferentes RA obtidas para diferentes tempos de síntese. As RA são indicados acima do espectro de extinção. Barras de escala são 100 nm. (D) Representação esquemática dos plasmons transversal e longitudinal em AuNB.	64
Figura 21: Espectro de extinção dos AuNB apresentando valores de comprimento de onda máximos acima de 800 nm.....	65
Figura 22: Imagens SEM para AuNB com plasmon máximo em (A) 827 nm, (B) 876 nm e (C) 920 nm.	66
Figura 23: Esquema da rota sintética das oligofeniliminas (OPI) sobre superfície de ouro. Os índices 1p, 2p, np são adicionados para identificar a natureza do filme sintetizado.....	67
Figura 24: Representação do esquema experimental para a síntese do OPI-2p ex-situ.	69
Figura 25: Representação esquemática da montagem da junção molecular (AuFlat/OPIs/AuNPs). Para cada superfície funcionalizada tem-se uma maior distância entre o AuNB e a superfície de ouro.	69
Figura 26: Espectro FT-Raman do 4-ABT sólido, obtido com radiação excitante 1064 nm, espectro Raman calculado por DFT e Espectro SERS calculado por DFT num cluster de átomos de ouro. Os espectros estão normalizados com relação a intensidade da banda referente ao modo vibracional $\nu(\text{CS})$, 1088 cm ⁻¹	73
Figura 27: Espectros SERS calculado por DFT e espectros SERS do 4-ABT adsorvidos em eletrodo de ouro ativado Au(ORC), coloide de nanobastões de ouro (Col.AuNB) e nanobastões de ouro depositados sobre silício, (AuNB/Si). Os espectros foram obtidos com radiação excitante 785 nm e tem suas intensidades normalizadas em relação ao modo vibracional $\nu(\text{CS})$	74
Figura 28: (A) Visão esquemática de uma junção molecular (JM) contendo uma única molécula. (B) Duas JMs, sintetizados por SAM e monocamadas de Langmuir-Blodgett. Em cada caso, a junção é completada pela aplicação de um contato superior. (C) Exemplo de uma junção cross-bar feito por fotolitografia. Adaptada (fig. A e C) com permissão da Royal Society of Chemistry, referência (123).	76

Figura 29: Espectro FT-Raman do OPI-2p no estado sólido (sintetizado ex-situ), obtido com radiação excitante 1064 nm, Espectro Raman calculado por DFT e Espectro SERS calculado por DFT do 4-ABT num cluster de 10 átomos de ouro. Os espectros estão normalizados com relação à intensidade da $\nu(\text{CC})$.	78
Figura 30: Espectros SERS do OPI-2p sintetizado in-situ (sintetizado diretamente na superfície) (A) AuNB e (C) Au(ORC) e OPI-2p sintetizado ex-situ (fora da superfície) e posteriormente adsorvidos nos (B) AuNB e (D) Au(ORC) aos substratos).	79
Figura 31: (a) Espectros SERS do OPI-2p. Cálculo DFT num cluster de 10 átomos de ouro, eletrodo de ouro ativado Au(ORC), coloide de nanobastões de ouro (Col.AuNR) e nanobastões de ouro depositados sobre silício, (AuNR/Si). Os espectros foram obtidos com radiação excitante 785 nm e estão normalizados com relação ao modo $\nu(\text{CS})$. (b) Ampliação da região $1630\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ referente a banda $\nu(\text{C=O})$.	80
Figura 32: Estimativa do tamanho do espaçamento nas junções moleculares, AuFlat/OPIs/AuNB. O valor do tamanho do espaçamento foi obtido pela soma do valor da espessura dos fios moleculares sobre substrato de ouro plano, valores obtidos na referência (127), e a espessura da monocamada de CTAB sobre a superfície das NP.	82
Figura 33: Voltamograma cíclico do ouro metálico e OPI-1p a 3p sintetizados na superfície do ouro. Voltamogramas obtidos entre 0,2 V e 0,8 V em solução 1 M de KCl, a uma taxa de varredura de 100 mV/s.	83
Figura 34: Espectros SERS das junções moleculares AuFla/OPI-1p a 13p/AuNBs. Os espectros foram obtidos com radiação excitante 785 nm. A barra de escala da contagem refere-se à todos os espectros.	83
Figura 35: Intensidade SERS das bandas 1078 cm^{-1} $\nu(\text{CS})$ e 1168 cm^{-1} $\beta(\text{CH})$ para os sistemas OPI-1p a 13p. (A) $\lambda_0 = 632,8\text{ nm}$ e (B) $\lambda_0 = 785\text{ nm}$. Intensidades SERS normalizadas pela intensidade da banda do Si em 520 cm^{-1} .	86
Figura 36: (A) Espectro de extinção da suspensão coloidal de AuNBs e (B) imagens TEM.	88
Figura 37: Espectros SERS das junções moleculares sintetizadas com (A) OPI-2p e (B) OPI-3p intercaladas com nanobastões de ouro (AuNB) e nanoesferas de ouro (AuNE) nas radiações $\lambda_0 = 632,8\text{ nm}$ e $\lambda_0 = 785\text{ nm}$. Os espectros foram obtidos na mesma região para ambas as radiações.	88
Figura 38: Esquema mostrando os padrões de espalhamento de campo distante para os dipolos elétricos orientados de forma diferente. (a) Campo de excitação orientado paralelamente ao eixo do comprimento do nanobastão. (b) Campo de excitação orientado perpendicularmente ao substrato. As marcações em rosa representam as regiões que de fato são analisadas pela lente objetiva. As setas vermelhas indicam a direção da excitação da polarização. "Reprinted with permission from (Chen H, Ming T, Zhang S, Jin Z, Yang B, Wang J. Effect of the dielectric properties of substrates on the scattering Patterns of Gold Nanorods. ACS Nano. 2011;5(6):4865–77.). Copyright (2015) American Chemical Society."	90
Figura 39: Mapeamento SERS Si/ OPI-1p/AuNB utilizando radiação excitante (A) $\lambda_0 = 632,8\text{ nm}$ e (B) 785 nm . Os mapeamentos foram obtidos na mesma região. (C) Imagens SEM do sistema AuNB/OPI-1p/Si. As barras de escala das imagens superior e inferior referem-se a $1\text{ }\mu\text{m}$ e 100 nm respectivamente.	91
Figura 40: (A-C) Mapas de fator de intensificação (EF) local entre AuNB e superfícies de ouro com 2, 6 e 10 nm de gap. (D) perfis de EF ao longo das linhas pontilhadas em A-C, ou seja, sobre a superfície de ouro. (E) EF médio sobre a superfície de ouro, linha	

vermelha, para diferentes distancias de gap, em comparação com a usual aproximação de E4, linha em preto.....	93
Figura 41: Imagens ópticas obtidas no microscópio Raman das Regiões analisadas, conforme marcações na imagem (C).....	98
Figura 42: Imagem obtida num microscópio Raman. (A) Imagem da região central de uma grade de carbono apresentando a numeração do slots em que as análises SERS foram realizadas e (B) Imagem óptica de parte do slot 2, canto superior direito. A região demarcada refere-se a região do mapeamento SERS realizado.	99
Figura 43: Imagem óptica e imagem STEM-SEM, da mesma região. A linha na figura A refere-se ao mapeamento SERS realizado, e corresponde a região marcada em vermelho na figura B.	99
Figura 44: Sequência do processo experimental para a obtenção da correlação SERS – Morfologia dos agregados de AuNB. (A) Imagem óptica do grid de carbono, após deposição dos AuNB, (B) região ampliada da área marcada em (A). O mapeamento foi realizado em linha, como sinalizado na imagem, para as regiões em que foram obtidos espectros SERS as imagens dos agregados foram obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (C).	101
Figura 45: Intensidade da banda em $519,8\text{ cm}^{-1}$ do Si em função do deslocamento axial do estágio motorizado variando-se a altura ao longo do eixo axial entre -15 e $15\text{ }\mu\text{m}$	102
Figura 46: Intensidade Raman da banda $519,8\text{ cm}^{-1}$ do silício, $\lambda_0 = 785\text{ nm}$, como função do deslocamento lateral, X e Y, na borda de um substrato de Si. Experimento obtido com lente objetiva 100x e N.A. 0,9.....	103
Figura 47: (A) Imagem obtida no microscópio óptico Raman da região onde foi obtido o mapeamento. (B) Imagem SEM da mesma região que marcada na imagem óptica. (C) Conjunto de espectros SERS do 4-ABT obtidos no mapeamento marcado em (A) e (D) Distribuição das intensidades SERS para todos os mapeamentos obtidos sobre substratos de multicamadas de AuNB. A linha sólida refere-se a uma curva de distribuição gaussiana.	106
Figura 48: Mapeamento SERS em sistemas de agregados de AuNB. (A) Imagem SEM para uma das áreas mapeadas por SERS. (B) Espectros SERS para uma sequência de mapeamentos e (C) Distribuição de intensidades SERS para vários sistemas com o apresentado em (A). A linha sólida refere-se a uma curva de distribuição lognormal.	108
Figura 49: (A) Histograma das intensidades SERS para substratos dominados por AuNB individuais e agregados de até cinco AuNB. A linha sólida refere-se a uma curva de distribuição exponencial. (B) Imagens de elétrons secundário SEM de uma das regiões analisadas.....	109
Figura 50: Espectro de extinção da suspensão coloidal de AuNB tendo dimensões de $35\pm 6\text{ nm}$ de comprimento e $14\pm 3\text{ nm}$ de largura.	111
Figura 51: Imagens STEM-SEM de agregados de AuNB e seus respectivos espectros SERS. As imagens foram obtidas com voltagem de aceleração de 30 kV. Os espectros SERS foram obtidos com $\lambda_0 = 785\text{ nm}$, tempo de aquisição 10s e potência $\approx 17\text{ }\mu\text{W}$	112
Figura 52: Espectros SERS e imagens STEM-SEM dos agregados de AuNB. As imagens de transmissão SEM foram obtidas com voltagem de aceleração de 30 kV. Os espectros SERS foram obtidos com $\lambda_0 = 785\text{ nm}$, tempo de aquisição 10s e potência $\approx 17\text{ }\mu\text{W}$	113

<i>Figura 53: (A) Espectro de extinção da suspensão de nanobastões de ouro (AuNB) e (B) imagens eletrônicas de transmissão, obtidas por TEM. A distância média entre os AuNB foi de 1,05 nm.</i>	<i>114</i>
<i>Figura 54: Imagens eletrônicas de transmissão (TEM) de agregados de nanobastões de ouro (AuNB) e seus respectivos espectros SERS. As imagens TEM foram obtidas com voltagem de aceleração de 200 kV. Os espectros SERS foram obtidos com $\lambda_0 = 785$ nm, tempo de aquisição 1s e potência $\approx 17 \mu W$.</i>	<i>115</i>
<i>Figura 55: Imagens eletrônicas de transmissão (TEM) de agregados de nanobastões de ouro (AuNB) e seus respectivos espectros SERS. As imagens TEM foram obtidas com voltagem de aceleração de 200 kV. Os espectros SERS foram obtidos com $\lambda_0 = 785$ nm, tempo de aquisição 1s e potência $\approx 17 \mu W$.</i>	<i>116</i>
<i>Figura 56: Imagens eletrônicas de transmissão (TEM) de agregados de nanobastões de ouro (AuNB) e seus respectivos espectros SERS. As imagens TEM foram obtidas com voltagem de aceleração de 200 kV. Os espectros SERS foram obtidos com $\lambda_0 = 785$ nm, tempo de aquisição 1s e potência $\approx 17 \mu W$.</i>	<i>118</i>
<i>Figura 57: Espectros de extinção simulados pelo método DDA para agregados de nanobastões de ouro (AuNB) individual, dímeros interagindo ponta a ponta e lado a lado e um agregado com quatro partículas. Imagem reproduzida com permissão da referência (71).</i>	<i>121</i>
<i>Figura 58: Imagens STEM-SEM de agregados de AuNB e mapas do perfil de intensificação do campo eletromagnético (EFEM) simulados pelo método DDA, os valores máximos dos EF, barra de escala ao lado dos mapas são 10^6 e 10^5 respectivamente.</i>	<i>122</i>

Lista de Abreviaturas

4-ABT	4-Aminobenzenotiol
Au/Flat	Substrato de ouro plano
AuNP	Nanopartículas de ouro
AuNE	Nanoesferas de ouro
AuNB	Nanobastões de ouro
Au(ORC)	Eletrodo de ouro ativado eletroquimicamente
CE	<i>Chemical Enhancement</i> , Intensificação química
CT	<i>Charge Transfer</i> , Transferência de carga
CV	<i>Cyclic Voltammetry</i> , Voltametria cíclica
DDA	<i>Discrete-Dipole Approximation</i> , Aproximação de dipolo discreto
DFT	<i>Density Functional Theory</i> , Teoria do funcional de densidade
EF	<i>Enhancement Factor</i> , Fator de intensificação
EM	<i>Electromagnetic Mechanism</i> , Mecanismo eletromagnético
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> , Orbital molecular ocupado de maior energia
LEM	Laboratório de Espectroscopia Molecular
LSPR	<i>Localized Surface Plasmon Resonance</i> , Plasmon localizado de superfície
LUMO	<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i> , Orbital molecular desocupado de menor energia
NP	Nanopartículas
OPI	Oligofenilimina
ORC	<i>Oxidation-Reduction cycles</i> , Ciclos de oxidação-redução
SAM	<i>Self Assemble Monolayer</i> , Monocamada auto-montada
SE	<i>Secondary Electron</i> , elétrons secundários
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i> , microscopia eletrônica de varredura
SERS	<i>Surface Enhanced Raman Spectroscopy</i> , Espectroscopia Raman intensificada pela superfície
SPR	<i>Surface Plasmon Resonance</i> , Ressonância de plasmon de superfície
TEM	<i>Transmission Electron Microscopy</i> , Microscopia eletrônica de transmissão
UV	Radiação eletromagnética na região do ultravioleta
UV-VIS-NIR	Radiação eletromagnética na região do ultravioleta, visível e infravermelho próximo

Sumário

1	18
Histórico SERS do Grupo e motivação da Tese.....	18
1.1 Eletrodos modificados (tiossemicarbazonas do n-piridinacarbaldeído).....	19
1.2 Eletrodos modificados (inibidores de corrosão)	20
1.3 Substratos SERS ativos	21
1.4 Aspectos fundamentais do efeito SERS	21
1.5. Motivação desta tese.....	23
2	24
Espalhamento Raman	24
2.1. Espalhamento Raman	24
2.1.1. Teoria clássica do espalhamento Raman	26
2.1.2. Teoria da mecânica quântica para o espalhamento Raman	28
2.2. Espalhamento Raman Intensificado pela Superfície (SERS)	31
2.2.1. Intensificação do campo eletromagnético em nanopartículas metálicas: Mecanismo Eletromagnético (EM)	32
2.2.2. Para além do plasmon de superfície: contribuições “químicas” ao efeito SERS.....	40
2.2.3. Uma abordagem unificada do efeito SERS	43
3	47
Substratos: síntese e caracterização	47
3.1. Microscopias eletrônicas.....	48
3.1.1. Microscopia eletrônica de varredura (<i>Scanning Electron Microscopy</i> , SEM).....	49
3.1.2. Microscopia eletrônica de transmissão (<i>Transmission Electron Microscopy</i> , TEM)	53
3.2. Seção experimental	54
3.2.1. Eletrodo de ouro ativado eletroquimicamente Au(ORC)	54
3.2.2. Síntese de nanoesferas de ouro (AuNE)	54
3.2.3. Síntese de nanobastões de ouro (AuNB)	55
3.3. Eletrodo de ouro ativado eletroquimicamente Au(ORC)	57
3.4. Superfícies planas (superfície de ouro e silício)	59
3.5. Nanoesferas de ouro (AuNE).....	60
3.6. Nanobastões de ouro (AuNB).....	62
4	67
Junções Moleculares: um estudo SERS.....	67
4.1. Seção experimental	67
4.1.1. Síntese dos Fios Moleculares	67
4.1.2. Métodos	70
4.2. Resultados e discussão	72

4.2.1.	Estudo Raman do 4-aminobenzenotiol em diferentes substratos	72
4.2.2.	Estudo espectroscópico de oligofenilenoiminas (OPI) em Junções Moleculares	76
4.2.3.	O papel dos substratos em junções moleculares: interação LSPR – dipolo imagem.....	84
4.3.	Conclusões	94
5		95
	Correlação SERS – morfologia de agregados de AuNB	95
5.1.	Seção Experimental	97
5.1.1.	Materiais e métodos	97
5.1.2.	Medida do volume de espalhamento	101
5.1.3.	Cálculo do fator de intensificação SERS (EF-SERS)	103
5.2.	Resultados e discussão	106
5.2.1.	EF-SERS de AuNB em sistemas de multicamadas e de agregados individuais	106
5.2.2.	Correlação SERS e morfologia de agregados individuais de AuNB.....	110
5.2.3.	Simulações eletromagnéticas para “hot spots”	121
5.3.	Conclusões	123
6		124
	Desafios, questões em aberto e perspectivas futuras	124
	Referências bibliográficas	126

Uma viagem de mil milhas começa com um único passo.

Lao Tzu*

1

Histórico SERS do Grupo e motivação da Tese

A pesquisa, em Espectroscopia Raman Intensificada pela Superfície (*Surface Enhanced Raman Spectroscopy*, SERS), no Laboratório de Espectroscopia Molecular (LEM) teve seu início em 1978 pela então pós-doutoranda Dra. Márcia Laudelina Arruda Temperini, sob supervisão do professor Dr. Oswaldo Sala, somente alguns poucos anos após a descoberta do efeito SERS. Vale pontuar, por curiosidade, que o início desta área de pesquisa no LEM deveu-se, principalmente, a um problema com o tubo do laser de Ar^+ inviabilizando as pesquisas em Raman Ressonante que necessitava do uso de várias radiações excitantes, até então foco principal das linhas de pesquisa do laboratório.

O primeiro sistema SERS a ser estudado foi a dependência da intensidade Raman, da piridina adsorvida em eletrodo de cobre, com a variação do potencial elétrico aplicado ao eletrodo (1). Estudos visando comparar o efeito do potencial aplicado ao substrato SERS-ativo, eletrodo metálico tratado por ciclos de oxidação/redução (ORC), e da radiação excitante nas intensidades relativas das bandas dos espectros SERS deram prosseguimento com alguns alunos do prof. Dr. Oswaldo Sala tendo a assistência da então Dra. Marcia L.A. Temperini (2–7). Estes estudos permitiram ao grupo ser um dos primeiros a sugerir que diferentes modos vibracionais apresentavam comportamento SERS diferente, embora somente alguns anos depois chegar-se-ia a um mecanismo que pudesse explicar este comportamento (8,9).

O histórico de SERS do grupo[†] foi dividido em quatro tópicos que, a meu ver, resumem bem a evolução das pesquisas em SERS realizadas até o momento: Caracterização de eletrodos

* Lao Tzu é descrito por alguns como um mítico filósofo e alquimista chinês. [LAO-TSÉ. Tao Te Ching. Tradução de Huberto Rohden. São Paulo. Martin Claret. 2003].

[†] A grupo, nos referimos ao grupo de pesquisa da Profa. Dra. Márcia Laudelina Arruda Temperini, embora alguns professores do LEM, como o prof. Dr. Joel Camargo Rubim e profa. Dra. Paola Corio, tenham também realizado trabalhos em SERS.

modificados (tipos de modificador: tiossemicarbazonas dos n-piridinacarbaldeído), inibidores de corrosão, síntese e caracterização de substratos SERS ativos e aspectos fundamentais do efeito SERS.

1.1 Eletrodos modificados (tiossemicarbazonas do n-piridinacarbaldeído)

A linha de pesquisa em SERS, no LEM, vem a se estabelecer definitivamente em 1978, com a contratação da Dra. Marcia L.A. Temperini como professora do Departamento de Química Fundamental, do Instituto de Química, da Universidade de São Paulo. Inicialmente seus estudos visavam determinar a relação entre estrutura e propriedades dos modificadores de superfície, (tiossemicarbazonas do n-formilpiridina) a partir do espalhamento Raman intensificado pela superfície. A primeira a se engajar neste projeto foi a então mestrande **Lucidalva dos Santos Pinheiro**. Este projeto inicial teve como foco a caracterização de eletrodos funcionalizados com modificadores de superfície que promoviam resposta faradáica reversível ao Citocromo c. Os modificadores estudados foram a tiossemicarbazona do 4-formilpiridina (PATS4) e a tiossemicarbazona do 2-formilpiridina (PATS2) buscando entender os centros de adsorção dos modificadores no eletrodo de prata (10). Pouco tempo depois o aluno **Henrique de Santana** iniciou seus estudos de mestrado com o Estudo de óléculas adsorvidas em eletrodo de prata, cobre e ouro. com o objetivo de identificar reações faradáicas dos adsorbatos e variação da configuração de adsorção com o potencial.

Os estudos SERS na caracterização de eletrodos modificados continuaram com a aluna de mestrado **Marcia Rodrigues dos Santos**. O objetivo era refinar a caracterização quanto a conformação das tiossemicarbazonas de n-formilpiridinas (PATS2) em superfície metálica, bem como a identificação dos produtos formados a partir das reações de redução eletroquímica destas moléculas. As medidas de variação conformacional dos modificadores em diferentes solventes usando Ressonância Magnética Nuclear (RMN) mostrou-se que não havia variação na conformação do PATS2 dentro da faixa de potencial onde o sistema atua como eletrodo modificado. Quanto ao estudo dos produtos formados pela redução eletroquímica, a utilização das técnicas SERS e UV-VIS-NIR permitiu concluir que a redução do PATS2 levou à formação de tiouréia e 2-picolilamina (11).

As tiossemicarbazonas de n-formilpiridinas e seus complexos com metais de transição têm atividade biológica e esta é dependente da conformação das espécies nos complexos e suas atividades, como modificadores de superfície, também dependem da conformação de adsorção na superfície. Deste modo, o projeto de doutorado da aluna **Mônica Barreto Pessoa** se propôs

a elucidar o comportamento químico em solução e a conformação da adsorção destes modificadores (PATS4 e 4,4'-dimetil-tiossemicarbazona do 2-formilpiridina DMePATS2) adsorvidos em superfícies de prata e de ouro. A segunda parte do projeto foi, conhecendo a natureza destes modificadores na superfície do eletrodo, determinar a interação existente entre os modificadores e o Citocromo c. Observou-se que o potencial aplicado ao eletrodo influenciou na isomerização *Cis-Trans* reversível do DMePATS2 na superfície de prata. A partir de análises contendo, na solução eletrolítica Mg^{2+} pôde-se confirmar qual o sítio de adsorção do DMePATS2 na superfície. Quanto a interação entre o modificador PATS4 e o Citocromo c observou-se que a interação com a superfície, por parte do Citocromo c, se dá por interações com a monocamada de moléculas de água que interagem com o anel piridínico por ligações de hidrogênio (12).

Os estudos nessa linha de pesquisa continuaram com o mestrando **Gustavo Fernandes Souza Andrade** estudando a caracterização da adsorção das tiossemicarbazonas do formilferroceno TFF (13). Nestes estudos foi verificado que os sítios de adsorção da TFF é o nitrogênio imínico e o enxofre do grupo carbonílico, permitindo o grupo ferrocenil estar próximo a superfície. Esta elucidação foi importante para explicar a fraca intensidade das bandas dos espectros SERS deste composto quando comparado com outras tiossemicarbazonas anteriormente estudadas pelo grupo.

O projeto do mestrando **Antonio Carlos Sant'Ana** deu continuidade ao entendimento do comportamento de certas moléculas em superfícies metálicas, Ag e Cu, utilizando o efeito SERS. O projeto visou estudar a natureza de adsorção da 2,2':6,2''-terpiridina (tpy) em função da natureza das soluções de suporte. Concluiu-se que a tpy se adsorvia na superfície pelo átomo de nitrogênio formando complexo com conformação *cis-cis*. Já em potenciais mais negativos a tpy se adsorvia, em uma posição próxima a horizontal, através dos elétrons π dos anéis piridínicos. Já em presença de outro adsorbato orgânico, como o 2-mercaptopiridina (mpy), a molécula se adsorvia horizontalmente sobre a superfície do eletrodo, não ocorrendo adsorção com o metal através dos elétrons π do anel piridínico. (14–16).

1.2 Eletrodos modificados (inibidores de corrosão)

Um dos primeiros trabalhos do grupo tendo uma vertente mais aplicada do efeito SERS foi realizada pelo mestrando **Alexandre Guimarães Brolo** que estudou a atuação da hexametilenotetramina (HMTA) como inibidor de corrosão para o cobre e a competição de modificadores pela superfície metálica (17). Análises eletroquímicas foram realizadas e

mostraram que a HMTA se mostrou um inibidor efetivo para a dissolução do cobre em meio de brometo, tendo o Fe(III) e oxigênio como oxidantes. Os estudos espectroscópicos mostraram que devido à natureza do efeito SERS, as melhores condições para monitorar a competição à inibição pela superfície do eletrodo se daria a partir da ativação da superfície *ex-situ* e utilização de alta concentração do modificador. Alguns dos resultados também mostraram que para o acompanhamento das reações químicas, por SERS, em baixas concentrações, seria necessário um maior cuidado quanto a síntese do substrato SERS ativo.

1.3 Substratos SERS ativos

O aluno **Antonio Carlos Sant'Ana**, em seu projeto de doutorado, foi o primeiro aluno do grupo a trabalhar com a síntese de substratos SERS capazes de gerar altos valores de fator de intensificação SERS (18). Também foi o primeiro do grupo a utilizar técnicas de caracterização de superfícies, como microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de varredura (SEM), para substratos SERS. O projeto objetivou utilizar SERS e Raman Ressonante no estudo do ácido esquárico e seus derivados e a síntese e caracterização de nanopartículas e filmes nano estruturados de Au e Ag. Foi possível propor um mecanismo de adsorção para o ácido esquárico sobre eletrodo de Au e filmes nanoestruturados de Ag e Au e avaliar a eficiência dos substratos SERS sintetizados em relação a eletrodos ativados eletroquimicamente (19).

Com o objetivo de ampliar a aplicação da espectroscopia SERS foi desenvolvido um estudo da caracterização de adsorbatos em metais de transição (Fe, Co e Ni), que apresentam fraca intensificação SERS. Este projeto foi desenvolvido pelo doutorando **Gustavo Fernandes Souza Andrade** (20). Observou-se que a intensidade do sinal SERS, nos metais de transição, foi cerca de 200-300 vezes menos intenso do que para Au, Cu e Ag. Objetivando uma intensificação do sinal do adsorbato de filmes finos em metais de transição foram eletrodepositados sobre eletrodos de Ag ativados eletroquimicamente e por mascaramento com microesferas de poliestireno o que levou a síntese de substratos SERS com estruturas organizadas. Também passou-se a utilizar um método mais quantitativo e preciso de se obter o fator de intensificação SERS do que apenas levando em consideração a intensidade da banda do modo vibracional em análise, como realizado até o momento pelo grupo.

1.4 Aspectos fundamentais do efeito SERS

Percebe-se uma tendência, por parte do grupo, em estudar as propriedades dos substratos SERS ativos com o objetivo de intensificar o sinal Raman do adsorbato e deste modo entender

as propriedades fundamentais do efeito SERS, não apenas focando nas propriedades das moléculas prova. O projeto de mestrado do aluno **Daniel Cardoso Rodrigues** teve como objetivo principal entender o efeito da geometria de nanoestruturas de ouro na intensificação do espalhamento Raman (21). O projeto se propôs a sintetizar nanotubos de ouro (AuNT) e nanofios (AuNF), por *sputtering* e eletrodeposição, sobre uma membrana porosa de policarbonato com vários diâmetros e caracterizar a eficiência destes substratos frente a típicos substratos SERS. A eficiência destes substratos, fator de intensificação SERS (EF-SERS), foi cuidadosamente calculada levando em consideração a morfologia de cada substrato. Os estudos mostraram que os AuNF se apresentaram como substratos SERS mais eficientes do que os AuNT. Quando comparados com outros substratos SERS estes apresentaram um comportamento superior, tanto em termos de valores absolutos de EF, quanto em termos de reprodutibilidade espacial.

O projeto de pesquisa do doutorando **Diego Pereira dos Santos** concentrou-se em obter resposta de analitos em nanoestruturas metálicas em condições de uma única molécula. O entendimento dos resultados levou ao estudo de aspectos mais fundamentais do efeito SERS (22). Neste trabalho foi possível observar que necessariamente não precisa-se de um substrato SERS de alto desempenho para se obter espectros SERS em regime de uma única molécula. Simulações Monte Carlo foram utilizadas para estudar os efeitos das flutuações de intensidade das bandas SERS, onde verificou-se uma dependência, destas flutuações, em função do número de “*hotspots*” e da constante de adsorção. Também foi estudado o efeito das variações de intensidade relativa das bandas anti-Stokes/Stokes, o que permitiu observar a contribuição de ressonâncias finas, interpretadas como resultado de interferências entre ressonâncias de plasmon de superfície. Os resultados foram confrontados por simulações de campo eletromagnético realizadas pelo método de aproximação de dipolos discretos (DDA).

1.5. Motivação desta tese

Esta seção trata dos objetivos desta Tese de Doutorado e sua contribuição ao estudo do efeito SERS no grupo. Este projeto apresentou três focos que representam bem as motivações dos estudos recentes em SERS pelo grupo.

- a) Síntese e caracterização morfológica de substratos SERS ativos (nanoesferas e nanobastões de ouro, eletrodo de ouro ativado eletroquimicamente e junções moleculares).
- b) Síntese e caracterização SERS de fios moleculares formados entre a superfície plana e nanopartículas de ouro e estudar o acoplamento plasmônico entre estas superfícies metálicas;
- c) Estudo do papel das propriedades de campo local (*hotspot*), campo distante (propriedades ópticas) e geometria de agregados de nanobastões de ouro na intensidade SERS, correlação SERS - morfologia de agregados AuNB.

Este trabalho surge como uma necessidade de aprofundar os entendimentos relativos a questões fundamentais como:

- ✓ Qual o papel das propriedades do campo elétrico local e propriedades ópticas em agregados individuais de nanobastões de ouro?
- ✓ Como a morfologia dos *hotspots* determinarão a intensidade SERS ou as características do espectro Raman?
- ✓ É possível estudar a influência da distância do “*gap*”/espaçamento em sistemas de junções moleculares do tipo AuFlat|Fio_molecular|AuNPs?
- ✓ Que tipo de interação existe entre AuNPs e superfície de ouro plana?
- ✓ É possível estudar a influência desta interação, AuNPs – superfície ouro plana, na intensidade SERS?
- ✓ O tipo de molécula utilizada apresenta algum papel na intensificação Raman obtida nas junções moleculares?

Sometimes I am asking myself what can not be done by Raman spectroscopy – a wonderful analytical tool for science and technology which was discovered by Sir Chandrasekara Venkata Raman and Krishnan R.S.

Wolfgang. Kiefer*

2

Espalhamento Raman

2.1. Espalhamento Raman

Desde sua descoberta a Espectroscopia Raman vem acumulando uma enorme quantidade de aplicações. Como exemplo pode ser citado o artigo do W. Kiefer (23) onde o mesmo apresentou uma revisão dos avanços mais significativos em espectroscopia Raman, publicados apenas no *Journal of Raman Spectroscopy*, até 2007, onde mais de 300 trabalhos foram citados.

O Laboratório de Espectroscopia Molecular Hans Stammreich (LEM), atualmente composto por seis professores, é um bom exemplo das várias áreas de atuação/aplicação da espectroscopia Raman:

- a) A profa. Dra. Marcia L.A. Temperini trabalha com polímeros condutores e nanocompósitos em condições normais e em altas pressões (24,25) e em Espectroscopia Raman Intensificada pela Superfície (26–28).
- b) A profa. Dra. Paola Corio trabalha com nanomateriais de carbono (29) e espectroscopia de espécies de interesse ambiental (30).
- c) O prof. Dr. Paulo Sérgio Santos trabalha com interações líquido-líquido e líquidos iônicos (31) e espalhamento Raman Ressonante.
- d) O prof. Dr. Mauro Carlos Costa Ribeiro atua no estudo de dinâmica molecular de líquidos (32) e simulações por dinâmica molecular (33).
- e) O prof. Dr. Rômulo Augusto Ando trabalha nos temas de complexos de transferência de cargas e absorção de gases por líquidos iônicos.
- f) A profa. Dra. Dalva Lúcia Araújo de Faria trabalha nas áreas de arqueometria e preservação cultural (34), astrobiologia e ciência forense.

* Celebre afirmação dada por Kiefer em seu artigo de revisão [J. Raman Spectrosc. 2007; 38: 1538].

Espalhamento Raman

Uma representação esquemática da interação de uma radiação incidente monocromática em uma amostra, sistema sob estudo, pode ser visualizada na Figura 1. Radiações espalhadas, elasticamente e inelasticamente, são produzidas como consequência desta interação. Os componentes destas radiações espalhadas de frequência (ν_k) são caracterizados pelo estado de polarização p_s , o vetor de propagação n_0^s e a intensidade I . O mesmo pode ser dito para a radiação incidente de frequência (ν_0): estado de polarização p_i , vetor de propagação n_0^i e a intensidade I_0 .

Figura 1: Esquema da interação de uma radiação incidente monocromática em uma amostra, sistema sob estudo e as radiações espalhadas, como consequência desta interação.

Estamos considerando a radiação incidente como proveniente de um laser. Considerando a radiação espalhada qual seria a relação existente entre I_0 e I e entre ν_0 e ν_k ? Foram estas e outros questionamentos que levaram C.V. Raman a descobrir o efeito de espalhamento inelástico*, mais tarde denominado de efeito Raman (35,36).

