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

DANIEL CARDOSO RODRIGUES

**Efeito da geometria de nanoestruturas de ouro na
intensificação do espalhamento Raman**

Versão corrigida da dissertação conforme resolução CoPGr 5890

O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

24/01/2013

DANIEL CARDOSO RODRIGUES

**Efeito da geometria de nanoestruturas de ouro na
intensificação do espalhamento Raman**

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo para
obtenção do Título de Mestre em Química*

Orientadora: Profa. Dra. Marcia Laudelina Arruda Temperini

São Paulo

2013

Daniel Cardoso Rodrigues

Efeito da geometria de nanoestruturas de ouro na intensificação do espalhamento Raman

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Química

Aprovado em:

Banca examinadora:

Prof(a). Dr(a).: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a).: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a).: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

À Carlos, Ana Lúcia e Débora, pelo amor, respeito e apoio
incondicionais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família: Carlos, Ana Lúcia e Débora por um amor, respeito e apoio que simplesmente não consigo expressar em palavras. Obrigado.

Agradeço também a Deus pelo conforto nas horas difíceis e pela serenidade nas calmarias.

Agradeço à prof^a. Dr^a. Marcia Laudelina Arruda Temperini pela orientação, ensino e aconselhamento, mas principalmente pela presença constante, amizade, paciência e respeito nestes seis anos. Obrigado, o exemplo não será esquecido.

Ao prof. Dr. Gustavo Fernandes Souza Andrade, pela cooperação e ensino durante estes dois anos e meio de mestrado, mas também por sua amizade e companheirismo desde sempre.

À prof^a. Dr^a. Celly Mieko Shinohara Izumi pelo acompanhamento nos primeiros anos de laboratório.

Agradeço ao prof. Oswaldo Sala pelo exemplo de professor na acepção da palavra. Obrigado, o seu exemplo também não será esquecido.

Aos amigos que estiveram ao meu lado nestes anos: Rogério, Antonio, Renan, Vinicius, Diego, Deborah, Michele, Tercio, Marina e Bruno.

A todos os membros do Laboratório de Espectroscopia Molecular do IQUSP (LEM-IQUSP). A cada um dos professores: prof. Dr. Yoshio Kawano, prof^a. Dr^a. Dalva L. A. de Faria, prof. Dr. Mauro C. C. Ribeiro, prof^a. Dr^a. Paola Corio, prof. Dr. Paulo S. Santos e prof. Dr. Rômulo A. Ando. Aos colegas, alunos e ex-alunos e aos técnicos Dna. Elzita, Paulinho, Nivaldo, Marcelo e Marco Antônio pela ajuda e companheirismo nestes anos.

Ao prof. Dr. Pedro H. C. Camargo, aos Mes. Klester S. Souza e Marcelo M. Nobrega e ao senhor Claudio H. B. Silva pela ajuda na operação dos microscópios eletrônicos.

À FAPESP pela bolsa de mestrado (2010/03810-5) e pelo projeto temático do laboratório (2006/58748-7). Aos funcionários da seção de pós-graduação do Instituto de Química da Universidade de São Paulo por todo apoio.

“(…)

*Há uma primavera em cada vida:
É preciso cantá-la assim florida,
Pois se Deus nos deu voz, foi pra cantar!*

*E se um dia hei-de ser pó, cinza e nada
Que seja a minha noite uma alvorada,
Que eu saiba me perder... pra me encontrar.”*

Florbela Espanca
(In *Amar!*)

RESUMO

Rodrigues, D. C. **Efeito da geometria de nanoestruturas de ouro na intensificação do espalhamento Raman**. 2013. 137p. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O espalhamento Raman intensificado pela superfície (SERS) é uma importante ferramenta analítica na detecção de moléculas-alvo, portanto a busca por novos substratos SERS que apresentem maiores intensificações e reprodutibilidades espaciais é uma das principais linhas de pesquisa dentro da espectroscopia Raman. Nesta dissertação de mestrado foram obtidos nanotubos de Au (AuNT) através do sputtering (vaporização catódica) sobre uma membrana porosa de polycarbonato (PCM) comercial com diâmetros de poro de 50, 100, 200 e 400 nm. Foi verificado um crescimento exponencial dos valores dos fatores de intensificação (EF) com o aumento do diâmetro do poro devido à crescente presença de AuNTs coalescidos, que atuam como hot-spots. Os valores médios de EF variam entre $2,3 \times 10^3$ e $1,2 \times 10^5$, com valor máximo de $2,5 \times 10^5$. Nanotubos e nanofios (AuNF) de Au foram obtidos através da eletrodeposição de Au nas mesmas PCMs utilizando duas densidades de corrente (j): 1,000 e 0,100 mA.cm⁻². Nos menores diâmetros de poro foram obtidos AuNFs para $j = 1,000$ mA.cm⁻² e AuNTs para 0,100 mA.cm⁻², onde os primeiros apresentaram EF em média 10 vezes superior aos AuNTs de mesmo diâmetro. AuNTs foram obtidos nos maiores diâmetros de poro independentemente de j e apresentando valores de EF similares. Os valores de EF médios variaram entre $2,6 \times 10^3$ e $6,6 \times 10^5$, com valor máximo de $1,5 \times 10^6$. O mesmo crescimento exponencial observado para os AuNTs depositados por sputtering foi observado nestes substratos, decorrente do aumento na quantidade de nanoestruturas coalescidas. Em média seus valores de EF são cerca de 10 vezes superiores aos obtidos nos substratos depositados por sputtering. Todos substratos depositados por sputtering e eletrodepositados tiveram suas ressonâncias plasmônicas de superfície caracterizadas por espectroscopia de absorção no UV-VIS. Substratos tipicamente utilizados na espectroscopia SERS foram sintetizados e utilizados como referência: nanoesferas de Au (AuNS), eletrodo ativado de Au (AuEle) e o substrato comercial Klarite®. Através do emprego de metodologias de cálculo para EF que levassem em conta a geometria de cada sistema foi possível fazer uma comparação direta de todos os substratos. Revelando um desempenho superior dos AuNTs/AuNFs depositados por sputtering ou eletrodepositados frente aos três substrato acima, tanto em termos de magnitude, quanto em termos de reprodutibilidade espacial nos valores calculados para EF . Por fim, foi estudada a variação na frequência e largura a meia altura da banda atribuída ao modo $\nu_{CC,resp.anel}$ da molécula-prova 4-mercaptopiridina. Foi determinado que a presença de polycarbonato residual nos entornos dos AuNTs altera localmente o pH através da modificação do potencial da dupla-camada elétrica. Isto leva ao deslocamento dos equilíbrios de N -protonação e/ou tautomérico da 4-mercaptopiridina em diferentes graus sobre a superfície do substrato. Em concordância com a ausência destes deslocamentos de equilíbrios nos substratos utilizados como referência: AuNS, AuEle e Klarite®, onde o polycarbonato não está presente.

Palavras-chave: SERS, Raman, nanotecnologia, nanotubos de ouro, nanofios de ouro, 4-mercaptopiridina.

ABSTRACT

Rodrigues, D. C. **Effect of gold nanostructures geometry on the enhancement of the Raman scattering**. 2013. 137p. Masters Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The surface enhanced Raman scattering (SERS) is an important analytical tool on the detection of probe-molecules, therefore the search for new SERS substrates which show higher enhancements and spatial reproducibility is one of the main research topics on Raman spectroscopy. In this master thesis Au nanotubes (AuNT) were obtained through the sputtering onto a commercial polycarbonate porous membrane (PCM) with pore diameters of 50, 100, 200 e 400 nm. It was found an exponential growth on the values of the enhancement factor (EF) with the increase of the pore diameter due to an increasing presence of coalesced AuNTs, acting as hot-spots. The average values for EF vary between 2.3×10^3 and 1.2×10^5 , with maximum value of 2.5×10^5 . Gold nanotubes and nanowires (AuNF) were obtained through the electrodeposition of Au on the same PCMs by using two different current densities (j): 1.000 and 0.100 mA.cm⁻². On the smaller pore diameters there were obtained AuNFs for $j = 1.000$ mA.cm⁻² and AuNTs for $j = 0.100$ mA.cm⁻², which the former had shown EF on average 10 times larger the AuNTs with the same diameter. AuNTs were obtained on the larger pore diameters independently of j and having similar values for EF . The average values for EF varied between 2.6×10^3 and 6.6×10^5 , with maximum value of 1.5×10^6 . The same exponential growth observed for the sputtered AuNTs was observed in these substrates, due to the increase on the quantity of coalesced nanostructures. On average its values for EF are *ca.* 10 times larger than those obtained for the sputtered substrates. All sputtered and electrodeposited substrates had their surface plasmon resonances characterized by means of UV-VIS absorption spectroscopy. Substrates typically used on SERS spectroscopy were synthesized and used as reference: Au nanospheres (AuNS), roughened Au electrode (AuEle) and the commercial substrate Klarite®. Through employing methodologies for the EF calculation which take into account the geometry of each system it was possible to do a direct comparison among all types of substrates. Revealing an higher performance of the sputtered and/or electrodeposited AuNTs/AuNFs when compared to the three substrates above in terms of both magnitude and spatial reproducibility on the calculated values of EF . Finally, it was studied the variation on the frequency and full width at half maximum of the band assigned to the $\nu_{CC,ring}$ breathing mode of the 4-mercaptopyridine probe-molecule. It was found that the presence of residual polycarbonate on the AuNTs surroundings locally alters the pH through the modification of the double-layer potential. This leads to the displacement of the *N*-protonation and/or tautomeric equilibria of the 4-mercaptopyridine in different degrees over the substrate surface. In agreement with the absence of these equilibria displacements on the substrates used as reference: AuNS, AuEle and Klarite®, where the polycarbonate is not present.

Keywords: SERS, Raman, nanotechnology, gold nanotubes, gold nanowires, 4-mercaptopyridine.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema dos espalhamentos (A) Rayleigh, (B) Stokes e (C) anti-Stokes. 21
- Figura 2.** Ilustração do mecanismo químico do SERS e sua modulação de acordo com a variação do potencial elétrico aplicado ao metal. Onde V_1 , V_2 e V_3 são os potenciais aplicados ao eletrodo. ψ_g e E_F são a função de onda da molécula adsorvida e a energia do nível do Fermi, respectivamente, ψ_e é a função de onda de um estado eletrônico excitado da molécula adsorvida e $h\nu$ é a energia da radiação incidente (λ_0). I_{SERS} é a intensidade de uma banda no espectro SERS da molécula adsorvida e E é o potencial aplicado ao eletrodo. Adaptado de Wu *et al.* [22]. 25
- Figura 3.** (A) Ilustração do movimento dos elétrons superficiais de uma nanopartícula metálica induzido por um campo elétrico incidente. Na figura, “Metal sphere”, “E-field” e “e⁻ cloud” referem-se respectivamente à esfera metálica, ao campo elétrico incidente e aos elétrons superficiais da partícula. Adaptado de Kelly *et al.* [25]. (B) Imagem de campo próximo da concentração de campo elétrico nas bordas de um nanoburaco (250 nm de diâmetro, 50 nm de profundidade) num filme de Au e da propagação do plásmom de superfície pelo filme de Au ($\lambda_0 = 632,8$ nm). A barra de escala indica 5 μm e λ_{SP} é comprimento de onda com o qual propaga o plásmom de superfície. Adaptado de Gao *et al.* [26]. 27
- Figura 4.** Espectro de extinção de uma suspensão coloidal de nanoesferas de ouro com diâmetro médio de (45 ± 5) nm. 29
- Figura 5.** A, B e C: Imagens de microscopia Raman confocal mostrando os pontos de maior intensidade Raman (hot-spots). D, E e F: Representações gráficas em três dimensões das estruturas correspondentes em A, B e C com suas intensidades dos campos elétricos concentrados nos hot-spots. Adaptado de Qin *et al.* [45]. 32
- Figura 6.** Imagem de microscopia eletrônica de varredura dos nanobastões obtidos por Ye *et al.* [73]. As barras de escala marcam 100 nm. Os centros das absorções plasmônicas destes nanobastões são a: 979, b: 1039, c: 1058 e d: 1146 nm. Adaptado de Ye *et al.* [73]. 37
- Figura 7.** (A) Segmentos do tipo colmeia obtidos com a eletrodeposição de Au sobre esferas de poliestireno, seguido da dissolução das mesmas, a barra de escala marca 1 μm . Adaptado de Mahajan *et al.* [89]. (B) Nanofios de Au/Ni obtidos pela eletrodeposição destes metais num molde de *Anodized Aluminum Oxide* (AAO), a barra de escala marca 2 μm . Adaptado de Yoo *et al.* [91]. 39
- Figura 8.** Reação de policondensação entre bisfenol A e fosgênio que tem como produto o policarbonato. 40

Figura 9. Nanotubos obtidos por (A) eletrodeposição e (B) sputtering de Au nos poros das PCMs. A: barra de escala marca 1 μm , adaptado de Schönenberger *et al.* [108]. B: barra de escala marca 100 nm, adaptado de Barreca *et al.* [109]. 41

Figura 10. Micrografias da superfície do substrato Klarite® ressaltando (A) o espaçamento regular das microestruturas e (B) o formato piramidal de base quadrada dos poços. (A) a barra de escala marca 1 μm , adaptado de Steuwe *et al.* [112] e (B) a barra de escala marca 2 μm , adaptado de Scholes *et al.* [113]. 42

Figura 11. Trajeto percorrido pelo estágio motorizado do espectrômetro Micro-Raman RENISHAW InVia nos mapeamentos realizados. Ambos em áreas de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$, com passos de (A) 1,0 μm e (B) 0,5 μm . 45

Figura 12. Micrografias das PCMs com $\Phi =$ (A) 50, (B) 100, (C) 200 e (D, E e F) 400 nm. As barras de escala marcam (A-D) 1 μm e (E e F) 100 nm. 47

Figura 13. (A) Espectros Raman de uma amostra padrão de Si em diversas potências incidentes entre 8 e 0,008 mW. (B) Intensidade da banda em $519,8 \text{ cm}^{-1}$ do Si contra as potências incididas no registro do espectro Raman. 54

Figura 14. Esquema do perfil confocal. A_{confocal} é representada por um traço em $z = 0$. H_{confocal} é representada por h. “Silicon wafer” se refere à uma peça de Si, utilizada como padrão. O intervalo $\{+z;-z\}$ representa o eixo axial e “a” é a área iluminada em $z = 0$. Adaptado de Cai *et al.* [47]. 55

Figura 15. (A) Espectros Raman de uma amostra padrão de Si mantendo-se a posição focal constante, $z = 0 \mu\text{m}$, e variando-se a altura ao longo do eixo axial entre -150 e 150 μm . (B) Intensidade da banda em $519,8 \text{ cm}^{-1}$ do Si em função do deslocamento axial do estágio motorizado. O retângulo tracejado destaca H_{confocal} . 56

Figura 16. (A) Espectros Raman obtidos no mapeamento lateral de uma amostra padrão de Si sobre uma lâmina de vidro. (B) Intensidade da banda em $519,8 \text{ cm}^{-1}$ do Si em função do deslocamento lateral do estágio motorizado. 58

Figura 17. (A) Espectro Raman, $\lambda_0 = 1064 \text{ nm}$, da $4\text{MPy}_{(\text{s})}$. (B) Espectro Raman, $\lambda_0 = 632,8 \text{ nm}$, da $4\text{MPy}_{(\text{aq})} 1 \times 10^{-2} \text{ M}$. 59

Figura 18. Equilíbrio tautomérico tiol-tiona da 4MPy . 61

Figura 19. Micrografias dos AuNTs com $\Phi =$ (A e F) 50, (B) 100, (C e E) 200 e (D) 400 nm. As barras de escala marcam (A, E e F) 100 nm e (B-D) 1 μm . 63

Figura 20. Densidade de poros (d_p) e de AuNT (d_{AuNT}) para cada diâmetro de poro (Φ) estudado. 64

Figura 21. (A) Espectros de extinção dos AuNTs obtidos por sputtering de Au nos poros da PCM e (B) espectros de extinção das PCMs como recebidas nos Φ estudados. 65

Figura 22. Espectros SERS representativos da 4MPy nos AuNTs gerados por sputtering nas PCMs com $\Phi = 50, 100, 200$ e 400 nm. O espectro Raman convencional de uma solução aquosa 1×10^{-2} M de 4MPy é apresentado para comparação. Para facilitar sua visualização este último teve sua intensidade multiplicada por 50. 66