A radiação espalhada é uma resposta da oscilação dos momentos de multipolos elétricos induzidos, na molécula, pelo campo eletromagnético da radiação incidente, sendo a oscilação do dipolo elétrico a que mais contribui para a radiação espalhada. Portanto, introduziremos algumas discussões para o tratamento clássico e mecânico quântico da radiação espalhada† tendo como base o livro do Long (37). Isto nos permitirá definir a relação entre o dipolo elétrico induzido ($\mathbf{p}$) e a frequência da radiação espalhada, ν_k , e que relação eles guardam com a frequência da radiação incidente, ν_0 .

* Radiação espalhada com energia diferente da radiação incidente.

† Aqui estamos nos referindo a dois tipos de radiação, aquela espalhada com mesma energia que a radiação incidente, Espalhamento Rayleigh, e a radiação espalhada com energias diferentes da radiação incidente, Espalhamento Raman Stokes e anti-Stokes.

2.1.1. Teoria clássica do espalhamento Raman

Primeiro iremos considerar uma abordagem em que a radiação eletromagnética e o sistema, perturbado pela radiação incidente, serão tratados classicamente. O momento de dipolo elétrico induzido em uma molécula após a interação da mesma com uma radiação incidente pode ser definido pela equação:

$$\mathbf{p}^{(1)} = \boldsymbol{\alpha} \cdot \mathbf{E} \quad (1)$$

onde $\mathbf{E}$ é o vetor campo elétrico para a radiação incidente monocromática de frequência ν_0 , e $\boldsymbol{\alpha}$ o tensor de polarizabilidade da molécula, que é função das coordenadas nucleares. A variação da polarizabilidade com a coordenada normal pode ser expressa em uma expansão em série de Taylor. Cada componente $(\alpha_{\rho\sigma})$ do tensor de polarizabilidade $\boldsymbol{\alpha}$ é expressa pela equação:

$$\alpha_{\rho\sigma} = (\alpha_{\rho\sigma})_0 + \sum_k \left(\frac{\partial \alpha_{\rho\sigma}}{\partial Q_k} \right)_0 Q_k + \frac{1}{2} \sum_k \left(\frac{\partial^2 \alpha_{\rho\sigma}}{\partial Q_k \partial Q_l} \right)_0 Q_k Q_l \dots \quad (2)$$

onde $(\alpha_{\rho\sigma})_0$ é o valor de $\alpha_{\rho\sigma}$ na configuração de equilíbrio, $Q_k, Q_l \dots$ são as coordenadas normais de vibração associadas com as frequências de vibração da molécula $\nu_k, \nu_l, \dots$, e o somatório se dá sobre todas as coordenadas normais. O subscrito '0' nas derivadas parciais indica que são tomadas na configuração de equilíbrio.

Esta relação pode ser simplificada ao desprezar os termos de ordem superior a um, para Q , aproximação conhecida como aproximação harmônica elétrica*, e fixando nossa atenção apenas em um modo normal Q_k , temos:

$$\alpha_{\rho\sigma} = (\alpha_{\rho\sigma})_0 + (\alpha'_{\rho\sigma})_k Q_k \quad (3)$$

onde

$$(\alpha'_{\rho\sigma})_k = \left(\frac{\partial \alpha_{\rho\sigma}}{\partial Q_k} \right)_0 \quad (4)$$

é a derivada parcial do tensor de polarizabilidade na posição de equilíbrio.

Considerando um movimento harmônico simples, harmônica mecânica†, a coordenada Q_k pode ser expressa da seguinte forma:

* A aproximação harmônica elétrica estabelece que a variação da polarizabilidade numa vibração molecular é proporcional apenas a coordenada normal $k(Q_k)$ de primeira ordem.

† A aproximação harmônica mecânica em uma vibração molecular estabelece que a força restauradora é proporcional a primeira ordem do deslocamento de Q_k .

$$Q_k = Q_{k_0} \cos(2\pi\nu_k)t \quad (5)$$

onde Q_{k_0} é a amplitude da coordenada normal no equilíbrio. Adicionando este termo na equação (3) teremos o tensor de polarizabilidade dependente do tempo:

$$\alpha_{\rho\sigma} = (\alpha_{\rho\sigma})_0 + (\alpha'_{\rho\sigma})_k Q_{k_0} \cos(2\pi\nu_k)t \quad (6)$$

Introduzindo a expressão do tensor de polarizabilidade na equação 1, do momento de dipolo elétrico induzido e sabendo que $\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0)t$ temos:

$$\mathbf{p}^1 = (\alpha_{\rho\sigma})_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0)t + (\alpha'_{\rho\sigma})_k \mathbf{E}_0 Q_{k_0} \cos(2\pi\nu_k)t \cos(2\pi\nu_0)t \quad (7)$$

Utilizando a identidade trigonométrica, a expressão para o dipolo elétrico induzido pode ser expressa da seguinte forma:

$$\mathbf{p}^1 = (\alpha_{\rho\sigma})_0 \mathbf{E} + \frac{1}{2} (\alpha'_{\rho\sigma})_k \mathbf{E}_0 Q_k \cos(2\pi(\nu_0 - \nu_k)t) + \frac{1}{2} (\alpha'_{\rho\sigma})_k \mathbf{E}_0 Q_k \cos(2\pi(\nu_0 + \nu_k)t) \quad (8)$$

Uma análise da equação acima nos mostrará que o dipolo elétrico induzido $\mathbf{p}^{(1)}$ apresenta três componentes dependentes da frequência:

- $\mathbf{p}^{(1)}(\nu_0)$, dá origem a ν_0 , se referindo ao espalhamento Rayleigh. Este espalhamento surge da oscilação do dipolo elétrico em ν_0 induzido na molécula pelo campo elétrico da radiação incidente oscilando em ν_0 .
- $\mathbf{p}^{(1)}(\nu_0 - \nu_k)$, dá origem à radiação $(\nu_0 - \nu_k)$ chamada de espalhamento Raman Stokes enquanto $\mathbf{p}^{(1)}(\nu_0 + \nu_k)$ dá origem à radiação $\nu_0 + \nu_k$, chamada de espalhamento Raman anti-Stokes. O espalhamento Raman surgirá então como consequência da oscilação do dipolo elétrico $(\nu_0 \pm \nu_k)$, produzido quando a oscilação do dipolo elétrico em ν_0 é modulado pela frequência de oscilação da molécula, ν_k .

Todas as moléculas são polarizáveis em algum grau, deste modo, o tensor de polarizabilidade $(\alpha_{\rho\sigma})_0$ sempre será diferente de zero, portanto, todas as moléculas exibem espalhamento Rayleigh. Quanto à atividade Raman é necessário que pelo menos um dos componentes da derivada primeira do tensor de polarizabilidade $(\alpha'_{\rho\sigma})_k$, seja diferente de zero.

2.1.2. Teoria da mecânica quântica para o espalhamento Raman

A perturbação, causada pela radiação incidente, nos estados eletrônicos da molécula será agora tratada pela mecânica quântica. O tratamento mecânico quântico do espalhamento Raman será baseado na teoria de perturbação dependente do tempo* e seguirá o tratamento dado inicialmente por Placzek (37,38).

O momento de dipolo elétrico de transição pode ser expresso da seguinte forma

$$(\mathbf{p}^{(1)})_{fi} = \langle \psi_f^{(1)} | \hat{\mathbf{p}} | \psi_i^{(0)} \rangle + \langle \psi_f^{(0)} | \hat{\mathbf{p}} | \psi_i^{(1)} \rangle \quad (9)$$

onde $\psi_i^{(0)}, \psi_f^{(0)}$ são funções de onda tempo dependentes não perturbadas para os estados inicial, i , e final, f , e respectivamente $\psi_i^{(1)}, \psi_f^{(1)}$ são as correspondentes funções de onda dependentes do tempo perturbadas e $\hat{\mathbf{p}}$ é o operador momento de dipolo elétrico.

O primeiro passo aqui seria obter a relação entre as funções de onda perturbadas e não perturbadas, esta relação será obtida levando-se em consideração algumas suposições:

Primeiro, a perturbação é de primeira ordem;

Segundo, a interação hamiltoniana para a perturbação é de natureza de dipolo elétrico;

Terceiro, a perturbação é produzida pelo campo elétrico, dependente do tempo, associado à radiação incidente de frequência ν_0 . Por conveniência iremos considerar $\omega_1 = 2\pi\nu_0$, para a frequência da radiação incidente.

Levando em conta estas considerações, o momento de dipolo elétrico de transição pode ser descrito como:

$$(p_\rho^{(1)})_{fi} = \frac{1}{2\hbar} \sum_{r \neq i,f} \left\{ \frac{\langle f | \hat{p}_\rho | r \rangle \langle r | \hat{p}_\sigma | i \rangle}{\omega_{ri} - \omega_1 - i\Gamma_r} + \frac{\langle f | \hat{p}_\sigma | r \rangle \langle r | \hat{p}_\rho | i \rangle}{\omega_{ri} + \omega_1 + i\Gamma_r} \right\} \tilde{E}_{\sigma 0} (\exp - i\omega_s t) + \text{complexo conjugado} \quad (10)$$

Escrevemos $|i\rangle$ para $|\psi_i\rangle$, $|f\rangle$ para $|\psi_f\rangle$ e assim por diante. ω_s é a frequência da radiação espalhada definida como $\omega_s = \omega_1 - \omega_{fi}$, $\hat{p}_\rho$ e $\hat{p}_\sigma$ são os componentes do operador momento de dipolo elétrico.

A partir da equação (10) podemos definir a tensor de polarizabilidade de transição $(\alpha)_{fi}$ com os componentes $(\alpha_{\rho\sigma})_{fi}$ como

* Este tratamento permite que as funções de onda perturbadas sejam expressas como uma combinação linear das funções de onda não perturbadas.

$$(\alpha_{\rho\sigma})_{fi} = \frac{1}{\hbar} \sum_{r \neq i, f} \left\{ \frac{\langle f | \hat{p}_\rho | r \rangle \langle r | \hat{p}_\sigma | i \rangle}{\omega_{ri} - \omega_1 - i\Gamma_r} + \frac{\langle f | \hat{p}_\sigma | r \rangle \langle r | \hat{p}_\rho | i \rangle}{\omega_{ri} + \omega_1 + i\Gamma_r} \right\} \quad (11)$$

A Equação (11) é conhecida como equação de dispersão de Kramers-Heisenberg-Dirac a partir da qual as intensidades Raman podem ser calculadas através de:

$$I(\omega_s; \omega) \propto \omega_s^4 E_0^2 \sum_{\rho, \sigma} (\hat{\alpha}_R)_{\sigma\rho}^2 \quad (12)$$

Na Equação (11) a soma é sobre todos os autoestados r da molécula e, portanto, o cálculo da intensidade necessita, em princípio, do conhecimento de todos estes estados e suas respectivas energias, o que não é possível de ser feito. No entanto a análise do denominador e numerador nos permitirá discutir algumas situações que poderão ser obtidas experimentalmente.

a) Denominador da equação

Para discutirmos o denominador da equação (11) iremos considerar dois casos limites, primeiro quando a frequência da radiação incidente, ω_1 , é menor do que a frequência de absorção eletrônica da molécula, ou seja, $\omega_1 \ll \omega_{ri}$. O segundo caso ocorre quando ω_1 é próximo a uma frequência de absorção eletrônica da molécula, $\omega_1 \approx \omega_{ri}$.

Na Figura 2 são apresentados diagramas de níveis de energia para ilustrar os processos de espalhamento Raman, e para melhor entendermos os casos limites definidos acima. Os diagramas representam a interação da energia de uma radiação incidente, de frequência ω_1 com a molécula que, após a interação, sofre uma transição do seu estado fundamental $|i\rangle$ para um estado intermediário e então para um estado excitado vibracional $|f\rangle$.

O segundo termo, no somatório na equação (11), torna-se desprezível pois estamos somando um valor muito grande por um muito pequeno. Outra observação importante é o fato de que o espalhamento Raman Ressonante, quando $\omega_1 \approx \omega_{ri}$, deve apresentar ordens de magnitude maior do que o espalhamento Raman normal, $\omega_1 \ll \omega_{ri}$.

Figura 2: Tipos de espalhamento Raman. ω_1 é a frequência da radiação incidente.

b) Numerador: transição de dipolo elétrico

A transição de dipolo elétrico no numerador da equação (11) se mostra como um produto de dois termos, um que se refere a transição do estado $|i\rangle$ ao estado $|r\rangle$ e outro para a transição do estado $|r\rangle$ para o estado $|f\rangle$. Analisando o comportamento do numerador com base nos casos limites apresentados anteriormente temos:

- $\omega_1 \ll \omega_{ri}$ – O espalhamento Raman Normal, que envolve todas as possíveis transições através do estado $|r\rangle$ que conecta o estado inicial $|i\rangle$ e final $|f\rangle$. Desta forma o espalhamento Raman normal é essencialmente uma propriedade do estado eletrônico fundamental.
- $\omega_1 \approx \omega_{ri}$ – No espalhamento Raman Ressonante, os estados $|r\rangle$, para os quais $\omega_1 \approx \omega_{ri}$, dominarão o somatório sobre estes estados e $(\alpha_{\rho\sigma})_{fi}$ será determinada pelas propriedades de um número limitado de estados $|r\rangle$, em geral por apenas um.

Outro efeito Raman, não discutido até o momento mas, que apresentará um importante papel nesta tese é o efeito da intensificação do espalhamento Raman por uma superfície metálica.

2.2. Espalhamento Raman Intensificado pela Superfície (SERS)

No início dos anos 70, diversos grupos estavam estudando monocamadas de moléculas adsorvidas em superfícies metálicas. Até então estes tipos de sistemas eram estudados por espectroscopia de absorção no infravermelho. Entretanto em 1974 Martin Fleischman *et al.* (39) obtiveram espectro Raman da piridina adsorvida sobre eletrodo de prata rugoso. A interpretação inicial para este resultado foi o aumento da área superficial, devido ao aumento da rugosidade da superfície, levando a uma maior concentração de moléculas na superfície analisada. Naquele momento ainda não se pensava na possibilidade de intensificação do sinal Raman devido à superfície metálica. Somente em 1977 que uma interpretação foi sugerida e acabou por estabelecer este efeito como um efeito de intensificação do espalhamento Raman pela superfície metálica. Foram Jeanmaire e van Duyne (40) e Albrecht e Creighton (41) que sugeriram, de forma independente, que algo estaria atuando na intensificação do sinal Raman que não a concentração da molécula na superfície.

A possibilidade de obter análise Raman de filmes finos foi suficiente para alavancar numerosas pesquisas em SERS nos anos seguintes. Um exemplo foi nosso grupo, como apresentado anteriormente, que somente alguns anos após da descoberta do SERS já estavam trabalhando com este efeito (42). Uma rápida pesquisa no *Scopus* ou mesmo no *Web of Science* utilizando as palavras chave *surface-enhanced Raman* e/ou SERS nos dará uma visão da quantidade de trabalhos publicados nesta área nos últimos 40 anos, principalmente na última década. Alguns fatores podem ser citados, ao explicar este aumento considerável do número de publicações em SERS na última década:

- a) Melhorias e diversificação na instrumentação Raman, tornando-se acessível a diversas áreas como física, química, biologia e engenharia;
- b) Por ser uma espectroscopia de espalhamento dependente do tipo ou morfologia da superfície o grande desenvolvimento da nanociência e nanotecnologia tem proporcionado inúmeras possibilidades de aplicações em ciências;
- c) A descoberta da possibilidade de SERS em regime de uma única molécula em 1997 (43,44) foi um dos maiores estímulos para os estudos experimentais no campo do SERS. Principalmente por mostrar que a intensidade do sinal SERS poderia aproximar aos valores de intensidade obtidos utilizando a espectroscopia de fluorescência. Também foi responsável por um grande aumento dos estudos teóricos quanto aos mecanismos envolvidos no efeito SERS.

Na Figura 3 é apresentado um esquema de algumas das principais áreas de atuação do efeito SERS. Como pode ser observado há uma grande gama de aplicações para o efeito colocando-o numa posição privilegiada quanto a sua utilidade.

Figura 3: Representação esquemática das áreas relacionadas ao efeito SERS.

Em comparação com o Raman normal, o efeito SERS necessita da presença de nanoestruturas metálicas para gerar a intensificação do sinal Raman. Para o entendimento do SERS necessitaremos considerar a interação da radiação com a molécula/amostra, a interação entre a radiação e as nanoestruturas metálicas e a natureza desta nova interação metal-molécula.

2.2.1. Intensificação do campo eletromagnético em nanopartículas metálicas:

Mecanismo Eletromagnético (EM)

A intensificação do campo eletromagnético em nanopartículas metálicas é objeto de estudo da Plasmônica e está diretamente ligada ao efeito de intensificação do sinal Raman pela superfície.

A teoria plasmônica assume que o efeito SERS surge da concentração de energia eletromagnética nas vizinhanças de nanoestruturas metálicas apropriadas, quando a mesma é iluminada por luz de comprimentos de onda que possam excitar os plasmons de superfície destas nanoestruturas (45,46). Devido à importância das propriedades das nanoestruturas metálicas no efeito SERS discutiremos algumas definições e propriedades ópticas particulares de sistemas metálicos.

Os metais podem apresentar ressonâncias de plasmon de superfície (*surface plasmon resonance*, SPR) quando excitados com radiação eletromagnética. Em se tratando do efeito SERS duas definições são bastante utilizadas: plasmon de propagação de superfície (*surface plasmon polariton*, SPR) e ressonância de plasmon localizado na superfície (*localized surface plasmon resonance*, LSPR) (47). SPR são oscilações de cargas elétricas se propagando na interface metal dielétrico. Quando a superfície metálica se torna muito pequena em tamanho, menor do que o comprimento de onda da radiação excitante, esta oscilação de cargas torna-se localizada, o então chamado LSPR. Três fenômenos surgem do LSPR: intensificação do campo elétrico na superfície da partícula, intensificação da absorção e espalhamento de fótons. Estes fenômenos, principalmente o primeiro, estão relacionados às contribuições eletromagnéticas às espectroscopias de superfície, entre elas o SERS. No entanto no caso da NP metálica apresentar dimensões de tamanho muito pequenas (< 10 nm) contribui para uma diminuição da intensidade das ressonâncias de plasmons de superfícies ou mesmo sua não existência tendo em vista a pequena dimensão das NP.

O modelo de Drude para a resposta óptica metálica

A resposta óptica será consequência da oscilação dos elétrons livres na superfície metálica principalmente na região do visível do espectro eletromagnético, onde as características das energias ressonantes residem. O modelo de Drude, derivado do modelo de Lorentz para a polarizabilidade atômica, é um modelo que permite modelar a resposta óptica de materiais metálicos como consequência das oscilações dos elétrons livres. Este modelo assume os elétrons como osciladores harmônicos clássicos, ou seja, oscilam em torno de núcleos atômicos fixos. E a partir do mesmo chega-se a função dielétrica de um metal:

$$\epsilon(\omega) = \epsilon_{\infty} \left(1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\gamma_0\omega} \right), \quad (13)$$

onde ω_p é a frequência de plasma definida como $\omega_p = \sqrt{\frac{ne^2}{m\epsilon_0\epsilon_{\infty}}}$, n é o número de elétrons livres por unidade de volume, m sua massa, γ_0 é o termo de amortecimento.

Considerando a parte real e imaginária da função dielétrica apresentada anteriormente temos:

$$Re(\epsilon(\omega)) = \epsilon_{\infty} \left(1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + \gamma_0}\right) \quad (14)$$

$$Im(\epsilon(\omega)) = \frac{\epsilon_{\infty} \omega_p^2 \gamma_0}{\omega(\omega^2 + \gamma_0)} \quad (15)$$

Analisando qualitativamente as equações acima podemos obter algumas importantes conclusões.

- a) Pelo modelo de Drude a frequência de plasma pode ser obtida para a condição $Re(\epsilon(\omega)) \approx 0$;
- b) Para o caso $\omega < \omega_p$ tem-se $Re(\epsilon(\omega)) < 0$;
- c) se $\omega \ll \omega_p$ $Im(\epsilon(\omega))$ também será pequeno.

A maior parte dos efeitos ópticos de interesse, incluindo ressonância de plasmon, advém destas duas condições: $Re(\epsilon(\omega)) < 0$ e $Im(\epsilon(\omega)) \approx 0$.

Propriedades ópticas dos metais

Transições ópticas intrabandas referem-se às transições em que os elétrons excitados permanecem na mesma banda eletrônica, ou seja, banda de condução. Quando os elétrons são excitados para uma banda eletrônica de maior energia, estas são ditas transições ópticas interbandas. Para boa parte dos metais esta transição interbandas ocorrerá na região do UV, em valores de energias muito maior do que a frequência do plasma, como o caso da prata por exemplo. Já para o ouro isto não ocorre, pois a frequência de transição interbandas se dá em 325 nm e 470 nm (46).

Na Figura 4 são apresentadas as funções dielétricas, parte real e imaginária, para prata e ouro.

Figura 4: (a) partes real e (b) imaginária da função dielétrica para a Ag e o Au. Reproduzido com autorização da referência (48).

Como predito pelo modelo de Drude a maioria dos metais terá $Re(\epsilon(\omega))$ negativa como resposta óptica dos elétrons de condução. O valor negativo da parte real na região do visível é a origem de muitas propriedades ópticas dos metais, incluindo os efeitos de plasmon de superfície. A relação entre os plasmon de superfície e a função dielétrica do metal pode ser dada considerando algumas suposições. Primeiro consideremos uma nanopartícula esférica interagindo com um campo eletromagnético com comprimento de onda muito maior do que o diâmetro da esfera, $r_{NP} \ll \lambda_0$. O campo elétrico na superfície da esfera pode ser calculado considerando a aproximação eletrostática, o que nos leva a equação abaixo:

$$E_{sup} = \frac{3\epsilon_M}{\epsilon(\omega) + 2\epsilon_M} E_0 \quad (16)$$

Observando a equação verifica-se que para E_{sup} atingir um valor máximo, o numerador deve se aproximar de zero, isto ocorrerá quando $\epsilon(\omega) \approx -2\epsilon_M$. No entanto, para chegar-se a uma condição de ressonância, quando a resposta óptica (absorção e espalhamento) numa dada frequência é muito grande, as duas condições: $Re(\epsilon(\omega)) \approx -2\epsilon_M$ e $Im(\epsilon(\omega)) \approx 0$ devem ser satisfeitas (46). Como E_{sup} se refere ao campo na superfície da NPs o mesmo tem sido chamado de E_{local} .

Considerando o que foi exposto até o momento, um metal será um bom substrato para utilização em SERS se:

- $Re(\epsilon(\omega))$ for negativa na região da faixa do comprimento de onda desejado;
- $Im(\epsilon(\omega))$ for pequena nesta mesma faixa.

A excitação dos LSPR na superfície de NPs metálicas, devido à ressonância com os fótons da radiação excitante, acarretará no surgimento de um forte campo eletromagnético que se propaga na superfície de tais NPs, diminuindo exponencialmente à medida que se afasta da superfície metálica (49). Este efeito plasmônico, chamado de efeito de campo próximo, pode afetar as propriedades de materiais que estejam ligados ou próximo a esta superfície. Alguns exemplos deste efeito podem ser citados:

- i) grande intensificação do espalhamento Raman para espécies adsorvidas na superfície das NPs (44);
- ii) aumento da oscilação coerente de fótons em nanopartículas (50);
- iii) aumento do espalhamento Raman para espécies no entorno de NP que estão próximas entre si, região chamada de *hotspot* (51,52);
- iv) deslocamento da banda de ressonância dos plasmon de superfície (SPR), para região do azul ou do vermelho do espectro eletromagnético, dependendo da natureza do acoplamento dos plasmons entre NPs vizinhas (53,54).

Nesta tese estamos interessados em conhecer como as NPs metálicas, morfologia e natureza de agregação, irão afetar os processos de espalhamento Raman de moléculas vizinhas ou adsorvidas em tais superfícies. Para isto discutiremos o mecanismo eletromagnético e como ele influencia na intensificação do espalhamento Raman.

Mecanismo Eletromagnético em SERS

Como discutido nos tópicos anteriores, sob condições de ressonância a oscilação do campo elétrico da radiação incidente com frequência angular ω_{inc} e amplitude E_0 causa uma oscilação nos elétrons de condução levando à formação de um dipolo elétrico induzido. Na Figura 5 é apresentada uma representação esquemática da excitação do LSPR em AuNP por uma radiação incidente com comprimento de onda maior do que o tamanho da NP. Esta oscilação de cargas na superfície da NP metálica, LSPR, emite radiação de mesma frequência que ω_{inc} , levando à criação de um campo elétrico local $E_{\text{loc}}(\omega_{\text{inc}})$ nas vizinhanças da nanopartícula e que estará relacionado ao $E_0(\omega_{\text{inc}})$.

Figura 5: Representação esquemática da excitação da ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR), em uma nanoesfera de ouro, devido ao campo elétrico da radiação incidente.

Este campo elétrico local, $E_{loc}(\omega_{inc})$, gerado nas vizinhanças da NP, pode interagir com as moléculas que estão no seu entorno, induzindo um dipolo elétrico na molécula, $\mu_{ind} = \alpha_{molécula} E_{loc}(\omega_{inc})$. Na Figura 6 é apresentado um esquema do espalhamento inelástico Raman com frequência angular $(\omega_{inc} - \omega_{vib})$ como consequência do LSPR da NP. Esta excitação pode ter um efeito recíproco e a própria radiação espalhada $(\omega_{inc} - \omega_{vib})$ pode excitar o plasmon de superfície. A intensidade SERS regida pelo mecanismo eletromagnético (EM) irá depender do campo da radiação incidente (ω_{inc}) e espalhada $(\omega_{inc} - \omega_{vib})$. Portanto, $I_{SERS} = I_{inc}(\omega_{inc}) I(\omega_{inc} - \omega_{vib})$ e $|E_{inc}(\omega_{inc})|^2 |E(\omega_{inc} - \omega_{vib})|^2$. Esta relação mostra que a intensificação SERS requer que a radiação incidente e a radiação Raman espalhada estejam em ressonância com a energia do plasmon da nanoestrutura metálica. Neste caso podemos afirmar que quando a frequência da radiação incidente e espalhadas são muito próximas, $\omega_{inc} \approx (\omega_{inc} - \omega_{vib})$, a intensidade SERS dependerá da quarta potência do campo elétrico, $I_{SERS} \approx |E(\omega_{inc})|^4$.

Figura 6: Representação esquemática do espalhamento inelástico Raman com frequência angular $(\omega_{inc} - \omega_{vib})$ como consequência do LSPR da NP.

Até o momento tem sido amplamente aceito que o mecanismo EM é o que mais contribui para o efeito SERS, tendo as suas propriedades dependentes da nanoestrutura metálica. Deste modo um campo elétrico local intenso será o responsável pela grande

intensificação do sinal SERS em comparação ao do Raman Normal. Por exemplo, um aumento de $E_{loc}/E_{inc}=10^2$ resulta em um aumento da intensidade SERS por um fator de $(E_{loc}/E_{inc})^4 = (10^2)^4 = 10^8$. Este fator, 10^8 , será chamado de fator de intensificação SERS (EF-SERS) e tem sido largamente utilizado para mostrar a intensificação do sinal SERS quando comparado ao do espalhamento Raman normal. Uma maior discussão do fator de intensificação SERS será discutido no capítulo 5.

Propriedades das NPs como tamanho, formato e padrão de agregação apresentam um importante papel na intensidade SERS. Deste modo a síntese das NPs permite modelar a resposta do campo elétrico local e consequentemente o efeito SERS.

Efeito do tamanho

Os tamanhos das NPs que suportam LSPR de forma eficiente, ou seja, que geram altos campos eletromagnéticos em sua superfície, são partículas com tamanhos bem menores do que o comprimento de onda da radiação incidente. Le Ru e Etchegoing (46), discutindo o efeito do tamanho das partículas, 30 a 100 nm, no plasmon de superfície por cálculos teóricos obtiveram as seguintes conclusões:

Primeiro, o LSPR desloca para a região do vermelho, menor energia, à medida que o tamanho da NP aumenta;

Segundo, há um aumento do efeito de amortecimento do LSPR, causando um alargamento da ressonância e consequentemente uma diminuição da intensidade de campo local;

Terceiro, com o aumento do tamanho das NPs tem-se o aparecimento de ressonâncias de multipolos, principalmente quadrupolos, causando uma diminuição da intensidade do campo local.

Efeito do formato

As discussões acima, quanto ao plasmon de superfície, foram realizadas considerando uma nanopartícula esférica. Quando passamos para partículas assimétricas começa-se a ter várias mudanças na intensidade e forma das ressonâncias do LSPR. Le Ru e Etchegoing (46) discutindo a influência da variação do formato, razão de aspecto (RA), em elipsoides no LSPR concluíram o seguinte:

- i) as ressonâncias são dependentes do formato das partículas, ou seja, RA;
- ii) há um deslocamento para a região do vermelho ou azul, bem como um desdobramento dos plasmon de ressonância dependendo da natureza do acoplamento entre as NPs;

- iii) há uma maior intensificação de campo elétrico em regiões de ponta;
- iv) há uma dependência do acoplamento das ressonâncias com a polarização da radiação incidente.

Os mesmos autores, em outro trabalho, chegaram a conclusões bastantes parecidas ao estudar as dependências da intensidade do campo elétrico na superfície de uma partícula de prata com formato triangular (55).

Efeito do espaçamento: junção entre partículas

A interação entre duas, ou mais, NPs permite a interação dos plasmons das mesmas e consequentemente, mudança do comportamento do campo eletromagnético nas superfícies de ambas as NPs, bem como na região entre elas. O aspecto mais importante do acoplamento das ressonâncias LSPR não é a posição ou deslocamento do plasmon no espectro eletromagnético, mas as grandes intensificações de campo local, e, portanto, dos EF-SERS que surgem, em particular, na região entre as duas partículas, o chamado *hotspot*. Na Figura 7 são apresentados, de forma esquemática, um dímero formado por duas partículas de ouro, raio 25 nm, separados por um *gap*, (g), o espectro de extinção e os valores de EF-SERS para diferentes valores de g .

Figura 7: (a) Esquema da configuração de um dímero (eixo Z) formado por duas esferas de raio a e separadas por g . A radiação incidente é polarizada ao longo do eixo z (eixo do dímero) e com um vetor de onda k ao longo de x . (b) Coeficientes de extinção para vários g como função do comprimento de onda incidente. (c) EF-SERS, F^0_{E4} , na superfície das partículas na região do gap (no eixo dímero), isto é, no *hotspot*. Também é mostrado (linha tracejada) EF-SERS médio, $\langle F^0_{E4} \rangle$, para $g = 2$ nm. Reproduzido com permissão da referência (46).

A partir da Figura 7 podemos concluir acerca do *hotpost* e acoplamento de plasmon em NPs metálicas que podem ser extrapoladas para qualquer agregado de NPs. Pela observação do espectro de extinção percebe-se que a interação entre as duas NPs cria uma nova ressonância de plasmon como resultado do acoplamento entre os plasmons das partículas. O tamanho do gap apresenta um papel importante no acoplamento dos plasmons sendo mais deslocada para o vermelho quanto menor for o *gap*. Este comportamento torna-se mais complexo em partículas anisotrópicas, por exemplo, no caso de interações entre dois nanobastões (56).

Para sistemas SERS o mais importante será, não apenas a posição do plasmon, mas a intensidade do campo elétrico local. A Figura 7(c) apresenta o valor de EF-SERS no *hotspot*, região entre as NPs, para diferentes tamanhos de gap. Desta figura as seguintes conclusões podem ser obtidas.

- Altos valores de EF-SERS são observados no *hotspot*, chegando a ordem de 10^{11} ;
- EF-SERS é grandemente dependente do *gap* entre as partículas, sendo que os maiores valores de EF são obtidos à medida que o tamanho do *gap* diminui;
- O EF médio, linha tracejada na Figura 7(C), se mostra intenso, mas não tanto quanto fator de intensificação em condição de uma única molécula (SMEF), que é duas ordens de grandeza maior.

O entendimento teórico do quanto o formato, tamanho e agregação das nanopartículas influencia no efeito SERS tem permitido a síntese de substratos SERS ativos com capacidades de estudo e análise vibracional de moléculas em concentrações cada vez menores e em sistemas cada vez mais complexos (28,57–60). No entanto, os efeitos eletromagnéticos não são os únicos a atuarem no efeito SERS e por isso discutiremos outros efeitos que contribuem para a intensificação do espalhamento Raman.

2.2.2. Para além do plasmon de superfície: contribuições “químicas” ao efeito SERS

O EM está relacionado a nanoestrutura metálica como: natureza, tamanho, formato e estado de agregação. Enquanto no modelo químico, abreviado como CE (*chemical enhancement*), o novo sistema formado pela interação entre o metal e a molécula deve ser considerado. Algumas teorias têm sido propostas tentando explicar os mecanismos envolvidos nesta intensificação. A principal questão, neste ponto, seria em como a formação do complexo metal-molécula favorecerá a intensificação do sinal Raman. Segundo Martin Moskovits (61) o CE estaria ligado a um ou mais dos seguintes mecanismos de ressonância:

- (a) Formação do complexo metal-ligante (62);

- (b) O surgimento da ressonância à transferência de carga (*charge transfer*, CT) entre molécula-metal ou metal-molécula a semelhança dos processos de CT em complexos de metais de coordenação (63–65);
- (c) O efeito do tempo de residência de elétrons ou par elétron-buraco fora do metal, ou seja, na molécula (66).