Figura 23. Micrografias das (A) PCMs e dos (B) AuNTs obtidos para $\Phi = 200$ nm no lado rugoso da PCM. As barras de escala marcam (A) $10 \mu\text{m}$ e (B) $1 \mu\text{m}$. 69

Figura 24. Valores de EF médios e máximos determinados para os AuNTs obtidos por sputtering nas PCM em função de Φ . 71

Figura 25. Comparação entre os $EF_{\text{méd}}$ dos AuNTs obtidos por sputtering e AuNTs/AuNFs eletrodepositados nas PCMs. Os valores de $EF_{\text{méd}}$ foram normalizados e as linhas foram traçadas para facilitar a visualização. 72

Figura 26. Mapas de contorno para as regiões mapeadas nos substratos depositados por sputtering com $\Phi =$ (A-C) 50, (D-F) 100, (G-I) 200 e (J-L) 400 nm. 74

Figura 27. Micrografias das nanoestruturas eletrodepositadas utilizando a PCM de $\Phi = 50$ nm como molde e $j =$ (A e C) $1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ e (B e D) $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$. As barras de escala marcam $1 \mu\text{m}$ (A e B) e 100 nm (C e D). 76

Figura 28. Espectros de extinção dos substratos obtidos na eletrodeposição de Au nos poros da PCM. (A) $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ e (B) $j = 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$. A queda abrupta observada em 623 nm deve-se a um artefato do equipamento. 77

Figura 29. Espectros SERS representativos da 4MPy nos AuNTs/AuNFs eletrodepositados nas PCMs com $\Phi = 50, 100, 200$ e 400 nm. (A) $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ e (B) $j = 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$. O espectro Raman convencional de uma solução aquosa 1×10^{-2} M de 4MPy é apresentado para comparação. Para facilitar sua visualização este último teve sua intensidade multiplicada por 100. 79

Figura 30. Valores de EF médios e máximos determinados para os AuNTs/AuNFs eletrodepositados utilizando $j =$ (A) $1,000$ e (B) $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$ nas PCM em função de Φ . 83

Figura 31. Micrografias apresentando exemplos de AuNTs coalescidos eletrodepositados em PCMs com $\Phi = 400$ nm. As barras de escala marcam 100 nm . 83

Figura 32. Comparação entre os $EF_{\text{méd}}$ dos AuNTs/AuNFs eletrodepositados obtidos na ref. 87 e nesta dissertação. Os valores de $EF_{\text{méd}}$ foram normalizados e as linhas foram traçadas para facilitar a visualização. 84

Figura 33. Mapas de contorno para as regiões mapeadas nos substratos eletrodepositados ($j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$) com $\Phi =$ (A-C) 50, (D-F) 100, (G-I) 200 e (J-L) 400 nm. 86

Figura 34. Mapas de contorno para as regiões mapeadas nos substratos eletrodepositados ($j = 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$) com $\Phi =$ (A-C) 50, (D-F) 100, (G-I) 200 e (J-L) 400 nm. 87

Figura 35. Micrografia das AuNSs obtidas na síntese de Frens [59] realizada. As barras de escala marcam 100 nm. 88

Figura 36. (A) Histograma e distribuição normal de diâmetros das AuNSs sintetizadas. (B) Espectro de extinção da suspensão coloidal de AuNSs sintetizada. 89

Figura 37. Espectros de extinção dos três sistemas estudados utilizando AuNSs como substratos SERS e a 4MPy como molécula-prova (Tabela 2): (A) sistema 1, (B) sistema 2 e (C) sistema 3. Os espectros foram registrados a cada 5 minutos por uma hora. 91

Figura 38. Espectros SERS representativos da 4MPy nos três sistemas apresentados na Tabela 2 utilizando AuNSs como substrato SERS. O espectro Raman convencional de uma solução aquosa $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ de 4MPy é apresentado para comparação. 92

Figura 39. Posição da banda atribuída ao $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ e intensidade relativa das bandas atribuídas aos modos $\nu_{\text{CC,trigonal}}/\nu_{\text{C=S}}$ e $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ plotadas contra a concentração inicial de 4MPy em cada sistema mostrado na Tabela 2. As linhas foram traçadas para facilitar a visualização. 95

Figura 40. Espectros SERS representativos da 4MPy nas três regiões mapeados no AuEle. O espectro Raman convencional de uma solução aquosa $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ de 4MPy é apresentado para comparação. Para facilitar sua visualização este último teve sua intensidade multiplicada por 100. 98

Figura 41. Micrografia SEM de um eletrodo de Au ativado por ciclos de oxidação e redução. A barra de escala marca $0,5 \mu\text{m}$. Adaptado de Batista *et al.* [87]. 99

Figura 42. Voltamograma obtido para a determinação de A_{real} do AuEle utilizado como substrato SERS. O voltamograma foi registrado entre -0,3 e +1,5 V, partindo-se de 0 V no sentido catódico a 100 mV.s^{-1} em meio de $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$ 0,5 M. A área destacada refere-se à onda de redução do Au. 100

Figura 43. Mapas de contorno para as regiões mapeadas no eletrodo ativado de Au. 102

Figura 44. Micrografias do substrato Klarite®. As barras de escala marcam (A) 10 e (B) 2 μm . 103

Figura 45. Espectros SERS representativos da 4MPy dos quatro planos mapeados no Klarite®. O espectro Raman convencional de uma solução aquosa $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ de 4MPy é

apresentado para comparação. Para facilitar sua visualização este último teve sua intensidade multiplicada por 50. 104

Figura 46. Mapas de contorno para a área mapeada no plano do substrato (profundidade = 0 μm). As intensidades estão em função do (A) fator de intensificação e (B) área integrada do sinal do fundo (background). 106

Figura 47. Quadro resumo dos fatores de intensificação (A) máximo e (B) médio e seu desvio-padrão e (C) desvio-padrão relativo para todos os substratos estudados. 110

Figura 48. Tautômeros e formas *S*- e *N*-protonada possíveis para a 4MPy. Adaptado de Jung *et al.* [136]. 114

Figura 49. Espectros Raman de soluções aquosas de 4MPy a 1×10^{-2} M em meios com diferentes pHs: 1, 6 e 10. 114

Figura 50. Espectros sequenciais da 4MPy adsorvida em AuNTs depositados por sputtering ($\Phi = 400$ nm) com pH do meio em 6 e densidades de potência (A) $4,0 \times 10^4$, (B) $8,0 \times 10^3$ e (C) $4,0 \times 10^3$ W.cm^{-2} . 116

Figura 51. Espectros sequenciais da 4MPy adsorvida em AuNTs depositados por sputtering ($\Phi = 400$ nm). Para pH = 1: densidades de potência (A) $4,0 \times 10^4$, (B) $8,0 \times 10^3$ e (C) $4,0 \times 10^3$ W.cm^{-2} . Para pH = 10: densidades de potência (D) $4,0 \times 10^4$, (E) $8,0 \times 10^3$ e (F) $4,0 \times 10^3$ W.cm^{-2} . 118

Figura 52. Tautômeros da 4MPy *N*-protonados e desprotonados. 119

Figura 53. Largura a meia-altura (FWHM) da banda atribuída ao modo $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ em todas as sequências espectrais registradas. As linhas foram traçadas para facilitar a visualização. 119

Figura 54. Mecanismos de adsorção e equilíbrios de superfície e tautomérico da 4MPy adsorvida em Au. Onde “ads” $\equiv$ adsorção. 120

Figura 55. Espectros SERS obtidos utilizando AuNT eletrodepositados com $j = 1,000$ mA.cm^{-2} em PCMs com $\Phi = 400$ nm ilustrando a presença majoritária dos tautômeros (A) tiol *N*-protonado (B) tiol/tiona *N*-desprotonado e (C) uma situação intermediária. 121

Figura 56. Mapas de contorno mostrando a presença dos tautômeros tiol *N*-protonado e tiol/tiona *N*-desprotonados dentro das mesmas regiões mapeadas. O substrato é composto por AuNTs eletrodepositados com $j = 1,000$ mA.cm^{-2} e (A) $\Phi = 50$, (B) $\Phi = 100$, (C) $\Phi = 200$ e (D) $\Phi = 400$ nm. 122

Figura 57. Mapas de contorno dos fatores de intensificação calculados para a banda em 1094 cm^{-1} nas mesmas áreas mapeadas mostradas na Figura 56. 123

Figura 58. Mapas de contorno mostrando a presença somente do tautômero tiol *N*-protonado nos espectros SERS da 4MPy com os substratos (A) AuNSs, (B) AuEle e (C) Klarite®. 124

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Densidade de poros (d_p) e porcentagem de poros coalescidos ($\%_{pc}$) para cada diâmetro de poro (Φ) estudado.	48
Tabela 2. Sistemas estudados utilizando nanoesferas de Au como substratos SERS.	51
Tabela 3. Frequência, atribuição e espécie de simetria de algumas bandas observadas nos espectros Raman da 4MPy sólida e em solução aquosa a 1×10^{-2} M.	60
Tabela 4. Densidade de AuNT (d_{AuNT}) para cada diâmetro de poro (Φ) estudado.	64
Tabela 5. Frequências e atribuição das bandas observadas no espectro Raman convencional e SERS da 4MPy adsorvida nos AuNT sintetizados por sputtering dentro da janela espectral estudada.	67
Tabela 6. $EF_{máx}$, $EF_{méd}$ e σ obtidos para os AuNT gerados pelo sputtering de Au nas faces lisa e rugosa das PCMs com $\Phi = 200$ nm.	69
Tabela 7. Valores de $EF_{máx}$, $EF_{méd}$, σ e $\%_{erro}$ obtidos para os espectros SERS suportados pelos AuNTs gerados por sputtering e a correspondência com os mapas de contorno apresentados na Figura 26.	70
Tabela 8. Tipo de nanoestrutura esperado nas condições de eletrodeposição empregadas.	77
Tabela 9. Frequências e atribuição das bandas observadas no espectro Raman convencional e SERS da 4MPy adsorvida nos AuNTs/AuNFs eletrodepositados dentro da janela espectral estudada.	80
Tabela 10. Valores de $EF_{máx}$, $EF_{méd}$, σ e $\%_{erro}$ obtidos para os espectros SERS suportados pelos AuNTs/AuNFs eletrodepositados e a correspondência com os mapas de contorno apresentados nas Figura 33 e Figura 34.	82
Tabela 11. Frequências e atribuição das bandas observadas no espectro Raman convencional e SERS da 4MPy adsorvida nas AuNSs dentro da janela espectral estudada.	92
Tabela 12. Quantidade de 4MPy livre na calota esférica compreendida nos 40 nm a partir da superfície de uma única AuNS. São admitidos a formação de uma monocamada com o equilíbrio de adsorção estabelecido e AuNS isolada.	93
Tabela 13. Valores de $EF_{máx}$, $EF_{méd}$, σ e $\%_{erro}$ obtidos para os espectros SERS suportados pelas AuNSs nos três sistemas estudados (Tabela 2).	96
Tabela 14. Frequências e atribuição das bandas observadas no espectro Raman convencional e SERS da 4MPy adsorvida no AuEle dentro da janela espectral estudada.	98
Tabela 15. Valores de $EF_{máx}$, $EF_{méd}$, σ e $\%_{erro}$ obtidos para os espectros SERS suportados pelo eletrodo ativado por ciclos de oxidação e redução (AuEle).	101

Tabela 16. Frequências e atribuição das bandas observadas no espectro Raman convencional e SERS da 4MPy no substrato Klarite® dentro da janela espectral estudada.	104
Tabela 17. Valores de $EF_{máx}$, $EF_{méd}$, σ e $\%erro$ obtidos para os espectros SERS suportados pelos poços piramidais do substrato Klarite® nos quatro planos mapeados.	105
Tabela 18. Principais bandas observadas no espectro Raman convencional da 4MPy em solução em diferentes pHs.	115
Tabela 19. Tautômeros da 4MPy predominantes em solução com pHs 1, 6 e 10.	116
Tabela 20. Quadro resumo dos tautômeros da 4MPy e seus estados de protonação encontrados nos substratos estudados nesta dissertação de mestrado.	125

LISTA DE ABREVIATURAS

4MPy:	4-mercaptopiridina.
AAO:	<i>Anodized Aluminum Oxide</i> , alumina anodizada.
AuEle:	Eletrodo ativado de Au.
AuNF:	Nanofio de Au.
AuNS:	Nanoesfera de Au.
AuNT:	Nanotubo de Au.
CCD:	<i>Charge-coupled device</i> , dispositivo de carga acoplada.
DDA:	<i>Discrete dipole approximation</i> , aproximação do dipolo discreto.
EF:	<i>Enhancement factor</i> , fator de intensificação.
FDTD:	<i>Finite-difference time-domain</i> , diferença finita no domínio do tempo.
FIB:	<i>Focused ion beam</i> , feixe de íon focalizado.
FWHM:	<i>Full width at half maximum</i> , largura a meia altura.
HOMO:	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> , orbital molecular ocupado mais alto.
IR:	<i>Electromagnetic radiation in the infrared range</i> , radiação eletromagnética na região do infravermelho.
LUMO:	<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i> , orbital molecular desocupado mais baixo.
NA:	<i>Numerical aperture</i> , abertura numérica.
NP:	Nanopartícula.
PC:	Polycarbonato.
PCM:	Membrana de polycarbonato.
pzc:	<i>Potencial of zero charge</i> , potencial de carga zero.
RR:	Raman ressonante.
SEM:	<i>Scanning Electron Microscopy</i> , microscopia eletrônica de varredura.
SERRS:	<i>Surface enhanced resonant Raman scattering</i> , espalhamento Raman ressonante intensificado pela superfície.
SERS:	<i>Surface enhanced Raman scattering</i> , espalhamento Raman intensificado pela superfície.
UV:	Radiação eletromagnética na região do ultravioleta.
UV-VIS:	Radiação eletromagnética na região do ultravioleta e visível.
Φ:	Diâmetro de poro.

SUMÁRIO

1. Introdução

1.1. Espectroscopia vibracional Raman e sua intensificação pela superfície	20
1.2. Mecanismos envolvidos na intensificação do sinal Raman	
1.2.1. O efeito Raman ressonante	23
1.2.2. O espalhamento Raman intensificado pela superfície: mecanismo químico	25
1.2.3. O espalhamento Raman intensificado pela superfície: mecanismo eletromagnético	26
1.3. Intensidade SERS total e o Fator de Intensificação SERS	33
1.4. Substratos SERS	35
1.4.1. Eletrodos	36
1.4.2. Nanopartículas	37
1.4.3. Substratos obtidos com auxílio de moldes	38

2. Objetivos

3. Procedimentos experimentais

3.1. Materiais	44
3.2. Instrumentação	45
3.3. Preparação dos substratos	
3.3.1. Membranas poliméricas de policarbonato – PCM	46
3.3.2. Nanotubos de ouro obtidos por sputtering nas PCM	48
3.3.3. Nanofios e nanotubos de ouro obtidos por eletrodeposição nas PCM	49
3.3.4. Nanoesferas de ouro	50
3.3.5. Eletrodo de ouro ativado	51
3.3.6. Klarite®	52
3.4. Análise estatística aplicada aos resultados	52

4. Resultados e discussão	
4.1. Estudos preliminares	
4.1.1. Instrumentação	54
4.1.2. A molécula-prova 4-mercaptopiridina	60
4.2. Nanotubos de ouro obtidos por sputtering nas PCM	
4.2.1. Caracterização morfológica e espectroscópica na região do visível	62
4.2.2. Atividade SERS e distribuição espacial dos fatores de intensificação	66
4.3. Nanofios e nanotubos de ouro obtidos por eletrodeposição nas PCM	
4.3.1. Caracterização morfológica e espectroscópica na região do visível	75
4.3.2. Atividade SERS e distribuição espacial dos fatores de intensificação	79
4.4. Outros substratos	
4.4.1. Suspensão coloidal de nanoesferas de Au	88
4.4.2. Eletrodo ativado de Au	97
4.4.3. Klarite®	102
4.5. Comparação dos substratos entre si e com a literatura	108
4.6. Estudo dos equilíbrios de superfície da molécula-prova 4-mercaptopiridina	113
5. Conclusões	126
Referências bibliográficas	129
Súmula curricular	138

1. Introdução

1.1. Espectroscopia vibracional Raman e sua intensificação pela superfície

A espectroscopia vibracional Raman se baseia no espalhamento inelástico de fótons após a interação destes com a matéria [1]. O efeito foi observado pela primeira vez por Chandrasekhara Venkata Raman em 28 de fevereiro de 1928 [2,3,4] e posteriormente nomeado em sua homenagem. Segundo o próprio Raman [3]:

“(...) in every case in which light is scattered by the molecules in dust-free liquids or gases, the diffuse radiation of the ordinary kind, having the same wave-length as the incident beam, is accompanied by a modified scattered radiation of degraded frequency.”