A molécula têm um conjunto de orbitais moleculares com níveis de energia discretos, a saber: os níveis ocupados até o orbital de maior energia, HOMO (*highest occupied molecular orbital*) e os níveis desocupados em/e a partir do orbital molecular de menor energia, LUMO (*lowest unoccupied molecular orbital*). Os níveis de energia do metal consistem em um contínuo, na banda de condução, preenchidos até o nível de Fermi* (E_F) e vazios acima do mesmo. Para a grande maioria das moléculas utilizadas em sistemas SERS ativos, o E_F estará entre as energias dos orbitais HOMO e LUMO. A adsorção da molécula ao metal causa um acoplamento entre os orbitais da molécula e a banda de condução do metal, levando a modificação nos estados estacionários de ambos os sistemas (67). Devido ao acoplamento entre os estados estacionários da molécula e a banda de condução do metal CT entre metal-molécula ou molécula-metal passará a ser possível.

A transferência de carga entre metal-molécula ou molécula-metal quando, induzida e, em ressonância com a radiação incidente pode contribuir para a intensificação do sinal Raman. Esta ressonância irá influenciar significativamente o perfil do espectro SERS como deslocamento de frequência e intensidade relativa das bandas espectrais (68). Para um melhor entendimento do mecanismo de ressonância de transferência de cargas, induzida pela radiação laser, consideramos um experimento eletroquímico-SERS. Neste tipo de experimento é possível variar E_F , com a variação do potencial elétrico aplicado ao eletrodo metálico, mantendo-se fixo o comprimento de onda da radiação incidente ou o contrário. Na Figura 8 reproduzimos um diagrama esquemático para um experimento deste tipo (69).

* A Energia de Fermi é a energia do nível ocupado mais energético em um sistema fermiônico à temperatura de zero absoluto. Já o nível de Fermi pode ser definido para qualquer temperatura e é a ele que nos referimos quando apresentarmos o termo E_F .

Figura 8: Diagrama esquemático do mecanismo de transferência de carga entre uma molécula adsorvida em um eletrodo metálico num sistema eletroquímico-SERS. À esquerda: o modelo conceitual da variação dos níveis de energia com a variação do potencial do eletrodo em processos de CT. À direita os estados de energia relevantes envolvidos nos níveis eletrônicos e vibracionais no processo de CT. À direita inferior, corresponde ao perfil de intensidade SERS – potencial aplicado. Reproduzido da referência (69) com permissão da *Royal Society of Chemistry*, 2015.

Ao lado esquerdo do diagrama podemos observar o modelo de níveis de energia e ao lado direito os níveis de energia envolvidos no processo de CT induzido pela radiação laser. A energia ($h\nu$) da radiação incidente é mantida fixa e E_F foi variado com aplicação dos potenciais V_1 , V_2 e V_3 . Observa-se que a aplicação do potencial V_1 foi insuficiente para que o sistema atingisse o nível de energia necessário para que ocorresse CT. Neste caso a contribuição CT para o efeito SERS não seria significativa e apenas os outros mecanismos estariam atuando no efeito de intensificação SERS. Quando aplica-se o potencial V_2 , E_F o nível de energia para que ocorra a CT tem um valor de energia muito próximo da radiação excitante. Como consequência o sistema entra em ressonância acarretando uma intensificação do espalhamento Raman, para os modos vibracionais do cromóforo envolvido. Se o potencial aplicado for para valores mais negativos, V_3 , observa-se que esta condição de ressonância CT não ocorre e com isso há uma diminuição da intensidade SERS, gráfico inferior à direita na Figura 8. Se houver uma variação da energia da radiação incidente, fica fácil observar que V_2 não seria mais o potencial onde ocorreria a ressonância.

Este modelo considerou apenas a possibilidade de haver transferência de cargas entre o metal-molécula (E_F - LUMO), no entanto esta transferência poderia ocorrer entre a molécula e o metal (HOMO - E_F). O sentido desta transferência dependerá da natureza da estrutura eletrônica da molécula adsorvida (69). Lombardi *et al.* (63,70) estudaram a natureza da transferência de carga por experimentos eletroquímicos. Eles concluíram que se com a alteração da energia da radiação incidente for necessário um deslocamento positivo do potencial, para alcançar novamente a ISERS máxima (obtida num primeiro experimento) esta transferência se dará entre metal-molécula, caso contrário a transferência de carga será molécula-metal.

Outro mecanismo químico que tem sido discutido e que poderia estar atuando juntamente com a ressonância CT é o efeito do tempo de residência de elétrons ou par elétron-buraco fora do metal, ou seja, na molécula adsorvida (62,66,71). Este mecanismo seria consequência de uma fraca interação entre o campo eletromagnético e o complexo metal-molécula, excitando a transição temporária do par elétron-buraco. Este mecanismo é válido para moléculas que estão diretamente em contato com a superfície metálica, chamado também de efeito de primeira camada. Este mecanismo assume que o acoplamento da vibração molecular com a ressonância de plasmon de superfície ocorre através da transferência de carga temporária (*transient charge transfer*). Um ânion, cátion ou birradical é formado, por um breve período de tempo, como consequência do tempo de residência do elétron “quente” ou par elétron-buraco no adsorbato, estes elétrons ao voltarem para o metal trazem consigo um efeito de memória da vibração molecular. Um dos esforços mais recentes objetivando conferir uma visão quantitativa desta teoria foi dada por Andreas Otto (72).

Foram apresentados dois mecanismos envolvidos no efeito SERS, a saber mecanismo eletromagnético e químico. Pelas discussões anteriores ficou claro que há uma grande dificuldade em distinguir estes mecanismos para uma mesma radiação incidente. Lombardi *et al.* e Chenal C. *et al.* (67,70) foram um dos primeiros a tentarem apresentar uma única expressão para a intensificação SERS que reunisse todos os três tipos de ressonância*.

2.2.3. Uma abordagem unificada do efeito SERS

Foi discutido, na seção 2.1.1, o momento de dipolo elétrico induzido em uma molécula após a interação da mesma com uma radiação monocromática. A equação (1), conforme exposta anteriormente é:

* Os três tipos de ressonância são: ressonância devido ao mecanismo EM, CT e Raman ressonante.

$$p = \alpha \cdot E$$

Em SERS, como discutido na seção 2.2.2, a molécula está adsorvida, ou muito próxima, à nanoestrutura metálica. Portanto, uma análise qualitativa da expressão de p nos permite verificar a influência dos dois mecanismos já discutidos. O mecanismo EM irá atuar no campo elétrico, E , conferindo uma intensificação maior a este, no que convencionou-se chamar fator de intensificação E^4 . Enquanto que o mecanismo CE atuará na variação da polarizabilidade da molécula, α , que seguirá os processos já descritos. Por esta análise fica claro que o valor de p e consequentemente do sinal Raman espalhado será maior do que o apresentado no Raman normal.

As considerações acerca da equação (1) são apenas qualitativas e estão longe de ser uma visão unificada do efeito SERS. Em SERS o sistema metal-molécula tem que ser visto como um único sistema, neste caso o LSPR será, principalmente, uma propriedade do metal enquanto que as ressonâncias moleculares uma propriedade molecular. Portanto, os estados de transferência de carga são propriedades deste novo sistema, metal-molécula. Segundo Lombardi *et al.* (73) três principais ressonâncias estariam atuando nestes sistema:

- (i) LSPR na superfície metálica;
- (ii) CT envolvendo transferência de elétrons entre a molécula e o metal;
- (iii) processos de ressonância característicos da absorção eletrônica da molécula*.

Foi devido à possibilidade de vários efeitos atuarem no espalhamento SERS que Lombardi e Birke tentaram formular uma expressão unificada para o efeito SERS (63,73,74). Eles objetivaram mostrar que o SERS precisaria ser explicado como um único efeito tendo a contribuição de três ressonâncias que estão correlacionadas entre si e, por isso, não podem ser consideradas separadamente. Portanto, eles chegaram a uma expressão que inclui os três tipos de ressonâncias no denominador, enquanto que no numerador estes efeitos estão relacionados por um produto.

Os autores chegaram a uma expressão analítica análoga à expressão de Albrecht[†] em que α pode ser expresso como uma soma de três termos, $\alpha = A+B+C$. Nesta expressão, o termo A é a soma dos termos em que apenas as integrais de Frank-Condon estão no numerador. Os

* Aqui os autores se referem ao espalhamento Raman Ressonante, onde alguns modos normais do sistema poderão ser grandemente intensificados quando a radiação excitante tiver energia próxima a transição eletrônica molecular deste cromóforo. Para uma discussão de Raman Ressonante sugerimos o livro do Derek A. Long (37).

[†] Ressaltamos que os termos A, B e C, na expressão proposta por Lombardi e Birke, não guardam nenhuma relação com os termos A, B, e C da expressão de polarizabilidade da teoria Raman Ressonante proposto por Albrecht.

termos B e C são as contribuições Herzberg-Teller para às transições de transferência de carga molécula-metal e metal-molécula, respectivamente (65). Estas transições são possíveis devido à existência de transições moleculares permitidas, pelo acoplamento Herzberg-Teller (h). Nestas transições também estão representados os processos de ressonância característicos da molécula. Para uma discussão detalhada quanto a expressão analítica obtida por Lombardi, sugerimos consultar as referências (73,74). Na Figura 9 são apresentados os diagramas de níveis energia do sistema metal-molécula para os termos da polarizabilidade A, B e C.

Figura 9: Diagrama de energia do sistema metal molécula dos termos A, B e C para a polarizabilidade apresentando os momentos de transição eletrônica e os parâmetros de acoplamento de Herzberg-Teller. I e K são estados da molécula, μ são estados de transferência de carga e E_F o nível de Fermi do metal.

Os níveis de energia da molécula são I e K, em que a transição molecular é permitida. Os níveis do metal, apresentado aqui como um contínuo, especificando o nível de Fermi, já definido na seção 2.2.1. A transição de transferência de carga da molécula, termo B, para um dos estados não preenchidos do metal é permitido pelo termo μ_{IF} . Os estados F e K são conectados através do termo de acoplamento Herzberg-Teller, h_{FK} . Para o termo C, a transição de transferência de carga do nível de Fermi para a molécula é permitida por μ_{FK} , através do acoplamento h_{IF} .

A partir do tratamento da expressão que envolve os termos A, B, e C, Lombardi e Birke chegaram a seguinte expressão, para o caso da transferência de carga se dá no sentido metal-molécula, que considera as três ressonâncias para a intensidade SERS:

$$R_{\text{IFK}}(\omega) = \frac{\mu_{\text{KI}}\mu_{\text{FK}}h_{\text{IF}}\langle i|Q_k|f\rangle}{((\epsilon_1(\omega) + 2\epsilon_0)^2 + \epsilon_2^2)((\omega_{\text{FK}}^2 - \omega^2) + \gamma_{\text{FK}}^2)((\omega_{\text{IK}}^2 - \omega^2) + \gamma_{\text{IK}}^2)} \quad (17)$$

Nesta expressão I, F e K referem-se ao estado fundamental, ao estado de transferência de carga (nível de Fermi) e ao estado excitado para o sistema metal-molécula, respectivamente. Foi considerado que a radiação excitante ($h\nu_0$) tem comprimentos de onda na região de transferência de carga ou ressonância da molécula (além do LSPR). Observa-se que o denominador apresenta três termos que guardam relação com as três contribuições de ressonância ao efeito SERS. O primeiro fator no denominador $(\epsilon_1(\omega) + 2\epsilon_0)^2 + \epsilon_2^2$ é devido a ressonância de plasmon de superfície, as condições ideais para que haja ressonância já foram discutidas na seção 2.2.1. O segundo fator no denominador, $(\omega_{\text{FK}}^2 - \omega^2) + \gamma_{\text{FK}}^2$, está relacionada a transferência de carga e ocorre quando $\omega = \omega_{\text{FK}}$, sendo também dependente do potencial aplicado ao sistema. O terceiro fator no denominador, $(\omega_{\text{IK}}^2 - \omega^2) + \gamma_{\text{IK}}^2$ está relacionada a ressonância da molécula, na condição $\omega = \omega_{\text{IK}}$.

O denominador da expressão permite prever apenas a possibilidade de uma ou mais ressonâncias estarem atuando no efeito SERS. Já o numerador nos dará um indicativo de quais modos serão ativos no espectro SERS, portanto, é responsável pelas regras de seleção. Os produtos dos momentos de dipolo de transição, μ_{KI} e μ_{FK} , estão relacionados às transições permitidas I-K e transferência de carga (F-K). Quanto ao acoplamento de Herzberg-Teller, h_{IF} , e a integral vibracional $\langle i|Q_k|f\rangle$ definem os modos normais que serão ativos no espectro SERS.

Nosso objetivo nesta expressão foi o de ressaltar o valor qualitativo e didático de se observar a influência das três principais ressonâncias no espalhamento Raman intensificado pela superfície.

There is always more to see. And when you're working with electron microscopy, the closer you can get to your sample, the more of its secrets it will reveal.

*Gatan**

3

Substratos: síntese e caracterização

Um bom substrato SERS é um substrato que suporta um forte campo elétrico local, ou seja, uma intensa ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR). Em outras palavras, um substrato capaz de conferir altos valores de intensificação do sinal Raman. Aqui há um compromisso entre os substratos que apresentarão uma grande dispersão para as intensidades SERS, mas apresentam altos valores de intensidade em regiões como *hotspot*, e aqueles que apresentam um comportamento mais uniforme, no entanto com valores de intensidade Raman moderados (26). Os substratos SERS podem ser agrupados de modo geral como:

- a) Eletrodos metálicos;
- b) Partículas metálicas em solução, como suspensões coloidais de nanopartículas metálicas;
- c) Estruturas metálicas planas, padrões de nanopartículas metálicas suportadas sobre substratos planos como vidro, silício, metal ou substratos nanoestruturados;

Eletrodos metálicos foram os primeiros substratos utilizados para intensificação do sinal Raman. Embora os eletrodos metálicos rugosos (*oxidation reduction cycle*, ORC) apresentem valores de intensidade SERS moderados têm sido utilizados para detecção analítica ou mesmo para estudos em sistemas em baixas concentrações.

Soluções coloidais são largamente utilizadas como substrato SERS. Os coloides mais utilizados são de nanopartículas de prata ou ouro, sendo tipicamente sintetizados por uma reação de redução em solução. Em geral as partículas são suspensas em solução aquosa (para aplicações em SERS) sendo estabilizadas por meio estérico ou eletrostático. Foi em suspensão

* Este texto está escrito no site da empresa Gatan, Inc. conforme endereço eletrônico: gatan.com/company/about-gatan [acesso em 27 de Julho de 2015].

coloidal em que foram realizados os primeiros experimentos SERS em sistemas em baixas concentrações (44).

Este mesmo sistema coloidal pode ser organizado sobre uma superfície plana, formando a terceira classe de substratos SERS. Estes substratos podem ser formados por meio da secagem da gota de uma suspensão coloidal concentrada sobre um substrato, por *drop-casting* imergindo o substrato na solução com taxa controlada e substratos auto organizados. Este último tornou-se mais comum com os avanços da nanotecnologia permitindo a preparação de nanoestruturas com ordenamento em nível nanométrico (75–78).

Nesta tese utilizou-se substratos SERS que cobrem as três classes de substratos discutidos nesta seção. Este capítulo tem como objetivo apresentar os procedimentos de síntese e caracterização morfológica dos substratos SERS sintetizados para os estudos discutidos nos capítulos subsequentes.

3.1. Microscopias eletrônicas

O advento dos microscópios eletrônicos veio como uma necessidade de superar o limite de magnificação dos microscópios de luz visível imposto pela difração da luz. Esta superação tem permitido a observação de materiais em escala subnanométrica, mostrando a importância de tais técnicas e contradizendo a famosa afirmação de Ernst Abbe[†], sobre a resolução espacial de microscópios ópticos, no final do século XIX: *“it is poor comfort to hope that human ingenuity will find ways and means of overcoming this limit”*.

Elétrons são um tipo de radiação ionizante que, em termos gerais, são capazes de remover elétrons fortemente ligados ao núcleo atômico ao transferir para eles parte de sua energia durante a interação com núcleos individuais. Uma das vantagens de se utilizar tal radiação ionizante é que ela é capaz de produzir uma grande quantidade de sinais secundários da amostra. Na Figura 10 é apresentado um esquema dos principais sinais gerados a partir da interação de um feixe de elétrons (de alta energia keV) com a superfície da amostra. Muitos destes sinais são utilizados em microscopia analítica de elétrons (*analytical electron microscopy*, AEM), nos fornecendo informação química e tantos outros detalhes acerca da amostra.

[†] Físico alemão considerado um dos fundadores da óptica moderna.

Figura 10: Sinais gerados quando da interação de um feixe de elétrons de alta energia (keV) com a superfície da amostra.

3.1.1. Microscopia eletrônica de varredura (*Scanning Electron Microscopy*, SEM)

O SEM é um dos mais versáteis instrumentos disponíveis para a observação e análise das características morfológicas de materiais sólidos. Sua utilização pode ser vista em áreas como: ciências médicas e biológicas, nanotecnologia, desenvolvimento de novos materiais metálicos, cerâmicos e semicondutores.

Em SEM a área a ser analisada é atingida por um feixe de elétrons com energia bem definida. Entre os tipos de sinais produzidos a partir da interação feixe de elétrons – amostra, podemos citar: elétrons secundários, elétrons retroespalhados, raios-X característicos e outros fótons de várias energias. Estes sinais são característicos de volumes de emissão específicos da amostra e podem ser utilizados para a análise de várias características da amostra, como topografia, cristalografia, composição, entre outras (79).

Os sinais mais importantes utilizados para a formação de imagem em SEM são os elétrons secundários (SE) e os elétrons retroespalhados (*BackScattered Electrons*, BSE). Estes sinais são capazes de trazer informações acerca da composição da amostra, topografia, espessura e inclinação local, da amostra, em relação ao feixe de elétrons (80).

Elétrons Secundários (SE)

Os SE são principalmente produzidos como resultado da interação entre o feixe de elétrons de alta energia (keV) com os elétrons da banda de condução do metal ou elétrons mais externos, das camadas de valência, em semicondutores ou isolantes. Os elétrons SE gerados nestes eventos se propagarão pela amostra e alguns apresentarão energia cinética suficiente para escaparem da superfície. A definição de SE se dá puramente em função do valor da sua energia cinética, sendo SE aqueles elétrons ejetados com valores de energia cinética menor do que 50 eV. Estes baixos valores de energia fazem com que os SE tenham um caminho livre médio de 2 a 20 nm. Os SE serão gerados durante todo o processo de interação do feixe de elétrons com a amostra, no entanto, os SE são sujeitos a espalhamento inelástico e perdas de energia à medida que passam através da amostra.

Somente os elétrons que chegam à superfície com valores de energia cinética suficiente para superarem a barreira de potencial de superfície (função trabalho) são capazes de deixar a superfície da amostra e serem detectados pelo equipamento. O baixo valor de energia cinética para os SE o responsável por tornar esses elétrons bastante sensíveis ao relevo da amostra. Para regiões mais finas, por exemplo, regiões de ponta, a probabilidade dos SE serem emitidos da superfície é maior e consequentemente a imagem formada terá mais brilho nesta região.

Elétrons Retroespalhados (BSE)

Os BSE são elétrons com valores de energias cinéticas maiores do que 50 eV. Geralmente estes elétrons passam por diversos processos de espalhamento elástico, na amostra antes de escaparem da superfície da mesma e serem detectados pelo equipamento. Os altos valores de energia cinética para os BSE fazem com que estes elétrons, ao sofrerem os processos de espalhamentos na amostra, apresentem alguma dependência com o número atômico da região em que eles foram gerados, pois quanto maior o número atômico, maior a probabilidade de eventos de BSE.

Outra característica dos BSE (devido aos seus altos valores de energia) é que eles podem viajar pela amostra, antes de escaparem da superfície, alcançando profundidades maiores do que as alcançadas pelos SE (com distâncias entre 10 e 100 nm). Elétrons que viajem ao longo de tais trajetórias podem claramente serem influenciados por características da parte interna da superfície da estrutura da amostra (por exemplo, inclusões de diferentes composições, buracos vazios, etc) trazendo consigo estas informações quando atingirem o detector.

Detectores Eletrônicos

Um detector apropriado deve ser utilizado para coletar e converter a radiação de interesse em sinal elétrico, para manipulação e processamento gerando a imagem SEM. Os elétrons BSE e SE deixam a amostra com energias cinéticas, quantidade de sinal espalhado e direcionalidade de emissão bem distintas. Deste modo, a informação sobre a amostra está em um destes fatores ou numa combinação dos três. Estas diferentes características, para os elétrons BSE e SE, se mostram como um desafio quando se pensa em detectores que possam dispor de ambos os sinais. Vários tipos de detectores com suas especificidades são utilizados em equipamentos SEM. Aqui iremos apresentar dois dos mais importantes e também por serem os tipos de detectores que foram utilizados na parte experimental desta tese.

a) Detector *Everhart-Thornley* (E-T)

Este é o detector eletrônico mais comum utilizado em SEM se trata de um detector eletrônico para BSE e SE desenvolvido por Everhart e Thonley (1960) e posteriormente aperfeiçoado pelo grupo do Sir Charles Oatley (1972). Se tornou tão popular que é difícil atualmente não encontrar um SEM que não tenha este tipo de detector.

Um detector E-T opera da seguinte forma. Quando elétrons com energias da ordem de KeV atingem o cintilador, luz é emitida. A luz é conduzida por reflexão interna total por um material que guia a luz para uma fotomultiplicadora. Como o sinal está em forma de luz, o sinal pode passar por uma janela de quartzo (utilizada para formar uma barreira mantendo o compartimento interior sob vácuo) para o primeiro diodos da fotomultiplicadora. Neste fotocatodo, os fótons são convertidos novamente em elétrons, então os elétrons são acelerados por sucessivos eletrodos da fotomultiplicadora, este processo produz um aumento considerável do número de elétrons até o último diodo coletor ser atingido. Os ganhos típicos de uma fotomultiplicadora são em torno de 10^5 - 10^6 podendo ser ajustável selecionando a voltagem dos diodos. O processo de fotomultiplicação proporciona um alto ganho com o menor ruído e rápido o suficiente para operar simultaneamente ao momento em que a amostra está sendo analisada de modo a permitir a visualização da imagem em tempo real.

b) Detector “*Through-the-Lens*” (TTL)

Os microscópios eletrônicos de varredura de alta performance (*field emission gun*, FEG SEM) são equipados com lentes objetivas que produzem um forte campo eletromagnético que é projetado na direção da câmara da amostra. Uma das características deste sistema é prender de forma eficiente os elétrons SE emitidos pela amostra, principalmente para pequenas distâncias de trabalho (< 3 mm). Esta característica permitiu o desenvolvimento de um detector que

pudesse se aproveitar desta característica. Neste, os elétrons SE emitidos são atraídos em forma de espiral, devido ao campo eletromagnético, em direção a lente passando por uma abertura. Um cintilador com alta voltagem (+10 kV), na superfície do eletrodo, é posto logo acima da lente objetiva, atraindo os elétrons SE, de modo a atuar como um detector de SE “*through-the-lens*” (TTL). O processo de fotomultiplicação segue o mesmo esquema que apresentado no tópico anterior.

Imagens de transmissão a partir de SEM (STEM-SEM)

A obtenção de imagens de nanopartículas pode se mostrar um desafio em SEM, pois, ao serem suportadas sobre um substrato para a análise o maior número de eventos de espalhamento de elétrons será devido ao substrato do que a amostra de interesse (que tem dimensões nanométricas).

Uma forma de contornar este tipo de situação é retirar o máximo do efeito do substrato em tais sistemas. Isto pode ser realizado depositando tais partículas em um filme fino de carbono (≈ 10 nm de espessura) suportada em uma grade de metal. Uma melhoria ainda maior para a detecção e visualização de partículas submicrométricas por imagens SEM é empregar a técnica de microscopia eletrônica de transmissão por varredura (*scanning transmission electron microscopy*, STEM) em SEM. Este tipo de detecção é realizada utilizando um porta amostra especial para obtenção de imagens STEM-SEM, este permite o acesso das informações geradas abaixo da amostra (sinais transmitidos pela amostra) para o detector. Estas informações serão utilizadas para a formação da imagem STEM-SEM.

Na Figura 11 é apresentado um esquema do porta amostra para obtenção de imagem STEM-SEM. O porta amostra é montado de modo a contar com uma superfície de ouro sobre silício (superfície altamente espalhadora) a um ângulo de modo que todo sinal transmitido pela amostra ao atingi-la seja direcionado para o detector E-T. A abertura menor abaixo da amostra serve para criar um maior contraste na imagem STEM-SEM, pois elimina parte do sinal espalhado. Este tipo de detector é bastante útil em um FEG SEM equipado com um detector TTL para SE. O detector TTL pode coletar o sinal gerado acima da amostra, elétrons SE, enquanto que o detector E-T pode ser utilizado para medir o sinal dos elétrons transmitidos permitindo ter a imagem SE convencional e imagem STEM-SEM simultaneamente.

Figura 11: Representação esquemática de um porta amostra para obtenção de imagens STEM-SEM. O feixe não espalhado transmitido passa através da abertura e atinge a superfície de silício coberta de ouro, criando uma alta emissão de BSE e de SE, que é recolhida pelo detector E-T convencional. O detector TLD também pode ser operado para recolher o sinal acima da amostra.

As análises por microscopia eletrônica de varredura (SEM) neste projeto foram realizadas a partir de dois tipos de imagens:

- i) Imagens de elétrons secundários, com o objetivo de caracterizar a morfologia dos substratos SERS, em geral obtidas por detector ET.
- ii) Imagens STEM-SEM das nanopartículas de ouro suportadas em superfícies finas de carbono.

3.1.2. Microscopia eletrônica de transmissão (*Transmission Electron Microscopy*, TEM)

O TEM apresenta vantagens em termo de magnificação e resolução em relação ao SEM. O TEM pode chegar a valores de magnificação em torno de 50 milhões, enquanto que o SEM chega a 2 milhões. A resolução lateral em TEM é em torno de 0,20 nm enquanto no SEM é aproximadamente 1-5 nm (para um FEG SEM). Por outro lado, imagens obtidas por SEM apresentam uma profundidade de campo maior do que o TEM. Uma desvantagem do TEM é o fato dele necessitar de amostras extremamente finas, uma vez que a análise se dá a partir dos elétrons transmitidos através da amostra.

O tipo de análise a ser obtida dependerá do detector utilizado. Algumas análises realizadas por TEM podem ser citadas: elétrons transmitidos com baixos ângulos de desvios em relação ao eixo do microscópio, estes geram imagens de campo claro (*bright field*, BF); elétrons transmitidos que deixam a amostras com altos ângulos de desvios, com relação ao eixo do microscópio, este modo de coleta é chamado de *annular dark field* (ADF); elétrons que perderam uma grande parte de sua energia ao passar pela amostra, estes formam um espectro

de perda de energia de elétrons e são analisados por EELS (*electron energy-loss spectrometry*); Raios-X gerados, espectrometria de energia dispersiva de raios-X (*X-ray energy-dispersive spectrometry*, XEDS).

As análises TEM, neste projeto, foram realizadas utilizando imagens de campo claro (BF) a diferentes magnificações.

3.2. Seção experimental

3.2.1. Eletrodo de ouro ativado eletroquimicamente Au(ORC)

Ativação eletroquímica (ORC)

O processo de limpeza do eletrodo de trabalho (Au policristalino - Aldrich, 99,99%, diâmetro 0,13 cm) seguiu as seguintes etapas: imersão em solução de KMnO_4 por 15 min, lavado com água deionizada, seguida de imersão em solução piranha ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ 3/1 v/v) por 15 min e lavado mais uma vez com água deionizada em abundância. Por fim, este foi lixado sequencialmente com lixas de SiC de 800 e 1500 mesh, e lavado abundantemente com água deionizada. A ativação do eletrodo consistiu de 25 ciclos de oxidação-redução (ORC), sentido catódico, no intervalo de -3,0 V a +1,25 V e taxa de varredura de 100 mV s^{-1} em meio de KCl(aq) 0,1 M. Os potenciais se referem ao eletrodo de referência $\text{Ag|AgCl(s)|KCl(sat)}$, como contra eletrodo foi utilizado um fio de platina.

Determinação do fator de rugosidade (f_r)

O fator de rugosidade do eletrodo Au(ORC) foi determinado por voltametria cíclica (VC) a partir da análise do pico catódico de dessorção do óxido na superfície metálica. O eletrodo foi imerso em solução de H_2SO_4 (0,5 M) a VC foi obtida entre os potenciais -0,3 V e 1,5 V, partindo do potencial 0,0 V no sentido anódico a uma taxa de 100 mVs^{-1} .

Caraterização

A caracterização do Au(ORC) foi realizada por imagens de microscopia eletrônica de varredura SEM obtidas em JSM-7401 F– *Field Emission Scanning Electron Microscope*, utilizando 5 kV aceleração.

3.2.2. Síntese de nanoesferas de ouro (AuNE)

Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram obtidos da Sigma-Aldrich. As soluções foram preparadas utilizando água deionizada (Milli-Q) com resistividade $18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$.

Procedimento

Para a síntese das AuNE seguiu-se o protocolo proposto por Perez-Pazon *et al.* (81). A solução semente foi preparada em 20 mL de água deionizada (Milli-Q) contendo HAuCl_4 ($2,5 \times 10^{-4}$ M) e citrato de sódio ($2,5 \times 10^{-4}$ M). Esta solução foi vigorosamente agitada e durante este processo foi adicionado NaBH_4 (600 μL , 0,1 M), que atuou como reagente oxidante, após esta adição observa-se a mudança de cor da solução para vermelho, indicando a formação de nanopartículas de ouro. A agitação continuou por mais 1 h à temperatura ambiente para assegurar que todo o NaBH_4 tenha sido decomposto. A solução de crescimento foi preparada dissolvendo o brometo de cetiltrimetilamonio (CTAB, 40 mL, 0,1 M) e iodeto de potássio (0,3 mg/g de CTAB) em água Milli-Q seguido da adição de HAuCl_4 (204 μL , 0,1 M) e ácido ascórbico (294 μL , 0,1 M), após cada adição os tubos foram vigorosamente agitados. Para o crescimento das AuNE adicionou-se a solução de crescimento 75 μL da solução semente, vigorosamente agitado e depois deixado em repouso a uma temperatura de 28 °C por 48 h. Ao término da síntese o sobrenadante foi cuidadosamente coletado, sendo descartadas as partículas que se depositaram no fundo do frasco.

Caracterização

Os espectros de extinção das AuNP em solução coloidal foram obtidos por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS-NIR, no espectrofotômetro Shimadzu UVPC-3101.

Para as análises SEM, 10 μL da solução coloidal de AuNE foram depositadas em chip de silício e secas em ambiente saturado de vapor d'água para uma secagem mais lenta, favorecendo a formação de estruturas com alto grau de empacotamento das NPs.

3.2.3. Síntese de nanobastões de ouro (AuNB)

A síntese dos AuNB foi realizada seguindo o protocolo de síntese mediada por semente proposto por Nikoobakht e El-Sayed (82). Duas soluções foram preparadas, “solução semente” e uma “solução de crescimento”.

Solução semente

A solução semente foi preparada pela mistura de 5 mL de uma solução aquosa de CTAB (0,20 M) com 5 mL de uma solução aquosa de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0,0005 M) com rápida agitação, seguido pela adição de 0,6 mL de uma solução aquosa de NaBH_4 (0,01 M) previamente

resfriada, aproximadamente à 0 °C, com agitação por 2 min e 5 min sem agitação antes de sua utilização.

Soluções crescimento

A solução de crescimento foi preparada pela mistura de 5 mL de uma solução aquosa de CTAB (0,20 M) com 0,2 mL de uma solução aquosa de AgNO₃ (0,004 M) e 5 mL de uma solução aquosa de H₂AuCl₄•3H₂O (0,001 M). Após rápida agitação foi adicionado 70 µL de ácido ascórbico (0,0788 M) o que tornou a solução incolor. A solução foram deixadas em repouso por cerca de 5 min à 30 °C. Os nanobastões foram obtidos pela adição de 12 µL da “solução semente” à “solução de crescimento”. A mistura reacional foi mantida à 30 °C por um tempo que variou de 10 a 20 min a depender da razão de aspecto desejada para os NB.

Para a síntese de AuNBs, com valores máximos de comprimento de onda maiores do que 800 nm, foram preparadas duas soluções a qual chamaremos de A e B. A solução A foi preparada dissolvendo-se em 0,10 g de CTAB em uma solução de 5 mL de cloreto de benzil dimetil hexadecilamonio (BDAC, 0,15 M) feita por agitação por 20 min à 40 °C. Após, foram adicionados 200 µL de AgNO₃ (0,004 M), 5,0 mL H₂AuCl₄ (0,001 M) e 70 µL de ácido ascórbico (0,078 M). A mistura foi suavemente agitada e o processo de crescimento se deu 1 h após a adição de 12 µL da solução semente.

A solução de crescimento B foi preparada dissolvendo-se 0,10 g CTAB em 5 mL de BDAC (0,15 M), conforme procedimento anterior. A esta solução foram adicionados 200 µL de AgNO₃ (0,004 M), 5,0 mL H₂AuCl₄ (0,001 M) e 36 µL de ácido ascórbico (0,078 M). A solução B foi adicionada na solução A numa taxa de 1 mL a cada 20 min após 1 h de preparada a solução A. A cada adição observa-se o deslocamento máximo do plasmon de 10-40 nm.