C. V. Raman observou que a luz espalhada por líquidos e gases continha componentes de mesmo comprimento de onda da radiação incidente e de frequência diferente desta. A verificação de que a diferença energética entre a radiação incidente e a radiação espalhada com frequência diferente desta correspondia a um quantum vibracional revelou a potencialidade do efeito recém-descoberto como uma ferramenta poderosa no estudo de propriedades e estruturas moleculares e resultou na premiação de C. V. Raman com o Nobel de Física em 1930, apenas dois anos após a descoberta do efeito [5].

O espalhamento de luz por uma molécula ocorre quando um fóton incidente a perturba, excitando-a um estado eletrônico que não é uma de suas autofunções, um estado chamado virtual. A relaxação para o estado eletrônico fundamental pode ocorrer através do espalhamento de um fóton, onde três possibilidades existem: a molécula relaxa para (i) o mesmo estado vibracional de origem ou (ii) para um estado vibracional superior ao de origem ou ainda (iii) para um estado vibracional inferior ao de origem. No primeiro caso, o fóton espalhado tem a mesma frequência do incidente, portanto, ocorre o espalhamento elástico, também chamado espalhamento Rayleigh.

Nos outros dois casos os fótons espalhados terão frequências menor e maior do que os fótons incidentes, respectivamente, portanto, espalhados inelasticamente. Quando a frequência do fóton espalhado é menor que a do incidente, o espalhamento é chamado Stokes. Quando o contrário ocorre e o fóton espalhado é mais energético que o incidente, o espalhamento é chamado anti-Stokes. Nestes casos, a diferença de energia entre os fótons incidente e espalhado corresponde à energia de um quantum vibracional – a mesma informação obtida na espectroscopia de absorção no infravermelho (IR). A Figura 1 ilustra os espalhamentos (A) Rayleigh, (B) Stokes e (C) anti-Stokes para uma excitação envolvendo os níveis vibracionais fundamental, $\nu = 0$, e primeiro excitado, $\nu = 1$, do estado eletrônico fundamental, g , de uma molécula qualquer. O estado virtual, r , é representado por uma linha tracejada.

Figura 1. Esquema dos espalhamentos (A) Rayleigh, (B) Stokes e (C) anti-Stokes.

Através dos anos, a espectroscopia Raman tornou-se uma ferramenta importante para o estudo de propriedades moleculares, de suas estruturas e de sua detecção. Várias razões podem ser evocadas para tal, dentre elas, destaca-se: (i) a espectroscopia Raman é fenomenologicamente diferente da espectroscopia de absorção no IR, de modo que existe a possibilidade de modos vibracionais inativos no IR serem observados no espectro Raman, complementando a análise vibracional da molécula em estudo, (ii) devido à pequena seção de choque de espalhamento inelástico (σ) da água ($= 8 \times 10^{-30} \text{ cm}^2 \cdot (\text{molécula} \cdot \text{sr})^{-1}$ para seu estiramento anti-simétrico em $\approx 3400 \text{ cm}^{-1}$, com radiação incidente (λ_0) em 488 nm [6]) é possível se trabalhar em meios aquosos, ao passo que na espectroscopia de absorção no IR a

água é pouco desejável em vista da grande variação do dipolo permanente existente na ligação O–H com o movimento vibracional e (iii) na espectroscopia Raman os espectros são excitados com radiações na região do ultravioleta e visível (UV-VIS), isto permite a utilização de microscopia óptica para a obtenção de informações espectrais em áreas pequenas, tais como $1 - 10 \mu\text{m}^2$, dependendo das configurações empregadas.

No entanto, o grande entrave na espectroscopia Raman é a baixa probabilidade de que um fóton seja espalhado inelasticamente: em geral as seções de choque de espalhamento inelástico estão entre 10^{-32} e $10^{-28} \text{ cm}^2.\text{sr}^{-1}$ [6,7]. Isto impõe que os estudos sejam conduzidos com soluções concentradas ou em estado sólido, o que nem sempre é possível e/ou desejável. Em vista das vantagens expostas acima, bem como da limitação inerente à técnica, é clara a necessidade de se buscar meios de intensificação do espectro Raman. Neste sentido, dois efeitos são os mais bem estabelecidos: os efeitos Raman ressonante (RR) e de intensificação do espalhamento Raman pela superfície (SERS – *Surface Enhanced Raman Scattering*); este último é tema desta dissertação de mestrado e terá seu mecanismo detalhado abaixo.

O primeiro relato do que seria posteriormente conhecido como efeito SERS foi feito por Fleischmann *et al.* [8], em 1974, ao observarem um espectro Raman extraordinariamente intenso de piridina adsorvida sobre um eletrodo ativado de Ag. O processo de ativação consiste em ciclos de oxidação-redução do metal que compõe o eletrodo e resulta no aumento da área superficial do eletrodo. Assim, a explicação inicial para a intensificação observada no espectro Raman se baseava no aumento do número de moléculas adsorvidas no eletrodo ativado de Ag. Em dois trabalhos de 1977, Jeanmarie *et al.* [9] e Albrecht *et al.* [10], e em um trabalho de M. Moskovits de 1978 [11], foi demonstrado que a intensificação resultante no espectro não poderia ser atribuída somente ao aumento no número de moléculas adsorvidas na superfície do eletrodo. Em 1979, Richard P. Van Duyne utilizou o termo “*surface-enhanced*

Raman (SER) effect” para descrever a intensificação sofrida pelo espectro de moléculas adsorvidas em superfícies metálicas [12].

No entanto, estes autores divergiam sobre o origem da extraordinária intensificação no espectro Raman de piridina observada por Fleischmann *et al.* Jeanmarie *et al.* e M. Moskovits creditavam a intensificação do espectro à concentração do campo elétrico nas proximidades das moléculas adsorvidas, o que viria a dar origem ao mecanismo eletromagnético do SERS. Já Albrecht *et al.* propunham a intensificação no espectro baseada em ressonâncias entre estados eletrônicos moleculares e do próprio metal, perturbados em função da adsorção molecular, o que se tornaria o mecanismo químico. Houve muito debate acerca da presença e extensão de cada efeito [13,14,15], no entanto hoje é aceito que não só ambos os efeitos operam, como também pode haver contribuição do efeito Raman ressonante (RR) da molécula [16,17] gerando o efeito de espalhamento Raman ressonante intensificado pela superfície: SERRS (*Surface Enhanced Resonance Raman Scattering*). A seguir são discutidos os aspectos básicos de cada um dos mecanismos envolvidos na intensificação do espectro Raman.

1.2. Mecanismos envolvidos na intensificação do sinal Raman

1.2.1. O efeito Raman ressonante

Na espectroscopia Raman convencional a intensidade de uma banda atribuída a um modo vibracional, I_{mn} , é proporcional (i) à potência da radiação incidente, (ii) à quarta potência da radiação espalhada e (iii) à probabilidade de transição entre os níveis vibracionais envolvidos, isto é, com o quadrado do seu tensor de polarizabilidade [1]:

$$I_{mn} \propto I_0 \times \nu^4 \times \sum_i \sum_j |(\alpha_{ij})_{mn}|^2 \quad (1)$$

Onde I_{mn} é a intensidade do modo vibracional na transição entre os níveis vibracionais m e n , I_0 é a intensidade da radiação incidente, ν é a frequência da radiação espalhada e $(\alpha_{ij})_{mn}$ é o

tensor de polarizabilidade da transição $m \rightarrow n$, onde os subscritos i e j são os i - e j -ésimos elementos do momento de dipolo induzido relacionado à transição $m \rightarrow n$.

O tensor de polarizabilidade, $(\alpha_{ij})_{mn}$, pode ser expresso de acordo com a fórmula de dispersão de Kramers-Heisenberg-Dirac [18]:

$$(\alpha_{ij})_{mn} = \frac{1}{h} \times \sum_r \left[\frac{\langle n | \mu_i | r \rangle \times \langle r | \mu_j | m \rangle}{\nu_{rm} - \nu_0 + i \times \Gamma_r} + \frac{\langle n | \mu_j | r \rangle \times \langle r | \mu_i | m \rangle}{\nu_{rn} + \nu_0 + i \times \Gamma_r} \right] \quad (2)$$

Onde h é a constante de Planck, n e m são os estados vibracionais inicial e final envolvidos na transição, r é o estado virtual, μ_i e μ_j são i - e j -ésimos componentes do momento de dipolo eletrônico, ν_{rm} e ν_{rn} são as frequências das transições $m \rightarrow r$ e $r \rightarrow n$, ν_0 é a frequência da radiação incidente e Γ_r é uma constante de amortecimento.

O efeito RR ocorre quando a radiação incidente utilizada para excitar o espectro está dentro de uma banda de absorção eletrônica da molécula em estudo [18,19]. Nesta condição há a excitação da molécula para um estado eletrônico excitado estacionário. A condição de ressonância, $\nu_{rm} \approx \nu_0$, reduz a expressão do tensor de polarizabilidade a:

$$(\alpha_{ij})_{mn} = \frac{1}{h} \times \sum_r \frac{\langle n | \mu_i | r \rangle \times \langle r | \mu_j | m \rangle}{\nu_{rm} - \nu_0 + i \times \Gamma_r} \quad (3)$$

De onde a intensificação vem de três fatores. Primeiramente, pela condição de ressonância tem-se que $(\nu_{rm} - \nu_0) \rightarrow 0$ e, portanto, a equação 3 assume valores elevados. Além disto, o estado eletrônico virtual r jaz dentro de um estado eletrônico excitado permitido, assim, os valores dos momentos de dipolo induzido de transição $\langle n | \mu_i | r \rangle$ e $\langle r | \mu_j | m \rangle$ aumentam. Por fim, se soma sobre mais estados virtuais r . Via de regra, apenas as bandas dos modos vibracionais relacionados com o cromóforo responsável pela absorção ressonante são intensificados, atingindo valores de até 10^5 [1,18,19].

1.2.2. O espalhamento Raman intensificado pela superfície: mecanismo químico

O efeito SERS, dentro do contexto do mecanismo químico, é muito semelhante ao RR. Ocorrem transferências de carga entre o HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) ou LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) da molécula adsorvida e o nível do Fermi (F) do metal sobre o qual a adsorção ocorreu [16,17,20,21,22]. A Figura 2, adaptada da ref. 22, ilustra uma ressonância F→LUMO. Nela, três potenciais, V_1 , V_2 e V_3 , são aplicados a um eletrodo, onde V_1 é mais positivo e V_2 e V_3 são mais negativos do que o nível de Fermi do metal definido no potencial de carga zero (pzc – *potential of zero charge*). Como a excitação do espectro ocorre com λ_0 fixa, apenas V_2 cumpre a condição de ressonância entre F do metal e o LUMO da molécula, *i.e.*, $\psi_e(\text{CT}) - \psi_g(V_2) = h\nu$, para um fóton espalhado do tipo Stokes.

Figura 2. Ilustração do mecanismo químico do SERS e sua modulação de acordo com a variação do potencial elétrico aplicado ao metal. Onde V_1 , V_2 e V_3 são os potenciais aplicados ao eletrodo. ψ_g e E_F são a função de onda da molécula adsorvida e a energia do nível do Fermi, respectivamente, ψ_e é a função de onda de um estado eletrônico excitado da molécula adsorvida e $h\nu$ é a energia da radiação incidente (λ_0). I_{SERS} é a intensidade de uma banda no espectro SERS da molécula adsorvida e E é o potencial aplicado ao eletrodo. Adaptado de Wu *et al.* [22].

A variação de potencial aplicado permite modular a ressonância $F \rightarrow LUMO$, num experimento chamado perfil de intensificação SERS. Este é mostrado abaixo e a direita na Figura 2, onde a intensidade SERS (I_{SERS}) é expressa em função do potencial aplicado ao eletrodo (E). Como esperado do exposto acima, I_{SERS} apresenta maior valor quando $E = V_2$.

Em geral, as intensificações geradas pelas transferências de carga do mecanismo químico do SERS respondem por valores de 10^2 - 10^3 vezes [20], sendo responsáveis por uma pequena parcela da intensificação total observada.

1.2.3. O espalhamento Raman intensificado pela superfície: mecanismo eletromagnético

Esta é a principal via de intensificação do efeito SERS [13,15,16,17,20,22] e decorre da indução de um movimento coerente dos elétrons superficiais de um metal com a frequência da radiação incidente de determinada energia. Esta excitação coletiva dos elétrons é chamada plásmon e numa condição em que a superfície metálica é muito maior que o comprimento de onda da radiação incidente sua frequência de ressonância (ω_p) é dada por [7,23,24]:

$$\omega_p = \frac{n \times e^2}{\epsilon_0 \times m_e} \quad (4)$$

Onde $\omega_p \equiv$ é a frequência do plásmon de superfície, $n \equiv$ densidade de elétrons no material, $e \equiv$ carga eletrônica, $\epsilon_0 \equiv$ permissividade elétrica no vácuo e $m_e \equiv$ massa de repouso do elétron.

Nesta condição, a excitação plasmônica é chamada bulk plásmon, pois independe das dimensões do material sobre o qual a radiação incide. No entanto, para que exista a intensificação SERS é necessário que este plásmon mantenha-se concentrado na superfície do metal [13,15,25]. Isso ocorre eficientemente quando partículas metálicas têm pelo menos uma de suas dimensões menor do que o comprimento de onda da radiação incidente. Como a espectroscopia Raman utiliza lasers com comprimentos de onda na região do ultravioleta-visível-infravermelho próximo para a excitação dos espectros, há a necessidade de que as

partículas metálicas apresentem dimensões da ordem de grandeza de $10\text{-}10^2$ nm, isto é, nanopartículas (NP). A Figura 3A é ilustra o processo de excitação do plásmon de superfície pelo campo elétrico da radiação incidente. Na Figura 3B, uma imagem de campo próximo mostra a concentração de campo elétrico na vizinhança de um nanoburaco com 250 nm de diâmetro e 50 nm de profundidade num filme de Au com excitação em $\lambda_0 = 632,8$ nm e a propagação deste plásmon de superfície a partir das bordas desse nanoburaco, indicando seu comprimento de onda λ_{SP} [26].

Figura 3. (A) Ilustração do movimento dos elétrons superficiais de uma nanopartícula metálica induzido por um campo elétrico incidente. Na figura, “Metal sphere”, “E-field” e “e⁻ cloud” referem-se respectivamente à esfera metálica, ao campo elétrico incidente e aos elétrons superficiais da partícula. Adaptado de Kelly *et al.* [25]. (B) Imagem de campo próximo da concentração de campo elétrico nas bordas de um nanoburaco (250 nm de diâmetro, 50 nm de profundidade) num filme de Au e da propagação do plásmon de superfície pelo filme de Au ($\lambda_0 = 632,8$ nm). A barra de escala indica 5 μm e λ_{SP} é comprimento de onda com o qual propaga o plásmon de superfície. Adaptado de Gao *et al.* [26].

No exemplo da Figura 3A, os elétrons da superfície da NP são deslocados sob a ação do campo elétrico incidente e concentrados numa pequena seção da NP, gerando um dipolo elétrico em sua superfície, cujo campo elétrico é descrito por [25]:

$$E_{induzido} = E_0 \times \hat{x} - \alpha_{NP} \times E_0 \times \left[\frac{\hat{x}}{r^3} - \frac{3x}{r^5} (x\hat{x} + y\hat{y} + z\hat{z}) \right] \quad (5)$$

Onde $E_{induzido} \equiv$ campo elétrico dipolar induzido na superfície da nanopartícula; $E_0 \equiv$ campo elétrico incidente; $x \equiv$ direção de propagação do campo E_0 ; $\alpha_{NP} \equiv$ tensor de polarizabilidade dipolar da nanopartícula interagindo com o campo E_0 e $\hat{x}, \hat{y}, \hat{z}$ são os versores nas três dimensões espaciais.

Como a equação 5 mostra, o campo elétrico induzido, neste caso dipolar, depende da polarizabilidade dos elétrons superficiais da NP. O tensor de polarizabilidade dipolar, α_{NP} , vale $\left(\frac{\epsilon_i - \epsilon_0}{\epsilon_i + 2\epsilon_0} \times d^3 \right)$, onde ϵ_i é a função dielétrica complexa da nanopartícula, dependente da frequência, e ϵ_0 é a constante dielétrica do meio, e d é o diâmetro da NP – admitindo NP esféricas, único caso em que há solução exata [25].

Quando $\epsilon_i = -2\epsilon_0$, ocorre uma condição de ressonância onde o campo elétrico dipolar sobre a partícula tem valor muito elevado, como resultado da intensa absorção de luz na geração do plásmon de superfície. Para NP de metais da família do Cu essa ressonância se apresenta na região do visível do espectro eletromagnético. Outros metais de transição também apresentam este tipo de absorção, porém localizadas tipicamente no ultravioleta e apresentam forte interferência das transições $d-d$ intrínsecas destes metais [27], tornando a excitação plasmônica pouco eficiente. Na Figura 4 é mostrado um espectro de extinção de uma suspensão coloidal de nanoesferas de ouro (AuNS) com diâmetro médio de (45 ± 5) nm, determinado por microscopia eletrônica de varredura (*Scanning Electron Microscopy* – SEM), com concentração de $5,42 \times 10^{12}$ AuNS.cm⁻³, onde é possível ver uma única banda centrada em 528 nm e atribuída ao plásmon de superfície destas mesmas AuNSs.

Campos elétricos induzidos de ordens superiores, quadrupolar e octapolar, apresentam-se deslocados para o azul. Por exemplo, o tensor de polarizabilidade para a ressonância quadrupolar (β) vale $\frac{\epsilon_i - \epsilon_0}{\epsilon_i + \frac{3}{2}\epsilon_0} \times d^5$ logo, a ressonância quadrupolar ocorre

quando $\epsilon_i = -\frac{3}{2}\epsilon_0$. Estas ressonâncias de ordens superiores tornam-se importantes quando a dimensão da partícula aumenta [25]. As referências 25, 28 e 29 mostram espectros de extinção de uma série de nanopartículas com várias dimensões e aparecimento das três ressonâncias citadas acima.

Figura 4. Espectro de extinção de uma suspensão coloidal de nanopartículas de ouro com diâmetro médio de (45 ± 5) nm.

A frequência de ressonância plasmônica varia com uma série de parâmetros. O mais evidente é o aumento da dimensão da nanopartículas que faz com que o plásmom de superfície se desloque para o vermelho [25,28,29]. Porém desvios para maiores comprimentos de onda também ocorrem quando a constante dielétrica do meio (ϵ_0) aumenta [29,30,31,32] ou quando um potencial elétrico positivo é aplicado [33].

Embora não haja solução exata para o campo elétrico induzido sobre partículas não esféricas, métodos computacionais podem prever o espectro de extinção de nanopartículas de formatos variados. Dentre estes métodos, pode-se destacar o FDTD [27] (*Finite-Difference Time-Domain*) e o DDA [25,34] (*Discrete Dipole Approximation*). Isto é de fundamental importância, pois, atualmente é possível sintetizar nanopartículas de geometrias variadas [35,36,37,38,39] cuja ressonância plasmônica de superfície pode ser predita teoricamente e

modulada em função de fatores geométricos para se situar em determinada região do espectro eletromagnético.

Com as metodologias acima foi possível explicar o espectro de extinção destas nanopartículas com geometrias outras que não esféricas, mostrando que a quebra de simetria faz com que o dipolo elétrico induzido se apresente em dois ou mais modos oscilando sobre os eixos da nanopartícula. Por exemplo, em comparação a uma NP esférica de Ag, que possui apenas um modo dipolar em ≈ 430 nm, um esferoide oblato de volume equivalente possui dois modos dipolares em ≈ 370 e 490 nm sobre os eixos menor e maior, respectivamente [25]. As referências 40 e 41 trazem uma série de medidas de absorções plasmônicas para diversas nanopartículas, maciças e/ou ocas, em Ag e Au e constituem um bom guia de em qual comprimento de onda se esperar que o plásmon de superfície (dipolar ou de ordens superiores) esteja presente.

A relação da concentração do campo elétrico induzido na superfície destas NP com a intensificação SERS pode ser obtida seguindo a discussão desenvolvida por M. Moskovits [15]. De acordo com a equação 5, o campo elétrico dipolar induzido na superfície da nanopartícula (E_{induzido}) é proporcional a $\alpha_{NP} \times E_0$, chamando α_{NP} por g para evitar confusão com o tensor de polarizabilidade molecular, $(\alpha_{ij})_{mn}$, o campo espalhado pela molécula será:

$$E_{\text{espalhado}} \propto \alpha_M \times E_{\text{induzido}} \propto (\alpha_{ij})_{mn} \times g \times E_0 \quad (6)$$

Onde $(\alpha_{ij})_{mn}$ é o tensor de polarizabilidade da molécula adsorvida. Mas o campo espalhado pela molécula também é intensificado pelo campo induzido na superfície da nanopartícula porque as frequências espalhadas são muito próximas da incidente. Por exemplo, se um espectro é excitado utilizando-se a linha em $632,8$ nm de um laser de He-Ne, o fóton Stokes de um modo vibracional em 1000 cm^{-1} terá comprimento de onda de 675 nm.

Assim, seja g' a intensificação deste campo espalhado, o campo espalhado total será:

$$E_{\text{espalhado}} \propto g' \times (\alpha_{ij})_{mn} \times g \times E_0 \quad (7)$$

Da equação 1, $I_{mn} \propto I_0 \rightarrow E_{mn} \propto E_0$. Mas num experimento SERS o campo provado pela molécula (E_{SERS}) é E_0 mais $E_{\text{espalhado}}$, isto é, o espectro resultante é o espalhamento Raman convencional mais o espalhamento SERS. Como o último é muito mais intenso que o espalhamento Raman convencional, pode ser escrito para a transição $m \rightarrow n$:

$$\begin{aligned} E_{mn} &= E_{\text{SERS}} \propto E_0 + E_{\text{espalhado}} \cong E_{\text{espalhado}} \rightarrow \\ I_{mn} &= I_{\text{SERS}} \propto |E_{\text{espalhado}}|^2 \propto |g'|^2 \times |(\alpha_{ij})_{mn}|^2 \times |g|^2 \times I_0 \quad (8) \end{aligned}$$

Se considerarmos que, principalmente para bandas vibracionais com frequências menos elevadas, o campo induzido na superfície da NP pela radiação incidente e o campo espalhado pela molécula têm energias aproximadamente iguais pode-se escrever $|g'|^2 \approx |g|^2$. Portanto, a intensidade SERS varia com a quarta potência do campo elétrico induzido na superfície da NP pela radiação incidente, numericamente $I_{\text{SERS}} \propto |g|^4$.

Kelly *et al.* [25] e Hao *et al.* [34] calcularam a concentração de campo elétrico em nanopartículas isoladas de formatos variados, encontrando valores para $|E_{\text{induzido}}|^2$ entre 30 e 6×10^2 e resultando, de acordo com a aproximação acima, em intensificações SERS entre 9×10^2 e $3,6 \times 10^5$. Intensificações muito superiores podem ser obtidas numa situação que se convencionou chamar hot-spot, comumente definido como a região compreendida no interstício entre duas nanopartículas. Hao *et al.* [34] mostraram que os campos elétricos induzidos em duas nanopartículas de Ag acopladas com máxima eficiência quando estas partículas estão separadas de 2 nm. Nesta condição, obteve-se $|E_{\text{induzido}}|^2 \approx 10^4$ e, portanto, $I_{\text{SERS}} \approx 10^8$. Note que este valor é cerca de cinco ordens de grandeza superior à intensificação SERS causada pelo mecanismo químico, sendo esta uma das razões pela qual o mecanismo eletromagnético é o mais considerado na maioria da literatura existente sobre SERS, além de

dependem fundamentalmente de Física clássica, de mais simples implementação e interpretação [20].

O conceito de hot-spot acima é fundamental no SERS e algumas considerações adicionais devem ser feitas. Etchegoin *et al.* [42] mostraram que num arranjo aleatório de partículas livres há um número médio de hot-spots cujo plásmon de superfície é deslocado para o vermelho com relação à absorção plasmônica média das partículas. Esse efeito e a dependência da posição do máximo de absorção do plásmon de superfície do hot-spot em função da separação entre as partículas é bem ilustrado no trabalho de Jain *et al.* [43] onde variando a separação entre nanodiscos de Au litografados de 212 a 2 nm é observado o deslocamento para o vermelho da ressonância plasmônica de superfície. Outra característica importante dos hot-spots é a forte dependência angular na posição da molécula com relação ao eixo interpartícula [44]. Um desvio de $\approx 11^\circ$ faz com que o campo intensificado sentido pela molécula caia ≈ 14 vezes resultando que para uma monocamada de moléculas adsorvidas numa nanopartícula, 80% do sinal SERS vem de apenas 0,64% do total de moléculas.

Figura 5. A, B e C: Imagens de microscopia Raman confocal mostrando os pontos de maior intensidade Raman (hot-spots). D, E e F: Representações gráficas em três dimensões das estruturas correspondentes em A, B e C com suas intensidades dos campos elétricos concentrados nos hot-spots. Adaptado de Qin *et al.* [45].

Por fim, hot-spots formados por nanodiscos de Au intercalados por sessões de Ni tiveram sua imagem Raman obtida por Qin *et al.* [45], mostrando claramente que estes hot-spots são as regiões de maior sinal em um substrato SERS (Figura 5).

1.3. Intensidade SERS total e o Fator de Intensificação SERS

Considerando as ideias expostas nas seções anteriores e os trabalhos de Lombardi e Birke [16,17] que incluíram o sistema molécula-metal na expressão tensor de polarizabilidade, $(\alpha_{ij})_{mn}$, pode-se obter uma expressão geral para a intensidade SERS de uma transição vibracional $m \rightarrow n$:

$$(I_{SERS})_{mn} \propto |g|^2 \times |g'|^2 \times \sum_i \sum_j |(\alpha_{ij})_{mn}|^2 \times I_0 \quad (9)$$

Através da equação 9 são previstas intensificações entre 10^4 e 10^{11} . Mais importante, mostra que ainda que menos quantitativamente relevante para o SERS, o mecanismo químico é fundamental por ser sua única contribuição molecular específica. Ou seja, enquanto o mecanismo eletromagnético aumenta enormemente o campo elétrico nas vizinhanças da molécula, é o tensor de polarizabilidade da molécula que determina as frequências e intensidades relativas das bandas registradas no espectro SERS.

No entanto, a intensidade de uma banda não é parâmetro suficiente para a quantificação adequada da intensificação do espectro SERS em comparação com o espectro Raman convencional da mesma molécula, pois o número de espalhadores envolvidos em cada condição é diferente. Além disso, devido à vasta gama de substratos SERS-ativos disponíveis hoje, é desejável que valores de intensificações SERS possam ser comparados de maneira a quantificar sua qualidade enquanto substrato SERS.

A grandeza responsável por esta quantificação é chamada fator de intensificação SERS (EF) e, de maneira bastante geral, pode ser escrita como [46,47]:

$$EF = \frac{\frac{I_{SERS}}{N_{SERS}}}{\frac{I_{bulk}}{N_{bulk}}} \quad (10)$$

Onde I_{SERS} e I_{bulk} são as intensidades de uma determinada banda nos espectros SERS e Raman convencional (bulk), respectivamente. N_{SERS} e N_{bulk} são os números de espalhadores responsáveis pelas intensidades nos espectros SERS e Raman convencional (bulk), respectivamente.

A equação 10 nada mais é do que uma relação entre as intensidades de uma banda nos espectros SERS e Raman convencional (bulk) normalizada pelo número de espalhadores responsáveis pelas intensidades registradas, onde os espectros SERS e Raman convencional foram obtidos em condições experimentais e instrumentações as mais próximas possíveis. Isso inclui, mas não se limita a, concentrações de soluções, radiações excitantes, potências incidentes, lentes objetivas, detectores e tempos de exposição. Implícito na equação 10 está o fato de que o valor resultante de EF é um valor médio sobre todos os espalhadores adsorvidos na nanoestrutura responsável pela intensificação SERS [46].

I_{SERS} e I_{bulk} podem ser medidas com base na altura de uma banda, se as larguras a meia-altura das bandas forem aproximadamente iguais, ou em sua área integrada. Tipicamente os espectros bulk são obtidos em solução, de modo que N_{bulk} é facilmente obtido considerando o número de moléculas dentro de volume gerado pelo laser que excita o espectro ($V_{confocal}$):

$$N_{bulk} = C_{bulk} \times V_{confocal}, \text{ com } C_{bulk} \text{ sendo a concentração do analito na condição bulk.}$$

O termo N_{SERS} é o que demanda maior cuidado em seu cálculo. O modo mais simples de calculá-lo é uma analogia à maneira como N_{bulk} é calculado, ou seja, $N_{SERS} = C_{SERS} \times V_{confocal}$, com C_{SERS} correspondendo à concentração do analito na condição SERS. Porém a definição de uma concentração SERS é conceitualmente errada, pois, o mesmo é uma técnica espectroscópica de superfície. Considere, por exemplo, que uma monocamada de uma

molécula qualquer possa ser formada a partir de uma solução de 1×10^{-4} M; considere ainda que para se assegurar de que a monocamada fosse formada se utilizasse uma concentração de 1×10^{-2} M para a obtenção dos espectros SERS. Se os espectros SERS e bulk podem ser obtidos em condições experimentais idênticas, tem-se $N_{SERS} = N_{bulk}$ e EF passa a ser I_{SERS}/I_{bulk} . Se a concentração for diminuída a 1×10^{-4} M, a monocamada ainda seria a mesma, de modo que I_{SERS} manter-se-ia constante, no entanto, I_{bulk} seria diminuída em 100 vezes e, portanto, o fator de intensificação aumentaria 100 vezes sem, no entanto, haver melhora real na qualidade do substrato SERS utilizado.

Portanto, é evidente a importância do cálculo preciso do termo N_{SERS} . Uma vez que o SERS é uma técnica espectroscópica de superfície que se baseia majoritariamente no campo intensificado nas proximidades de uma nanopartícula, deve-se levar em conta não somente o número de moléculas adsorvidas, mas também o número de nanoestruturas responsáveis pela intensificação deste campo.

Durante o trabalho apresentado nesta dissertação de mestrado, vários tipos de substratos SERS foram sintetizados e utilizados. Os métodos para o cálculo de N_{SERS} e EF serão discutidos em detalhe com base na caracterização morfológica de cada substrato. Deste modo, ao final será possível uma comparação direta entre os diversos substratos estudados com base nos seus fatores de intensificação.

1.4. Substratos SERS

O primeiro substrato SERS foi o eletrodo ativado de Ag utilizado por Fleischmann *et al.* no primeiro registro de um espectro SERS [8]. No início da década de 80, nosso grupo foi responsável pelos primeiros trabalhos de SERS no país, utilizando também um eletrodo ativado, porém de Cu [48,49]. Os avanços nas sínteses de nanoestruturas que foram atingidos

nos anos que se seguiram, e que continuam até hoje, permitiram a exploração de uma gama muito maior de formas e materiais como substratos SERS [50,51]. Abaixo serão brevemente expostos os tipos de substratos SERS mais relevantes.

1.4.1. Eletrodos

Eletrodos ativados são os substratos de preparação mais simples. O processo de ativação consiste de ciclos de oxidação e redução do metal que compõe o eletrodo, de modo que ao final do processo a superfície do eletrodo apresenta nanoestruturas com diâmetros variados. Por esta mesma razão, estes não apresentam boa reprodutibilidade com relação à intensificação gerada [47,50], entretanto, é capaz de suportar intensificações suficientes para detecção SERS em regime de uma única molécula [52]. O uso de eletrodos ativados como substratos SERS permite o estudo concomitante de processos eletroquímicos. No entanto, a intensificação do campo elétrico é mais eficiente na família do Cu, assim, duas abordagens foram desenvolvidas para possibilitar a obtenção de espectros SERS com alta relação sinal/ruído (S/R) a partir de eletrodos de metais das demais famílias de metais de transição.