A síntese de AuNB é um sistema dinâmico e como tal mesmo após a retirada do sistema reacional do aquecimento o crescimento dos AuNB continua a ocorrer. Para impedir que isto ocorra favorecendo assim a uma maior homogeneidade dos AuNB quanto a razão de aspecto o processo de crescimento dos AuNB foram parados com adição de uma molécula contendo o grupo tiol. Foi utilizada solução de 1% de decanotiol em etanol quando desejava-se AuNB sem a presença de um composto com alta seção de choque Raman. A outra solução utilizada foi uma solução alcoólica de p-aminobenzenotiol (4-ABT), que é uma das moléculas de estudo desta tese. Neste caso os AuNB eram sintetizados e funcionalizados com a molécula de estudo. Ao final as partículas eram isoladas por três ciclos de centrifugação, 10.000 rpm por 10 min, e lavagem com água deionizada e por fim suspensos em água deionizada.

3.3. Caracterização dos substratos

3.3.1. Eletrodo de ouro ativado eletroquimicamente Au(ORC)

Na Figura 12 é apresentado o voltamograma do último ciclo, de uma sequência de 25 ciclos de oxidação/redução utilizados para preparar a superfície de ouro, tornando-a rugosa. Observa-se uma onda catódica referente a oxidação do ouro, acima de 1,0 V, e o pico de redução das espécies formadas no ciclo de oxidação, em aproximadamente 0,6 V. Devido aos processos de oxidação e redução da superfície, previamente polida, a superfície torna-se rugosa com a formação de óxidos de tamanhos que variam de poucos nanômetros a dezenas de nanômetros.

Figura 12: Voltamograma cíclico do eletrodo de ouro em solução de KCl 0,1 M, 100 mV/s. A figura mostra o último ciclo de uma sequência de 25 ciclos. O sentido da varredura foi no sentido catódico.

Na Figura 13 são apresentadas algumas imagens de elétrons secundários, obtidas por SEM, da superfície do eletrodo de ouro antes e após os ciclos ORC. Pelas imagens claramente observa-se a mudança da superfície do eletrodo após os ciclos de oxidação/redução. As figuras (B) e (C) são imagens da superfície rugosa com diferentes magnificações onde observa-se como a morfologia da superfície muda após o tratamento eletroquímico.

Figura 13: Imagens de elétrons secundários obtidas por SEM da superfície de ouro antes (A) e após ciclos de oxidação/redução em meio de KCl (B) e (C).

Com o objetivo de determinar a rugosidade do eletrodo calculou-se experimentalmente valor do fator de rugosidade, f_r , a partir da área efetiva, ou seja, da área eletroquimicamente ativa. Há vários métodos que podem ser utilizados para a determinação do fator de rugosidade, como por exemplo, capacitância superficial, pela adsorção de hidrogênio ou oxigênio, entre outras moléculas (83,84). O cálculo da área real, realizado nesta tese, baseou-se na adsorção/dessorção de uma monocamada de oxigênio sobre a superfície de ouro por meio da técnica de voltametria cíclica e no pressuposto de que o filme monomolecular de óxido está ligado à superfície metálica na proporção de 1:1, ou seja, preenche toda a superfície. Portanto, a partir da quantificação de óxido formado é possível encontrar o valor de área real (83). Isto envolve a realização de ensaios eletroquímicos em meio de H_2SO_4 . Na Figura 14 é apresentado o VC do Au(ORC) em solução de H_2SO_4 .

Figura 14: Voltamograma do Au(ORC) em solução 0,5 M de H_2SO_4 para determinação do fator de rugosidade. A área assinalada refere-se ao pico catódico utilizado na determinação da área real.

O pico catódico observado no VC está diretamente relacionado a camada de óxido formado na superfície do eletrodo e, indiretamente à quantidade de carga acumulada na superfície. A integração deste pico fornecerá a quantidade de carga total acumulada na área superficial do eletrodo. Logo o valor da área total é obtido pela razão deste valor pela constante de condutividade do ouro[‡]:

$$A_{\text{real}} = \frac{Q[\text{C}]}{A[\text{Ccm}^{-2}]} \quad (18)$$

De acordo com Trasatti e Petrii (85) cada unidade de área, em cm^2 , em um eletrodo de Ouro corresponde a uma carga de redução de $390 \times 10^6 \text{ C}$ ($390 \mu\text{C cm}^{-2}$), o valor de Q obtido pela integração do pico catódico foi $18 \mu\text{C}$, portanto, $A_{\text{real}} = 0,047 \text{ cm}^2$. O fator de rugosidade definido como $f_r = A_{\text{real}}/A_g$, A_g é a área geométrica do eletrodo, sendo seu valor $0,013 \text{ cm}^2$. A partir destes valores chega-se ao valor do fator de rugosidade, $f_r = 3,6$.

3.3.2. Superfícies planas (superfície de ouro e silício)

Na Figura 15 são apresentadas imagens de elétrons secundários dos substratos de ouro plano utilizado nos sistemas do tipo junções moleculares, tema do capítulo 4. Observa-se que a superfície antes do tratamento térmico (A e B) não se mostram planas, embora vale ressaltar que mesmo apresentando esta rugosidade a mesma não é suficiente para obtenção de sinal SERS. Estas superfícies adquirem uma morfologia plana, em escala atômica, após o tratamento

[‡] A constante de condutividade é o produto da carga elementar pela densidade atômica superficial

térmico, como observado em (C e D). Este tratamento térmico consiste na exposição da superfície a uma chama, produzida por um bico de Bunsen, por 15 s.

Figura 15: Imagens SEM, com diferentes magnificações da superfície de ouro plano antes (A) e (B) e após (C) e (D) o tratamento térmico para tornar a superfície plana.

3.3.3. Nanoesferas de ouro (AuNE)

A síntese das AuNE forneceu nanopartículas com formatos esféricos bem mais definidos do que as outras sínteses largamente utilizadas, por exemplo, como no método de síntese proposto por Frens e/ou Turkevich (86,87). Nesta síntese os autores utilizaram íons iodeto para impedir a formação de formas anisotrópicas de nanopartículas durante o crescimento das mesmas. Este comportamento é decorrência da capacidade dos íons iodeto de se adsorverem em determinadas facetas cristalinas das AuNE impedindo a formação de partículas anisotrópicas, como nanobastões de ouro (AuNB) por exemplo (81).

Na Figura 16 é apresentado um esquema da rota sintética para as AuNE.

Figura 16: Representação esquemática da síntese das nanopartículas de ouro obtida pelo método de solução semente estabilizado por CTAB. Figura adaptada da referência (81).

A Figura 17 apresenta o espectro de extinção das AuNE sintetizadas. O espectro apresenta uma banda, na região de 542 nm, característico de nanopartículas de ouro.

Figura 17: Espectro de extinção das nanopartículas de ouro 60 nm de tamanho, obtidos em suspensão coloidal.

Na Figura 18 são apresentadas imagens SEM das AuNE e histograma da distribuição de tamanhos. Observa-se que a síntese forneceu partículas com morfologia bem definidas e tamanhos médios de 61 ± 5 nm.

Figura 18: Imagens SEM com várias magnificações (A-C) e histograma da distribuição de tamanhos (D) da síntese das AuNE sintetizadas com CTAB.

3.3.4. Nanobastões de ouro (AuNB)

Muito tem sido discutido, nos últimos anos, acerca de nanopartículas como consequência da relativa facilidade com que se pode controlar o comprimento de onda máximo dos plasmons de superfície e com isso suas propriedades ópticas. Estas alterações se dão a partir da mudança da forma e tamanho das nanopartículas durante a síntese e tem levado a uma grande quantidade de aplicações tecnológicas (88–91).

Nanobastões de ouro (AuNBs), devido a sua anisotropia, apresentam duas bandas no espectro de extinção relacionadas aos plasmon transversal e longitudinal, este último varia com o tamanho dos bastões. Nos últimos anos, nanopartículas do tipo bastão têm sido bastante exploradas no que diz respeito a um melhor entendimento de sua dinâmica de formação, propriedades físicas, melhor rota sintética e potenciais aplicações (91–97).

Na Figura 19 é apresentado um esquema das etapas da síntese de AuNB.

Figura 19: Representação esquemática da síntese de AuNB mediada por solução semente e utilizando o CTAB como agente estabilizante. Figura adaptada da referência (91).

Nesta síntese tem-se uma solução semente preparada com um agente redutor forte, NaBH_4 , facilitando a formação de partículas pequenas, em torno de 1-3 nm. Este método de síntese permite um maior controle na forma e tamanho final dos nanobastões. Em sínteses mediadas por semente o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) tem sido bastante utilizado como estabilizante, tendo as seguintes propriedades: formar um forte complexo, CTA-AuCl_4 , com o sal de ouro diminuindo a velocidade de redução; proteger os íons Au pela formação de uma micela ao seu redor e se adsorver na superfície dos bastões determinando o sentido do crescimento (97).

Neste tipo de síntese, é utilizada uma pequena concentração de AgNO_3 com o objetivo de favorecer a formação dos AuNB de forma ordenada. S.E. Lohse e C.J. Murphy (97) discutindo o papel de íons prata na síntese mostram que estes íons favorecem a formação dos AuNB por se adsorverem preferencialmente nas facetas longitudinais facilitando o crescimento

anisotrópico. Ao contrário das AuNE, os AuNB apresentam duas bandas no espectro de extinção, referentes aos plasmon transversal, banda por volta de 520 nm, e longitudinal, banda em valores de comprimento de onda maiores do que 600 nm, este último dependente do tamanho longitudinal das nanopartículas.

Na Figura 20 são apresentadas algumas propriedades ópticas de AuNB determinada pela combinação das suas proporções e dimensões.

Figura 20: (A) Os AuNB possuem duas bandas plasmônicas distintas, um correspondente ao plasmon transversal, referente ao eixo mais curto e o correspondente ao eixo longitudinal. A razão de aspecto (RA) é dada pela relação l/d . (B) imagens SEM e (C) espectros de extinção UV-VIS-NIR para AuNBs com diferentes RA obtidas para diferentes tempos de síntese. As RA são indicados acima do espectro de extinção. Barras de escala são 100 nm. (D) Representação esquemática dos plasmons transversal e longitudinal em AuNB.

Observa-se, na Figura 20C, que a variação da razão de aspecto (RA) dos AuNB acarreta em uma variação significativa no espectro de extinção. AuNB com boa uniformidade apresentarão bandas bem definidos no espectro sendo a banda referente ao modo transversal sempre menor, em intensidade, do que a banda do modo longitudinal. O plasmon longitudinal é o único que é deslocado com a variação do tamanho dos AuNB, como observado na Figura 20C, pois a maior variação se dará no aumento do comprimento longitudinal.

Os resultados apresentados na Figura 20 mostram que em 10 min de reação temos AuNB com uma maior razão de aspecto. A RA irá diminuir, após 10 min, como consequência do crescimento longitudinal dos AuNB.

Na Tabela 1 são apresentados os tamanhos dos AuNB para cada tempo de síntese, sendo o tempo de reação um parâmetro para a obtenção de NB com diferentes RA. Para tal a funcionalização da superfície dos NB, em geral com um tiol, torna-se essencial tendo em vista que ela impedirá a continuação da síntese.

Tabela 1: Comprimento, largura, razão de aspecto dos AuNB e comprimento de onda máximo para vários tempos de síntese. Os valores são a média de ao menos 400 partículas.

Tempo	Comprimento (nm)		Largura (nm)		Razão de Aspecto	λ_{max} (nm)
5 min	partículas bastante heterogêneas					688
10 min	36	±5	11	±2	3,4	817
15 min	44	±5	16	±2	2,7	735
20min	47	±6	19	±3	2,4	699

Também foram obtidas sínteses como AuNB apresentando maiores valores de RA e com isto apresentando valores de comprimento de onda máximos acima de 800 nm. Na Figura 21 são apresentados vários espectros de extinção de AuNB, sintetizados, com plasmons acima de 800 nm, e na Figura 22 são apresentadas imagens SEM para as três das sínteses marcadas com linhas tracejadas na Figura 21.

Figura 21: Espectro de extinção dos AuNB apresentando valores de comprimento de onda máximos acima de 800 nm.

Figura 22: Imagens SEM para AuNB com plasmon máximo em (A) 827 nm, (B) 876 nm e (C) 920 nm.

O controle do tempo de síntese e a utilização de dois tensoativos são fatores que permitem a obtenção de AuNB com razões de aspecto controladas bem como a síntese de AuNB maiores e portanto, apresentando LSPR em regiões acima de 800 nm (82,91,98).

Tendo em vista os objetivos propostos nesta tese a utilização de AuNB é de enorme vantagem, pois apresenta a possibilidade de variarmos as propriedades ópticas sem contudo trocarmos a natureza das NPs em questão.

The most exciting phrase to hear in science, the one that heralds new discoveries, is not “Eureka!” (I found it!) but “That’s funny”.

*Isaac Asimov**

4

Junções Moleculares: um estudo SERS

4.1. Seção experimental

4.1.1. Síntese dos Fios Moleculares

Os fios moleculares foram sintetizados sobre substrato de ouro liso, por meio de condensação de iminas, pela adição alternada de diaminas e dicarboxialdeídos. Esta abordagem visa resolver os problemas de solubilidade e de crescimento do filme molecular sobre o substrato (*self-assembly monolayer*, SAM), além de fornecer uma maneira conveniente de controlar o comprimento dos fios moleculares (99–101).

a) Oligofenilimina (OPI) sobre superfície de ouro

A síntese dos fios de Oligofenilimina (OPI) foi realizada em substratos de ouro seguindo os procedimentos propostos por Rosink, *et al.* (99) e Choi *et al.* (102). Na Figura 23 é apresentado um esquema do mecanismo de síntese dos filmes de OPI.

Figura 23: Esquema da rota sintética das oligofeniliminas (OPI) sobre superfície de ouro. Os índices 1p, 2p, np são adicionados para identificar a natureza do filme sintetizado e referem-se ao número de anéis aromáticos adicionados ao sistema.

* Isaac Asimov foi um escritor e bioquímico americano, nascido na Rússia, autor de obras de ficção científica e divulgação científica.

1ª Unidade[†]. A preparação do fio molecular se iniciou com o crescimento de monocamadas de 4-aminobenzenotiol (4-ABT) sobre o substrato de Au por imersão do substrato em solução etanólica de 4-ABT (1 mM, Aldrich 96%) por 24h. Esta primeira monocamada será chamada de OPI-1p. A estabilidade da ligação entre os grupos tióis com o ouro e a baixa concentração utilizada favorecem a formação de uma monocamada auto organizada (SAM).

2ª Unidade. Para inserir a segunda unidade no sistema OPI-1p, o mesmo foi imerso em solução de 1,4-benzeno dicarboxialdeído (BDA, 20 mM, Aldrich 99%) por 12h. Um dos grupos aldeídos do BDA reage com o grupo amina do 4-ABT para formar uma imina π -conjugada ligada entre os dois anéis aromáticos, como observado na Figura 23. O fio molecular com duas unidades será chamado OPI-2p.

3ª Unidade. O sistema OPI-2p foi imerso em solução etanólica de 1,4-diamino benzeno (DAB, 20 mM, Aldrich 97%) por 12h, formando o sistema OPI-3p. Tem-se novamente a ligação dos grupos amina com os grupos aldeídos na formação do novo sistema. A síntese, quando necessária, continuava com adições alternadas do BDA e DAB permitindo a formação de fios moleculares com até 13 unidades, OPI-13p. Após cada adição da unidade molecular o substrato era lavado com etanol absoluto, com o objetivo de retirar qualquer espécie adsorvida fisicamente, e seco em fluxo de N₂.

b) Oligofenilimina (OPI-2p) síntese ex-situ (fora da superfície)

Com o objetivo de confirmar se a caracterização vibracional obtida para o sistema Au/OPI-2p, sintetizado na superfície, o composto OPI-2p foi sintetizado fora da superfície. Para esta síntese seguiu-se o procedimento proposto por Ashwell *et al.* (103).

Adicionou-se 0,075g e 1,600g de 4-ABT e BDA respectivamente em 50,0 mL de etanol absoluto e deixou-se sob agitação a temperatura ambiente por 3h. Após este tempo procedeu-se a uma filtração e secagem do sólido a vácuo. O composto formado foi caracterizado por análise elementar e devido a sua baixa solubilidade em todos os solventes testados o mesmo não pode ser caracterizado por RMN. Na Figura 24 é apresentado um esquema do sistema de síntese do OPI-2p *ex-situ*.

[†] Aqui entenda-se por unidade cada precursor adicionado na síntese durante o processo de crescimento dos fios moleculares.

Figura 24: Representação do esquema experimental para a síntese do OPI-2p *ex-situ*.

c) *Junções moleculares (AuFlat|Fio_molecular|AuNP)*

Na Figura 25 é apresentado um esquema da montagem da junção molecular, AuFlat|Fio_molecular|AuNP.

Figura 25: Representação esquemática da montagem da junção molecular (AuFlat|OPIs|AuNPs) e imagem de elétrons secundários da superfície sanduichada. Para cada superfície funcionalizada tem-se uma maior distância entre o AuNB e a superfície de ouro.

Com o substrato AuFlat|OPI-np preparado 5 μL da solução coloidal das NPs foram depositadas sobre esta superfície. Objetivando uma região de submonocamadas[‡] de AuNPs, todas as análises foram obtidas na região central do padrão de secagem sobre o substrato.

[‡] Nesta tese, submonocamada de nanopartículas remete a uma situação em que as NPs não estão homogeneamente dispersas na superfície.

4.1.2. Métodos

a) Instrumentação

Os espectros SERS e Raman foram registrados num espectrômetro Micro-Raman RENISHAW InVia acoplado a um microscópio LEICA DM2500M com uma plataforma motorizada RENISHAW MS 20 Encoded Stage com resoluções lateral e axial de 1 μm . Os espectros foram obtidos com excitação em 632,8 nm fornecida por um laser a gás de He-Ne RENISHAW e 785 nm fornecida por um laser de estado sólido RENISHAW. O laser chega na amostra não polarizado. A radiação espalhada foi dispersa por redes de difração de 600 ou 1200 l.mm^{-1} e registrada por um CCD refrigerado termoeletricamente. Uma lente objetiva LEICA com abertura numérica de 0,9 e magnificação de 100 $\times$ foi utilizada para incidir e capturar a radiação espalhada. O tempo de integração foi de 10s e 1 acumulação e potência do laser sempre menor do que 1 mW.

Os espectros Raman dos sólidos foram obtidos com radiação excitante em 1064 nm em um espectrômetro FT-Raman Bruker RFS 100 com laser de Nd:YAG e sistema de detecção de germânio refrigerado com nitrogênio líquido. A potência utilizada variou de 50 a 150 mW com 512 aquisições.

b) Cálculos DFT

Os cálculos DFT foram realizados em colaboração com o professor Dr. Gustavo Fernandes Souza Andrade da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

A estrutura das espécies foi otimizada através da teoria do funcional de densidade (DFT), utilizando o funcional híbrido B3LYP (104) com o grupo de funções-base 6-311G(d) [(a) A. D. McLean and G. S. Chandler, “Contracted Gaussian-basis sets for molecular calculations. First and second row atoms, $Z=11-18$,” (105); (b) K. Raghavachari, J. S. Binkley, R. Seeger, and J. A. Pople, “Self-Consistent Molecular Orbital Methods. Basis set for correlated wave-functions,” (106), para os átomos C, H, N, O e S, um grupo de funções-base triplo- ζ com funções de polarização d para C, N, O e S (mas não para H); conjunto de funções-base LANL2DZ para os átomos de Au, que utiliza um conjunto de potencial efetivo para os elétrons do caroço (potencial ECP Los Alamos) mais uma descrição duplo- ζ para os elétrons de valência (107). Foi realizada uma correção ao valor calculado pelo Gaussian, já que o programa calcula a “atividade” Raman e não a “intensidade” Raman segundo proposto por E.E Zvereva *et al.* (108).

c) Cálculos DDA

As simulações DDA foram realizadas em colaboração com o professor Dr. Diego Pereira dos Santos (UNICAMP).

As simulações foram realizadas através do programa DDSCAT 7.1 (109,110) desenvolvido e disponibilizado por Draine e Flatau. Nestas simulações as nanopartículas foram consideradas imersas em vácuo para radiação excitante na região do visível/infravermelho próximo. Foram utilizadas as compilações de Johnson e Christy para o Au devido a melhor descrição da constante dielétrica (principalmente a parte imaginária) na região do azul e ultravioleta, de grande importância para a resposta óptica do Au. Foi utilizado o método do gradiente biconjugado em todas as simulações DDA para a resolução do sistema de equações lineares. Nestas simulações foram utilizados espaçamentos entre os dipolos de aproximadamente 0,5 nm.

As simulações pela teoria de Mie foram realizadas através do programa SPLaC desenvolvido e disponibilizado por Le Ru e Etchegoin. Este programa consiste em um conjunto de códigos escritos em linguagem Matlab. As propriedades ópticas do metal foram descritas pelo uso da modelagem de Etchegoin *et al.* (111) para a função dielétrica do Au, também incluída no pacote disponibilizado. A importância desta modelagem está na grande contribuição de transições interbanda que contribuem para a parte imaginária da função dielétrica.

4.2. Resultados e discussão

4.2.1. Estudo Raman do 4-aminobenzenotiol em diferentes substratos

O 4-Aminobenzenotiol (4-ABT) ou mercaptoanilina tem sido considerado uma molécula ideal para estudos SERS devido a sua forte interação com a maior parte dos substratos, formando um filme compacto e bem estruturado, e por ser um bom espalhador Raman. O 4-ABT tem se mostrado uma excelente molécula sonda para identificação das propriedades eletrônicas do substrato SERS, como consequência de sua sensibilidade às características do substrato (68,112,113). Estas características requerem cuidados extras para a correta manipulação das condições experimentais e interpretação dos resultados obtidos.

Um dos primeiros grupos a estudar o comportamento SERS do Aminobenzenotiol foi Osawa *et al.* (114). Eles estudaram o comportamento do 4-ABT sobre eletrodo ativado de prata com variação do potencial aplicado ao eletrodo. Foi observado que a intensidade SERS de algumas bandas variavam em função do potencial aplicado ao eletrodo. As bandas obtidas

foram atribuídas a dois grupos, àquelas relacionadas as espécies de simetria a_1 , 1077 cm^{-1} e 1190 cm^{-1} e as espécies de simetria b_2 , 1142 , 1391 , 1440 e 1573 cm^{-1} , sendo apenas estas últimas sensíveis ao potencial aplicado, ver Tabela 2.

Segundo Huang *et al.* (68) os estudos vibracionais do 4-ABT podem ser divididos em quatro grupos: (a) estudos teóricos e experimentais dos mecanismos de intensificação em substratos de Au e Ag; (b) caracterização das propriedades eletrônicas de junções metal/molécula/metal; (c) molécula modelo para estudo SERS em regime de uma única molécula e (d) molécula sonda para a estimativa da intensificação SERS de novos substratos.

Após a proposta de Osawa quanto à natureza das bandas do 4-ABT muitos outros estudos se seguiram utilizando-a como molécula sonda para um melhor entendimento do mecanismo químico de intensificação SERS (115–118). No entanto, outros pesquisadores não concordaram com a interpretação dos resultados, e a partir de evidências teóricas e experimentais atribuíram o aparecimento das então chamadas bandas “ b_2 ” ao 4,4-Dimercaptoazobenzeno (DMAB), produto de oxidação formado entre moléculas de 4-ABT vizinhas (68,119,120).

Diante do comportamento não usual desta molécula e de tantos trabalhos apresentando evidências experimentais para ambas as interpretações quanto à natureza das bandas em 1142 , 1391 e 1440 cm^{-1} , resolvemos apresentar uma discussão do comportamento do 4-ABT nos substratos SERS utilizados nesta tese com o objetivo de contribuir para elucidar a origem das intensificações de somente certas bandas da molécula adsorvida.

Na Figura 26 são apresentados espectros FT-Raman e cálculos DFT do 4-ABT. As tentativas de atribuições vibracionais do 4-ABT foram propostas inicialmente por Osawa *et al* (114).

Figura 26: Espectro FT-Raman do 4-ABT sólido, obtido com radiação excitante 1064 nm, espectro Raman calculado por DFT e Espectro SERS calculado por DFT num cluster de átomos de ouro. Os espectros estão normalizados com relação a intensidade da banda referente ao modo vibracional $\nu(\text{CS})$, 1088 cm^{-1} .

Observa-se na Figura 26, principalmente na região entre 1000 e 1700 cm^{-1} , que os três espectros apresentam padrão espectral semelhantes diferindo em regiões de menor frequência. Os espectros DFT bem como o Raman não apresentaram as bandas 1142 , 1391 e 1440 cm^{-1} . Para um melhor entendimento destes processos serão discutidos os espectros SERS do 4-ABT sobre vários substratos.

Na Figura 27 são apresentados os espectros SERS do 4-ABT para os vários substratos utilizados. Para uma melhor visualização da intensidade relativa entre as bandas em cada espectro, as intensidades foram normalizadas em relação à intensidade da banda referente ao modo vibracional $\nu(\text{CS})$.

Figura 27: Espectros SERS calculado por DFT e espectros SERS do 4-ABT adsorvidos em eletrodo de ouro ativado Au(ORC), coloide de nanobastões de ouro (Col.AuNB) e nanobastões de ouro depositados sobre silício, (AuNB/Si). Os espectros foram obtidos com radiação excitante 785 nm e tem suas intensidades normalizadas em relação ao modo vibracional $\nu(\text{CS})$ (ver tabela 2).

As bandas 1141, 1388, 1433 e 1574 cm^{-1} somente aparecem para os sistemas Au(ORC) e AuNB/Si não sendo observadas nos espectros obtidos em Col.AuNB. Observa-se também que para o sistema AuNB/Si a intensidade das bandas referente aos modos de simetria b_2 são mais intensas relativo ao modo a_1 , 1072 cm^{-1} .

Nam-Jung Kim *et al.* (118) observaram uma variação do padrão espectral do 4-ABT durante o processo de evaporação do solvente sobre uma superfície de ouro. Foi observado uma alta intensificação das bandas de espécie de simetria b_2 em relação aos modos a_1 atribuída a reorientação das moléculas na superfície, durante o processo de secagem do solvente. As moléculas ficavam numa posição em que havia uma maior interação do anel aromático com a superfície. Quando em sistemas em que a interação do anel aromático com a superfície não era possível foi observado que as bandas b_2 se mostraram mais fracas. Nas situações em que a interação com a superfície era favorecida observou-se uma maior intensidade da banda referente aos modos vibracionais da espécie b_2 .

Sangwoon Yoon *et al.* (117) analisaram a variação do padrão espectral SERS do 4-ABT durante o processo de agregação de AuNP. Os espectros SERS, obtidos em solução coloidal das nanopartículas, apresentaram um aumento das bandas de espécies a_1 e b_2 (1137, 1384 e 1426 cm^{-1}), embora estas últimas apareceram somente após 10h do início da agregação. Yoon *et al.* atribuíram este comportamento ao processo de intensificação por transferência de carga (CT) entre o metal e a molécula e propuseram dois modelos que estariam envolvidos neste efeito. O primeiro levou em consideração a aproximação entre NP funcionalizadas com 4-ABT, de modo que a aproximação da nanopartícula vizinha ao grupo amina, alteraria os estados de CT facilitando a ocorrência da ressonância. Outro modelo considerou a alteração do potencial de superfície das NP, como consequência da adsorção do 4-ABT, e consequentemente a alteração da energia de Fermi do metal. Ao final chegaram à conclusão de que os dois mecanismos devem estar atuando na intensificação das bandas de modo b_2 .

Pode-se sugerir que a maior intensificação dos modos vibracionais b_2 , nos substratos Si-AuNB/ABT e Au(ORC)/4ABT, são consequências das características destes substratos, pois não favorecem a formação uniforme do filme molecular na superfície. Eles se mostram sistemas propícios a uma maior desorganização do sistema NP – molécula na superfície.

Quanto ao não aparecimento das bandas b_2 para os espectros obtidos em Col.AuNB, este comportamento pode ser explicado pela baixa agregação do coloide. Esta característica, da solução coloidal, dificultaria a formação de agregados e consequentemente a formação de estruturas metal-ABT-metal o que facilitaria o aparecimento de banda tipo b_2 , conforme verificado por Sangwoon Yoon *et al.* para agregados de nanoesferas (117). Esta hipótese pode ser confirmada observando que a largura à meia altura (*full-width-half-maximum*, FWHM) das bandas no espectro do sistema Col.AuNBs/4ABT, Figura 27, são menores do que para os outros sistemas. Este comportamento pode ser relacionado a uma maior organização do filme molecular na superfície dos AuNBs. Singh P. *et al.* (121) comparando os espectros SERS e TERS do 4-ABT adsorvidos em nanoplacas constataram que os espectros TERS (*Tip Enhanced Raman Spectroscopy*) apresentavam uma menor FWHM, quando comparados com os espectros SERS, como consequência de uma menor variação da geometria da molécula adsorvida na região analisada.

Além dos trabalhos citados, há outros trabalhos que suportam os resultados apresentados nesta tese (122,123), onde há a indicação de que o aparecimento das bandas 1137, 1384, 1426 cm^{-1} e 1574 cm^{-1} são modos vibracionais genuínos da molécula e não modos vibracionais do

dimercaptoazobenzendo (DMAB), formado pela reação de dimerização de moléculas de 4-ABT, conforme sugerido por alguns pesquisadores (68,124).

Embora nossos resultados experimentais tenham sugerido que as bandas 1137, 1384, 1426 e 1574 cm^{-1} são modos vibracionais genuínos do 4-ABT entendemos que esta ainda não é uma questão fechada. Por este motivo as discussões e análises focalizarão os modos vibracionais $\nu(\text{CS})$, $\beta(\text{CH})$ e $\nu(\text{CC})$ em que não há divergências em suas atribuições.

4.2.2. Estudo espectroscópico de oligofenilenoiminas (OPI) em Junções Moleculares

Ao longo dos últimos anos tem havido um crescimento considerável do estudo de moléculas aplicadas em eletrônica de silício, introduzindo uma variedade de novas funções a esta área (100,125–128). Eletrônica molecular é um termo que tem sido utilizado para se referir a estruturas que envolvem moléculas orgânicas conjugadas como componentes em circuitos elétricos (129). As subunidades básicas destes sistemas são chamadas de junções moleculares (JM); alguns exemplos são apresentados na Figura 28. As JM são constituídas por uma única molécula ou uma monocamada, com espessuras menores do que 100 nm entre os contatos condutores. Neste sistema a molécula torna-se um elemento do circuito, tornando o sistema em um dispositivo de microeletrônica.

Figura 28: (A) Visão esquemática de uma junção molecular (JM) contendo uma única molécula. (B) Duas JMs, sintetizados por SAM e monocamadas de Langmuir-Blodgett. Em cada caso, a junção é completada pela aplicação de um contato superior. (C) Exemplo de uma junção cross-bar feito por fotolitografia. Adaptada (fig. A e C) com permissão da *Royal Society of Chemistry*, referência (128).

R. McCreery *et al.* (128), discutindo a importância da utilização de moléculas em microeletrônica, cita algumas propriedades importantes, entre elas: moléculas são sistemas

eletrônicos por natureza; segundo, há uma infinidade de estruturas moleculares disponíveis; terceiro, circuitos eletrônicos que não são baseados somente em silício tendem a ter um baixo custo de produção e serem mais dinâmicos quanto ao formato e tamanho.

Frisbie *et al.* (100) apresentaram uma vasta variedade de famílias de moléculas π -conjugadas utilizadas como fios moleculares em junções moleculares do tipo metal|fio-molecular|metal. Estas moléculas são depositadas em substratos metálicos levando em consideração a afinidade nas ligações do grupo terminal do fio molecular com o metal, principalmente Au e Ag.

No capítulo 2 foi discutido que regiões entre duas nanoestruturas metálicas são regiões de alta intensificação de campo elétrico e consequentemente geram altos valores de intensificação SERS. Sistemas como as junções moleculares de metais como ouro ou prata, são sistemas perfeitos para caracterização vibracional SERS, sendo o SERS um grande aliado na análise da especificidade química de tais dispositivos.

Embora longos fios moleculares possam ser ligados diretamente à superfície metálica, o seu comprimento prolongado e a rigidez da cadeia molecular acarretam em problemas quanto a solubilidade e dificuldade de síntese. Além disso, moléculas longas muitas vezes não adsorvem na superfície metálica de uma forma orientada, dificultando a formação de filmes moleculares estruturados e compactos (SAM). Uma estratégia utilizada para resolver estes problemas é sintetizar os fios moleculares direto na superfície metálica por meio de química de condensação de iminas passo a passo. Esta abordagem resolve os problemas de solubilidade e de montagem do SAM, além de fornecer uma maneira conveniente de controlar o comprimento dos fios moleculares como apresentado na seção experimental.

Nesta seção objetivamos estudar os fios moleculares da família oligofenilenoiminas (OPI), sintetizados em superfícies de ouro, por espectroscopia Raman e medidas eletroquímicas. Também objetivamos validar, por SERS, a formação das junções moleculares do tipo AuFlat|Fio_Molecular|AuNPs, alvo de estudos da última seção deste capítulo.

Fio molecular OPI-2p

Na Figura 29 são apresentados espectros FT-Raman e cálculos DFT do espectro Raman normal e SERS para o fio molecular OPI-2p.

Figura 29: Espectro FT-Raman do OPI-2p no estado sólido (sintetizado *ex-situ*), obtido com radiação excitante 1064 nm, Espectro Raman calculado por DFT e Espectro SERS calculado por DFT do 4-ABT num cluster de 10 átomos de ouro. Os espectros estão normalizados com relação à intensidade da $\nu(\text{CC})$.

Embora haja uma pequena variação no valor dos números de onda na região 1400-1600 cm^{-1} os espectros calculados apresentam um padrão semelhante ao experimental e nos permitiu propor uma atribuição consistente aos modos de vibração do composto.