Na primeira delas, é depositada uma camada de apenas alguns átomos de espessura de metal de interesse – Pt, Rh, Ir, por exemplo – sobre um eletrodo de Au previamente ativado, de modo que o campo seja intensificado pelo Au, porém, o comportamento enquanto eletrodo seja do metal que compõe a camada superior. O grupo de M. J. Weaver tem uma série de trabalhos relevantes neste sentido [53,54,55]. Numa segunda abordagem, Z. Q. Tian *et al.* desenvolveram métodos de ativação para eletrodos maciços de metais de transição como Pt, Ru, Rh, Pd, Fe, Co e Ni [56,57] e foi utilizada por nosso grupo para a detecção, por exemplo, da molécula-alvo 1,10-fenantrolina em eletrodo de Fe [58].

Nesta dissertação de mestrado, um eletrodo ativado de Au foi um dos substratos escolhidos para a determinação de seu desempenho SERS.

1.4.2. Nanopartículas

Nanopartículas metálicas, em suspensão coloidal ou depositadas, são outro exemplo relevante de substrato SERS. Nanoesferas tem síntese bastante estabelecida na literatura [59,60] e ainda hoje há proposta de novas rotas sintéticas para sua obtenção com melhor controle morfológico [28,61]. Estas têm sido o substrato mais utilizado para o SERS, seja para aplicações do SERS [62,63,64], inclusive com a detecção de moléculas-alvo individuais; seja para estudos sobre os mecanismos do SERS, tanto de natureza teórica [25,34], quanto de natureza experimental [43,65,66,67,68].

Semelhantemente aos eletrodos, foram desenvolvidas metodologias de recobrimento de nanopartículas de Au, seja com metais de transição [27,69], seja com dielétricos [70]. Neste último, nanopartículas de Au são recobertas com uma camada de SiO_2 , que sendo inerte na maioria dos ambientes químicos, permite a aplicação direta deste nanocompósito em, por exemplo, detecção de agrotóxicos diretamente sobre a superfície de frutas.

Figura 6. Imagem de microscopia eletrônica de varredura dos nanobastões obtidos por Ye *et al.* [73]. As barras de escala marcam 100 nm. Os centros das absorções plasmônicas destes nanobastões são a: 979, b: 1039, c: 1058 e d: 1146 nm. Adaptado de Ye *et al.* [73].

Além das nanoesferas, um dos formatos mais explorados no campo da plasmônica e SERS são os nanobastões e nanofios de Au ou Ag [29,71,72]. Recentemente Ye *et al.* [73] relataram um procedimento onde são obtidos nanobastões com impressionante controle morfológico mostrados na Figura 6. Além de nanobastões, nanoestruturas com formato exótico também foram obtidas com grande controle morfológico, por exemplo: estrelas [74] e carambolas [75]. Sun e Xia [41] e, mais recentemente, Mayer e Hafner [76] publicaram interessantes revisões sobre os avanços sintéticos na obtenção de nanopartículas com formas variadas, bem como suas propriedades plasmônicas.

Nanocascas de Au também têm sido sintetizadas através do recobrimento de nanopartículas de Ag com uma camada de Au. O processo não envolve aplicação de potenciais para a redução do Au, pois esta ocorre quando a Ag das nanopartículas utilizadas como sementes é oxidada. Como efeito, os íons Ag^+ migram para solução e o produto final são nanoesferas ocas – nanocascas – de Au [77,78,79,80]. Geometrias como nanodiscos de Au [43] moldados com nanolitografia e nanoburacos em filmes de Ag [81] ou Au [82,83] feitos através da incidência de um feixe de íons de Ga sobre um filme de Au, numa técnica chamada de FIB (*Focused Ion Beam*) também têm sido exploradas enquanto substratos SERS. Nesta dissertação de mestrado, nanoesferas de Au foram sintetizadas [59] e sua atividade SERS foi avaliada.

1.4.3. Substratos obtidos com auxílio de moldes

Um terceiro grupo de substratos SERS é composto por nanoestruturas crescidas com o auxílio de algum tipo de molde: uma metodologia sintética chamada *template-assisted synthesis* [51,84]. Numa primeira abordagem, Au é depositado sobre esferas de poliestireno (atuando como positivo) por eletroquímica ou sputtering (vaporização catódica). Após a

deposição as esferas de poliestireno são dissolvidas com um solvente adequado; e resulta um substrato com estrutura em forma de colmeia [85,86,87,88,89,90], como ilustrado abaixo.

Figura 7. (A) Segmentos do tipo colmeia obtidos com a eletrodeposição de Au sobre esferas de poliestireno, seguido da dissolução das mesmas, a barra de escala marca 1 μm . Adaptado de Mahajan *et al.* [89]. (B) Nanofios de Au/Ni obtidos pela eletrodeposição destes metais num molde de *Anodized Aluminum Oxide* (AAO), a barra de escala marca 2 μm . Adaptado de Yoo *et al.* [91].

Numa abordagem diferente, com o molde utilizado como negativo, têm-se dois exemplos bem estabelecidos: membranas de alumina (*Anodized Aluminum Oxide* – AAO) e membranas poliméricas de policarbonato (*Polycarbonate Membranes* – PCM) – esta última é o molde utilizado nessa dissertação de mestrado. Membranas de AAO são preparadas pela exposição de uma folha de alumínio a uma solução 0,3 M de ácido cítrico com aplicação de 40 V, contra um eletrodo de grafite, a 17 °C. Segue-se uma etapa de oxidação onde essa folha de alumínio é exposta a uma solução 10% m/m de H_3PO_4 , com aplicação de 160 V, contra um eletrodo de grafite, a -3 °C. Por fim, a membrana de alumina é separada do restante da folha de alumínio através de sua exposição a uma solução de H_3PO_4 5% m/m por 30 minutos [92]. São obtidos poros com diâmetros entre 20 e 250 nm com densidades de poros de $\approx 10^{10}$ poros. cm^{-2} . Essas membranas de AAO são largamente utilizadas para a deposição de metais, tais como Au [93,94,95,96], Fe, Co, Ni [97], Pt [92] e suas ligas [91] e resultando na produção de nanofios/bastões.

Nas PCMs o polycarbonato é obtido através da policondensação [98] do bisfenol A em presença de fosgênio (Figura 8). Essas membranas são usadas principalmente como membranas para filtros em separações nanométricas, podendo ser encontradas sob formas de discos e retângulos com diâmetros de 13 a 393 mm e espessuras entre 6 e 15 μm . Seus poros são nanodimensionados, com diâmetros de 50, 80, 100, 200 e 400 nm [99].

Figura 8. Reação de policondensação entre bisfenol A e fosgênio que tem como produto o polycarbonato.

As PCMs são confeccionadas através da irradiação de uma membrana de polycarbonato (PC) por íons Ar^{9+} a alguns MeV [100,101]. Estes íons geram poros de cerca de 30 nm em diâmetro no interior da matriz polimérica. Após a irradiação a membrana é exposta à luz ultravioleta (UV), criando terminações acídicas do tipo R-OH, que sofrem ataque básico específico nas regiões onde ocorreu a exposição à luz UV (superfície da membrana e interior dos poros criados pelos íons Ar^{9+}) por exposição desse material a uma solução de $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$, a quente. Assim, controlando-se o tempo de exposição a solução de $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$, controla-se o diâmetro final do poro. Resulta também deste processo que a face exposta à luz UV e à solução de $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ seja mais rugosa do que a outra face que não foi submetida a estes procedimentos.

As primeiras utilizações dessas membranas na preparação de substratos SERS envolviam aprisionar nanopartículas metálicas (Au ou Ag) dentro de seus poros e em seguida remover o molde com um solvente adequado [102,103,104]. Posteriormente, nanotubos/fios de metais (Ni, Fe, Cu, Au) e polímeros condutores [87,101,105,106,107,108] foram eletrodepositados dentro dos poros dessas PCMs, Figura 9A. Nosso grupo recentemente contribuiu com a primeira descrição do desempenho SERS de nanotubos/fios de Au

eletrodepositados nos poros das PCM, onde esta dissertação de mestrado é uma continuação deste trabalho [87].

Uma etapa intermediária à eletrodeposição é a construção de um eletrodo numa das faces da PCM, uma vez que esta é isolante. A construção desse eletrodo é geralmente feita por sputtering (vaporização catódica) de um metal ou liga condutora. Foi observado por Motoyama *et al.* [107] que o sputtering de uma liga de Pt-Pd por si só já era capaz de construir nanotubos no interior das PCMs. Com efeito, em 2005 Barreca *et al.* [109] já haviam publicado uma rota sintética para a obtenção de nanotubos no interior dessas matrizes poliméricas apenas com a utilização de sputtering de átomos de Au, Figura 9B. Um procedimento adaptado foi utilizado nesta dissertação de mestrado para a obtenção de nanotubos de Au dentro dos poros das PCM por meio de sputtering de átomos de Au, resultando na primeira descrição do desempenho SERS deste substrato [110].

Figura 9. Nanotubos obtidos por (A) eletrodeposição e (B) sputtering de Au nos poros das PCMs. A: barra de escala marca 1 µm, adaptado de Schönenberger *et al.* [108]. B: barra de escala marca 100 nm, adaptado de Barreca *et al.* [109].

Dentro deste grupo também foi estudado um substrato SERS comercial conhecido como Klarite® (RENISHAW). Este é composto de uma superfície de Si litografada com indentações no formato de pirâmides de base quadrada micrométrica, ao que se segue o depósito de uma camada de 300 nm de Au [111,112,113]. Resulta um substrato composto de uma rede de poços piramidais de geometria bem definida e com espaçamento regular, conforme ilustrado na Figura 10.

Figura 10. Micrografias da superfície do substrato Klarite® ressaltando (A) o espaçamento regular das microestruturas e (B) o formato piramidal de base quadrada dos poços. (A) a barra de escala marca 1 μm , adaptado de Steuwe *et al.* [112] e (B) a barra de escala marca 2 μm , adaptado de Scholes *et al.* [113].

2. Objetivos

Os objetivos principais desta dissertação de mestrado são (i) a obtenção de nanoestruturas de ouro a partir de sputtering e eletrodeposição utilizando membranas de polycarbonato com poros nanodimensionados como moldes e (ii) a avaliação do desempenho SERS destas nanoestruturas.

Os outros objetivos desta dissertação são:

- Desenvolver metodologias de cálculo dos fatores de intensificação SERS apropriadas para cada tipo de substrato estudado.
- Determinar a distribuição espacial das intensificações SERS apresentadas pelos substratos estudados.
- Determinar o plásmon de superfície dos substratos estudados.
- Comparação dos fatores de intensificação dos substratos estudados com os fatores de intensificação de substratos tipicamente utilizados em estudos de SERS: suspensão coloidal de nanoesferas, eletrodo ativado e Klarite®.
- Estudar os equilíbrios de protonação e tautomérico da molécula-prova 4-mercaptopiridina, resolvendo a identidade química das espécies adsorvidas em diferentes pHs e suas distribuições espaciais nos substratos estudados.

3. Procedimentos experimentais

3.1. Materiais

As membranas de policarbonato (PCM, Sterlitech®) com os seguintes diâmetros nominais de poro (Φ) de 50, 100, 200 e 400 nm foram utilizadas como recebidas.

4-mercaptopiridina (4MPy, Sigma-Aldrich, 95%) foi sempre recristalizada a partir de etanol (EtOH, Nuclear, 95%) na proporção 0,1 g 4MPy/1 mL EtOH antes de sua utilização.

Os reagentes específicos ácido cloroáurico (HAuCl_4 , Plat-Lab, 99,9%), sulfito de sódio (NaSO_3 , Merck, 97% mínimo), hidrogenofosfato de potássio (K_2HPO_4 , Sigma-Aldrich, 99%), dihidrogenoetilenodiaminotetraacetato de sódio dihidratado ($\text{H}_2\text{EDTANa}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Carlo Erba, 99%), citrato de sódio dihidratado ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich, 99+%), cloreto de potássio (KCl, Merck, 99,5%) e diclorometano (CH_2Cl_2 , Synth, 99,5%) foram utilizados como recebidos.

Os reagentes de rotina permanganato de potássio (KMnO_4 , Synth, 100%), peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , Synth, 29,0%), ácido nítrico (HNO_3 , F. Maia, 65%), ácido clorídrico (HCl, F. Maia, 36,5-38,0%), ácido sulfúrico (H_2SO_4 , Synth, 95,0-98,0%) e hidróxido de sódio (NaOH, Synth, 97,0%) foram utilizados como recebidos.

Foram utilizados discos de ouro (65 mm de diâmetro $\times$ 0,2 mm de espessura, Plat-Lab, 99,9%) como alvos para o sputtering e um tarugo de ouro (4,0 mm e 3,8 mm de diâmetro, Plat-Lab, 99,99%) para a construção dos eletrodos de trabalho. Foi utilizado fio de Pt (0,50 mm de diâmetro, Plat-Lab, 100%). O substrato Klarite®, gentilmente cedido pela companhia Renishaw, foi utilizado como recebido.

3.2. Instrumentação

Os espectros SERS e Raman convencional foram registrados num espectrômetro Micro-Raman RENISHAW InVia acoplado a um microscópio LEICA DM2500M com um estágio motorizado RENISHAW MS 20 Encoded Stage com resoluções lateral e axial de 100 nm. Os espectros foram obtidos com excitação em 632,8 nm fornecida por um laser de He-Ne RENISHAW. A radiação espalhada foi dispersa por redes de difração de 600, 1200 ou 1800 1.mm^{-1} e registrada por um CCD refrigerado termoeletricamente. Uma lente objetiva de imersão em água LEICA com abertura numérica de 0,9 e magnificação de 63 $\times$ foi utilizada para incidir e capturar a radiação espalhada.

Nos mapeamentos foram selecionadas áreas de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$ com passo de 1,0 μm , totalizando 121 espectros por mapeamento, com exceção dos mapeamentos nos substrato Klarite®, onde foi utilizado passo de 0,5 μm , totalizando 411 espectros por mapeamento. O traçado desses mapeamentos é ilustrado na Figura 11.

Figura 11. Trajeto percorrido pelo estágio motorizado do espectrômetro Micro-Raman RENISHAW InVia nos mapeamentos realizados. Ambos em áreas de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$, com passos de (A) 1,0 μm e (B) 0,5 μm .

Os espectros Raman da molécula-prova 4MPy sólida e da PCM como recebida foram registrados num espectrômetro FT-Raman BRUKER FRS-100/s com excitação em 1064 nm

fornecida por um laser de Nd³⁺:YAG COHERENT Compass 1064-500N e detecção por um sensor de Ge refrigerado a nitrogênio líquido.

Os espectros de extinção foram obtidos num espectrofotômetro SHIMADZU UV3101PC utilizando cubetas de quartzo HELLMA com 5,00 mm de caminho óptico quando operando no modo transmissão ou acoplado a uma esfera integradora SHIMADZU ISR-3100 quando operando no modo reflectância difusa.

O sputtering foi realizado num vaporizador catódico EDWARDS Scancoat Six acoplado a uma microbalança de quartzo EDWARDS FTM6.

As eletrodeposições e a ativação do eletrodo de Au foram feitas num potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT101. Foram utilizados um eletrodo de Ag/AgCl/KCl_(sat) como eletrodo de referência, um fio de Pt como contra-eletrodo e um disco de Au (3,8 mm de diâmetro) como eletrodo de trabalho.

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (SEM) foram obtidas nos microscópios eletrônicos JEOL JSM-7401 F-Field Emission Scanning Electron Microscope e JEOL NeoScope JCM-5000 disponíveis na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

Água deionizada (resistividade, ρ , de 18,2 M Ω .cm, na saída) foi obtida com um deionizador USF ELGA Maxima MK3.

Os pHs foram medidos com tiras indicadoras MACHAREY-NAGEL pH-Fix 0-14.

3.3. Preparação dos substratos

3.3.1. Membranas poliméricas de policarbonato – PCM

Como exposto na seção 1.4.3., o método utilizado para a abertura dos poros nas PCMs favorece a coalescência destes quando maiores diâmetros de poro, Φ , são desejados, decorre disto que as PCMs têm densidades de poros, d_p , para cada Φ . As PCMs tiveram sua

morfologia caracterizada por SEM e são mostradas na Figura 12, onde facilmente vê-se o aumento na quantidade de poros coalescidos quando Φ aumenta. Observa-se também que os poros são aproximadamente circulares e com espaçamentos irregulares. Nas Figuras 12E e F pode-se que ver que a PCM apresenta estrutura interior complexa com poros interligados, decorrente da deflexão dos íons Ar^{9+} no interior da folha de policarbonato quando estes são incididos para a criação dos poros. A Tabela 1 traz as densidades de poros (d_p) e porcentagem de poros coalescidos ($\%_{pc}$) determinadas a partir das micrografias para cada Φ .

Figura 12. Micrografias das PCMs com $\Phi =$ (A) 50, (B) 100, (C) 200 e (D, E e F) 400 nm. As barras de escala marcam (A-D) 1 µm e (E e F) 100 nm.

Tabela 1. Densidade de poros (d_p) e porcentagem de poros coalescidos ($\%_{pc}$) para cada diâmetro de poro (Φ) estudado.

Φ / nm	d_p / 10^8 cm^{-2}	$\%_{pc}$ / %
50	7,74	2,90
100	4,89	10,58
200	3,00	17,86
400	1,12	24,88

3.3.2. Nanotubos de ouro obtidos por sputtering nas PCM

A síntese adotada foi adaptada de Barreca *et al.* [109] e consiste do sputtering de Au em duas taxas diferentes de deposição à pressão de plasma constante e ligeiramente superior a 0,2 mbar.

Na primeira delas são depositados 5 nm de Au à uma condição branda, aplicando-se uma diferença de potencial entre o alvo de Au e a PCM de 0,75 kV. Isto gera uma taxa de deposição de $\approx 1,6 \times 10^{-3} \text{ nm.s}^{-1}$, suficientemente baixa para que a nuvem de átomos de Au criada penetre nos poros da PCM e construa as nanoestruturas sem que haja fechamento dos poros.

Na segunda etapa a diferença de potencial aplicada entre o alvo de Au e a PCM é aumentada para 1,25 kV e são depositados 100 nm de Au a uma taxa de deposição de $1,6 \times 10^{-2} \text{ nm.s}^{-1}$. Nesta segunda etapa, a taxa de deposição é intensa o suficiente para (i) evitar a deposição no interior dos poros da PCM e (ii) criar um filme de Au forte o suficiente para o manuseio nas etapas seguintes de preparação, caracterização e utilização.

A seguir, a face da PCM com a base de Au depositada é colada a uma fita dupla-face de Cu, que é então fixada a uma lâmina de vidro. A face da PCM não depositada é exposta a cinco banhos de CH_2Cl_2 por 15 minutos cada para que se processe a remoção do molde, expondo os nanotubos. Resulta um material com aparência esverdeada.

O substrato foi preparado para as medidas SERS depositando-se um filme fino de solução $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ da molécula-prova 4MPy sobre o substrato. Essa concentração é 100 vezes

superior à necessária para se formar uma monocamada de 4MPy sobre um eletrodo liso de Au [87,115,116,117,118] e justifica-se para assegurar a formação da monocamada de 4MPy sobre o substrato. Após ≈ 5 minutos o filme é retirado e o substrato é lavado com água deionizada em abundância restando apenas 4MPy adsorvida. Por fim, é deixado um filme fino de água deionizada sobre o substrato e as medidas são feitas com uma lente objetiva de imersão em água para dissipar mais eficientemente o calor.

Os espectros de extinção dos substratos foram registrados no modo reflectância difusa. As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram registradas com os substratos como preparados.

3.3.3. Nanofios e nanotubos de ouro obtidos por eletrodeposição nas PCM

Devido à natureza isolante do policarbonato faz-se necessária uma etapa intermediária de construção de um eletrodo numa das faces da PCM. Isso é feito com o sputtering de Au na face lisa da PCM com 1,25 kV aplicados à uma pressão de plasma constante e ligeiramente superior a 0,2 mbar. Gerando uma taxa de deposição de $1,6 \times 10^{-2} \text{ nm.s}^{-1}$ e depositando 105 nm de Au. Esta taxa de deposição é intensa o suficiente para (i) evitar a deposição no interior dos poros da PCM e (ii) criar uma um filme de Au forte o suficiente para o manuseio nas etapas seguintes de preparação, caracterização e utilização.

A seguir, a face da PCM com a base de Au depositada é colada a uma fita dupla-face de Cu, que é fixada a um eletrodo circular de Au (3,8 mm de diâmetro, área geométrica = $0,1134 \text{ cm}^2$), utilizado como eletrodo de trabalho. Um fio de Pt atua como contra-eletrodo e é utilizado um eletrodo de $\text{Ag/AgCl/KCl}_{(\text{sat})}$ como eletrodo de referência. Este sistema é imerso no banho eletrolítico com a face não depositada e, portanto, os poros da PCM, voltados para o seio da solução.

Com base no trabalho de Batista *et al.* [87], as eletrodeposições foram feitas à corrente constante utilizando duas densidades de correntes, j : 1,000 e 0,100 mA.cm⁻². Tais valores de j correspondem a valores nominais de corrente, i : $-1,134 \times 10^{-4}$ e $-1,134 \times 10^{-5}$ A, respectivamente. Todas as eletrodeposições tiveram um tempo total de 350 s. A solução utilizada para a eletrodeposição é composta de: H₂EDTANa₂•2H₂O 5 g.L⁻¹ ($1,34 \times 10^{-2}$ M), NaSO₃ 160 g.L⁻¹ (1,27 M) e K₂HPO₄ 30 g.L⁻¹ ($1,72 \times 10^{-1}$ M) em água deionizada.

Após a eletrodeposição, o excesso da solução de eletrodeposição é retirado e a PCM é levada com água deionizada em abundância. O molde é removido através de cinco banhos sucessivos de CH₂Cl₂ por 10 minutos cada. O substrato final apresenta coloração variando entre verdes claro e escuro.

O substrato foi preparado para as medidas SERS depositando-se um filme fino de solução 1×10^{-2} M da molécula-prova 4MPy. Após $\approx$ 5 minutos o filme é retirado e o substrato é lavado com água deionizada em abundância. Por fim, é deixado um filme fino de água deionizada sobre o substrato e as medidas são feitas com uma lente objetiva de imersão em água.

Os espectros de extinção dos substratos foram registrados no modo reflectância difusa. As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram registradas com os substratos como preparados.

3.3.4. Nanoesferas de ouro

As nanoesferas de ouro foram sintetizadas a partir do método de Frens [59]. Após as vidrarias serem limpas em água-régia (HCl/HNO₃ 3/1 v/v) por 30 minutos e lavadas com água deionizada em abundância, foram preparadas soluções de H₂AuCl₄ 1×10^{-2} % m/m (solução 1) e citrato de sódio 1% m/m (solução 2) em água deionizada. Então 25 mL da solução 1 foram

aquecidos até ebulição, sob refluxo. Após atingir o ponto de ebulição, 250 μL da solução 2 foram adicionados. A solução resultante muda de incolor para azul em ≈ 25 s e para vermelho carmim em ≈ 70 s. Tal coloração indica a formação do coloide de Au composto por uma suspensão de nanoesferas.

Foram preparados três sistemas (Tabela 2) diferindo na concentração de 4MPy. Quantidades adequadas de 4MPy e KCl foram dissolvidas em 100 μL de água deionizada e o volume foi completado para 1 mL com a suspensão coloidal de nanoesferas de Au. Seguiram-se as medidas SERS em suspensão com uma lente objetiva de imersão em água para dissipar mais eficientemente o calor.

Tabela 2. Sistemas estudados utilizando nanoesferas de Au como substratos SERS.

Sistema	[4MPy] / M	[KCl] / M	* C_{NP} / AuNS.cm ⁻³	Figura 37
1	1×10^{-2}			A
2	1×10^{-3}	1×10^{-3}	$3,0 \times 10^{12}$	B
3	1×10^{-4}			C

* A determinação da concentração de nanoesferas de Au será discutida na seção 4.4.1

Os espectros de extinção dos sistemas acima foram registrados no modo transmissão. Para as imagens de microscopia eletrônica de varredura, a suspensão coloidal de AuNS foi centrifugada a 14000 rpm por 10 minutos, seguida da retirada do sobrenadante e resuspensão em água deionizada por 5 vezes. Após esse procedimento, a suspensão coloidal foi depositada num chip de Si, deixando-se evaporar o solvente.

3.3.5. Eletrodo de ouro ativado

O eletrodo de trabalho de Au foi limpo com o seguinte protocolo: imersão em solução de KMnO_4 por 1 hora, 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 10 minutos e lavado mais uma vez com água deionizada em abundância. Por fim, este foi lixado sequencialmente com lixas de SiC de 600 e 1500 mesh, e lavado abundantemente com água deionizada.

O processo de ativação consiste de ciclos de oxidação e redução do material que compõe o eletrodo de trabalho [47,50,56]. Foi utilizado um eletrodo de circular de Au (4,0 mm de diâmetro, área geométrica = $0,12 \text{ cm}^2$) como eletrodo de trabalho, um fio de Pt como contra-eletrodo e um eletrodo de Ag/AgCl/KCl_(sat) como eletrodo de referência. A ativação consistiu de 2 ciclos de -1,2 V a 1,15 V e 20 ciclos de -0,2 V a 1,15 V, com velocidade de varredura de 100 mV.s^{-1} , em meio de KCl_(aq) 0,1 M. No potencial de virada catódico a densidade de corrente de oxidação foi de 11 mA.cm^{-2} . Após a ativação o eletrodo foi lavado com água deionizada em abundância, apresentando coloração final semelhante a ouro envelhecido.

O eletrodo foi preparado para as medidas SERS depositando-se um filme fino de solução 10^{-2} M da molécula-prova 4MPy. Após ≈ 5 minutos o filme é retirado e o eletrodo é lavado com água deionizada em abundância. Por fim, é deixado um filme fino de água deionizada sobre o eletrodo e as medidas são feitas com uma lente objetiva de imersão em água.

3.3.6. Klarite®

O substrato Klarite® foi utilizado como recebido. Os experimentos SERS foram feitos depositando-se um filme fino de solução $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ da molécula-prova 4MPy. Após ≈ 5 minutos o filme é retirado e o substrato é lavado com água deionizada em abundância. Por fim, é deixado um filme fino de água deionizada sobre o eletrodo e as medidas são feitas com uma lente objetiva de imersão em água.

3.4. Análise estatística aplicada aos resultados

Como mostrado nas seções 3.2., 4.2.2., 4.3.2., 4.4.1., 4.4.2. e 4.4.3., são registrados de 350 a 441 espectros SERS por tipo de substrato estudado. Desta maneira, os resultados

apresentados em termos de fatores de intensificação são representados por quatro grandezas estatísticas: seu valor máximo ($EF_{m\acute{a}x}$), seu valor médio ($EF_{m\acute{e}d}$), desvio-padrão (σ) e desvio-padrão relativo ($\%_{erro}$). Estas serão descritas abaixo [114]:

$EF_{m\acute{a}x}$ simplesmente representa o maior valor de EF dentro do espaço amostral estudado. $EF_{m\acute{e}d}$ resulta da média aritmética sobre os valores de EF que constituem o espaço amostral e é definido como:

$$EF_{m\acute{e}d} = \sum_{i=1}^n \frac{EF_i}{n} \quad (11)$$

Onde $EF_{m\acute{e}d}$ é o valor obtido da média aritmética dos i -ésimos valores de EF (EF_i) e n é o tamanho do espaço amostral.

A dispersão nos valores EF , dentro de um espaço amostral, em torno de seu valor médio é dada pelo seu desvio-padrão, σ :

$$\sigma = \sum_{i=1}^n \sqrt{\frac{(EF_i - EF_{m\acute{e}d})^2}{(n-1)}} \quad (12)$$

Por fim, a reprodutibilidade espacial e/ou temporal dos valores de EF e, portanto, dos espectros SERS, foi representada pelo desvio-padrão relativo ($\%_{erro}$):

$$\%_{erro} = \frac{\sigma}{EF_{m\acute{e}d}} \times 100\% \quad (13)$$

4. Resultados e discussão

4.1. Estudos preliminares

4.1.1. Instrumentação

A caracterização SERS de um substrato implica o cálculo dos fatores de intensificação (EF) que este suporta. A precisão neste cálculo depende fundamentalmente da quantificação de condições instrumentais empregadas como a potência incidente na amostra, a linearidade dos filtros de potência e o perfil confocal característico gerado pela radiação incidente e a lente objetiva. Esta seção se dedica à quantificação destas variáveis na configuração utilizada na obtenção dos espectros SERS.

Todos os espectros SERS apresentados nesta dissertação de mestrado foram adquiridos na configuração de retroespalhamento (*backscattering*) utilizando radiação incidente em 632,8 nm gerada por um laser de He-Ne e incidida sobre a amostra com uma lente objetiva de imersão em água com abertura numérica (NA) de 0,9 e 63× de magnificação.

Figura 13. (A) Espectros Raman de uma amostra padrão de Si em diversas potências incidentes entre 8 e 0,008 mW. (B) Intensidade da banda em 519,8 cm⁻¹ do Si contra as potências incididas no registro do espectro Raman.

O laser de He-Ne utilizado para excitar os espectros Raman convencional e SERS possui potência máxima incidente na amostra de 8 mW. Para que haja controle da potência

incidente na amostra, a resposta dos filtros do espectrômetro deve ser linear com a intensidade de uma banda padrão. Assim, o espectro de uma amostra padrão de Si foi registrado em diversas potências incidentes, os espectros são mostrados na Figura 13A. Na Figura 13B é apresentada a intensidade da banda do Si em $519,8 \text{ cm}^{-1}$, tomada como padrão, plotada contra a potência incidente na amostra – os espectros foram adquiridos com 5 s de exposição e uma acumulação espectral. Na Figura 13B, a regressão linear fornece um coeficiente de correlação, R^2 , de 0,9999, o que comprova a linearidade dos filtros de potência utilizados nos experimentos.

O termo “perfil confocal” se refere à forma do ponto de luz formado pela lente objetiva dos microscópios [46,47,119]. Este é caracterizado por duas grandezas dependentes do comprimento de onda utilizada: a área iluminada pelo spot do laser ($A_{confocal}$) e a altura do cone de luz ($H_{confocal}$), conforme ilustrado na Figura 14. Observa-se nesta figura que o “perfil confocal” ocupa um volume com perfil acinturado – *waist profile* – cujo volume é comumente calculado admitindo-se isotropia axial, *i.e.*, aproximando-se o perfil *waist* por um cilindro, assim, $V_{confocal} = A_{confocal} \times H_{confocal}$.

Figura 14. Esquema do perfil confocal. $A_{confocal}$ é representada por um traço em $z = 0$. $H_{confocal}$ é representada por h . “Silicon wafer” se refere à uma peça de Si, utilizada como padrão. O intervalo $\{+z;-z\}$ representa o eixo axial e “a” é a área iluminada em $z = 0$. Adaptado de Cai *et al.* [47].

A altura do cone de luz, $H_{confocal}$, pode ser determinada registrando-se o espectro da amostra padrão de Si ao longo do eixo axial. Isto foi feito movimentando o estágio

motorizado 150 μm acima e abaixo da posição de foco ideal ($z = 0 \mu\text{m}$) e registrando o espectro da amostra de Si a cada 1 μm . Este conjunto de espectros é mostrado na Figura 15A.

Figura 15. (A) Espectros Raman de uma amostra padrão de Si mantendo-se a posição focal constante, $z = 0 \mu\text{m}$, e variando-se a altura ao longo do eixo axial entre -150 e 150 μm . (B) Intensidade da banda em 519,8 cm^{-1} do Si em função do deslocamento axial do estágio motorizado. O retângulo tracejado destaca H_{confocal} .

Na Figura 15B é mostrada a variação da intensidade da banda em 519,8 cm^{-1} do Si em função do deslocamento axial do estágio motorizado. Seja β a fração do sinal total emitida por uma camada de espessura h , então [47]:

$$\beta = \frac{I_z \times h}{\int_{-\infty}^{+\infty} I(z) \times dz} \quad (14)$$

Onde $I(z)$ é a variação da intensidade do sinal em função do eixo axial, I_z é a intensidade do sinal na camada de espessura h .