Como apresentado na seção experimental, a molécula OPI-2p foi sintetizada *ex-situ* como forma de confirmar que o sistema formado em superfície tratava-se do mesmo composto. Na Figura 30 são apresentados os espectros SERS do OPI-2p *ex-situ*, sintetizado fora da superfície e depois adsorvido à superfície de ouro, e *in-situ*, sintetizado diretamente na superfície de ouro.

Figura 30: Espectros SERS do OPI-2p sintetizado *in-situ* (sintetizado diretamente na superfície) (A) AuNB e (C) Au(ORC) e OPI-2p sintetizado *ex-situ* (fora da superfície) e posteriormente adsorvidos nos (B) AuNB e (D) Au(ORC) aos substratos).

Observa-se que os espectros são bastante semelhantes em ambos os substratos utilizados indicando que trata-se do mesmo sistema molecular. Portanto, não apenas a análise elementar realizada para o composto sintetizado mais as análises realizadas por Raman Normal, DFT e SERS confirmaram a síntese do composto desejado. Não foi sintetizado o fio molecular seguinte, OPI-3p, pois o sólido OPI-2p se apresentou insolúvel nos solventes utilizados para a síntese.

Na Figura 31 são apresentados os espectros SERS para o fio molecular OPI-2p sintetizado em diferentes substratos.

Figura 31: (a) Espectros SERS do OPI-2p. Cálculo DFT num cluster de 10 átomos de ouro, eletrodo de ouro ativado Au(ORC), coloide de nanobastões de ouro (Col.AuNR) e nanobastões de ouro depositados sobre silício, (AuNR/Si). Os espectros foram obtidos com radiação excitante 785 nm e estão normalizados com relação ao modo $\nu(\text{CS})$. (b) Ampliação da região 1630-1800 cm^{-1} referente a banda $\nu(\text{C=O})$.

A formação do OPI-2p é confirmada pelo aparecimento das bandas referentes aos modos vibracionais $\nu(\text{N=C})$, em 1620 cm^{-1} , $\nu(\text{C=O})$ próximo a 1700 cm^{-1} bem como pelo aumento da intensidade relativa das bandas em 1164 cm^{-1} $\beta(\text{CH})$ e 1560-1580 cm^{-1} $\nu(\text{CC})$ em relação à banda 1076 cm^{-1} $\nu(\text{CS})$.

Os espectros obtidos em solução coloidal apresentaram bandas mais finas e bem mais resolvidas, principalmente com relação às bandas na região 1560-1620 cm^{-1} . A maior resolução espectral é atribuída a uma maior homogeneidade quanto à orientação das moléculas na superfície dos AuNB (130,131), mesmo comportamento apresentado pelo 4-ABT no mesmo substrato. A análise nos permitiu propor uma atribuição vibracional para o composto OPI-2p e consequentemente para os sistemas seguintes OPI-3p em diante, pois há o aparecimento de novas ligações somente da repetição das unidades moleculares.

Na Tabela 2 são apresentadas as tentativas de atribuições das bandas vibracionais do OPI-2p.

Tabela 2: Tentativa de atribuição das bandas Raman para o fio molecular OPI-2p no estado sólido, calculado por DFT e nos substratos SERS. Valores em cm^{-1} .

Atribuição	Raman Normal	Cálculo DFT		SERS		
		Raman	Cluster 10 átomos Au	OPI-2p/ Col.AuNR	OPI-2p/ Au(ORC)	OPI-2p/ AuNRs/Si
$\nu(\text{CS})$	1011	994	1007			
	1075		1072	1076	1073	1075
	1101	1086	1111			
$\delta(\text{CH})$	1165			1164	1163	1163
$\delta(\text{CH})$		1164	1154	1193	1189	1190
$\nu(\text{CC}) + \delta(\text{CH})$	1190	1193	1201	1235		
$\nu(\text{CC}) + \delta(\text{CH})$	1304	1317	1318	1306	1303	1306
						1369
$\nu(\text{CC}) + \delta(\text{CH})$					1381	
$\nu(\text{CC}) + \delta(\text{CH})$	1418	1429	1383	1417	1418	1417
$\nu(\text{CC}) + \delta(\text{CH})$	1479	1492	1424		1469	
			1508			
$\nu(\text{CC}) + \delta(\text{CH})$			1544	1563	1561	1561
$\nu(\text{CC})$	1570	1575	1568	1574		
$\nu(\text{CC})$	1603	1593		1605	1603	1601
$\nu(\text{CN})$	1620	1618	1614	1619	1616	
		1667				1648
$\nu(\text{CO})$	1699			1695	1700	
		1748	1732			

Considerando as atribuições para o 4-ABT concluiu-se que o aparecimento de uma banda próximo a 1603 cm^{-1} se refere ao modo $\nu(\text{CC})$ do novo anel aromático, a banda próxima a 1619 cm^{-1} é referente ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$ e a banda próximo a 1700 cm^{-1} se refere ao modo $\nu(\text{C}=\text{O})$.

Fios moleculares OPI-1p à 13p

Os fios moleculares mais longos foram sintetizados em sistemas do tipo junção moleculares, conforme apresentado na Figura 25. Na Figura 32 são apresentados os valores correspondentes ao tamanho dos espaçamentos formados entre a superfície de ouro e a nanopartícula. O tamanho do espaçamento foi calculado levando em consideração às espessuras teóricas, dos filmes de OPI formados sobre a superfície de ouro plana (132), e o fato das nanopartículas apresentarem uma monocamada de CTAB em sua superfície com espessura de 1,5 nm (133).

Figura 32: Estimativa do tamanho do espaçamento nas junções moleculares, AuFlat|OPIs|AuNB. O valor do tamanho do espaçamento foi obtido pela soma do valor da espessura dos fios moleculares sobre substrato de ouro plano, valores obtidos na referência (132), e a espessura da monocamada de CTAB sobre a superfície das NP.

Análises eletroquímicas foram realizadas objetivando verificar a formação do filme molecular na superfície de ouro e se o mesmo se dá em toda a superfície. Na **Figura 33** são apresentados VC da superfície de ouro sem e com os fios moleculares OPI-1p a OPI-3p. O VC da superfície de ouro não apresentou nenhum pico pois as varreduras foram realizadas até 0,8 V, para valores de potencial acima deste o voltamograma apresentaria um pico oxidativo, devido à formação de óxido de ouro, como o apresentado nos VC da ativação do eletrodo de ouro, capítulo 3. Portanto, na faixa de potencial das análises aqui discutidas nenhum pico faradáico será observado. O voltamograma para o sistema OPI-1p caracteriza-se por dois picos, um pico oxidativo irreversível em 0,8 V e outro em 0,46 V, que tem um par redutor em 0,1 V. Este sistema, superfície de ouro funcionalizado com 4-ATP, foi caracterizado por W.A. Hayes *et al.* (134). O que deseja-se ressaltar nesta discussão é a diminuição na capacitância da dupla camada, com a diminuição das densidades de correntes no VC, indicando a modificação do filme molecular com o crescimento do sistema passando de OPI-1p para 3p. Os resultados eletroquímicos sugerem que a formação de uma monocamada na superfície e que esta torna-se mais espessa com o aumento do fio molecular.

Figura 33: Voltamograma cíclico do ouro metálico e OPI-1p a 3p sintetizados na superfície do ouro. Voltamogramas obtidos entre 0,2 V e 0,8 V em solução 1 M de KCl, a uma taxa de varredura de 100 mV/s.

Na seção anterior foram discutidas as variações espectrais, a partir de espectros experimentais e teóricos, entre os sistemas OPI-1p e 2p, confirmando a formação do composto esperado e propondo uma atribuição para os modos vibracionais obtidos nos espectros Raman. Na Figura 34 são apresentados espectros SERS das junções moleculares, sintetizadas com os fios moleculares OPI-1p a 13p.

Figura 34: Espectros SERS das junções moleculares AuFla|OPI-1p a 13p|AuNBs. Os espectros foram obtidos com radiação excitante 785 nm. A barra de escala da contagem refere-se a todos os espectros.

Observa-se na Figura 34 que a partir do OPI-3p as bandas na região 1600 cm^{-1} , referentes ao anel benzênico e $\nu(\text{CN})$, ficam menos resolvidas (alargamento das bandas). Este comportamento pode ser consequência do crescimento dos fios moleculares, com aumento do número de anéis benzênicos. Observa-se também um deslocamento desta banda para menores frequências como consequência da deslocalização dos elétrons nas ligações a medida que o filme molecular aumenta. Como discutido na seção anterior observa o aumento da intensidade relativa da banda 1168 cm^{-1} em relação a banda em 1078 cm^{-1} . Os espectros da Figura 34 permitem observar que não há aparecimento de novas bandas ou variação espectral que sugira que as moléculas desejadas não tivessem sido formadas na superfície ou mesmo que o filme molecular formado apresente algum tipo de desorganização, o que contribuiria para o aparecimento de novas bandas ou mesmo o deslocamento.

Outra observação importante na Figura 34 diz respeito a variação da intensidade SERS com o aumento do comprimento do fio molecular, e consequentemente com o aumento do espaçamento entre as superfícies, AuFlat e AuNB. Há não apenas uma diminuição em intensidade para todas as bandas do espectro, mas também variação nas intensidades relativa das bandas referentes aos modos vibracionais $\nu(\text{CS})$ e $\beta(\text{CH})$, destacado na figura por linhas tracejadas. Estes resultados nos permitem levantar algumas questões: A diminuição da intensidade espectral, depois do OPI-5p, guarda alguma relação com o aumento do espaçamento nas junções? O que estaria favorecendo o aumento de intensidade do modo $\beta(\text{CH})$ em detrimento ao $\nu(\text{CS})$?

4.2.3. O papel dos substratos em junções moleculares: interação LSPR – dipolo imagem

No capítulo 2 foi discutido a natureza das oscilações dos elétrons em superfícies metálicas, principalmente daqueles advindos de nanopartículas com tamanhos menores do que o comprimento de onda da radiação incidente. Desta oscilação surgem as ressonâncias LSPR, sendo dependentes do formato, tamanho e natureza da nanopartícula bem como do meio dielétrico ao qual a NP está inserida. Estes plasmons de superfície também podem ser deslocalizados, desta forma se propagando de modo não ordenado como acontece em superfícies metálicas planas (135).

O comportamento do LSPR de uma NP metálica posicionada a distâncias nanométricas de uma superfície dielétrica plana apresenta um comportamento óptico distinto daquele apresentado pela mesma nanopartícula livre. Este comportamento é consequência de uma quebra de simetria do ambiente dielétrico da NP, induzida pelo substrato vizinho à mesma

(136,137). Há, nestes sistemas, uma interação dos elétrons livres da NP com suas respectivas cargas imagem, formadas no filme metálico. Estes efeitos contribuem para grandes deslocamentos da ressonância de plasmon e o aparecimento de novos modos plasmônicos. Segundo Nordlander e Prodan (136) os efeitos de interação dipolo – imagem deslocam o plasmon para a região do vermelho do espectro eletromagnético com a diminuição da separação NP – superfície, e para distância muito pequenas < 1 nm passa-se a ter o surgimento de novos modos plasmônico.

As alterações nos plasmons de superfície são fortemente dependentes das propriedades dielétricas dos substratos, meio ao qual a NP foi inserida, bem como do espaçamento entre eles. Tem sido observado que a interação de nanopartículas esféricas com superfícies metálicas leva à formação de modos plasmônicos complexos, quando comparados com os modos da NP livres (138–142). Considerando partículas anisotrópicas, como nanobastões de ouro (AuNB), depositadas sobre substratos metálicos, estes comportamentos ficam ainda mais complexos. Por exemplo, estes sistemas podem adquirir padrões de espalhamento em forma de anel como resultado da excitação dos dipolos verticais, em relação ao substrato metálico (143,144).

O efeito do substrato no padrão de espalhamento de nanopartículas suportadas em superfícies planas tem sido foco de crescente interesse nos últimos três anos, sendo os sistemas constituídos de nanoesferas metálicas os mais estudados. Nanopartículas anisotrópicas, como nanobastões, apresentam maiores valores de intensificação de campo local, quando comparados com nanoesferas ou nanocubos por exemplo, e a possibilidade de direcionar as propriedades de ressonância de plasmon com variação da razão de aspecto dos mesmos (145,146). Outra característica importante para sistemas como os aqui estudados, junções moleculares, é a alta intensidade de campo eletromagnético confinado no espaçamento NP – substrato plano.

Nesta seção discutiremos a influência da interação LSPR – dipolo imagem em sistemas de junções moleculares do tipo AuFlat/Fio_molecular/AuNB na intensidade SERS. A possibilidade de uma interação LSPR-dipolo imagem, modificando as propriedades ópticas do sistema, pode ter sido a responsável pela resposta não usual obtida para a intensidade SERS das junções moleculares estudadas.

Para estudar a influência da distância entre as superfícies na interação entre o LSPR, dos AuNBs, com dipolos imagens formados na superfície plana foram utilizadas as junções moleculares descritas na seção anterior. Foram obtidos mapeamentos SERS com um total de 500 espectros, destes foram excluídos os espectros resultantes da região de maior intensificação

SERS e os 50 espectros com mais baixa intensidade. As condições experimentais foram detalhadas na seção 4.1.2.

Na Figura 35 são apresentadas as intensidades SERS das bandas 1078 cm^{-1} e 1168 cm^{-1} , aquelas marcadas com linha tracejada na Figura 34, do sistema AuFlat/OPIs/AuNB utilizando as radiações $\lambda_0 = 632,8\text{ nm}$ e $\lambda_0 = 785\text{ nm}$.

Figura 35: Intensidade SERS das bandas 1078 cm^{-1} $\nu(\text{CS})$ e 1168 cm^{-1} $\beta(\text{CH})$ para os sistemas OPI-1p a 13p. (A) $\lambda_0 = 632,8\text{ nm}$ e (B) $\lambda_0 = 785\text{ nm}$. Intensidades SERS normalizadas pela intensidade da banda do Si em 520 cm^{-1} .

As discussões destes gráficos serão realizadas dividindo-os em duas regiões: a primeira região vai do OPI-1p ao OPI-5p (tamanhos que variam de 2,2 nm a 4,7 nm) e a segunda do OPI-7p ao OPI-13p (com tamanhos de espaçamento entre 4,7 nm a 9,9 nm).

Na primeira região da figura observa-se que a banda 1078 cm^{-1} $\nu(\text{CS})$ se mostra constante até OPI-5p, enquanto que a banda 1168 cm^{-1} $\beta(\text{CH})$ aumenta em intensidade. O aumento da intensidade da banda 1168 cm^{-1} pode ser atribuído a dois fatores: ao aumento do número de anéis aromáticos, com o crescimento do fio molecular, pois este modo vibracional refere-se a deformação angular advinda das ligações CH do anel aromático. Somado ou não ao aumento da polarizabilidade da molécula, pois o crescimento do fio molecular acarreta numa modificação das propriedades eletrônicas da mesma, ou seja, são sistemas moleculares diferentes.

Quanto à intensidade da banda em 1078 cm^{-1} ter permanecido constante também foi um resultado incomum pois, como já bem discutido na literatura, a intensidade SERS diminui exponencialmente com o aumento da distância do gap entre nano estruturas metálicas (147–151). Portanto, esperava-se uma diminuição em intensidade para o modo $\nu(\text{CS})$, pois o enxofre está ligado à superfície de ouro plana, e a mesma não suporta plasmon localizado de superfície, esperando que apenas as nanopartículas fossem às responsáveis pela intensificação do sinal SERS. Os resultados mostram que até 4,7 nm, OPI-5p, o sistema AuFlat – AuNPs apresentam

intensidade de campo suficiente para não permitir a diminuição da intensidade da banda em 1078 cm^{-1} , comportamento este observado para ambas as radiações incidentes, $\lambda_0 = 632,8$ e 785 nm .

Muito se tem discutido quanto à variação do sinal SERS em sistemas sanduichados. A intensificação SERS pode surgir a partir do campo eletromagnético local associado ao acoplamento dos plasmons produzidos entre partículas vizinhas bem como devido ao acoplamento entre o plasmon das nanopartículas e o filme metálico sobre a qual elas estão adsorvidas (133,141,143,144,152–154).

Observa-se, na Figura 35, que os maiores valores de intensidade SERS são obtidos quando o sistema é excitado com radiação $632,8\text{ nm}$. Este comportamento sugere uma mudança no comportamento óptico do sistema quando comparado com os AuNB em suspensão coloidal. Como apresentado na Figura 36 os AuNB apresentaram plasmon na região de 750 nm , esperava-se com isto que os maiores valores de intensidade SERS fossem obtidos para comprimentos de onda da radiação incidente nesta região. Este comportamento é observado quando as análises SERS são obtidas em suspensão coloidal. Nestes experimentos obtém-se espectro apenas quando os experimentos são realizados utilizando radiação incidente em $\lambda_0 = 785\text{ nm}$, não sendo observados no sistema quando excitado com $\lambda_0 = 632,8\text{ nm}$. O fato deste comportamento ser diferente nas junções moleculares sugere que há uma interação, entre a NP e a superfície de ouro, de modo a modificar as propriedades ópticas do sistema, favorecendo maiores intensidades SERS quando o sistema é excitado com radiação $632,8\text{ nm}$.

Figura 36: (A) Espectro de extinção da suspensão coloidal de AuNBs e (B) imagens TEM.

Com o objetivo de melhor entender a possível influência da ressonância de plasmon na resposta SERS das junções moleculares, foram sintetizados JM utilizando AuNE e AuNB. Na Figura 37 são apresentados espectros SERS das JM sintetizadas com AuNE e AuNB obtidas

com radiações $\lambda_0 = 632,8$ nm e $\lambda_0 = 785$ nm. Foram sintetizados sistemas sanduichados com AuNB e AuNE, OPI-2p e 3p, os mapeamentos SERS foram obtidos sempre na mesma região, variando apenas o comprimento de onda da radiação incidente, 632,8 nm e 785 nm.

Figura 37: Espectros SERS das junções moleculares sintetizadas com (A) OPI-2p e (B) OPI-3p intercaladas com nanobastões de ouro (AuNB) e nanoesferas de ouro (AuNE) nas radiações $\lambda_0 = 632,8$ nm (cores preta e vermelha) e $\lambda_0 = 785$ nm (cores verde e azul). Os espectros foram obtidos na mesma região para ambas as radiações.

Os espectros obtidos com radiação incidente $\lambda_0 = 632,8$ nm apresentaram maior intensidade do que os obtidos com radiação 785 nm, para os sistemas sanduichados com AuNB. No entanto, para os sistemas sanduichados com AuNE observou-se o comportamento inverso, maiores intensidades SERS quando o sistema foi excitado com $\lambda_0 = 785$ nm, mesmo tendo as AuNS, como discutido no capítulo 3, plasmon na região de 540 nm. Os resultados evidenciam que o acoplamento das nanopartículas com a superfície de ouro plana modifica as propriedades ópticas do sistema fazendo com que o SERS responda de modo diferente ao que seria esperado para o sistema em solução coloidal.

Jack J. Mock *et al.* (142) estudaram a dependência da ressonância de plasmon com a distância para sistemas acoplados de AuNE em superfície de ouro plana. Eles observaram que quando partículas de 60 nm de diâmetro, com SPR em 535 nm em um meio dielétrico uniforme, são postas em uma superfície de ouro apresentam um drástico deslocamento do pico do SPR para 655 nm. Este deslocamento espectral é consistente com a interação entre uma nanopartícula e a superfície plana quando o campo elétrico incidente excita os SPR perpendiculares à superfície metálica (155,156).

Em se tratando de AuNB este acoplamento torna-se mais complexo, pois trata-se de uma partícula anisotrópica contando com dois picos SPR, transversal e longitudinal. Ji Won Ha *et al.* (144) estudaram a interação entre SPR de AuNB e dipolos imagem formados em superfícies de ouro por espalhamento de reflexão interna total (*total internal reflection*, TIR).

Eles concluíram que com o laser p-polarizado, perpendicular à superfície, os AuNB deram origem a característicos padrões de espalhamento em forma de anel. Isto foi explicado como consequência do forte acoplamento entre o plasmon transversal do AuNB, *out-of-plane* (dipolos verticais à superfície metálica), com o dipolo imagem induzido na superfície do substrato de ouro. Por outro lado, quando esta polarização se dá na direção s-, polarização paralela à superfície, a luz, seletivamente, excita os plasmons transversais, *in-plane* (dipolos paralelos à superfície metálica), do AuNB, resultando em uma interferência destrutiva e um forte amortecimento na intensidade de espalhamento de campo distante.

Na Figura 38 é reproduzida, com autorização, uma representação esquemática da visualização dos modos excitados *in-plane* e *out-of-plane* para nanobastões de ouro sobre uma superfície plana.

Figura 38: Esquema mostrando os padrões de espalhamento de campo distante para os dipolos elétricos orientados de forma diferente. (a) Campo de excitação orientado paralelamente ao eixo do comprimento do nanobastão. (b) Campo de excitação orientado perpendicularmente ao substrato. As marcações em rosa representam as regiões que de fato são analisadas pela lente objetiva. As setas vermelhas indicam a direção da excitação da polarização. "Reprinted with permission from (Chen H, Ming T, Zhang S, Jin Z, Yang B, Wang J. Effect of the dielectric properties of substrates on the scattering Patterns of Gold Nanorods. ACS Nano. 2011;5(6):4865–77.). Copyright (2015) American Chemical Society."

Chem H. *et al.* (143) partiram da hipótese de que a introdução de um substrato próximo às NP leva a uma quebra na simetria do ambiente dielétrico no entorno das mesmas. Portanto, induziriam o surgimento de cargas imagens, na superfície, estas grandemente dependentes do material do dielétrico bem como da natureza das NP. Os autores estudaram a dependência da força do acoplamento SPR – dipolo imagem com as propriedades do substrato e do espaçamento entre eles. Os resultados mostraram que quando os AuNB foram depositados sobre Pt, Au e Si o padrão de espalhamento sugeriu uma interação mais forte entre os dipolos *out-of-plane*, ou seja, os dipolos transversais (perpendiculares à superfície). Quando sobre superfícies como ZnO, ITO e TiO₂ o padrão de espalhamento sugeriu uma interação mais forte com o dipolo *in-*

plane, aqueles paralelos à superfície. Os autores também mostraram, por cálculos teóricos e experimentalmente a influência da distância no acoplamento entre o LSPR, das NP, e o dipolo imagem em substratos de silício. Observou-se que com o aumento da distância há uma considerável diminuição da intensidade das bandas dos modos transversais e um deslocamento para a região do azul do plasmon longitudinal.

Alguns experimentos foram realizados em substratos de Si, em substituição ao substrato de Au, para verificar se teríamos alguma variação do comportamento SERS dos sistemas analisados neste capítulo. Na Figura 39 são apresentados espectros do sistema OPI-1p/AuNB sobre chip de Si obtidos com radiações 632,8 nm e 785 nm e imagens SEM das regiões analisadas. As imagens SEM são apresentadas para mostrar que os mapeamentos foram realizados em regiões de submonocamadas de AuNB, ou seja, regiões isentas de aglomerados de AuNB.

Figura 39: Mapeamento SERS Si/ OPI-1p/AuNB utilizando radiação excitante (A) $\lambda_0 = 632,8$ nm e (B) 785 nm. Os mapeamentos foram obtidos na mesma região. (C) Imagens SEM do sistema AuNB/OPI-1p/Si. As barras de escala das imagens superior e inferior referem-se a 1 μm e 100 nm respectivamente.

Observa-se que quando o sistema é excitado com $\lambda_0 = 632,8$ nm não se obtém espectro do composto, comportamento oposto ao obtido para o sistema AuFlat/OPI-1p/AuNB. Este resultado reforça nossas discussões, até o momento, em que há uma possível interação entre os LSPR e um dipolo imagem formado na superfície plana próximo a NP.

Analisemos agora a segunda região da Figura 35, região para os sistemas OPI-7p a 13p, sistemas com comprimentos maiores do que 4,7 nm. Observa-se uma diminuição significativa da intensidade das bandas dos espectros conforme o espaçamento aumenta, Figura 34, para ambas radiações utilizadas $\lambda_0 = 632,8$ nm e $\lambda_0 = 785$ nm. Este comportamento pode estar relacionado à diminuição da eficiência do acoplamento LSPR - dipolo imagem e consequentemente da intensidade de campo eletromagnético na região entre as superfícies

metálicas. Estes resultados também estão de acordo com as discussões da literatura quanto à intensa diminuição do sinal SERS quando a distância entre as nanoestruturas metálicas aumentam. Devido à complexidade do sistema em estudo, interação LSPR dipolo imagem, algumas outras possibilidades podem ser discutidas.

Ryan T.Hill *et al.* (140) estudando a influência do espaçamento, 0,5 nm a 27 nm, em sistemas AuNE e AuFlat observaram um deslocamento do pico de ressonância para a região do azul à medida que o tamanho espaçamento aumenta. Para tamanhos de espaçamento entre 0 e 5 nm os valores do pico de ressonância máxima variaram de 750 nm a 600 nm, indo para valores de comprimento de onda ainda menores para espaçamentos acima de 5 nm. Este mesmo resultado também foi observado por C. Ciraci *et al.* (141).

Em se tratando de AuNB, ainda não se tem muitos estudos quanto a natureza do acoplamento com o AuFlat principalmente por meio de estudos SERS. Xingxing Chen *et al.* (133) investigaram as propriedades de espalhamento de AuNB individuais acoplados a AuFlat com diferentes espaçamento usando microscopia de campo escuro polarizada. Os resultados evidenciaram que não apenas a posição dos picos de ressonância como também a largura de banda, são grandemente influenciados pelo espaçamento. Para valores de até 5 nm, observou-se um forte pico de ressonância na região de 750 nm, que se desloca para o vermelho à medida que o espaçamento atinge 5 nm, e um pico na região 580 nm, que também se desloca para o vermelho e praticamente desaparece para valores de espaçamento maiores do que 5 nm. Vale ressaltar que Chem *et al.* não observaram o comportamento de acoplamento AuFlat/AuNB do tipo circular como observado anteriormente (143,144) ressaltando a complexidade de tais sistemas principalmente no que diz respeito ao comportamento da ressonância de plasmon.

Deste modo, espera-se duas contribuições para as intensidades SERS totais, uma contribuição devido às ressonâncias de plasmons de superfície e outra devido a força da interação dipolo-imagem formada. Objetivando entender estes efeitos simulações pelo método DDA, para o fator de intensificação (EF) SERS, foram feitas de acordo com a equação abaixo:

$$EF = \left[\frac{E_{loc}(633nm)}{E_0(633nm)} \right]^2 \left[\frac{E_{loc}(680nm)}{E_0(680nm)} \right]^2 \quad (19)$$

onde E_{loc} e E_0 representam a amplitude do campo elétrico na presença e ausência de estruturas de ouro (AuNB e Substrato de ouro), respectivamente. O primeiro termo da equação 19 representa às intensificações do campo incidente e o segundo as intensificações do campo

espalhado. Na Figura 40 são apresentados os resultados para as simulações de EF para diferentes distancias de *gap*.

Figura 40: (A-C) Mapas de fator de intensificação (EF) local entre AuNB e superfícies de ouro com 2, 6 e 10 nm de *gap*. (D) perfis de EF ao longo das linhas pontilhadas em A-C, ou seja, sobre a superfície de ouro. (E) EF médio sobre a superfície de ouro, linha vermelha, para diferentes distancias de *gap*, em comparação com a usual aproximação de E^4 , linha em preto.

Na figura 40 A-C são apresentados os mapas de EF simulados para tamanhos de *gap* de 2, 6 e 10 nm, correspondendo aos sistemas OPI-1p, OPI-5p e OPI-13p respectivamente. Para um *gap* de 2 nm, os maiores valores de EF são concentrados na região de *gap* com valores máximos de EF nas regiões da ponta dos AuNB. Isto pode ser melhor visualizado na figura 40D (linha preta), onde os valores de EF na superfície do substrato de ouro são apresentados. Pode ser observado uma brusca diminuição dos valores de EF, se tornando mais larga a medida em que o *gap* aumenta, na região central do nanobastão. Este resultado é consistente com o comportamento de intensificação de campo local gerado por uma interação dipolo-imagem. Quando a radiação incidente e espalhada não estiverem em ressonância com o plasmon longitudinal do AuNB, tal sistema é dominado pela força do acoplamento dipolo-imagem gerado quando o sistema é excitado pela radiação incidente.

Os perfis de EF na superfície do substrato de ouro, Figura 40D, também indicam que a máxima intensificação é observada para uma distância de *gap* de 6 nm. Com relação aos experimentos SERS realizados nesta tese, um ponto importante é o fator de intensificação SERS. A Figura 40E apresenta os valores de EF médio na superfície do substrato de ouro (linha

vermelha), aqui chamado $\langle EF_{\text{surf}} \rangle$. Vale ressaltar que os fios moleculares são sintetizados de tal forma que o grupo CS encontra-se sempre na superfície do substrato de ouro flat. Assim as intensidades para as bandas atribuídas ao $\nu(\text{CS})$, 1078 cm^{-1} , podem ser simuladas como uma primeira aproximação, pelos valores de $\langle EF_{\text{surf}} \rangle$. Para comparação também são apresentados os valores de EF calculados para a aproximação E^4 (em preto).

Para a aproximação E^4 observa-se um rápido decréscimo nos valores médios de EF à medida que o gap aumenta. Para tal aproximação, o comprimento de onda considerado $632,8 \text{ nm}$ está longe de qualquer ressonância e, portanto a contribuição é dominada pela diminuição da força da interação dipolo-imagem à medida em que o gap aumenta. Este comportamento prediz uma diminuição da intensidade SERS deste modo com o aumento do fio molecular. Tal comportamento também é apresentado para os valores de EF calculados pela equação 19, devido as condições de ressonância para a radiação espalhada, o perfil do $\langle EF_{\text{surf}} \rangle$ apresenta um comportamento aproximadamente constante entre 2 nm e 6 nm , seguido de uma diminuição para valores de *gap* maiores. Este resultado está de acordo com os resultados experimentais para a banda 1078 cm^{-1} , na figura 35, indicando que a contribuição eletromagnética (interação dipolo-imagem e deslocamento da ressonância de plasmon de superfície) são dominantes para as intensidades SERS do modo $\nu(\text{CS})$.

O aumento em intensidade para a banda 1168 cm^{-1} $\beta(\text{CH})$ observada na figura 35 não pode ser descrita apenas pelas contribuições discutidas acima. Além do efeito eletromagnético, deve ser evocado contribuições químicas, estas podem estar atrelada a variações na estrutura eletrônica da molécula podendo ser consideradas como uma possível explicação para os resultados observados.

Os resultados acima fortemente indicam que ambos, o efeito eletromagnético e o efeito químico estão contribuindo para as intensidades observadas. No caso dos fios moleculares investigados aqui, os resultados indicam diferentes graus de contribuição para cada uma das bandas 1078 e 1168 cm^{-1} , sendo que na primeira há predomínio de efeitos eletromagnéticos enquanto que na última apresenta uma importante contribuição química.

4.3. Conclusões

O efeito SERS se mostrou eficiente na caracterização dos fios moleculares utilizados para a formação das junções moleculares com diferentes espaçamentos. Permitiu também validar o crescimento dos fios moleculares por meio de reações de adição de iminas em etapas de modo a facilitar a formação de um filme estruturado.

As junções moleculares se mostraram sistemas eficientes para verificar o efeito da interação entre o LSPR das nanopartículas e o substrato plano no efeito SERS. A resposta SERS para os diferentes valores de espaçamento entre as superfícies metálicas permitiu observar não apenas a influência da ressonância de plasmon mas, contribuições advindas da variação da polarizabilidade do sistema molecular envolvido.

As simulações do perfil de intensificação do campo eletromagnético em uma junção (formada entre uma superfície plana e um nanobastão de ouro) confirmaram uma diminuição do campo eletromagnético na junção quando o espaçamento varia de 2 nm para 6 nm e que a natureza do perfil de intensidade de campo na superfície da nanopartícula muda como consequência da diminuição da intensidade de interação entre os plasmons da NP e a superfície.

Eu vi todas as minhas cores em espírito, diante dos meus olhos. Selvagens, linhas quase loucas foram esboçadas na minha frente.”

*Wassily Kandinsky**

5

Correlação SERS – morfologia de agregados de AuNB

Filmes de nanopartículas têm atraído bastante atenção devido a sua potencial aplicação em áreas como dispositivos eletrônicos,

sensores, e catalisadores como consequência de serem capazes de apresentar plasmon localizados de superfície. Como já discutido anteriormente estes substratos são o núcleo da espectroscopia SERS, pois a intensificação do sinal Raman se dará como resposta da interação da radiação incidente com estes substratos. Algumas técnicas utilizadas para a síntese destes substratos SERS podem ser citadas: litografia por feixe de elétrons (*electron beam lithography*. EBL) (157), deposição por feixe de átomos (*sputtering*) (158,159), por eletrodeposição de átomos, deposição de colóide de NP em substratos planos previamente preparados (26,160). Estas técnicas possibilitam a formação de substratos com alto desempenho SERS a depender do tipo de interação entre as NPs, ou seja, da natureza e quantidade de *hotspots* formados, como discutido no capítulo 2. Vale ressaltar que a relação entre o fator de intensificação SERS, a estrutura e as propriedades ópticas de substratos dominados por *hotspots* ainda continua sendo alvo de intensas pesquisas, principalmente devido à complexidade de correlacionar estes três parâmetros (161).