Pode-se então definir uma camada efetiva de espessura H_{confocal} de onde todo o sinal dentro do spot do laser provém, isto é, fazer $\beta = 1$, $h = H_{\text{confocal}}$ e $I_z = I_{\text{máx}}$, numericamente:

$$\beta = \frac{I_z \times h}{\int_{-\infty}^{+\infty} I(z) dz} \rightarrow 1 = \frac{I_{\text{máx}} \times H_{\text{confocal}}}{\int_{-150\mu\text{m}}^{+150\mu\text{m}} I(z) dz} \rightarrow H_{\text{confocal}} = \frac{\int_{-150\mu\text{m}}^{+150\mu\text{m}} I(z) dz}{I_{\text{máx}}} \quad (15)$$

O numerador $\int_{-150\mu m}^{+150\mu m} I(z)dz$ pode ser obtido integrando-se a área sob a curva $I(z) \times z$

(Figura 15B) e o denominador $I_{máx}$ pode ser obtido da intensidade da banda em $519,8 \text{ cm}^{-1}$ quando $z = 0$. Desta maneira, obtém-se $H_{confocal} = 14,6 \mu m$. Esse valor mostra que, efetivamente, o sinal total vem de $7,3 \mu m$ acima e abaixo da posição focal, $z = 0$.

A metodologia chamada *scan over an edge* [46] permite a determinação de $A_{confocal}$, nela um chip de Si é colocado sobre uma lâmina de vidro e espectros são registrados deslocando-se lateralmente o estágio motorizado. Como apenas o chip de Si está na posição focal, a intensidade do sinal é zero quando o feixe do laser incide fora deste.

A Figura 16A apresenta o conjunto de espectros obtidos num mapeamento que cobriu uma distância de $50 \mu m$, registrando-se um espectro a cada $0,25 \mu m$. A Figura 16B mostra a dependência da intensidade da banda em $519,8 \text{ cm}^{-1}$ da amostra padrão de Si com o deslocamento lateral do estágio motorizado. Observa-se que na região próxima à borda do chip de Si há um acréscimo da intensidade do sinal, atribuída à difração que o laser sofre ao incidir na borda do chip de Si, pois está não é completamente perpendicular à lâmina de vidro. Uma vez que o laser incida completamente sobre o chip de Si, esse efeito deixa de ocorrer e as intensidades atingem um valor estacionário – que é o valor real da intensidade da banda em $519,8 \text{ cm}^{-1}$ do Si.

Para este experimento foi proposta a seguinte função para descrever a intensidade do sinal do Si em função do deslocamento lateral do estágio motorizado [46]:

$$I(x) = \frac{I_{máx}}{2} \times \left(1 - \text{erf} \left(\frac{\sqrt{2} \times (x_0 - x)}{\omega_0} \right) \right) \quad (16)$$

Onde $I(x)$ é a intensidade do sinal na coordenada x , $I_{máx}$ é a intensidade máxima do sinal, erf é a função erro, x_0 é a posição onde 50% da área do spot do laser incide sobre a amostra, ω_0 é a largura do perfil confocal.

Figura 16. (A) Espectros Raman obtidos no mapeamento lateral de uma amostra padrão de Si sobre uma lâmina de vidro. (B) Intensidade da banda em $519,8 \text{ cm}^{-1}$ do Si em função do deslocamento lateral do estágio motorizado.

O ajuste da equação 16 aos dados experimentais é mostrado pela linha vermelha na Figura 16B. Para o ajuste foi desconsiderada a região de transição vidro/Si. O ajuste forneceu os seguintes parâmetros:

$$\begin{cases} I_{\text{máx}} = 176780 \text{ cps} \\ x_0 = 21,3 \text{ } \mu\text{m} \\ \omega_0 = 0,8 \text{ } \mu\text{m} \\ R^2 = 0,9982 \end{cases}$$

O valor obtido para x_0 mostra que o laser incide majoritariamente sobre o Si a partir de $21,3 \text{ } \mu\text{m}$ com largura do perfil confocal (ω_0) de $0,8 \text{ } \mu\text{m}$. Esta última se relaciona com a área iluminada pelo laser [46] através de $A_{\text{confocal}} = \frac{\pi \times \omega_0^2}{2}$ e resulta em $A_{\text{confocal}} = 1,0 \text{ } \mu\text{m}^2$. Assim, com os valores determinados acima para H_{confocal} e A_{confocal} , pode-se determinar V_{confocal} :

$$V_{\text{confocal}} = H_{\text{confocal}} \times A_{\text{confocal}} = 14,6 \times 1,0 \rightarrow V_{\text{confocal}} = 14,6 \text{ } \mu\text{m}^3$$

4.1.2. A molécula-prova 4-mercaptopiridina

A molécula de 4-mercaptopiridina (4MPy) tem fórmula molecular $\text{C}_5\text{H}_5\text{NS}$ e massa molar $111,16 \text{ g.mol}^{-1}$ e foi escolhida como molécula-prova porque se adsorve no Au através de uma ligação química Au-S forte [87,120,121], formando uma monocamada automontada

extensivamente caracterizada por várias técnicas experimentais [115,116,117,122,123,124] e teóricas [112,125,126] e cuja cobertura superficial (μ_M) foi determinada em $\approx 4,7 \times 10^{-10}$ mol.cm⁻² por microscopia de corrente de tunelamento [115] e redução dessortiva [117]. As propriedades acima, bem como o uso de uma única molécula-prova, permitem que qualquer variação nas intensidades SERS seja devida a características morfológicas do substrato, tais como formato e/ou dimensões.

Figura 17. (A) Espectro Raman, $\lambda_0 = 1064$ nm, da 4MPy_(s). (B) Espectro Raman, $\lambda_0 = 632,8$ nm, da 4MPy_(aq) 1×10^{-2} M.

A Figura 17A apresenta o espectro Raman, $\lambda_0 = 1064$ nm, de uma amostra sólida de 4MPy, cujas bandas tem atribuição bem estabelecida [63,120,121,127]. As bandas dos modos de estiramento (ν) e deformação angular (β , δ) envolvendo os átomos de C e H do anel aromático são observados na região de ≈ 900 - 1600 cm⁻¹ com intensidades de média a forte. A purificação da 4MPy foi feita a partir de sua recristalização em EtOH e mostrou-se um método eficiente, uma vez que não é observada a banda ν_{SS} característica de sua forma

dimerizada *c1ccc(cc1)Ss2cccnc2 e comumente presente em 510 - 525 cm⁻¹ [128,129] – região destacada com um retângulo na Figura 17A). O principal contaminante da 4MPy é o enxofre molecular (S₈) e sua presença em pequena quantidade é confirmada pela banda fraca atribuída ao ν_{SS} em ≈ 470 cm⁻¹ [130]. Como o espectro da Figura 17A foi registrado um dia após a

recristalização da 4MPy, admitiu-se que este não seria um problema experimental pois as recristalizações são feitas sempre no mesmo dia de registro dos espectros SERS.

Na Figura 17B é apresentado o espectro Raman, $\lambda_0 = 632,8$ nm, de uma solução aquosa de 4MPy a 1×10^{-2} M. Observa-se o deslocamento em alguns números de onda das bandas vibracionais da 4MPy devido à interação com o solvente. Os números de onda ($\bar{\nu}$), atribuições e espécies de simetria – considerando a 4MPy com grupo de ponto C_{2v} – são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Frequência, atribuição e espécie de simetria de algumas bandas observadas nos espectros Raman da 4MPy sólida e em solução aquosa a 1×10^{-2} M.

Sólido $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	Solução 1×10^{-2} M $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	Atribuição	Espécie de simetria
722	720	ν_{C-S}	a_1
988	1000	$\nu_{CC, \text{resp. anel}}$	a_1
1044	1052	β_{CH}	a_1
1104	1110	$\nu_{CC, \text{trigonal}}/\nu_{C=S}$	a_1
1198	1204	β_{CH}/δ_{NH}	—
1604	—	ν_{CC}	b_2
1619	1620	ν_{CC}	a_1
2720	—	ν_{SH}	—

É observado que as bandas atribuídas aos modos $\nu_{CC, \text{trigonal}}/\nu_{C=S}$ e β_{CH}/δ_{NH} têm maior intensidade com relação às bandas atribuídas aos modos $\nu_{CC, \text{resp. anel}}$ e ν_{C-S} quando a 4MPy está em solução. Este comportamento está associado ao desvio do equilíbrio tautomérico tiol-tiona da 4MPy (Figura 18). As duas primeiras bandas possuem componentes vibracionais do tautômero tiona da 4MPy, assim, o equilíbrio tautomérico encontra-se mais deslocado para o tautômero tiona em solução do que no estado sólido. Também é verificada a presença da banda atribuída ao modo ν_{SH} apenas na 4MPy sólida, esta apresentando-se extremamente alargada, o que indica um ambiente de ligações de hidrogênio e sugere a prevalência do tautômero tiol no estado sólido. Estes resultados concordam com o trabalho de Stoyanov *et al.*

[131], onde é demonstrado através de espectroscopia de absorção no UV-VIS que, em solução, o tautômero tiona da 4MPy predomina.

Figura 18. Equilíbrio tautomérico tiol-tiona da 4MPy.

4.2. Nanotubos de ouro obtidos por sputtering nas PCM

4.2.1. Caracterização morfológica e espectroscópica na região do visível

Após a preparação descrita na seção 3.3.2., a caracterização morfológica das nanoestruturas geradas foi feita através de SEM. A Figura 19 apresenta as micrografias obtidas para as amostras com $\Phi = 50, 100, 200$ e 400 nm. A deposição de Au por sputtering resulta em nanotubos de Au (AuNT) no interior dos poros da PCM demonstrando a adequação do procedimento sintético que (i) preservou a morfologia dos poros das PCMs com a etapa lenta de deposição ($1,6 \times 10^{-3} \text{ nm.s}^{-1}$) e (ii) criou um base de Au na etapa rápida de deposição ($1,6 \times 10^{-2} \text{ nm.s}^{-1}$) que suportasse os AuNTs após a remoção do molde.

Figura 19. Micrografias dos AuNTs com Φ = (A e F) 50, (B) 100, (C e E) 200 e (D) 400 nm. As barras de escala marcam (A, E e F) 100 nm e (B-D) 1 μ m.

Pela preservação da morfologia do molde, os AuNTs mantêm o diâmetro dos poros da PCM podendo ser vistos AuNTs com orientações variadas com relação à superfície, por exemplo, nas Figura 19C e D. A existência do que se assemelharia a nanofios de Au (AuNF) pode ser observada. A existência de AuNFs é improvável, pois a maioria das nanoestruturas são AuNTs, o que indica que a nuvem de átomos de Au gerada na etapa lenta não é densa o suficiente para que se gerasse uma estrutura maciça de Au dentro do poro da PCM. É mais provável que estas nanoestruturas sejam AuNTs cuja extremidade aparente foi fechada por uma densidade local elevada de átomos de Au. Decorrendo também da preservação da morfologia do molde, nota-se o aumento na quantidade de AuNTs coalescidos quando o diâmetro do poro da PCM é também aumentado.

Outra característica importante é a impossibilidade de se remover completamente o molde através de via úmida [109]. As Figura 19E e F mostram regiões desfocadas nas proximidades dos AuNTs atribuídas à natureza isolante do policarbonato não dissolvido pelo CH_2Cl_2 , uma vez que este tem dificuldade em acessar a região entre a base dos AuNT e a base de Au: apenas o topo dos AuNT e a base de Au estão resolvidos na imagem. Uma alternativa seria expor o substrato a um plasma de Ar/O_2 a 100 °C após a dissolução do molde por via úmida. Porém, como mostrado por Barreca *et al.* [109], este procedimento acarreta na

destruição parcial dos AuNTs e resultaria na queda da performance SERS dos substratos. A densidade de AuNTs (d_{AuNT}) foi determinada para cada Φ e é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4. Densidade de AuNT (d_{AuNT}) para cada diâmetro de poro (Φ) estudado.

Φ / nm	$d_{AuNT} / 10^8 \text{ cm}^{-2}$
50	6,06
100	3,89
200	1,48
400	0,68

Nota-se que os valores obtidos para d_{AuNT} são sempre menores que os obtidos para d_p (Tabela 1) para um mesmo Φ , isto ocorrendo pelo fechamento dos poros por uma densidade local elevada de átomos de Au na etapa lenta da deposição. O fechamento de AuNTs e/ou poros é, então, um processo inerente da deposição por sputtering, pois $d_{AuNT} < d_p$ é observado para todos Φ . Todas as considerações feitas acima sobre o procedimento sintético adotado são confirmadas pelo fato de d_p e d_{AuNT} se comportarem similarmente em função de Φ (Figura 20).

Figura 20. Densidade de poros (d_p) e de AuNT (d_{AuNT}) para cada diâmetro de poro (Φ) estudado.

Para avaliar o plásmon de superfície destes AuNTs foram realizadas medidas de reflectância difusa nestes substratos. A Figura 21A apresenta estes espectros de extinção, os dados são apresentados em absorção através de uma transformada de Kubelka-Munk.

Figura 21. (A) Espectros de extinção dos AuNTs obtidos por sputtering de Au nos poros da PCM e (B) espectros de extinção das PCMs como recebidas nos Φ estudados.

De acordo com Sun *et al.* [41], um filme fino de Au possui ressonância plasmônica centrada em ≈ 480 nm. Se forem considerados desvios envolvendo (i) espessura do filme e (ii) constante dielétrica do meio (ambos não citados na ref. 41), pode-se atribuir a forte extinção centrada em 465 nm observada para os quatro Φ estudados ao filme de Au que suporta os AuNTs. Concorda com esta atribuição a extinção em 465 nm ser mais intensa para menores Φ , onde a etapa de abertura do poro na preparação da PCM não consome tanto material, assim, há mais filme de Au exposto do que em maiores Φ . A assimetria em direção ao UV pode ser atribuída ao policarbonato restante nos entornos dos AuNT, devido ao aumento no valor de extinção a partir de 350 nm das PCM como recebidas (Figura 21B).

Nos espectros apresentados na Figura 21A pode ser observada uma extinção estendida por toda a região do vermelho, esta atribuída às ressonâncias plasmônicas dos AuNTs, uma vez que estruturas ocas de Au tipicamente absorvem na região entre 550 e 750 nm [40,41,78,80,132]. A Figura 19 mostra AuNTs com grande variação orientacional em relação à superfície e graus de coalescência, como a posição da ressonância plasmônica é sensível a

estes fatores, obtêm-se uma extinção que é o somatório destas ressonâncias individuais possuindo uma largura à meia-altura (*full-width half-maximum*, FWHM) de ≈ 150 nm.

4.2.2. Atividade SERS e distribuição espacial dos fatores de intensificação

Espectros SERS representativos obtidos nestes substratos são apresentados na Figura 22 para cada Φ estudado. Para fins de comparação, o espectro Raman convencional de uma solução aquosa 1×10^{-2} M de 4MPy é mostrado na mesma figura com intensidade multiplicada por 50 para facilitar sua visualização. Em ambos a densidade de potência na amostra foi de $8,0 \times 10^4$ W.cm $^{-2}$.

É bastante evidente a intensificação obtida qualquer que seja o valor de Φ dos AuNTs. As bandas intensificadas dentro da janela espectral estudada são apresentadas na Tabela 5 juntamente com suas frequências na condição bulk e atribuição. Nos espectros SERS da Figura 22 pode ser observado um decréscimo na intensidade do sinal em torno de 975 cm $^{-1}$ devido a uma partícula de poeira situada sobre o CCD.

Figura 22. Espectros SERS representativos da 4MPy nos AuNTs gerados por sputtering nas PCMs com $\Phi = 50, 100, 200$ e 400 nm. O espectro Raman convencional de uma solução aquosa 1×10^{-2} M de

4MPy é apresentado para comparação. Para facilitar sua visualização este último teve sua intensidade multiplicada por 50.

Tabela 5. Frequências e atribuição das bandas observadas no espectro Raman convencional e SERS da 4MPy adsorvida nos AuNT sintetizados por sputtering dentro da janela espectral estudada.