O sinal SERS pode ser gerado a partir da contribuição de ressonâncias advindas de mecanismos químicos (CE) e eletromagnéticos (EM), no entanto para o caso de moléculas não ressonantes os efeitos de intensificação predominantes serão aqueles advindos da ressonância de plasmon localizado na superfície (LSPR), ou seja mecanismo EM.

A correlação entre morfologia em agregados de NP e atividade SERS é um tema bastante recente. Entre estas dificuldades pode-se citar: A maioria dos substratos SERS utilizados apresentavam milhares de nanopartículas com diversas morfologias e aleatoriamente

* Wassily Wasilyevich Kandinsky foi um artista plástico russo, introdutor da abstração no campo das artes visuais. Frase de abertura da exposição do artista no Centro cultural banco do Brasil (CCSP) em SP [Julho de 2015].

distribuídas, portanto muitas das informações são perdidas quando se obtém a média de toda a região analisada (162). Grande parte dos sistemas estudados tem substratos SERS dispersos em solução aquosa e aleatoriamente agregados com solução salina (26); a problemática de suspensões coloidais é que estes são sistemas dinâmicos e por isto a área de análise SERS muda constantemente. Mesmo os substratos utilizando moléculas específicas para orientar a agregação das NPs (53,88,163) apresentam limitações devido ao fato de apresentarem grande heterogeneidade e a não reprodutibilidade dos agregados em solução.

Algumas correlações entre nanoestruturas metálicas e suas propriedades ópticas tem sido discutidas na literatura nos últimos anos (60,164–168). A maior parte destas discussões tem focado em aspectos de simulações teóricas (quanto ao comportamento do campo eletromagnético) e propriedades de espalhamento de tais sistemas.

Em termos dos estudos das propriedades ópticas de agregados de AuNB (substrato utilizado neste trabalho de tese), e como elas afetam o efeito SERS, pouco tem sido realizado, principalmente se considerarmos a obtenção do sinal SERS em sistemas estáticos (169,170) contra sistemas dinâmicos, em suspensão coloidal, (53,78,88,162,163,171). As vantagens de sistemas estáticos, para o estudo da correlação entre morfologia do agregado e sinal SERS, residem no fato de que não precisaríamos inferir sobre o estado de agregação dos AuNB, pois teríamos uma imagem de microscopia eletrônica do sistema responsável pelo sinal SERS obtido.

Outro aspecto importante acerca do estudo de propriedades ópticas de nanoestruturas metálicas é que a resposta óptica de muitas nanoestruturas necessita de ferramentas de simulação teórica para melhor entender a interação entre os campos eletromagnético gerados pelas nanopartículas. Alguns métodos teóricos capazes de simular estes tipos de interações pelo eletromagnetismo clássico são: aproximação de dipolo discreto (*discrete-dipole approximation*, DDA), método de diferenças finitas no domínio do tempo (*finite-difference in the time domain*, FDTD), método de elementos finitos no domínio de frequência (*frequency-domain finite-element methods*, FEMs) (172).

O objetivo dos experimentos descritos neste capítulo é discutir a dependência do comportamento do sinal SERS com a morfologia dos agregados de AuNB.

5.1. Seção Experimental

5.1.1. Materiais e métodos

Molécula e Nanopartículas

O substrato SERS utilizado nesta seção foram nanobastões de ouro (AuNB) funcionalizados com o 4-ABT. A síntese dos AuNB seguiu os procedimentos já descritos anteriormente.

Instrumentação

Os espectros SERS foram registrados num espectrômetro Micro-Raman RENISHAW InVia conforme descrito no capítulo 4.

Preparo do substrato SERS: multicamadas de AuNB sobre Si

Estes substratos foram preparados a partir da deposição de várias camadas de AuNB sobre chip de Si. Para isto uma alíquota de suspensão de AuNB foi depositada sobre o chip Si (Ted Pella Inc. *Silicon wafer 5x5mm*), posteriormente o chip foi posto em um ambiente saturado de vapor d'água objetivando uma lenta secagem da suspensão coloidal favorecendo a formação de várias camadas de AuNB sobre a superfície de Si. Este substrato será utilizado nas análises SERS, obtidas por meio de mapeamentos Raman em diferentes regiões. Como os AuNB são funcionalizados com o 4-ABT antes da deposição dos mesmos no substrato, espera-se a formação de uma monocamada desta molécula sobre a superfície das nanopartículas.

Preparo do substrato SERS: agregados individuais

Estes substratos foram preparados adicionando uma alíquota de 0,5 μL da suspensão de AuNB funcionalizado com 4-ABT numa grade de carbono ultra fino (Ted Pella Inc. *Carbon Type-B, 400 mesh, Copper approx. grid hole size: 42 μm*). A suspensão foi deixada sobre a grade por aproximadamente 5 min, após este tempo a mesma era retirada da superfície com a ajuda de um papel filtro. Este procedimento evita a deposição de grandes quantidades de nanopartículas na superfície, permitindo a análise SERS em agregados individuais de AuNBs.

Correlação SERS – SEM em agregados individuais de AuNB

Para a obtenção da correlação morfologia – SERS, empenhou-se alguns meses para encontrar o melhor método visando os resultados desejados. Deste modo, os experimentos para as correlações seguiram a sequência conforme exposto a seguir.

Inicialmente tentou-se obter as correlações depositando as nanopartículas em substratos de Si. Para se orientar na superfície, a partir do microscópio óptico Raman, e na segunda etapa da análise, no SEM, estas superfícies eram marcadas. Na Figura 41 são apresentadas imagens obtidas no microscópio Raman das regiões analisadas conforme marcações em C. A área escura no canto esquerdo da imagem A é parte da marcação realizada na superfície para orientação espacial de onde foram obtidas as análises.

Figura 41: Imagens ópticas obtidas no microscópio Raman das Regiões analisadas, conforme marcações na imagem (C).

A principal dificuldade que nos levou a buscarmos outro tipo de substrato foi quanto ao controle das marcações na superfície, que embora visualmente nos parecesse bem definida, em nível micrométrico/nanométrico se mostraram como grandes borrões não apresentando regiões facilmente identificáveis.

Por este motivo passamos a utilizar grids de carbono, porta amostra muito utilizado em TEM, pois o mesmo é dividido em *slots* de 40 μm por 40 μm , facilitando a localização sobre a superfície, embora 40 μm ainda seja uma área muito grande quando o spot do laser na amostra é em torno de 1 μm , conforme será calculado na seção 5.1.2.

Na Figura 42 é apresentada imagem óptica da região central de um grid de carbono, lente 5x de magnificação, e uma imagem óptica do *slot* 2, canto superior direito, obtida com lente 100x.

Figura 42: Imagem obtida num microscópio Raman. (A) Imagem da região central de uma grade de carbono apresentando a numeração do *slots* em que as análises SERS foram realizadas e (B) Imagem óptica de parte do *slot* 2, canto superior direito. A região demarcada refere-se a região do mapeamento SERS realizado.

Inicialmente as análises SERS foram realizadas em mapeamentos tipo grade com tamanhos de 10 µm por 10 µm, imagem (B), mas este procedimento foi abandonado tendo em vista que o correto posicionamento entre a área que de fato foi mapeada e a imagem SEM não apresentou boa correspondência.

Para contornar o problema quanto à correspondência optamos por realizar os mapeamentos em linha, e não mais em grades, e sempre em pequenas distâncias, máximo de 10 µm, com distâncias de 2 µm entre cada ponto de análise. Esta distância para as análises foi definida a partir do valor da área do *spot* do laser na amostra. Na Figura 43 um destes tipos de mapeamentos são apresentados.

Figura 43: Imagem óptica e imagem STEM-SEM, da mesma região. A linha na figura A refere-se ao mapeamento SERS realizado, e corresponde à região marcada em vermelho na figura B.

Quando em algum ponto destes mapeamentos foi observado sinal SERS a região do mapeamento foi analisada por SEM ou TEM. Os mapeamentos em linhas tinham comprimentos

e distâncias entre os pontos de análise bem específicos, mapeamentos de no máximo 10 μm , com distâncias de 2 μm entre cada ponto de análise. Portanto, estes valores nos permitiam saber exatamente em que região da imagem SEM ou TEM obtida estaria cada região de análise SERS e com isto os agregados responsáveis pelo sinal.

Observa-se na Figura 43 que há uma quantidade de grandes aglomerados. Este tipo de situação não é desejável para nossos sistemas pois, estamos em busca de sistemas formados por pequenos agregados. Nesse sentido passou-se a utilizar o método descrito na seção (*Preparo do substrato SERS contendo agregados individuais de AuNB*) em que uma gota da suspensão de AuNB diluída (10 μL da suspensão para 1000 μL de água) era depositada sobre a grade e retirada após 5 min, não permitindo que a gota secasse sobre a grade. Isto justifica o fato da imagem óptica da Figura 44 não apresentar grandes número de agregados, como os observados na Figura 43. Aqui há um compromisso, pois ter uma menor quantidade de aglomerados de nanopartículas na superfície também diminuí a quantidade de pontos que poderão ser vistos na imagem óptica e com isso poder determinar as áreas em que serão obtidos os mapeamentos SERS.

Portanto, inicialmente os espectros SERS eram obtidos com mapeamentos do tipo linha sobre o substrato. Foram utilizados mapeamentos em linha, entre regiões visíveis no microscópio óptico Raman, com espectros sendo obtidos com distâncias de 2 μm . Após esta primeira série de experimentos a amostra foi analisada por SEM ou TEM em busca das regiões em que obtivesse sinal SERS.

Na Figura 44 é apresentada, de forma esquemática, a sequência do processo experimental para a obtenção da correlação intensidade dos espectros SERS – morfologia, dos agregados de AuNB. Tendo em vista que pequenos agregados de AuNB não são estruturas visíveis pelo microscópio óptico (A) e (B), quando durante o mapeamento foi observado sinal SERS, esta região foi analisada, posteriormente, por microscopia eletrônica em busca de tais estruturas. Como o mapeamento foi obtido em regiões demarcadas do substrato, ou seja, regiões em que tinha-se agregados visíveis, e em mapeamentos com distancias fixas, encontrava-se a região por SEM ou TEM e obtinha-se a imagem do agregado de AuNB responsável pelo sinal SERS. As regiões (SERS – morfologia) de interesse foram àquelas em que tínhamos a presença de apenas um agregado de AuNB na área de análise. Neste caso poderíamos dizer com certeza que a determinada nanoestrutura estaria contribuindo para o padrão espectral SERS obtido.

Figura 44: Sequência do processo experimental para a obtenção da correlação SERS – Morfologia dos agregados de AuNB. (A) Imagem óptica do grid de carbono, após deposição dos AuNB, (B) região ampliada da área marcada em (A). O mapeamento foi realizado em linha, como sinalizado na imagem, para as regiões em que foram obtidos espectros SERS as imagens dos agregados foram obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (C).

O processo experimental para a obtenção das correlações necessitou aliar duas técnicas, SERS e microscopia eletrônica, e a isto a necessidade de termos apenas um agregado na região focal do laser. Percebe-se que mesmo com todo o controle de todas as variáveis ainda há a dificuldade de se obter apenas um agregado na área de análise Raman. Portanto os resultados a serem discutidos neste capítulo são os eventos em que esta correspondência ocorreu conforme esperado. Este tipo de análise se mostrou extremamente trabalhosa, com baixo percentual de sucesso*.

Microscopias eletrônicas

Os equipamentos em que as imagens de elétrons secundários e imagens eletrônicas de transmissão obtidas por SEM já foram descritos anteriormente. As imagens STEM-SEM foram obtidas utilizando uma voltagem de 30 kV.

As imagens de transmissão obtidas por TEM foram realizadas em um microscópio eletrônico de transmissão TEM JEOL JEM 2100, canhão com filamento LaB6, tensão de aceleração em 200 kV.

5.1.2. Medida do volume de espalhamento

A determinação experimental do volume de espalhamento é um parâmetro importante na determinação do fator de intensificação SERS (EF-SERS). Este cuidado é necessário, pois ao medir o EF-SERS as análises obtidas para o Raman e SERS precisam estar nas mesmas

* Aqui o termo 'sucesso' refere-se aos eventos em que obteve-se direta correlação entre o espectro SERS e a morfologia do agregado de AuNB, individual, responsável pelo sinal.

condições experimentais. Como precisamos saber com relativa exatidão a quantidade de moléculas sendo expostas a radiação incidente, durante os experimentos, torna-se imprescindível o conhecimento do volume de espalhamento, conhecido também como volume efetivo. Esta seção objetiva dar uma visão geral da obtenção experimental do volume efetivo para uma dada objetiva do microscópio óptico Raman. Uma discussão mais detalhada sobre a determinação do volume efetivo pode ser consultada na literatura (173).

O termo “perfil confocal” se refere à forma do ponto de luz formado no substrato pela lente objetiva do microscópio. Este é caracterizado por duas grandezas dependentes do comprimento de onda utilizado: a área iluminada pelo *spot* do laser ($A_{\text{effective}}$) e a altura do cone de luz ($H_{\text{effective}}$). Portanto o volume efetivo pode ser determinado pela relação: $V_{\text{eff}} = H_{\text{eff}} \times A_{\text{eff}}$.

A H_{eff} pode ser determinada registrando-se o espectro da amostra padrão de Si ao longo do eixo axial (173). Isto foi realizado movimentando o estágio motorizado 15 μm acima e abaixo da posição de foco ideal ($z = 0 \mu\text{m}$). Na Figura 45 são apresentados os resultados para obtenção do valor de H_{eff} , o espectro foi registrando com passos de 0,5 μm .

Figura 45: Intensidade da banda em $519,8 \text{ cm}^{-1}$ do Si em função do deslocamento axial do estágio motorizado variando-se a altura ao longo do eixo axial entre -15 e 15 μm .

Conforme Cai, *et al.* (174) podemos determinar a H_{eff} a partir da expressão $H_{\text{eff}} = \frac{\int_{-10\mu\text{m}}^{10\mu\text{m}} I(Z)dz}{I_{\text{max}}}$. O numerador pode ser obtido integrando-se a área sobre a curva $I(z) \times z$ (Figura 45), e o denominador I_{max} pode ser obtido da intensidade da banda em $519,8 \text{ cm}^{-1}$ quando $z = 0$. A partir dos dados obtidos experimentalmente chega-se a um valor para $H_{\text{eff}} = 4,3 \mu\text{m}$. Esse valor mostra que, efetivamente, o sinal total vem de 2,15 μm acima e abaixo da posição focal, $z = 0$.

O *spot* do laser 785 nm tem um formato oval, para fins de cálculo do V_{eff} será considerado como tendo um formato retangular. Portanto, para calcularmos as medidas dos

lados deste retângulo seguiremos a metodologia de varredura sobre uma borda (*scan over a edge*) (175). Este método consiste em obter espectros sobre uma superfície, por exemplo Si, deslocando-se lateralmente na direção x e y em relação à borda da superfície. Como o sinal Raman advém apenas do Si a intensidade do sinal Raman será zero quando o feixe do laser incide estiver totalmente fora do substrato. Na Figura 46 é apresentada a intensidade Raman da banda $519,8\text{ cm}^{-1}$ do Si como função do deslocamento lateral.

Figura 46: Intensidade Raman da banda $519,8\text{ cm}^{-1}$ do silício, $\lambda_0 = 785\text{ nm}$, como função do deslocamento lateral, X e Y, na borda de um substrato de Si. Experimento obtido com lente objetiva 100x e N.A. 0,9.

A partir da relação à meia altura entre o patamar com máxima intensidade, quando o laser está sobre o Si, e o patamar em zero, quando o laser está fora do Si, podemos determinar os comprimentos de x e y do *spot* do laser. Observa-se que há um ligeiro aumento da intensidade Raman quando chega-se à borda do Si. Este efeito é um efeito de borda que contribui com uma intensidade Raman extra ao sinal obtido. A partir da análise da Figura 46 foi possível obter os valores de $x = 1,0\text{ }\mu\text{m}$ e $y = 2,5\text{ }\mu\text{m}$ para as dimensões do *spot* do laser 785 nm , utilizando lente objetiva de 100x com N.A. = 0,9.

5.1.3. Cálculo do fator de intensificação SERS (EF-SERS)

O fator de intensificação SERS (EF-SERS) é um dos parâmetros mais importante para a verificação da intensidade do espalhamento Raman obtida nos substratos SERS ativos. A partir dele é possível quantificar o quanto o sinal Raman foi intensificado em relação ao experimento em condições de Raman normal. Le Ru e Etchegoin (173) apresentaram uma discussão acerca dos vários métodos pelos quais pode-se calcular o EF-SERS.

As discussões em termos de EF foram necessárias tendo em vista que valores de EF-SERS da ordem de 10^{14} têm sido apresentados na literatura (43,176,177), valores estes que não se mostram de acordo com resultados teóricos (178,179) ou mesmo outros resultados experimentais (26,56). Esta grande variação no resultado final é consequência dos vários métodos que tem sido utilizados para o cálculo do EF-SERS. O problema torna-se mais sério

quando estes valores são utilizados para comparar diferentes substratos, na tentativa de determinar um substrato SERS ativo mais ou menos eficiente. Daniel C. Rodrigues *et al.* (26), levando em consideração esta questão, mostraram que a comparação dos valores de EF entre substratos estáticos, como nanoestruturas imobilizadas, e substratos dinâmicos, suspensões coloidais, não poderia ser realizada tendo em vista que as propriedades ópticas destes substratos dependem da dinâmica de interação entre as nanoestruturas que, neste caso, são bem distintas.

Os sistemas analisados neste capítulo são substratos estáticos constituídos por nanopartículas de mesma natureza superficial (substrato com multicamadas de AuNB e substrato com agregados de AuNB dispersos na superfície), deste modo entendemos que o EF-SERS obtido para cada substrato pode ser utilizado para fins de comparação entre eles.

O EF-SERS para substratos como os apresentados neste estudo pode ser definido como (173)

$$EF = \frac{I_{SERS}/N_{SERS}}{I_{RN}/N_{RN}} \quad (20)$$

Os termos I_{SERS} e I_{RN} referem-se às intensidades de uma determinada banda referente a um modo vibracional da molécula sonda nos espectros SERS e Raman Normal, mantendo-se às mesmas condições experimentais como potência do laser, fenda, rede de difração, detector e lente da objetiva. O N_{RN} corresponde ao número de moléculas excitadas no volume de espalhamento em solução durante o experimento Raman Normal. Para o sistema descrito neste capítulo N_{RN} é definido como o produto da concentração da molécula sonda (C_{RN}) pelo volume de espalhamento resultante do perfil confocal do microscópio utilizado (V_{eff}), como calculado anteriormente. O N_{SERS} é o número de moléculas que são responsáveis pelo sinal SERS obtido nas nanoestruturas metálicas. No presente sistema o sinal SERS está limitado aos agregados de AuNB e, conseqüentemente, às moléculas que a eles estão adsorvidas. Portanto, N_{SERS} será o produto da área das nanopartículas (A_{NP}) pela densidade superficial da molécula sonda (μ_s). A partir destes dados a expressão para o cálculo do EF, considerando o sistema em estudo, assume à seguinte forma:

$$EF = \frac{I_{SERS}/A_{NP}\mu_s}{I_{RN}/C_{RN}V_{eff}} \quad (21)$$

Os valores de I_{SERS} e I_{RN} foram calculados a partir das áreas integradas da banda 1077 cm^{-1} , modo vibracional $\nu(\text{CS})$, em cada sistema, C_{RN} foi de $0,5\text{ mol L}^{-1}$ de 4-ABT, o V_{eff} é o volume efetivo calculado na seção anterior, $V_{eff} = 10,75\text{ }\mu\text{m}^3$, A_{NP} é o valor da área dos agregados de

AuNB, medido a partir das imagens eletrônicas de transmissão e μs foi calculado considerando o fato de que uma molécula de 4-ABT ocupa uma área de $0,20\text{ nm}^2$, ou seja, $8,3 \cdot 10^{-10}\text{ mol cm}^{-2}$ ($1,2 \cdot 10^{-9}$ moléculas por cm^2) no limite de cobertura total em uma superfície de ouro (152). As discussões quanto ao EF, para os substratos, serão apresentadas nas próximas seções.

5.2. Resultados e discussão

5.2.1. EF-SERS de AuNB em sistemas de multicamadas e de agregados individuais

Na Figura 47 é apresentada imagem óptica e de elétrons secundários do substrato SERS de multicamadas de AuNB, o conjunto de espectros SERS obtidos no mapeamento, em várias regiões do substrato, demarcado em (A) e o histograma da distribuição de intensidades SERS para o 4-ABT, banda 1075 cm^{-1} (modo $\nu(\text{CS})$), sobre substrato de multicamadas de AuNB, normalizadas em relação ao valor da intensidade média.

Os histogramas apresentados neste capítulo foram gerados pela combinação das intensidades SERS das áreas mapeadas para cada grupo de substratos analisados.

Figura 47: (A) Imagem obtida no microscópio óptico Raman da região onde foi obtido o mapeamento. (B) Imagem SEM da mesma região que marcada na imagem óptica. (C) Conjunto de espectros SERS do 4-ABT obtidos no mapeamento marcado em (A) e (D) Distribuição das intensidades SERS para todos os mapeamentos obtidos sobre substratos de multicamadas de AuNB. A linha sólida refere-se a uma curva de distribuição gaussiana.

Os espectros, para este tipo de sistema, foram obtidos sobre regiões de multicamadas de AuNB. Como típico deste tipo de sistema, os AuNB não apresentam organização apresentando uma grande variedade de posicionamentos relativos entre eles. Os AuNBs foram funcionalizados com o 4-ABT, logo o mesmo encontra-se como uma monocamada sobre as superfícies dos nanobastões. Sobre a figura do histograma plotou-se uma curva gaussiana onde se observa que o perfil do histograma se aproxima ao de uma curva gaussiana. Esta distribuição de intensidades, do tipo gaussiana, é típica de sistemas SERS médio sendo justificada pelo fato de que cada sinal coletado pelo detector corresponde a uma média do sinal SERS coletado em toda a área irradiada pelo laser. Por se tratar de uma superfície com a possibilidade de diversas possíveis interações entre os AuNBs, é esperado, na área iluminada pelo laser, que uma grande variedade de estruturas metálicas, com diferentes propriedades plasmônicas, contribuam para o sinal SERS. Deste modo, espera-se que a relação entre estas intensidades, se distribuam da mesma maneira em torno de um valor médio.

O cálculo de fator de intensificação, para os substratos de multicamadas, foi feito de acordo com a equação (19), para diferentes áreas de análise. O valor de A_{NP} , foi calculado considerando que as partículas da camada mais superficial contribuem significativamente para o sinal SERS gerado. Esta aproximação pode ser considerada sem ônus com base nos trabalhos de Diego Soli *et al.* (172) e Cyrille Hamon *et al.* (180) que, estudando as propriedades de plasmon de monocamadas de nanobastões de ouro, observaram que a camada mais externa era a principal responsável pela intensificação do sinal SERS. Portanto, a área das AuNP estaria relacionada à área total do spot do laser na superfície do substrato. Os valores de EF-SERS obtidos para os sistemas de multicamadas variaram entre $2,7 \times 10^3$ e $4,1 \times 10^4$, valores de EF equivalentes a sistemas como eletrodo de ouro ou prata ativado eletroquimicamente ou mesmo substratos de ouro comercializados, como o Klarite® (21,26).

O que acontece com a distribuição de intensidades SERS caso analisemos sistemas em que apenas alguns agregados de AuNB estariam contribuindo para o sinal SERS? Na Figura 48 é apresentado um dos mapeamentos SERS obtidos em regiões contendo poucos agregados de AuNB aleatoriamente dispersos na superfície.

Figura 48: Mapeamento SERS em sistemas de agregados de AuNB. (A) Imagem SEM para uma das áreas mapeadas por SERS. (B) Espectros SERS para uma sequência de mapeamentos e (C) Distribuição de intensidades SERS para vários sistemas com o apresentado em (A). A linha sólida refere-se a uma curva de distribuição lognormal.

Ao contrário do sistema anterior, estes sistemas apresentam AuNB dispersos na superfície de modo que apenas alguns poucos agregados estão no volume focal de análise. Isto leva a análises de regiões em que há poucos AuNB. Observa-se que o histograma de intensidade apresenta um comportamento do tipo lognormal, linha sólida refere-se a curva de distribuição, diferente daquele apresentado na Figura 47D. Este comportamento mostra valores de intensidade SERS bem maiores do que o valor médio ($I/\langle I \rangle$ maior do que 1), bem como um maior número de espectros com baixos valores de intensidade ($I/\langle I \rangle$ menor do que 1). A mudança no comportamento da distribuição de intensidades reflete às características destes substratos. É possível observar, na Figura 48C, valores bem menores de intensidade quando comparado com o sistema de multicamada. Este comportamento é consequência de um menor número de *hotspots*.

Se houve variação da distribuição da I_{SERS} , como se comportaria esta distribuição se os experimentos fossem realizados em substrato contendo AuNB individuais ou agregados de no máximo cinco nanopartículas? Na Figura 49 é apresentada a distribuição de intensidades SERS

para sistemas contendo agregados de AuNB com no máximo quatro nanopartículas e imagens SEM obtidas de uma das regiões analisadas.

Figura 49: (A) Histograma das intensidades SERS para substratos dominados por AuNB individuais e agregados de até cinco AuNB. A linha sólida refere-se a uma curva de distribuição exponencial. (B) Imagens de elétrons secundário SEM de uma das regiões analisadas.

Observa-se que o formato do histograma passou a ser do tipo exponencial, mostrando que boa parte dos espectros apresentam intensidade zero ou intensidades bem maiores do que o valor médio. Estes resultados corroboram com alguns estudos que mostram que quando passamos a estudar sistemas dominados por poucos *hotspots* observa-se o aumento da quantidade de espectros com altas intensidades SERS, como consequência de regiões de alta intensificação de campo eletromagnético (181) ao mesmo tempo tem-se o aumento de eventos com intensidade zero.

Também foram calculados EF-SERS para sistemas de agregados de AuNB. Para estes cálculos foi considerado apenas o agregado responsável pelo sinal SERS obtido. Os valores obtidos variaram entre $1,3 \times 10^5$ e $1,0 \times 10^6$. Para estes cálculos de EF, o valor de A_{NP} foi obtido levando em consideração a área total das partículas nos agregados responsáveis pelo espectro

obtido. Conforme descrito na seção experimental, equação (19), o valor de EF é normalizado levando em consideração a área superficial das nanoestruturas e a cobertura superficial da molécula sonda. Como o sinal SERS gerado advém apenas das moléculas que estão na superfície das nanoestruturas observa-se que os sistemas dominados por agregados individuais apresentam uma maior intensificação do sinal SERS quando comparado com os substratos de multicamadas.

Os resultados desta seção mostram que sistemas dominados por poucos agregados de AuNB fornecem uma maior dispersão de intensidades SERS, valores de I_{SERS} muito maiores ou muito menores do que o valor médio, quando comparados com sistemas formados por muitos agregados (substratos de multicamadas AuNB) e valores de EF-SERS maiores. Esta dispersão da I_{SERS} para sistemas de poucos agregados levanta a questão sobre qual seria a dependência entre a morfologia dos agregados e o sinal SERS. À vista disso, na próxima seção, objetivamos correlacionar o espectro SERS de agregados individuais de AuNB e sua respectiva morfologia, descrita por microscopia eletrônica.

5.2.2. Correlação SERS e morfologia de agregados individuais de AuNB

Os resultados aqui obtidos foram realizados em substratos secos e por isso não dinâmicos, outra vantagem para cumprir nossos objetivos foi que trabalhamos apenas com agregados individuais. Esta abordagem nos permitiu relacionarmos diretamente o espectro SERS com o agregado responsável, como discutido na seção experimental.

Os AuNB utilizados nesta primeira sequência de correlações apresentaram dimensões de 35 ± 6 nm de comprimento e 14 ± 3 de largura, portanto uma razão de aspecto de 2,5. Na Figura 50 é apresentado o espectro de extinção da suspensão coloidal. Observa-se um espectro de extinção típico de uma suspensão de AuNB, embora a banda centrada em 520 nm apresente um comportamento diferente do esperado. Este comportamento sugere a presença de NP com formato esférico que também apresentam plasmon na mesma região que o modo transversal dos AuNB. A maior intensidade do modo longitudinal, banda centrada em 690 nm, sugere que predominantemente houve formação de nanobastões. A partir das imagens eletrônicas das nanopartículas, apresentadas a seguir, será possível observar entre os agregados de AuNB algumas partículas com formatos esféricos.

Figura 50: Espectro de extinção da suspensão coloidal de AuNB tendo dimensões de 35 ± 6 nm de comprimento e 14 ± 3 nm de largura.

Na Figura 51 são apresentadas imagens STEM-SEM de agregados de AuNB e seus respectivos espectros SERS. Os espectros SERS não apresentam correção de linha base e foi utilizado, como padrão, a intensidade da banda $519,8\text{ cm}^{-1}$ do silício para verificar se a resposta do equipamento se reproduzia.

A intensidade dos espectros SERS diminuem do agregado 1 para o 5. Observa-se que o agregado com maior intensidade é aquele com um número maior de nanopartículas. Quanto ao agregado 2 e 5, ambos tem um número próximo de partículas, no entanto o agregado 5 apresenta um espectro SERS com menor intensidade. Já os agregados 3 e 4, que também tem a mesma quantidade de partículas, apresentam intensidade SERS semelhantes. Estes resultados sugerem que há alguma relação com a forma como as partículas estão interagindo.

Figura 51: Imagens STEM-SEM de agregados de AuNB e seus respectivos espectros SERS. As imagens foram obtidas com voltagem de aceleração de 30 kV. Os espectros SERS foram obtidos com $\lambda_0 = 785$ nm, tempo de aquisição 10s e potência $\approx 17 \mu\text{W}$.

Objetivando entender a possível tendência entre a interação de AuNB e o sinal SERS, apresentamos na Figura 52 três agregados de nanobastões e seus respectivos espectros SERS. Estas três correlações apresentadas nos permitem ver um padrão no comportamento da intensidade SERS em que o espectro SERS referente ao agregado 1 apresenta valores de I_{SERS} maiores do que o agregado 2 que por sua vez apresenta valores maiores do que o agregado 3. Considerando a morfologia dos agregados verifica-se que há uma tendência a menores intensidades SERS para aqueles agregados em que predominam interações lado a lado. Mesmo caso do agregado 5 na Figura 51. O fundo apresentado nos espectros, na região entre 1300 e 1600 cm^{-1} , é devido ao carbono amorfo presente na superfície utilizada para deposição dos AuNB.

Figura 52: Espectros SERS e imagens STEM-SEM dos agregados de AuNB. As imagens de transmissão SEM foram obtidas com voltagem de aceleração de 30 kV. Os espectros SERS foram obtidos com $\lambda_0 = 785 \text{ nm}$, tempo de aquisição 10s e potência $\approx 17 \mu\text{W}$.

Outra sequência de experimentos foram realizadas utilizando uma diferente síntese de AuNB. Na Figura 53 é apresentado o espectro de extinção da suspensão coloidal e imagens TEM bem como a distância média obtida entre os AuNB nos agregados formados. Este formato, para

o espectro de extinção, é típico de uma suspensão de AuNB em que tem-se predominantemente nanopartículas com formato do tipo bastão com baixíssimas quantidades de nanopartículas com outros formatos. As partículas apresentaram comprimento e largura de 48 ± 4 nm e 16 ± 2 nm respectivamente, com uma razão de aspecto de 3,0. Também foi verificado que a distância média entre os AuNB nos agregados formados foi de aproximadamente 1,05 nm.

Figura 53: (A) Espectro de extinção da suspensão de nanobastões de ouro (AuNB) e (B) imagens eletrônicas de transmissão, obtidas por TEM. A distância média entre os AuNB foi de 1,05 nm.

Objetivando entender o papel do número de partículas no agregado bem como o feito da morfologia, na resposta SERS, passamos a uma nova sequência de correlações SERS – morfologia. Os espectros foram separados em grupos, levando-se em consideração a quantidade de AuNB nos agregados.

Na Figura 54 são apresentados os espectros SERS e as imagens eletrônicas de transmissão para agregados constituídos de quatro nanobastões. Observa-se que o agregado 1 apresenta o espectro SERS com maior intensidade dos três e, é o único em que a banda em 1583 cm^{-1} está melhor resolvida. A diferença de intensidades entre os espectros correspondentes aos agregados 2 e 3 são bem pequenas. Os agregados 2 e 3, apresentam tanto interações do tipo lado a lado quanto do tipo ponta a ponta, já o agregado 1 apresenta apenas interações do tipo ponta a ponta. A maior relação sinal ruído para esta nova sequência de

correlações se deve a um menor tempo de aquisição utilizado, 1s, contra 10s para as correlações anteriores.

Figura 54: Imagens eletrônicas de transmissão (TEM) de agregados de nanobastões de ouro (AuNB) e seus respectivos espectros SERS. As imagens TEM foram obtidas com voltagem de aceleração de 200 kV. Os espectros SERS foram obtidos com $\lambda_0 = 785$ nm, tempo de aquisição 1s e potência $\approx 17 \mu\text{W}$.

Na Figura 55 são apresentados os espectros SERS e imagens TEM para agregados contendo entre 6 e 8 AuNB. Por ter um número maior de nanobastões estes agregados apresentam uma maior desorganização tornando difícil uma direta correlação entre a morfologia e a intensidade SERS, embora ainda se observe um padrão de variação da intensidade SERS. Observa-se que os agregados 2 e 3 têm uma morfologia semelhante, o que justifica a intensidade dos espectros serem bastante semelhantes. Quanto aos agregados 1 e 4 observa-se que há uma maior intensidade para o agregado 1, isto pode ser devido ao maior

número de pontos em que há interação ponta a ponta entre os AuNB e, a presença do nanocubo o que poderia estar contribuindo para uma maior intensidade SERS.

Figura 55: Imagens eletrônicas de transmissão (TEM) de agregados de nanobastões de ouro (AuNB) e seus respectivos espectros SERS. As imagens TEM foram obtidas com voltagem de aceleração de 200 kV. Os espectros SERS foram obtidos com $\lambda_0 = 785$ nm, tempo de aquisição 1 s e potência ≈ 17 μ W.

Na Figura 56 é apresentada outra sequência de espectros SERS e às respectivas imagens eletrônicas de transmissão para agregados contendo entre 10 e 11 nanobastões. Observa-se que os espectros apresentam valores de intensidade, tanto para a banda 1075 cm^{-1} quanto para o espectro como um todo maiores do que os espectros obtidos para os agregados anteriores, Figura 54 e Figura 55. Os agregados apresentados fornecem maior quantidade de *hotspots* capazes de proporcionar maiores valores de intensificação do sinal SERS. Neste conjunto de agregados não é possível verificar uma tendência entre a morfologia do agregado e a intensidade SERS como nos anteriores. Por exemplo, esperar-se-ia que o agregado 3 apresentasse uma maior intensidade SERS, por ter uma maior interação do tipo ponta a ponta, o que não ocorre. Agregados maiores, e portanto mais complexos, tornam este tipo de análise mais difícil e ao mesmo tempo aponta para a necessidade de outras técnicas experimentais que melhor permitam entender o sistema, principalmente em termos de acoplamento plasmônico entre as nanopartículas. Por exemplo, a utilização de espectroscopia de perda de energia de elétrons acoplada a um microscópio de transmissão de alta resolução (EELS/STEM) (182). É preciso também lembrar que a formação de agregados leva a um alargamento da banda de ressonância do LSPR devido a maior probabilidade de relaxação por espalhamento. Este comportamento permitiria um acoplamento mais eficiente entre a banda plasmonica e a radiação incidente tornando a I_{SERS} maior.

Figura 56: Imagens eletrônicas de transmissão (TEM) de agregados de nanobastões de ouro (AuNB) e seus respectivos espectros SERS. As imagens TEM foram obtidas com voltagem de aceleração de 200 kV. Os espectros SERS foram obtidos com $\lambda_0 = 785$ nm, tempo de aquisição 1s e potência $\approx 17 \mu\text{W}$.

Os resultados obtidos podem ser interpretados levando em consideração dois efeitos. Primeiro, o tipo de interação entre os AuNB influenciará no deslocamento do valor máximo para o plasmon localizado de superfície (LSPR) quando comparado com o LSPR do AuNB isolado. O segundo efeito que poderia ser considerado seria a eficiência na intensificação do campo eletromagnético pelos *hotspot* formados.

Com a possibilidade de variação do LSPR com a agregação dos AuNB e mantendo-se fixo o valor da radiação incidente, $\lambda_0 = 785$ nm, poderíamos interpretar os resultados a partir da possibilidade dos agregados em apresentarem um LSPR próximo ou não da $\lambda_0 = 785$ nm.

Têm sido discutido na literatura que quando numa interação entre nanobastões de ouro predominam interações ponta-ponta ocorre um deslocamento do plasmon para maiores comprimentos de onda e, para menores valores de comprimento de onda, quando na configuração predominam interações lado a lado (53,88,166,183). Estes deslocamentos têm como referência o valor do plasmon obtido pelo espectro de extinção da suspensão coloidal, onde os nanobastões não apresentam interações preferenciais. O problema desta correlação em solução é que devido à dinâmica da suspensão coloidal não há como controlar o tipo de agregado na região confocal, ou seja, durante a análise. Portanto, a resposta será uma média dos agregados que estiveram no volume de análise.

Um estudo mais próximo ao que desenvolvemos aqui, portanto considerando as análises em sistemas estáticos, foi realizado por Qianqian Tong *et al.* (170). Neste estudo eles desenvolveram uma metodologia para ordenamento dos AuNBs, em modelos poliméricos, de modo a organizarem os AuNB ponta a ponta. A caracterização SERS destes sistemas mostrou uma extrema localização de campo eletromagnético e que as estruturas se apresentaram totalmente dependentes da polarização do laser. Os autores obtiveram sinal SERS cerca de 24 vezes maior quando os AuNB estava alinhados com relação a polarização do laser. Embora não fosse objetivo dos autores estudarem o acoplamento de plasmon dos AuNB, os mesmos se comportaram de modo a apresentarem maiores intensificações de campo quando seu alinhamento é ponta a ponta. Outro estudo com AuNB, desta vez em pequenos agregados, foi realizado por Jatish Kuma *et al.* (60). Os autores estudaram agregados individuais de AuNB interagindo ponta a ponta com vários ângulos combinando espectroscopia de campo escuro e microscopia eletrônica de varredura de alta resolução. Eles foram capazes de mostrar experimentalmente a variação do plasmon dos AuNB para a região do vermelho quando as partículas eram agregadas ponta a ponta. Os agregados apresentaram uma dependência quanto à polarização do laser devido a excitação coletiva de modos plasmônicos do tipo ligante e anti-ligante. Previamente o mesmo grupo, Alison M. Funston *et al.* (166), havia publicado um estudo da natureza do acoplamento entre os modos plasmônicos de trímeros de AuNB. Eles chegaram à conclusão de que a dependência da energia dos acoplamentos estaria relacionada à morfologia e ao espaçamento entre as nanopartículas.

Observa-se que os efeitos discutidos aqui não interferem na intensidade relativa entre as bandas. Este comportamento sugere uma baixa influência do mecanismo de transferência de carga, que refletiria numa maior variação de intensidade da banda 1143 cm^{-1} relativa a 1077 cm^{-1} . Isto sugere que o mecanismo eletromagnético está contribuindo significativamente

para a variação da intensidade espectral. Outro ponto importante é que a variação da intensidade do espectro se dá em toda a janela espectral e não apenas em uma região do espectro, esta intensificação se dá, inclusive, no padrão do fundo referente ao substrato, carbono amorfo.

Os resultados obtidos aqui corroboram com às discussões da literatura quanto à dependência do tipo de agregação de AuNBs, lado a lado ou ponta a ponta, nas características plasmônicas e consequentemente na intensidade SERS para agregados de até 5 nanopartículas. Outro efeito que poderia contribuir juntamente com propriedades ópticas dos agregados são a intensidade de campo local fornecida pelos *hotspots*. Podemos realizar um estudo, ao menos, teórico do efeito da morfologia dos *hotspots* em agregados de AuNB por meio de simulações eletromagnéticas obtidas a partir do método de aproximação de dipolos discretos (DDA). A próxima seção apresentará uma discussão neste sentido, fornecendo ferramentas qualitativas para fundamentar os resultados obtidos nesta seção.

5.2.3. Simulações eletromagnéticas para “hot spots”

Na Figura 57 são apresentados os espectros de extinção simulados para nanobastões de ouro (AuNB) individual, dímeros interagindo ponta a ponta e lado a lado e um agregado com quatro AuNB obtidos por DDA.

Figura 57: Espectros de extinção simulados pelo método DDA para agregados de nanobastões de ouro (AuNB) individual, dímeros interagindo ponta a ponta e lado a lado e um agregado com quatro partículas. Imagem reproduzida com permissão da referência (184).

Observa-se na Figura 57 que quando a interação entre os AuNB se dá ponta a ponta há um deslocamento do plasmon para a região do vermelho. Quando esta interação é lado a lado observa-se um deslocamento para a região do azul do espectro eletromagnético. Para um tipo de interação com quatro nanobastões, tendo a morfologia como apresentada na estrutura em verde, observa-se um deslocamento para o vermelho embora com uma menor intensidade do que no caso de um dímero interagindo ponta a ponta. Se aproximamos dois dímeros interagindo ponta a ponta, formando um agregado de quatro AuNB, o pico do plasmon desloca-se para a região do azul, indicando o quão complexo o acoplamento entre os plasmon pode se tornar em agregados com mais do que duas nanopartículas. Os resultados para a interação entre AuNB têm sido interpretados na literatura segundo o modelo de éxcitons acoplados (hibridização de modos plasmônicos) em analogia ao modelo de hibridização de orbitais (185,186). Nesta teoria as interações entre AuNB individuais, os quais apresentam determinada energia, leva a formação de novos modos plasmonicos com diferentes energias. Estes novos modos plasmonicos são dependentes do tipo de interação entre os momentos de dipolos induzidos, podendo os mesmos interagirem paralelamente (soma dos momentos de dipolo induzidos) ou anti paralela (subtração dos momentos de dipolo induzidos). Uma discussão teórica mais detalhada quanto aos modos de interação entre os momentos de dipolo induzidos dos AuNBs

em dímeros ou trímeros de AuNB pode ser consultada nas referências anteriores ou, no capítulo 3 da Tese do Dr. Diego Pereira dos Santos (184).

Com o objetivo de entender o comportamento do campo eletromagnético em *hotspots*, para alguns dos agregados aqui estudados foram realizadas simulações dos mapas do fator de intensificação do campo eletromagnético (EFEM) simulados pelo método de DDA. Na Figura 58 são apresentados os mapas do perfil de intensificação EFEM para três dos agregados de AuNB.

Figura 58: Imagens STEM-SEM de agregados de AuNB e mapas do perfil de intensificação do campo eletromagnético (EFEM) simulados pelo método DDA, os valores máximos dos EF, barra de escala ao lado dos mapas são 10^6 e 10^5 respectivamente.

Observa-se, a partir das imagens SEM que os agregados considerados na simulação apresentam uma boa correspondência com os agregados reais. A partir da Figura 58 verifica-se que o agregado 1 apresenta os maiores valores de EFEM, tendo sua maior intensidade de campo na interação entre os bastões da parte superior, região mais vermelha. Já os agregados 2 e 3 apresentaram valores de EFEM muito próximos. Observa-se que nas junções entre os AuNB há uma grande intensificação de campo, principalmente os agregados 1 e 2. O agregado 3 apresenta uma maior interação entre AuNB somente na primeira junção, esquerda para a direita da imagem, isto provavelmente se deve ao fato deste bastão apresentar uma certa inclinação com relação ao seu vizinho. Estas regiões de alta intensidade de campo, são os chamados *hotspots* e por isso apresentam uma grande probabilidade de serem as regiões que mais influenciam no sinal SERS.

5.3. Conclusões

A metodologia proposta para a obtenção da correlação experimental entre a I_{SERS} e a morfologia dos agregados individuais se mostrou adequada.

Experimentos SERS, obtidos com radiação excitante 785 nm, mostraram que a morfologia dos agregados, ou seja, a forma como os AuNB interagem foram um fator significativo para determinar a maior ou menor intensidade do sinal SERS. Para pequenos agregados de AuNB (até 5 nanopartículas) o predomínio de interações ponta a ponta foi decisivo para a obtenção de espectros SERS com maior intensidade. No entanto, com o aumento do número de nanopartículas no agregado este comportamento foi diferente, sugerindo que sistemas dominados por interações ponta a ponta não mais seriam os que apresentariam maior sinal SERS, mas os que apresentam uma mistura das duas formas de agregação.

As simulações por DDA confirmaram que algumas morfologias contribuem para regiões de alta intensidade de campo eletromagnético, principalmente em regiões em que os AuNB interagem por pontas. Embora não tenha sido possível fazer uma correlação direta entre os resultados experimentais e teóricos, o mesmo nos permitiu observar a influência da morfologia do agregado na intensificação de campo e isto de alguma forma, imaginamos, está influenciando no resultado SERS para pequenos agregados.

We are workers whose day never ends.

*Auguste Rodin**

6

Desafios, questões em aberto e perspectivas futuras

Junções Moleculares

O SERS se mostrou uma técnica eficiente para a caracterização vibracional e acompanhamento do crescimento das moléculas pi-conjugadas para as junções moleculares sintetizadas neste projeto. Para uma completa caracterização dos fios moleculares a utilização de técnicas de caracterização de filmes finos, como por exemplo, Elipsometria ou Microscópio de Força Atômica (AFM) seriam técnicas que adicionariam na caracterização destes sistemas. Para uma segunda etapa do processo de síntese de novos fios moleculares com estruturas ainda não estudadas, estas técnicas permitiriam uma boa caracterização do processo de crescimento em um filme compacto para estes sistemas.

As JM se mostraram sistemas bem úteis para o estudo do acoplamento plasmônico entre as superfícies metálicas (filme de ouro - AuNP). Estes sistemas permitiram sugerir a possibilidade de uma interação dos plasmas de ressonância entre as superfícies dos AuNP e o substrato plano. No entanto a análise de diferentes modos vibracionais também mostrou que propriedades da molécula podem influenciar o sinal SERS e deste modo o sistema não seguiria o comportamento esperado pelo mecanismo eletromagnético. Os resultados obtidos se mostraram bastante promissores e abrem portas para um estudo mais sistemático quanto à influência do material do substrato base (ouro, prata, carbono, silício, etc.) em modificar as propriedades de ressonância plasmônica das nanopartículas. Também levanta questões quanto à correta escolha do sistema molecular quando se deseja estudar efeitos plasmônicos em tais sistemas, pois o sistema molecular poderia estar mascarando o efeito plasmônico.

Os estudos das JM levantaram várias possibilidades para um estudo mais sistemático quanto à síntese e caracterização de diversos fios moleculares (moléculas pi-conjugadas)

* François-Auguste-René Rodin foi um escultor francês. Frase exibida na entrada da exposição Rodin – *Metamorphoses*, em exibição no *Montreal Museum of Fine Arts* em Setembro de 2015.

visando sua posterior caracterização eletrônica e utilização como dispositivo eletrônico-molecular. Como também, estes sistemas se mostram bem promissores para o estudo da interação LSPR – Dipolo imagem e seu modelamento por meio de simulações do perfil de campo eletromagnético.

Correlação SERS – morfologia de agregados de AuNB

As dispersões para a intensidade SERS obtidos em vários substratos direcionaram os estudos objetivando a correlação SERS – morfologia da nanoestrutura, em sistemas de agregados individuais. O presente trabalho apresentou um método para esta correlação que permitiram uma análise significativa do efeito da morfologia das nanoestruturas no sinal SERS.

Embora para pequenos agregados de AuNB a tendência quanto às maiores intensidades SERS serem para aqueles em que interações ponta a ponta são predominantes. Este comportamento não acontece para agregados maiores onde um compromisso entre as duas morfologias (ponta a ponta e lado a lado) apresentam um papel decisivo na intensidade SERS. Estes resultados permitem pensar no design e construção de substratos SERS eficientes. Os substratos sintetizados a partir de AuNBs mais eficientes seriam aqueles que tenham os NB agregados das duas formas do que tendo-os alinhados de um mesmo modo.

Algumas técnicas que poderiam ser exploradas, numa segunda etapa do projeto, visando um melhor entendimento das propriedades ópticas e de campo local dos agregados individuais de AuNB. Técnicas como Microscopia de Campo Escuro (permitindo obter os espectros de extinção para os agregados individualmente) e Espectroscopia de Perda de Energia de Elétrons (EELS) acoplado a um Microscópio de Transmissão de alta resolução (HRTEM) (capaz de obter experimentalmente a resposta de campo local nas interações dos AuNB) seriam essenciais nestes estudos.

Este projeto de doutorado foi o primeiro do grupo a trabalhar com sistemas como junções moleculares e correlação SERS – morfologia de agregados de AuNB. Em vista disso, este projeto lança os fundamentos no estudo de tais sistemas e nas discussões advindas deles como: interação LSPR – dipolo imagem; influência da morfologia (em agregados individuais de nanopartículas) no sinal SERS; e, a influência do tamanho do espaçamento entre as superfícies metálicas (filme – NP) na ISERS e síntese e caracterização vibracional de fios moleculares.

Referências bibliográficas

1. Temperini MLA, Chagas HC, Sala O. Raman spectra of pyridine adsorbed on a copper electrode. *Chem Phys Lett*. 1981;79(1):75–8.
2. Temperini MLA, Barreto WJ, Sala O. The Dependence Of Sers On The Vibrational Mode, Exciting Radiation And Applied Potentin. *Chem Phys Lett*. 1983;99:145–52.
3. Temperini MLA, Lacconi GI, Sala O. Raman Spectroscopy Investigation Of The Silver Oxide/Silver Electrode Influence Of Experimental Conditions. *J Electroanal Chem*. 1987;227:21–8.
4. Temperini MLA, Sala O, Lacconi GI, Gioda AS, Machado VA, Arvia AJ. Correlation Between Sers Of Pyridine And Electrochemical Response Of Silver In Halide Free Alkaline Solution. *Langmuir*. 1988;4:1032–9.
5. Bertolino JR, Temperini MLA, Sala O. Sers Effectof Hexamethylenetetramine Adsorbed On Silver Electrode. *J Mol Struct*. 1988;178:113–20.
6. Bertolino JR, Temperini MLA, Sala O. Sers Of The Redox Pair Co(Sep)3p/Co(Sep)2 Silver And Coprer Electrodes. *J Raman Spectrosc*. 1989;20:725–8.
7. Santana H de, Temperini MLA. Spectroelectrochemical Study Of Iodide Iodate And Periodate On A Silver Electrode In Alkaline Aqueous Solution. *Electroanalytical Chem*. 1991;316:93–105.
8. Bilmes SA, Rubim JC, Otto A, Arvia AJ. SERS from pyridine adsorbed on electrodispersed platinum electrodes. *Chem Phys Lett*. 1989;159(1):89–96.
9. Mrozek I, Otto A. Quantitative separation of the “classical” electromagnetic and the “chemical” contribution to surface enhanced Raman scattering. *J Electron Spectros Relat Phenomena*. 1990;54–55:895–911.
10. Pinheiro LS, Temperini MLA. SERS effect of pyridine-n-aldehyde thiosmicarbazone on a silver ektrode. *J Electroanal Chem*. 1990;295:169–81.
11. Santos MR dos. Elucidação dos mecanismos de adsorção e redução da tiosemicarbazona do 2-piridinacarbaldeído por métodos espectroscópicos. [dissertação] São Paulo: Universidade de São Paulo; 1995.
12. Pessôa M de MB. Caracterização espectroscópica das tiossemicarbazonas das n-formilpiridinas e derivados. [tese] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2002.
13. Andrade GFS. Caracterização espectroscopica da tiossemicarbazona do formilferroceno (TFF) através das técnicas SERS e Raman Ressonante. [dissertação] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2003.
14. Carlos A, Ana S. Caracterização da 2,2':6',2"-terpiridina adsorvida sobre superfície de prata, através da técnica sers. [dissertação] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2001.

15. Costa JCS, Sant'Ana AC, Corio P, Temperini MLA. Chemical analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons by surface-enhanced Raman spectroscopy. *Talanta*. 2006;70(5):1011–6.
16. Aguiar HB, Sant'Ana AC, Temperini MLA, Corio P, Cunha F. Surface enhanced Raman spectroscopy analysis of the adsorption of 2-thiouracil to Au, Ag and Cu electrodes: Surface potential dependence. *Vib Spectrosc*. 2006;40(1):127–32.
17. Brolo AG. Estudos espectroquímicos em interfaces metal-solução: corrosão e eletrodos modificados. [dissertação] São Paulo: Universidade de São Paulo; 1993.
18. Carlos A, Ana S. Instituto de Química Universidade de São Paulo Caracterização do ácido esvárico e materiais. [tese] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.
19. Sant'Ana AC, Rocha TCR, Santos PS, Zanchet D, Temperini MLA. Size-dependent SERS enhancement of colloidal silver nanoplates: the case of 2-amino-5-nitropyridine. *J Raman Spectrosc*. John Wiley & Sons, Ltd.; 2009;40(2):183–90.
20. Andrade GFS. Adsorção molecular em metais de transição (ferro, cobalto e níquel) monitorada pela técnica de espalhamento Raman intensificado pela superfície: diferentes tipos de substratos metálicos. [tese] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2007.
21. Daniel Cardoso Rodrigues. Efeito da geometria de nanoestruturas de ouro na intensificação do espalhamento Raman. [dissertação] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2013.
22. Santos DP dos. Espalhamento Raman intensificado pela superfície (SERS) no regime de detecção de uma molécula. [tese] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2013.
23. Kiefer W. Recent Advances in linear and nonlinear Raman spectroscopy I. *J Raman Spectrosc*. 2007;38:1538–53.
24. Marcelo M. Nobrega, Matteo Ceppatelli, Marcia L. A. Temperini RB. Pressure-Induced Reactivity in the Emeraldine Salt and Base Forms of Polyaniline Probed by FTIR and Raman. *J Phys Chem C*. 2014;118(47):27559.
25. Nobrega MM, Izumi CMS, Temperini MLA. Probing molecular ordering in the HCl-doped polyaniline with bulk and nanofiber morphology by their thermal behavior. *Polym Degrad Stab*. 2015;113:66–71.
26. Daniel Cardoso Rodrigues, Souza ML, Souza KS, Santos D, Andrade GFS, Temperini MLA. Critical assessment of enhancement factor measurements in surface-enhanced Raman scattering on different substrates. *Phys Chem Chem Phys*. Royal Society of Chemistry; 2015;17(1):21294.
27. dos Santos Abreu D, de F. Paulo T, Temperini MLA, Diógenes ICN. Electrochemical, surface enhanced Raman scattering and surface plasmon resonance investigations on the coordination of cyanopyridine to ruthenium on surface. *Electrochim Acta*. 2014;122:204–9.
28. da Silva AGM, de Souza ML, Rodrigues TS, Alves RS, Temperini MLA, Camargo PHC.

- Rapid Synthesis of Hollow Ag–Au Nanodendrites in 15 Seconds by Combining Galvanic Replacement and Precursor Reduction Reactions. *Chem – A Eur J*. WILEY-VCH Verlag; 2014;20(46):15040–6.
29. Inoue F, Ando RA, Izumi CMS, Corio P. Spectroscopic Characterization of Carbon Nanotube-Polypyrrole Composites. *J Phys Chem C* . 2014;118(31):18240–8.
 30. de Souza ML, Tristao DC, Corio P. Vibrational study of adsorption of Congo red onto TiO₂ and the LSPR effect on its photocatalytic degradation process. *RSC Adv*. 2014;4(44):23351–8.
 31. Rodrigues F, Galante D, do Nascimento GM, Santos PS. Interionic Interactions in Imidazolic Ionic Liquids Probed by Soft X-ray Absorption Spectroscopy. *J Phys Chem B*. 2012;116(5):1491–8.
 32. Cavalcante A de O, Ribeiro MCC, Skaf MS. Polarizability effects on the structure and dynamics of ionic liquids. *J Chem Phys*. 2014;140(14).
 33. Mauro C.C. Ribeiroa, Agílio A.H. Páduab MFCG. Equations of states for an ionic liquid under high pressure: A molecular dynamics simulation study. *J Chem Thermodyn*. 2014;74:39.
 34. Bernardino ND, Puglieri TS, de Faria DLA. Effect of MnO₂ and α -Fe₂O₃ on organic binders degradation investigated by Raman spectroscopy. *Vib Spectrosc*. 2014;70(0):70–7.
 35. Raman C V., Krishnan KS. The Production of New Radiations by Light Scattering. Part I. *Proc R Soc A Math Phys Eng Sci*. 1929; 122(789):23–35.
 36. Faria DLA de, Santos LGC, Gonçalves NS. Uma Demonstração Sobre o Espalhamento Inelástico de Luz: Repetindo o Experimento de Raman. *Química Nova*. 1997. p. 319–23.
 37. Long DA. *The Raman Effect: A Unified Treatment of the Theory of Raman Scattering by Molecules*. John Wiley & Sons Ltd; 2002.
 38. McHale JL. *Molecular Spectroscopy*. Prentice Hall; 1999. 463 p.
 39. Fleischmann M, Hendra PJ, McQuillan AJ. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem Phys Lett*. 1974;26(2):163–6.
 40. Jeanmaire DL, Duyne RP Van. Surface raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. *J Electroanal Chem Interfacial Electrochem*. 1977;84(1):1–20.
 41. Albrecht MG, Creighton JA. Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. *J Am Chem Soc*. 1977;99(15):5215–7.
 42. Temperini MLA, Chagas HC, Sala O. Raman Spectra Of Pyridini Adsorbed On A Copper Electrode. *Chem Phys Lett*. 1981;79:75–9.
 43. Kneipp K, Wang Y, Kneipp H, Perelman LT, Itzkan I, Dasari RR, et al. Single Molecule

- Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). *Phys Rev Lett. American Physical Society*; 1997;78(9):1667–70.
44. Nie S, Emory SR. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. *Science* 1997;275(5303):1102.
45. Aroca R. *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2006.
46. Ru EC, Le, Etchegoin PG. *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and related plasmonic effects*. 1st ed. Vasa. Elsevier B.V.; 2009. 6 p.
47. Valley N, Greeneltch N, Van Duyne RP, Schatz GC. A Look at the Origin and Magnitude of the Chemical Contribution to the Enhancement Mechanism of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS): Theory and Experiment. *J Phys Chem Lett*. 2013; 4(16):2599–604.
48. Schlucker S, editor. *Surface Enhanced Raman Spectroscopy: Analytical, Biophysical and Life Science Application*. Weinheim, Germany: WILEY-VCH Verlag; 2011. 323 p.
49. Jain PK, Huang W, El-Sayed M a. On the Universal Scaling Behavior of the Distance Decay of Plasmon Coupling in Metal Nanoparticle Pairs: A Plasmon Ruler Equation. *Nano Lett*. 2007 Jul;7(7):2080–8.
50. Huang W, Qian W, Jain PK, El-Sayed MA. The Effect of Plasmon Field on the Coherent Lattice Phonon Oscillation in Electron-Beam Fabricated Gold Nanoparticle Pairs. *Nano Lett*. 2007;7(10):3227–34.
51. Grésillon S, Aigouy L, Boccara a., Rivoal J, Quelin X, Desmarest C, et al. Experimental Observation of Localized Optical Excitations in Random Metal-Dielectric Films. *Phys Rev Lett*. 1999;82:4520–3.
52. Michaels AM, Brus L. Ag Nanocrystal Junctions as the Site for Surface-Enhanced Raman Scattering of Single Rhodamine 6G Molecules. *J Phys Chem B*. 2000 Dec;104(50):11965–71.
53. Lee A, Ahmed A, dos Santos DP, Coombs N, Park J Il, Gordon R, et al. Side-by-Side Assembly of Gold Nanorods Reduces Ensemble-Averaged SERS Intensity. *J Phys Chem C*. 2012 ;116(9):5538–45.
54. Lee A, Andrade GFS, Ahmed A, Souza ML, Coombs N, Liu K, et al. Probing Dynamic Generation of Hot-Spots in Self- Assembled Chains of Gold Nanorods by SERS. *J Am Chem Soc*. 2011;133:7563.
55. Etchegoin PG, Le Ru EC. *Surface enhanced Raman spectroscopy: Analitical and life science application*. Schlücker S, editor. WILEY-VCH; 2011.
56. Santos DP dos, Temperini ML a., Brolo AG. *Surface-Enhanced Raman Scattering: Principles and Application for single-Molecule Detection*. In: Szunerits S, Boukherroub R, editors. *Introduction to Plasmonics: Advances and application*. Pan Stanford; 2015. p. 358.

57. Zhang W, Dong J-C, Li C-Y, Chen S, Zhan C, Panneerselvam R, et al. Large scale synthesis of pinhole-free shell-isolated nanoparticles (SHINS) using improved atomic layer deposition (ALD) method for practical applications. *J Raman Spectrosc.* 2015; 43:1200-1204.
58. Mahmoud M a. Super-radiant plasmon mode is more efficient for SERS than the sub-radiant mode in highly packed 2D gold nanocube arrays. *J Chem Phys.* 2015;143(7):074703.
59. Henzie J, Andrews S. Oriented assembly of polyhedral plasmonic nanoparticle clusters. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(17):6640–5.
60. Kumar J, Wei X, Barrow S, Funston AM, Thomas KG, Mulvaney P. Surface plasmon coupling in end-to-end linked gold nanorod dimers and trimers. *Phys Chem Chem Phys* 2013;15(12):4258–64.
61. Moskovits M. Persistent misconceptions regarding SERS. *Phys Chem Chem Phys.* 2013;15(15):5301–11.
62. Otto A, Billmann J, Eickmans J, Ertürk U, Pettenkofer C. The “adatom model” of {SERS} (Surface Enhanced Raman Scattering): The present status. *Surf Sci.* 1984;138(2–3):319–38.
63. Lombardi JR, Birke RL, Sanchez LA, Bernard I, Sun SC. The effect of molecular structure on voltage induced shifts of charge transfer excitation in surface enhanced Raman scattering. *Chem Phys Lett.* 1984;104(2–3):240–7.
64. (1) Corio, P.; Rubim, J. C. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy on Electrode Surfaces as a Tool to Characterize LUMOs of Inorganic Complexes with Two Different Ligands . The Case of the Ion Complex [Ru(bipy)2viol]⁺. *J. Raman Spectrosc.* 1997, 28, 235–241.
65. Corio P, Rubim JC, Aroca R. Contribution of the Herzberg-Teller mechanism to the surface-enhanced Raman scattering of iron phthalocyanine adsorbed on a silver electrode. *Langmuir.* 1998;14(15):4162–8.
66. A. M. Michaels M. Nirmal, Brus LE. Surface Enhanced Raman Spectroscopy of Individual Rhodamine 6G Molecule on Large Ag Nanocrystals. *J Am Chem Soc.* 1999;121(16):9932–9.
67. Lombardi JR, Birke RL. The theory of surface-enhanced Raman scattering. *J Chem Phys.* 2012;136(14):144704.
68. Huang Y-F, Wu D-Y, Zhu H-P, Zhao L-B, Liu G-K, Ren B, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopic study of p-aminothiophenol. *Phys Chem Chem Phys.* 2012;8485–97.
69. Wu D-Y, Li J-F, Ren B, Tian Z-Q. Electrochemical surface-enhanced Raman spectroscopy of nanostructures. *Chem Soc Rev.* 2008;37(5):1025–41.
70. Chenal C, Birke RL, Lombardi JR. Determination of the degree of charge-transfer

- contributions to surface-enhanced Raman spectroscopy. *Chemphyschem.* 2008;9(11):1617–23.
71. Moskovits M. Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective. *J Raman Spectrosc.* 2005;36(6-7):485–96.
72. Otto A. The “chemical” (electronic) contribution to surface-enhanced Raman scattering. *J Raman Spectrosc.* 2005;36(6-7):497–509.
73. Lombardi JR, Birke RL. A Unified Approach to Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *J Phys Chem C.* 2008;112(14):5605–17.
74. Lombardi, J. R.; Birke, R. L. The Theory of Surface-Enhanced Raman Scattering. *J. Chem. Phys.* 2012, 136, 144704.
75. Yue W, Wang Z, Yang Y, Chen L, Syed A, Wong K, et al. Electron-beam lithography of gold nanostructures for surface-enhanced Raman scattering. *J Micromechanics Microengineering.* 2012;22(12):125007.
76. Lin Y-Y, Liao J-D, Ju Y-H, Chang C-W, Shiau A-L. Focused ion beam-fabricated Au micro/nanostructures used as a surface enhanced Raman scattering-active substrate for trace detection of molecules and influenza virus. *Nanotechnology.* 2011;22(18):185308.
77. Batista E a., dos Santos DP, Andrade GFS, Sant’Ana AC, Brolo AG, Temperini ML a. Using Polycarbonate Membranes as Templates for the Preparation of Au Nanostructures for Surface-Enhanced Raman Scattering. *J Nanosci Nanotechnol.* 2009;9(5):3233–8.
78. Ros I, Placido T, Amendola V, Marini C, Manfredi N, Comparelli R, et al. SERS Properties of Gold Nanorods at Resonance with Molecular, Transverse, and Longitudinal Plasmon Excitations. *Plasmonics.* 2014;1–13.
79. Pennycook SJ, Nellist PD, editors. *Scanning Transmission Electron Microscopy Imaging and Analysis.* New York, NY: Springer Science; 2011.
80. Goldstein J, Newbury D, Echlin P, Joy D, Lyman C, Lifshin E, et al. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis.* Springer Science; 2003. 690 p.
81. Pazos-Perez N, Garcia de Abajo FJ, Fery A, Alvarez-Puebla R a. From nano to micro: synthesis and optical properties of homogeneous spheroidal gold particles and their superlattices. *Langmuir.* 2012;28(24):8909–14.
82. Nikoobakht B, El-Sayed M. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. *Chem Mater.* 2003;(16):1957–62.
83. Trasatti, S.; Petrii, O. A. REAL SURFACE AREA MEASUREMENTS. *Pure Appl. Chem.* 1991, 63, 711–734.
84. Biegler T, Rand DAJ, Woods R. Limiting oxygen coverage on platinized platinum; Relevance to determination of real platinum area by hydrogen adsorption. *J Electroanal Chem Interfacial Electrochem.* 1971;29(2):269–77.
85. Frens G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse

- Gold Suspensions. *Nat Phys Sci*. 1973;241(105):20–2.
86. Kimling J, Maier M, Okenve V, Kotaidis V, Ballot H, Plech a, et al. Turkevitch method for gold nanoparticle synthesis revisited. *J Phys Chem B*. 2006;110:15700.
 87. Lee A, Andrade GFS, Ahmed A, Souza ML, Coombs N, Tumarkin E, et al. Probing dynamic generation of hot-spots in self-assembled chains of gold nanorods by surface-enhanced Raman scattering. *J Am Chem Soc*. 2011;133(19):7563–70.
 88. Yi Z, Xu X, Li X, Luo J, Wu W, Tang Y, et al. Facile preparation of Au/Ag bimetallic hollow nanospheres and its application in surface-enhanced Raman scattering. *Appl Surf Sci*. Elsevier B.V.; 2011;258(1):212–7.
 89. Liu G, Luais E, Gooding JJ. The fabrication of stable gold nanoparticle-modified interfaces for electrochemistry. *Langmuir*. 2011;27(7):4176–83.
 90. Sharma V, Park K, Srinivasarao M. Colloidal dispersion of gold nanorods: Historical background, optical properties, seed-mediated synthesis, shape separation and self-assembly. *Mater Sci Eng R Reports*. 2009;65(1-3):1–38.
 91. Huang X, Neretina S, El-Sayed M a. Gold Nanorods: From Synthesis and Properties to Biological and Biomedical Applications. *Adv Mater*. 2009;21(48):4880–910.
 92. Ferrier RC, Gines G, Gasparutto D, Pépin-Donat B, Rannou P, Composto RJ. Tuning Optical Properties of Functionalized Gold Nanorods through Controlled Interactions with Organic Semiconductors. *J Phys Chem C*. 2015;119(31):17899–909.
 93. John CL, Strating SL, Shephard K a., Zhao JX. Reproducibly synthesize gold nanorods and maintain their stability. *RSC Adv*. 2013;3(27):10909.
 94. Casas J, Venkataramasubramani M, Wang Y, Tang L. Replacement of cetyltrimethylammoniumbromide bilayer on gold nanorod by alkanethiol crosslinker for enhanced plasmon resonance sensitivity. *Biosens Bioelectron*. 2013;49:525–30.
 95. Jackson SR, McBride JR, Rosenthal SJ, Wright DW. Where’s the silver? Imaging trace silver coverage on the surface of gold nanorods. *J Am Chem Soc*. 2014;136(14):5261.
 96. Lohse SE, Murphy CJ. The Quest for Shape Control: A History of Gold Nanorod Synthesis. *Chem Mater*. 2013 ;25(8):1250–61.
 97. Wadams RC, Fabris L, Vaia R a., Park K. Time-Dependent Susceptibility of the Growth of Gold Nanorods to the Addition of a Cosurfactant. *Chem Mater*. 2013;25(23):4772–80.
 98. Rosink JJWM, Blauw MA, Geerligs LJ, Drift E Van Der, Rousseeuw BAC, Radelaar S. Self-Assembly of π -Conjugated Azomethine Oligomers by Sequential Deposition of Monomers from Solution. 2000;(3):4547–53.
 99. Luo L, Choi SH, Frisbie CD. Probing Hopping Conduction in Conjugated Molecular Wires Connected to Metal Electrodes †. *Chem Mater*. 2011;23(3):631–45.
 100. Choi SH, Risko C, Delgado MCR, Kim B, Brédas J-L, Frisbie CD. Transition from

- tunneling to hopping transport in long, conjugated oligo-imine wires connected to metals. *J Am Chem Soc.* 2010;132(12):4358–68.
101. Ho Choi S, Kim B, Frisbie CD. Electrical resistance of long conjugated molecular wires. *Science.* 2008;320(5882):1482–6.
 102. Ashwell GJ, Williams AT, Barnes S a., Chappell SL, Phillips LJ, Robinson BJ, et al. Self-Assembly of Amino–Thiols via Gold–Nitrogen Links and Consequence for in situ Elongation of Molecular Wires on Surface-Modified Electrodes. *J Phys Chem C.* 2011;115(10):4200.
 103. Becke AD. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J Chem Phys.* 1993;98(7).
 104. McLean AD, Chandler GS. Contracted Gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms, $Z=11-18$. *J Chem Phys.* 1980;72(10).
 105. Krishnan R, Binkley JS, Seeger R, Pople JA. Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *J Chem Phys.* 1980;72(1).
 106. Hay PJ, Wadt WR. Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg. *J Chem Phys.* 1985;82(1).
 107. Zvereva EE, Shagidullin AR, Katsyuba SA. Ab Initio and DFT Predictions of Infrared Intensities and Raman Activities. *J Phys Chem A.* 2011;115(1):63–9.
 108. Draine BT, Flatau PJ. Discrete-dipole approximation for scattering calculations. *J Opt Soc Am A.* 1994;11(4):1491.
 109. Draine BT, Flatau PJ. User Guide for the Discrete Dipole Approximation Code DDSCAT.6.0. *Astroph0309069.* 2003;1:78.
 110. Etchegoin PG, Le Ru EC, Meyer M. An analytic model for the optical properties of gold. *J Chem Phys.* 2007;127:18.
 111. Cao L, Diao P, Tong L, Zhu T, Liu Z. Surface-enhanced Raman scattering of p-aminothiophenol on a Au(core)/Cu(shell) nanoparticle assembly. *Chemphyschem.* 2005;6(5):913–8.
 112. Kim K, Shin D, Lee B, Soo K, Lee HB, Shin KS. Surface-enhanced Raman scattering of 4-aminobenzenethiol on gold: the concept of threshold energy in charge transfer enhancement. *Chem Commun (Camb).* 2011;47(7):2020–2.
 113. Osawa M, Matsuda N, Yoshii K, Uchida I. Charge transfer resonance Raman process in surface-enhanced Raman scattering from p-aminothiophenol adsorbed on silver: Herzberg-Teller contribution. *J Phys Chem.* 1994;98(48):12702–7.
 114. Kim K, Kim KL, Shin D, Choi J, Shin KS. Surface-Enhanced Raman Scattering of 4-Aminobenzenethiol on Ag and Au : pH Dependence of b_2 -Type Bands. *J Phys Chem C.* 2012;116:4774–9.
 115. Kim K, Lee HB, Shin D, Ryoo H, Lee JW, Shin KS. Surface-enhanced Raman scattering

- of 4-aminobenzenethiol on silver: confirmation of the origin of b2-type bands. *J Raman Spectrosc.* 2011;42(12):2112–8.
116. Yoon JH, Park JS, Yoon S. Time-dependent and symmetry-selective charge-transfer contribution to SERS in gold nanoparticle aggregates. *Langmuir.* 2009;25(21):12475–80.
117. Kim N-J. Physical Origins of Chemical Enhancement of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy on a Gold Nanoparticle-Coated Polymer. *J Phys Chem C.* 2010;114(33):13979–84.
118. Wang J, Ando RA, Camargo PHC. Controlling the Selectivity of the Surface Plasmon Resonance Mediated Oxidation of p-Aminothiophenol on Au Nanoparticles by Charge Transfer from UV-excited TiO₂. *Angew Chemie Int Ed.* 2015;54(23):6909–12.
119. Zhao L-B, Huang R, Huang Y-F, Wu D-Y, Ren B, Tian Z-Q. Photon-driven charge transfer and Herzberg-Teller vibronic coupling mechanism in surface-enhanced Raman scattering of p-aminothiophenol adsorbed on coinage metal surfaces: a density functional theory study. *J Chem Phys.* 2011;135(13):134707.
120. Singh P, Deckert-Gaudig T, Schneidewind H, Kirsch K, van Schrojenstein Lantman EM, Weckhuysen BM, et al. Differences in single and aggregated nanoparticle plasmon spectroscopy. *Phys Chem Chem Phys.* 2015;17:2991–5.
121. Kim K, Kim KL, Lee HB, Shin KS. Similarity and Dissimilarity in Surface-Enhanced Raman Scattering of Dimercaptomethylenbenzene on Ag. *J Phys Chem C.* 2012;116:11635.
122. Kim K, Shin D, Choi J-Y, Kim KL, Shin KS. Surface-Enhanced Raman Scattering Characteristics of 4-Aminobenzenethiol Derivatives Adsorbed on Silver. *J Phys Chem C.* 2011;115(50):24960–6.
123. Huang Y-F, Zhu H-P, Liu G-K, Wu D-Y, Ren B, Tian Z-Q. When the signal is not from the original molecule to be detected: chemical transformation of para-aminothiophenol on Ag during the SERS measurement. *J Am Chem Soc.* 2010;132(27):9244–6.
124. Bergfield JP, Ratner M a. Forty years of molecular electronics: Non-equilibrium heat and charge transport at the nanoscale. *Phys Status Solidi Basic Res.* 2013;250(11):2249–66.
125. Heath JR, Ratner MA. Molecular Electronics. *Phys Today.* 2003;(May):43–9.
126. van Schrojenstein Lantman EM, Deckert-Gaudig T, Mank AJG, Deckert V, Weckhuysen BM. Catalytic processes monitored at the nanoscale with tip-enhanced Raman spectroscopy. *Nat Nanotechnol.* 2012;7(9):583–6.
127. McCreery RL, Yan HJ, Bergren a J. A critical perspective on molecular electronic junctions: there is plenty of room in the middle. *Phys Chem Chem Phys.* 2013;15(4):1065–81.
128. McCreery R, Bergren A, Nagy S, Yan H, Bayat A, Kondratenko M. Molecules in

- Circuits: a New Type of Microelectronics? ECS Trans. 2014;61(7):113–21.
129. Kitahama Y, Tanaka Y, Itoh T, Ozaki Y. Power-law statistics in blinking SERS of thiocyanine adsorbed on a single silver nanoaggregate. *Phys Chem Chem Phys*. 2010;12(27):7457–60.
 130. Itoh T, Iga M, Tamaru H, Yoshida K, Biju V, Ishikawa M. Quantitative evaluation of blinking in surface enhanced resonance Raman scattering and fluorescence by electromagnetic mechanism. *J Chem Phys*. 2012;136(2):024703.
 131. (1) Demissie, A. T.; Haugstad, G.; Frisbie, C. D. Growth of Thin, Anisotropic, Pi-Conjugated Molecular Films by Stepwise “Click” Assembly of Molecular Building Blocks: Characterizing Reaction Yield, Surface Coverage, and Film Thickness versus Addition Step Number. *J. Am. Chem. Soc.* 2015, 137, 8819.
 132. Chen X, Yang Y, Chen Y-H, Qiu M, Blaikie RJ, Ding B. Probing Plasmonic Gap Resonances between Gold Nanorods and a Metallic Surface. *J Phys Chem C*. 2015;119(32):18627.
 133. Hayes WA, Shannon C. Electrochemistry of Surface-Confined Mixed Monolayers of 4-Aminothiophenol and Thiophenol on Au. *Langmuir*. 1996;12(15):3688–94.
 134. Etchegoin PG, Ru EC Le. Basic Electromagnetic Theory of SERS. 2011.
 135. Prodan E, Nordlander P. Plasmon hybridization in spherical nanoparticles. *J Chem Phys*. 2004;120(11):5444–54.
 136. Knight MW, Wu Y, Lassiter JB, Nordlander P, Halas NJ. Substrates matter: influence of an adjacent dielectric on an individual plasmonic nanoparticle. *Nano Lett*. 2009;9(5):2188–92.
 137. Schertz F, Schmelzeisen M, Mohammadi R, Kreiter M, Elmers H-J, Schönhense G. Near Field of Strongly Coupled Plasmons: Uncovering Dark Modes. *Nano Lett. American Chemical Society*; 2012 Apr 11;12(4):1885–90.
 138. Lei DY, Fernández-Domínguez AI, Sonnefraud Y, Appavoo K, Haglund RF, Pendry JB, et al. Revealing plasmonic Gap modes in particle-on-film systems using dark-field spectroscopy. *ACS Nano*. 2012;6(2):1380–6.
 139. Hill RT, Mock JJ, Hucknall A, Wolter SD, Jokerst NM, Smith DR, et al. Plasmon ruler with angstrom length resolution. *ACS Nano*. 2012;6(10):9237–46.
 140. Ciraci C, Hill RT, Mock JJ, Urzhumov Y, Fernandez-Dominguez a. I, Maier S a., et al. Probing the Ultimate Limits of Plasmonic Enhancement. *Science*. 2012;337(6098):1072.
 141. Mock JJ, Hill RT, Degiron A, Zauscher S, Chilkoti A, Smith DR. Distance-dependent plasmon resonant coupling between a gold nanoparticle and gold film. *Nano Lett*. 2008;8(8):2245–52.
 142. Chen H, Ming T, Zhang S, Jin Z, Yang B, Wang J. Effect of the dielectric properties of substrates on the scattering Patterns of Gold Nanorods. *ACS Nano*. 2011;5(6):4865–77.

143. Ha JW, Marchuk K, Fang N. Focused orientation and position imaging (FOPI) of single anisotropic plasmonic nanoparticles by total internal reflection scattering microscopy. *Nano Lett.* 2012;12(8):4282–8.
144. Ni W, Kou X, Yang Z, Wang J. Tailoring longitudinal surface plasmon wavelengths, scattering and absorption cross sections of gold nanorods. *ACS Nano.* 2008 ;2(4):677–86.
145. Jain PK, Lee KS, El-Sayed IH, El-Sayed M a. Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine. *J Phys Chem B.* 2006;110(14):7238–48.
146. Yu H-Z, Zhang J, Zhang H-L, Liu Z-F. Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) from Azobenzene Self-Assembled “Sandwiches.” *Langmuir.* 1999;15(1):16–9.
147. Kovacs GJ, Loutfy RO, Vincett PS, Jennings C, Aroca R. Distance dependence of SERS enhancement factor from Langmuir-Blodgett monolayers on metal island films: evidence for the electromagnetic mechanism. *Langmuir.* 1986;2(6):689–94.
148. Murray C a., Allara DL. Measurement of the molecule-silver separation dependence of surface enhanced. *J Chem Phys.* 1982;76(3):1290–303.
149. Murray CA, Allara DL, Hhinewine M. Silver-Molecule Separation Dependence of Surface-Enhanced Raman Scattering. *Phys Rev Lett.* 1981;46(I):57.
150. Wang H, Levin CS, Halas NJ. Nanosphere arrays with controlled sub-10-nm gaps as surface-enhanced Raman spectroscopy substrates. *J Am Chem Soc.* 2005;127(43):14992–3.
151. Kim K, Yoon JK. Raman scattering of 4-aminobenzenethiol sandwiched between Ag/Au nanoparticle and macroscopically smooth Au substrate. *J Phys Chem B.* 2005 Nov 10;109(44):20731–6.
152. Lyon L a, Pena DJ, Natan MJ. Surface plasmon resonance of Au colloid-modified Au films: Particle size dependence. *J Phys Chem B.* 1999;103(28):5826–31.
153. Daniels JK, Chumanov G. Nanoparticle–Mirror Sandwich Substrates for Surface-Enhanced Raman Scattering. *J Phys Chem B.* 2005;109(38):17936–42.
154. Link S, Mohamed MB, El-Sayed M a. Simulation of the optical absorption spectra of gold nanorods as a function of their aspect ratio and the effect of the medium dielectric constant. *J Phys Chem B.* 1999;103(16):3073–7.
155. Liu H, Ng J, Wang SB, Hang ZH, Chan CT, Zhu SN. Strong plasmon coupling between two gold nanospheres on a gold slab. *New J Phys.* 2011;13.
156. Valsecchi C, Brolo AG. Periodic Metallic Nanostructures as Plasmonic Chemical Sensors. *Langmuir.* 2013;29:5638.
157. Rodrigues DC, Andrade GFS, Temperini MLA. SERS performance of gold nanotubes obtained by sputtering onto polycarbonate track-etched membranes. *Phys Chem Chem*

- Phys. 2013;15(4):1169–76.
158. dos Santos DP, ANDRADE GFS, SANT'ANA AC, Temperini MLA. Produção de substratos SERS eficientes através da deposição de ouro sobre um molde de microesferas de poliestireno. *Quim Nova*. 2010;33:2093.
 159. Nobrega MM, Souza KS, Andrade GFS, Camargo PHC, Temperini ML a. Emeraldine salt form of polyaniline as a probe molecule for surface enhanced raman scattering substrates excited at 1064 nm. *J Phys Chem C*. 2013;117(35):18199–205.
 160. Wustholz KL, Henry A-I, McMahon JM, Freeman RG, Valley N, Piotti ME, et al. Structure–Activity Relationships in Gold Nanoparticle Dimers and Trimers for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *J Am Chem Soc*. 2010;132(31):10903–10.
 161. Chen G, Wang Y, Yang M, Xu J, Goh SJ, Pan M, et al. Measuring Ensemble-Averaged Surface-Enhanced Raman Scattering in the Hotspots of Colloidal Nanoparticle Dimers and Trimers. *J Am Chem Soc*. 2010;132(11):3644–5.
 162. Kumar J, Thomas KG. Surface-enhanced raman spectroscopy: Investigations at the nanorod edges and dimer junctions. *J Phys Chem Lett*. 2011;2(6):610–5.
 163. Barrow SJ, Wei X, Baldauf JS, Funston AM, Mulvaney P. The surface plasmon modes of self-assembled gold nanocrystals. *Nat Commun*. 2012 ;3:1275.
 164. Barrow SJ, Funston AM, Daniel EG, Davis TJ, Mulvaney P. Surface Plasmon Resonances in Strongly Coupled Gold Nanosphere. 2011;4180–7.
 165. Funston AM, Davis TJ, Novo C, Mulvaney P. Coupling modes of gold trimer superstructures. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*. 2011;369(1950):3472–82.
 166. Hossain MK, Huang GG, Tanaka Y, Kaneko T, Ozaki Y. Anisotropic gold nanoassembly: a study on polarization-dependent and polarization-selective surface-enhanced Raman scattering. *Phys Chem Chem Phys*. 2015;17(6):4268–76.
 167. Henry AI, Bingham JM, Ringe E, Marks LD, Schatz GC, Van Duyne RP. Correlated structure and optical property studies of plasmonic nanoparticles. *J Phys Chem C*. 2011;115(19):9291–305.
 168. Doherty MD, Murphy A, Pollard RJ, Dawson P. Surface-Enhanced Raman Scattering from Metallic Nanostructures: Bridging the Gap between the Near-Field and Far-Field Responses. *Phys Rev X*. 2013;3(1):011001.
 169. Tong Q, Malachosky EW, Raybin J, Guyot-Sionnest P, Sibener SJ. End-to-End Alignment of Gold Nanorods on Topographically Enhanced, Cylinder Forming Diblock Copolymer Templates and Their Surface Enhanced Raman Scattering Properties. *J Phys Chem C*. 2014;118(33):19259–65.
 170. Scattering SR, Chen T, Wang H, Chen G, Wang Y, Feng Y, et al. Hotspot-Induced Transformation of Surface-Enhanced Raman Scattering Fingerprints Tao. *ACS Nano*. 2010;4(6):3087–94.

171. Soli DM, Garcı FJ, Obelleiro F, Liz-Marzán LM, García de Abajo FJ. Toward Ultimate Nanoplasmonics. *ACS Nano*. 2014;8(8):7559–70.
172. Le Ru EC, Meyer M, Etchegoin PG. Surface Enhanced Raman Scattering Enhancement Factors: A Comprehensive Study. *J Phys Chem C*. 2007;111(37):13794–803.
173. Cai WB, Ren B, Li XQ, She CX, Liu FM, Cai XW, et al. Investigation of surface-enhanced Raman scattering from platinum electrodes using a confocal Raman microscope: dependence of surface roughening pretreatment. *Surf Sci*. 1998;406(1-3):9.
174. Blackie E. Quantification of the Enhancement Factor in Surface-Enhanced Raman Scattering. 2010.
175. Kneipp K, Kneipp H. SERS signals at the anti Stokes side of the excitation laser in extremely high local optical fields of silver and gold nanoclusters. *Faraday Discuss. The* 2006;132(0):27–33.
176. Sawai Y, Takimoto B, Nabika H, Ajito K, Murakoshi K. Observation of a Small Number of Molecules at a Metal Nanogap Arrayed on a Solid Surface Using Surface-Enhanced Raman Scattering. *J Am Chem Soc*. 2007 Feb 1;129(6):1658–62.
177. Käll M, Xu H, Johansson P. Field enhancement and molecular response in surface-enhanced Raman scattering and fluorescence spectroscopy. *J Raman Spectrosc*. 2005;36(6-7):510–4.
178. Johansson P, Xu H, Käll M. Surface-enhanced Raman scattering and fluorescence near metal nanoparticles. *Phys Rev B*. 2005;72(3):35427.
179. Hamon C, Novikov SM, Scarabelli L, Sol DM, Altantzis T, Bals S, et al. Collective Plasmonic Properties in Few-Layer Gold Nanorod Supercrystals. *ACS photonics*. 2015;5:1482–8.
180. Santos DP Dos, Andrade GFS, Temperini ML a., Brolo AG. Electrochemical Control of the Time-Dependent Intensity Fluctuations in Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). *J Phys Chem C*. 2009;113(41):17737–44.
181. Iberi V, Mirsaleh-kohan N, Camden JP. Understanding Plasmonic Properties in Metallic Nanostructures by Correlating Photonic and Electronic Excitations. *J Phys Chem Lett*. 2013;4:1070–8.
182. Stewart AF, Gagnon BP, Walker GC. Forming End-to-End Oligomers of Gold Nanorods Using Porphyrins and Phthalocyanines. *Langmuir*. 2015;31(24):6902–8.
183. Jain PK, Eustis S, El-Sayed M a. Plasmon coupling in nanorod assemblies: optical absorption, discrete dipole approximation simulation, and exciton-coupling model. *J Phys Chem B*. 2006 ;110(37):18243–53.
184. Jain PK, El-Sayed M a. Plasmonic coupling in noble metal nanostructures. *Chem Phys Lett*. Elsevier B.V.; 2010;487(4-6):153–64.

Apêndice

A. Artigos Publicados

THE JOURNAL OF
PHYSICAL CHEMISTRY C

Article

pubs.acs.org/JPC

Emeraldine Salt Form of Polyaniline as a Probe Molecule for Surface Enhanced Raman Scattering Substrates Excited at 1064 nm

Marcelo M. Nobrega,[†] Klester S. Souza,[†] Gustavo F. S. Andrade,[‡] Pedro H. C. Camargo,[†] and Marcia L. A. Temperini^{*,†}

[†]Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP), C.P. 26077- CEP 05513-970 - São Paulo, SP, Brazil

[‡]Núcleo de Espectroscopia e Estrutura Molecular, Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, CEP 36036-900 - Juiz de Fora, MG, Brazil

ABSTRACT: Associating polyaniline and metallic nanoparticles may result in the combination/synergism of properties, which have been attracting great attention. This paper describes an investigation that verified the effectiveness of several gold nanostructures acting as surface enhanced Raman scattering (SERS) substrates using the emeraldine salt form of PANI (PANI-ES) as a probe-molecule. The surface enhanced resonance Raman scattering (SERRS) spectra of PANI-ES at 1064 nm results from two enhancement effects: one from the PANI-ES resonance Raman and the other from localized surface plasmon resonance of the gold nanostructures when the plasmon wavelength approaches the NIR region. A considerable SERRS intensity for PANI-ES at the 10 nM level could be obtained using a gold nanoplates colloidal suspension as substrates. The SERRS spectra of PANI-ES and the high correlation between SERRS intensity and LSPR extinction of Au nanostructures at 1064 nm indicate that the enhancement was mostly due to the electromagnetic mechanism. These results indicate that PANI-ES can be employed as a general probe-molecule for the evaluation of SERRS substrates performance at 1064 nm excitation.

PCCP

PAPER

[View Article Online](#)
[View Journal](#) | [View Issue](#)

Cite this: *Phys. Chem. Chem. Phys.*,
2015, 17, 21294

Critical assessment of enhancement factor measurements in surface-enhanced Raman scattering on different substrates[†]

Daniel C. Rodrigues,^a Michele L. de Souza,^a Klester S. Souza,^a Diego P. dos Santos,^b Gustavo F. S. Andrade^c and Marcia L. A. Temperini^{*,a}

The SERS enhancement factor (SERS-EF) is one of the most important parameters that characterizes the ability of a given substrate to enhance the Raman signal for SERS applications. The comparison of SERS intensities and SERS-EF values across different substrates is a common practice to unravel the performance of a given substrate. In this study, it is shown that such a comparison may lack significance if we compare substrates of very distinct nature and optical properties. It is specifically shown that the SERS-EF values for static substrates (e.g. immobilized metallic nanostructures) cannot be compared to those of dynamic ones (e.g. colloidal metal nanoparticle solutions), and that the optical properties for the latter show strong dependence on the metal–molecule interaction dynamics. The most representative experimental results concerning the dynamic substrates have been supported by generalized Mie theory simulations, which are tools used to describe the substrate complexity and the microscopic information not usually taken into account.

Received 3rd November 2014,
Accepted 21st January 2015

DOI: 10.1039/c4cp05080k

www.rsc.org/pccp

B. Súmula Curricular

1. Formação

1.1. Ensino médio: Colégio Almirante Soares Dutra, de 2000 a 2002.

1.2. Graduação:

1.2.1. Curso de Licenciatura em Química, obtendo o grau de Licenciado em Química pela Universidade Federal de Pernambuco em 2009. Título da monografia: “Estudos de ligas metálicas: pesquisa e ensino de eletroquímica” Sob orientação do Prof. Arnaldo Rabelo de Carvalho (DQF-UFPE) e Profa. Silvia Maria Leite Agostinho (IQ-USP)

1.3. Pós-Graduação:

5.3.1. Mestrado em Química no Departamento de Química Fundamental do Instituto de Química da USP. Obtido o grau de Mestre em Ciências no programa de Química, Área de Concentração: Eletroquímica, em 04 de Agosto de 2011 com a dissertação “Caracterização eletroquímica de ligas à base de cobaltocromo e níquelcromo”. Sob orientação da Profa. Dra. Silvia Maria Leite Agostinho.

1.4. Treinamentos técnicos e capacitação:

1.4.1. Capacitação: “Estruturação de Artigo para Publicação Internacional”, promovido pela Pró-Reitoria de Pesquisa da USP e realizado na Faculdade de Arquitetura e Urbanismo – FAU/USP, dia 05 de Julho de 2010.

1.5. Idiomas:

Português: Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

Inglês: Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

2. Bolsas e financiamentos de pesquisa

2.1. Bolsista de Iniciação à Docência (PIBID): Programa de Iniciação à Docência, pelo período de Agosto de 2008 à Julho de 2009.

2.2. Bolsista de Mestrado: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo período de Setembro de 2009 a Julho de 2011.

2.3. Bolsista de Doutorado: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), processo Nº 2011/17923-9, pelo período de Dezembro de 2011 a Janeiro de 2016.

2.4. Bolsista de Doutorado Sanduiche: Bolsista pelo ELAP *Emerging Leaders in the Americas Program*, concedido pelo governo canadense para desenvolvimento do projeto intitulado “*Scanning electron microscopy and surface enhanced Raman spectroscopy to the study of oligophenilimines adsorbed on gold nanorods*” pelo período de Janeiro de 2014 a Julho de 2014.

3. Atividades didáticas

3.1. Nível Graduação

3.1.1. Monitoria na disciplina Química L6 (Química Orgânica), sob supervisão da profa. Dra. Rosa Maria Solto Maior (DQF-UFPE), no 2º semestre de 2007. Natureza: Estágio Remunerado.

3.1.2. Monitoria na disciplina Química L5 (Ligação Química, Reações de oxidação/redução, Cinética Química), sob supervisão da profa. Dra. Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro (DQF-UFPE), no 1º semestre de 2008. Natureza: Estágio Remunerado.

7.1.3. Monitoria na disciplina Química L6 (Química Orgânica), sob supervisão da profa. Dra. Rosa Maria Solto Maior (DQF-UFPE), no 2º semestre de 2008. Natureza: Estágio Remunerado.

3.1.4. Monitoria pelo Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE), na disciplina QFL-2426 (Físico-Química XVII), sob supervisão do prof. Dr. Renato Giovanni Cecchini (IQ-USP), no 2º semestre de 2011. Natureza: Estágio Remunerado.

3.1.5. Monitoria pelo Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE), na disciplina QFL-0137 (Química Geral), sob supervisão do Prof. Dr. Harrold Victor Linnert (IQ-USP), no 1º semestre de 2012. Natureza: Estágio Remunerado.

3.1.6. Monitoria pelo Programa de Aperfeiçoamento Didático do Instituto de Química (ESTADIQ), na disciplina QFL-2426 (Físico-Química XVII), sob supervisão do prof. Dr. Harrold Victor Linnert (IQ-USP), no 2º semestre de 2012. Natureza: Estágio Remunerado.

4. Produção Científica e Publicações

4.2. Artigos publicados em periódicos internacionais arbitrados

4.2.1. Daniel Cardoso Rodrigues, Souza ML, Souza KS, Santos D, Andrade GFS, Temperini MLA. *Critical assessment of enhancement factor measurements in surface-enhanced Raman scattering on different substrates*. Phys Chem Chem Phys. Royal Society of Chemistry; 2015;17(1):21294.

4.2.2. Nobrega MM, Souza KS, Andrade GFS, Camargo PHC, Temperini ML a. *Emeraldine salt form of polyaniline as a probe molecule for surface enhanced raman scattering substrates excited at 1064 nm*. J Phys Chem C. 2013;117(35):18199–205.

5. Participação em congressos, seminários e eventos similares

5.1. Participações em congressos e Eventos similares

5.1.1. 19 Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais, 2010, Campos do Jordão / SP. 19º CBECiMat. ISSN 15194787, 2010.

5.1.2. Congresso Internacional de Corrosão, 2010, Fortaleza CE. Intercorr 2010. Rio de Janeiro: Abraco, 2010. v.1. p.1 12, Brasil

5.1.3. 219th ECS Meeting: The Electrochemical Society, 2011. Montreal CA.

5.1.4. Simpósio Brasileiro de eletroquímica e eletroanalítica, 2011, Bento Gonçalves. XVIII SIBEE. 2011., Brasil.

5.1.5. II Congresso Institucional Departamento de Bioquímica e Química Fundamental do Instituto de Química USP, São Paulo, Brasil.

5.1.6. Xth International Symposium on Electrochemical Methods in Corrosion Research (EMCR2012), 2012, Maragogi. EMCR 2012, Brasil.

5.1.7. : III Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (ENBRAER), 2013, Fortaleza, CE, Brasil

5.1.8. XXIV International Conference on Raman Spectroscopy (ICORS 2014), 2014, Jena. ICORS 2014.

5.1.9. II Encontro da Pós-Graduação do Instituto de Química – USP, São Paulo, SP Brasil

5.1.10. Emerging Leaders in the Americans Program Study Tour, 2014. Democracy in Emerging Countries, Ottawa, ON, Canada.

5.2 Apresentação oral em congressos e eventos similares

5.2.1. SOUZA, K.S., NASCENTE, P. A.P., AGOSTINHO, S.M.L. Study of alloys CoCrWMo NiCrMo by EIS and XPS, *Xth International Symposium on Electrochemical Methods in Corrosion Research (EMCR2012)*, 2012, Maragogi, AL, Brasil.

5.2.2. SOUZA, K.S., SANTOS, D. P., TEIXEIRA NETO, E., TEMPERINI, M. L. A. Correlação Imagem SEMEspectro SERS de 4aminobenzenotiol/AuNR, III Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (ENBRAER) 2013. Fortaleza, CE, Brasil.

5.3. Apresentação de pôster em congressos e eventos similares

5.3.1. SOUZA, K.S., VILLAMIL, R. F. V., AGOSTINHO, S.M.L., Daniela Cunha Bataglioli. Estudo comparativo do comportamento eletroquímico de uma liga CoCr em meio de NaCl (9 g/L) e Saliva artificial, Congresso Internacional de Corrosão, 2010, Fortaleza CE. Intercorr 2010.

5.3.2. SOUZA, K.S., BATAGLIOLI, D.C., AGOSTINHO, S.M.L. Estudo comparativo do comportamento eletroquímico de uma liga CoCrMo em NaCl 0.15 mol/L e fluido de placa, 19 Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais (CBECiMat), 2010, Campos do Jordão / SP, Brasil.

5.3.3. Souza, KS., Bataglioli, DC, Jaimes, RFVV, Agostinho, SML. Estudo comparativo do comportamento eletroquímico de uma liga Co-Cr em meio de NaCl 0,15 mol/L e Saliva ARTificial, II Encontro da Pós-Graduação do Instituto de Química – São Paulo, SP, Brasil.

5.3.4. SOUZA, K.S., AGOSTINHO, S.M.L., NASCENTE, P. A.P. Estudo Eletroquímico de ligas CoCrW e NiCrMo, Simpósio Brasileiro de eletroquímica e eletroanalítica, 2011, Bento Gonçalves. XVIII SIBEE.

5.3.5. SOUZA, K.S., AGOSTINHO, S.M.L. Comparative Study of CoCrMo Alloy in Medium That Simulate the Oral Environment, 219th ECS Meeting, 2011, Montreal CA.

5.3.6. Souza, K.S., Neto-Teixeira, E., Temperini, M.L.A. Estudo do comportamento SERS de oligofenilimina em superfícies de Au nanoestruturadas, II Congresso Institucional Departamento de Bioquímica e Química Fundamental do Instituto de Química USP, São Paulo, Brasil.

5.3.7. NOBREGA, MARCELO MEDRE, SOUZA, K.S., ANDRADE, GUSTAVO FERNANDES SOUZA, CAMARGO, PEDRO HC, TEMPERINI, M. L. A. Estudo SERS da forma sal de esmeraldina da polianilina como molécula prova para eficiência de substratos SERS de ouro excitados em 1064 nm, III Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman (ENBRAER), 2013, Fortaleza, CE, Brasil.

5.3.8. SOUZA, K.S., SANTOS, D. P., TEIXEIRA NETO, E., TEMPERINI, M. L. A. SERS Enhancement Factors of single and multiaggregates of gold nanorods, XXIV International Conference on Raman Spectroscopy (ICORS 2014), 2014, Jena, Alemanha.

6. ATIVIDADES ACADÊMICAS E DE COORDENAÇÃO

6.1. Representação discente

6.1.1. Representante discente (membro eleito) dos alunos de Pós-Graduação junto ao Conselho do Departamento de Química Fundamental (Universidade de São Paulo). No ano de 2012.