Solução 1×10^{-2} M $\bar{\nu}$ / cm^{-1}	SERS	
	AuNT – Sputtering $\bar{\nu}$ / cm^{-1}	Atribuição
1000	1015	$\nu_{\text{CC,resp. anel}}$
1052	1059	β_{CH}
1114	1094	$\nu_{\text{CC,trigonal}}/\nu_{\text{C=S}}$
1204	1213	$\beta_{\text{CH}}/\delta_{\text{NH}}$

A orientação aproximada na superfície da 4MPy adsorvida pode ser obtida pela posição da banda atribuída ao $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$. Moskovits *et al.* [133] e Wu *et al.* [22] mostraram que na adsorção de anéis aromáticos paralelamente à superfície, *i.e.*, numa configuração *flat*, ocorre a transferência de carga no sentido metal→molécula, com isso, a frequência da banda do modo $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ diminui com relação à frequência da molécula livre devido ao preenchimento dos orbitais π^* . No caso da 4MPy isso significaria a frequência da banda $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ estar em frequências menores que 1000 cm^{-1} , o que não é observado (Figura 22), portanto, há a sugestão de uma geometria de adsorção perpendicular ou inclinada com relação à normal à superfície. De fato, a forte intensificação experimentada pelas bandas atribuídas aos modos β_{CH} e $\nu_{\text{CC,trigonal}}/\nu_{\text{C=S}}$ indica que a adsorção da 4MPy não é paralela à superfície pois a regra de seleção estabelece a intensificação seletiva dos modos com pelo menos uma componente do momento de dipolo induzido normal à superfície [134]. Reforçando os argumentos acima, simulações mostraram que o ângulo entre as ligações Au–S e S–C com relação à normal é $\approx 27^\circ$ [124], em concordância qualitativa com resultados de microscopia de corrente de tunelamento [115,117].

Ainda com relação à banda em 1015 cm^{-1} , esta é assimétrica em direção a menores frequências, um comportamento que pode indicar a presença simultânea dos dois tautômeros

adsorvidos da 4MPy e que será discutido em detalhes no último capítulo desta dissertação. Considerando o exposto nos parágrafos acima, os fatores de intensificação (EF) serão calculados com base na banda atribuída ao modo $\nu_{CC, \text{trigonal}}/\nu_{C=S}$, 1094 cm^{-1} , pois esta é insensível ao equilíbrio tautomérico supracitado.

Como a Figura 19 mostra, o substrato sintetizado nesta seção é um arranjo fixo de nanoestruturas. Assim, para uma descrição precisa do EF deve levar em conta, além do número de moléculas adsorvidas na região de A_{confocal} , o número médio de AuNTs amostrados pelo laser, pois é na superfície destes que a concentração de campo elétrico responsável pela intensificação SERS ocorre. Incluindo esta contribuição no termo N_{SERS} , resulta em:

$$EF = \frac{\frac{I_{\text{SERS}}}{N_{\text{SERS}}}}{\frac{I_{\text{bulk}}}{N_{\text{bulk}}}} = \frac{\frac{I_{\text{SERS}}}{A_{\text{confocal}}^2 \times \mu_M \times d_{\text{AuNT}}}}{\frac{I_{\text{bulk}}}{C_{\text{bulk}} \times V_{\text{confocal}}}} \rightarrow EF = \frac{\frac{I_{\text{SERS}}}{A_{\text{confocal}} \times \mu_M \times d_{\text{AuNT}}}}{\frac{I_{\text{bulk}}}{C_{\text{bulk}} \times H_{\text{confocal}}}} \quad (17)$$

Onde I_{SERS} e I_{bulk} são as intensidades da banda atribuída ao modo $\nu_{CC, \text{trigonal}}/\nu_{C=S}$ nos espectros SERS e Raman convencional, respectivamente. A_{confocal} ($= 1,0 \text{ } \mu\text{m}^2$) e H_{confocal} ($= 14,6 \text{ } \mu\text{m}$) são a área e altura amostradas pelo feixe do laser, respectivamente. C_{bulk} ($= 1 \times 10^{-2} \text{ M}$) é a concentração da 4MPy na condição bulk, μ_M ($= 4,7 \times 10^{-10} \text{ mol.cm}^{-2}$) e d_{AuNT} (Tabela 4) são a cobertura superficial da 4MPy e a densidade de AuNT amostrados pelo laser, respectivamente.

Verificou-se se o fato das PCMs apresentarem um lado liso e outro rugoso poderia influenciar no desempenho SERS dos AuNTs gerados. Para isso foram escolhidos arbitrariamente AuNTs com $\Phi = 200 \text{ nm}$ e mapeou-se uma área de $(10 \times 10) \text{ } \mu\text{m}^2$, a passos de $1 \text{ } \mu\text{m}$, em substratos obtidos realizando-se o sputtering em cada uma das faces. Os EF foram calculados com base na equação 17, admitiu-se a mesma d_{AuNT} para ambas as faces ($1,48 \times 10^8 \text{ cm}^{-2}$). Os resultados são apresentados na Tabela 6 expressos em termos de fator de intensificação máximo ($EF_{\text{máx}}$), médio ($EF_{\text{méd}}$) e seu desvio-padrão (σ).

Tabela 6. $EF_{máx}$, $EF_{méd}$ e σ obtidos para os AuNT gerados pelo sputtering de Au nas faces lisa e rugosa das PCMs com $\Phi = 200$ nm.

AuNTs, $\Phi = 200$ nm – Sputtering			
Face	$EF_{máx}$	$EF_{méd}$	σ
Lisa	$1,6 \times 10^5$	$7,3 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$
Rugosa	$1,7 \times 10^5$	$7,7 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$

Os resultados mostram que dentro dos desvios-padrão não há diferença em termos de EF entre as faces lisa e rugosa. Isso se deve à origem da rugosidade e à preservação da morfologia da PCM pelo método sintético empregado. A Figura 23A traz uma micrografia da PCM com $\Phi = 200$ nm em seu lado rugoso, na Figura 23B são mostrados os AuNTs depositando-se Au por sputtering nesta mesma membrana. Para comparação, veja a Figura 12C que mostra a PCM com $\Phi = 200$ nm em sua face lisa e a Figura 19C que mostra os AuNT obtidos na deposição por sputtering nesta face.

Figura 23. Micrografias das (A) PCMs e dos (B) AuNTs obtidos para $\Phi = 200$ nm no lado rugoso da PCM. As barras de escala marcam (A) 10 μ m e (B) 1 μ m.

Na Figura 23A pode-se ver que a aparência rugosa da PCM vem de estrias com comprimento da ordem de micrômetros e, uma vez preservada a morfologia da PCM, essas estrias permanecem após a dissolução do molde resultando numa série de microestruturas sem formato definido entre os AuNTs (Figura 23B). Estruturas com dimensões micrométricas não são capazes de suportar eficientemente o plásmon de superfície quando este é excitado com

radiação eletromagnética no visível [13,15,25] assim, sua presença não traz intensificação adicional relevante. Por essa razão convencionou-se fazer o sputtering sempre no lado liso da PCM, pois melhores micrografias são obtidas sem queda no desempenho SERS.

O desempenho SERS dos AuNTs em função de Φ foi verificado através do mapeamento de três regiões diferentes com áreas de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$, a passos de $1 \mu\text{m}$, para cada valor de Φ . Deste espaço amostral foram retirados os espectros apresentados na Figura 22. Os EF s foram calculados de acordo com a equação 17, com valores de d_{AuNT} apresentados na Tabela 4, I_{SERS} e I_{bulk} tomados como as áreas integradas das bandas atribuídas aos modos $\nu_{CC, \text{trigonal}}/\nu_{C=S}$ nos espectros SERS e bulk, respectivamente. $A_{confocal}$, $H_{confocal}$ e C_{bulk} valem $1,0 \mu\text{m}^2$, $14,6 \mu\text{m}$ e $1 \times 10^{-2} \text{ M}$, respectivamente. Os valores de EF são expressos em termos de fator de intensificação máximo ($EF_{m\acute{a}x}$), médio ($EF_{m\acute{e}dio}$) e seu desvio-padrão (σ) e seu desvio-padrão relativo ($\%_{erro}$), definido como a razão $\frac{\sigma}{EF_{m\acute{e}d}} \times 100\%$. Os resultados são apresentados na Tabela 7 e na Figura 24.

Tabela 7. Valores de $EF_{m\acute{a}x}$, $EF_{m\acute{e}d}$, σ e $\%_{erro}$ obtidos para os espectros SERS suportados pelos AuNTs gerados por sputtering e a correspondência com os mapas de contorno apresentados na Figura 26.

AuNTs – Sputtering					Figura 26
Φ / nm	$EF_{m\acute{a}x}$	$EF_{m\acute{e}d}$	σ	$\%_{erro}$	
50	$7,2 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	47	A
	$8,4 \times 10^3$	$5,8 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$	17	B
	$7,2 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$	35	C
100	$1,6 \times 10^4$	$7,8 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$	38	D
	$1,2 \times 10^4$	$4,9 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$	60	E
	$1,9 \times 10^4$	$5,0 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$	65	F
200	$4,9 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$8,9 \times 10^3$	69	G
	$4,9 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$	58	H
	$3,6 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	$8,0 \times 10^3$	65	I
400	$2,5 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	$5,0 \times 10^4$	42	J
	$2,2 \times 10^5$	$8,2 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$	40	K
	$1,6 \times 10^5$	$7,0 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$	44	L

Figura 24. Valores de EF médios e máximos determinados para os AuNTs obtidos por sputtering nas PCM em função de Φ .

Tanto na Tabela 7 quanto na Figura 24 pode ser observado um aumento exponencial nos valores de EF quando Φ dos AuNTs também aumenta. Em termos de $EF_{méd}$ esse valores variam entre $2,3 \times 10^3$ e $1,2 \times 10^5$, um aumento de 52 vezes quando Φ vai de 50 nm para 400 nm. Os valores de $EF_{máx}$ também aumentam, atingindo um valor máximo de $2,5 \times 10^5$ para AuNTs com $\Phi = 400$ nm. Esse resultado é aparentemente contraditório com a teoria do mecanismo eletromagnético do SERS, uma vez que o aumento na dimensão das nanoestruturas faz com que a eficiência da concentração de campo elétrico dipolar caia pela excitação de multipolos de ordem superior.

Este aumento nos valores de EF está, porém, intimamente relacionado com a presença de AuNTs coalescidos nos substratos com AuNTs de diâmetros maiores (Figura 19A-D e Figura 20). Em dois trabalhos Lesuffleur *et al.* [82] e Min *et al.* [83] mostraram que quando nanoburacos num filme de Au são aproximados até um limite em que se sobrepõem, há um aumento de cerca de 4 vezes na intensidade SERS registrada devido à concentração de campo elétrico na região de junção entre os nanoburacos.

Geometricamente, os nanoburacos são semelhantes aos nanotubos de Au apresentados nesta seção, porém o efeito da coalescência é mais intenso – há um aumento de 52 vezes nos

fatores de intensificação. Um exame atento às Figura 19A-D mostra que, não só aumenta o número de AuNTs coalescidos, como também seu grau de coalescência, isto é, mais de dois AuNTs coalescidos são encontrados com maior frequência. Porém, como mostrado por Wustholz *et al.* [135], não existe relação direta entre grau de coalescência e EF de modo que o aumento exponencial observado nos valores de EF deve-se apenas ao aumento na presença de AuNTs coalescidos.

O efeito da coalescência dos AuNTs também é notado quando os EF s dos AuNTs obtidos por sputtering são comparados com AuNTs/AuNFs eletrodepositados no mesmo molde obtidos na ref. 86. A Figura 25 mostra os fatores de intensificação médios obtidos através destas rotas sintéticas, normalizados para facilitar a visualização.

Figura 25. Comparação entre os $EF_{méd}$ dos AuNTs obtidos por sputtering e AuNTs/AuNFs eletrodepositados nas PCMs. Os valores de $EF_{méd}$ foram normalizados e as linhas foram traçadas para facilitar a visualização.

Os resultados reportados na ref. 87 estão dentro do esperado pelo mecanismo eletromagnético do SERS: a intensidade SERS aumenta com o decréscimo do diâmetro das nanoestruturas, com o efeito de intensificação adicional dos AuNFs com $\Phi = 50$ nm encontrarem-se colapsados, gerando hot-spots [13,15,25,42]. No caso dos AuNTs depositados por sputtering, não são encontrados AuNTs colapsados com $\Phi = 50$ nm (Figura 19A) e o

único efeito gerador de hot-spots é a coalescência que começa a ocorrer em maiores Φ . Com efeito, os *EFs* apresentados pelas nanoestruturas sintetizadas dessas duas maneiras comportam-se antagonicamente.

O fato dos AuNTs se apresentarem com diferentes orientações e graus de coalescência leva à grande variação nos valores de *EF* e, portanto, nos valores de desvio-padrão (σ) e $\%_{\text{erro}}$. Como se observa nos espectros de extinção destes substratos (Figura 21A), as bandas atribuídas às ressonâncias plasmônicas são extremamente largas, de modo que a condição de ressonância com a radiação incidente, fixa em 632,8 nm, é cumprida em diferentes graus.

Este efeito é mais bem observado com o auxílio de mapas de contorno para as áreas mapeadas (Figura 26). Estes mapas são construídos com base no traçado exposto na Figura 11A: a cada ponto representado por “x” é atribuído o correspondente valor de *EF* sendo os pontos vizinhos linearmente interpolados de modo a se obter uma superfície que represente a distribuição espacial dos *EFs* sobre a superfície mapeada do substrato. Nestes mapas de contorno é facilmente observada a distribuição espacial dos valores de *EF* ocasionada pela variedade morfológica dos AuNTs: observam-se ilhas de maior intensificação cercadas por regiões de intensificações inferiores. Nos substratos obtidos a partir de menores valores de Φ (= 50 e 100 nm) estas ilhas se relacionam morfológicamente com AuNTs isolados cuja orientação é adequada com relação ao campo elétrico da radiação incidente, de modo que a eficiência de sua ressonância plasmônica seja maximizada. Nos AuNTs obtidos em maiores Φ (= 200 e 400 nm) estas ilhas são morfológicamente relacionadas com AuNTs coalescidos, uma vez que estes são hot-spots e, portanto, suportam as maiores intensificações nas áreas mapeadas – intensificações que são, não só maiores nas áreas mapeadas para $\Phi = 200$ e 400 nm, mas também do que os demais valores de Φ , onde predominam AuNTs isolados.

Apesar das nanoestruturas terem dimensão aproximada variando entre 50 (AuNT com $\Phi = 50$ nm, isolado) e 800 nm (dois AuNTs com $\Phi = 400$ nm, coalescidos), os pontos de

maior intensificação nos mapas da Figura 26 têm dimensões da ordem de micrômetros. Isso decorre do fato de $A_{confocal}$ ($= 1,0 \mu\text{m}^2$) ter esta mesma dimensão, assim a área amostrada pode englobar uma nanoestrutura cuja intensificação é a responsável pelo valor de EF mais alguma eventual nanoestrutura cuja intensificação pode ter ou não a mesma magnitude.

Figura 26. Mapas de contorno para as regiões mapeadas nos substratos depositados por sputtering com $\Phi =$ (A-C) 50, (D-F) 100, (G-I) 200 e (J-L) 400 nm.

4.3. Nanofios e nanotubos de ouro obtidos por eletrodeposição nas PCM

4.3.1. Caracterização morfológica e espectroscópica na região do visível

A eletrodeposição de nanoestruturas de Au foi estudada controlando-se dois parâmetros sintéticos: (i) o diâmetro do poro ($\Phi = 50, 100, 200$ e 400 nm) das membranas utilizadas como moldes e (ii) a densidade de corrente aplicada na eletrodeposição ($j = 1,000$ e $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$), totalizando oito substratos diferentes.

Devido a problemas técnicos com o microscópio eletrônico JEOL JSM-7401 F-Field Emission Scanning Electron Microscope e à baixa resolução do microscópio eletrônico JEOL NeoScope JCM-5000 a caracterização morfológica destes substratos não foi finalizada. No entanto, é possível tentativamente determinar se são obtidos nanotubos e/ou nanofios de Au com base em estudos preliminares e em dados da literatura. Batista *et al.* [87] empregaram uma densidade de corrente de $1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ nas eletrodeposições, obtendo como resultado AuNTs para $\Phi = 200$ e 400 nm e AuNFs para $\Phi = 50$ e 100 nm.

Na Figura 27 são apresentadas as micrografias das nanoestruturas obtidas com a eletrodeposição de Au nas PCM com $\Phi = 50$ nm utilizando $j = (A \text{ e } C) 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ e (B e D) $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$ na etapa preliminar de otimização da síntese. As nanoestruturas obtidas são cilíndricas, o que demonstra a preservação da morfologia do molde e, portanto, valida o método sintético empregado. São observadas também perfurações na base de Au, sugerindo que nanoestruturas poderiam ter sido removidas durante a etapa de dissolução do molde, por esta razão, após esta etapa preliminar de otimização da síntese, o tempo de dissolução foi reduzido de 15 minutos para os 10 minutos reportados na seção 3.3.3..

Figura 27. Micrografias das nanoestruturas eletrodepositadas utilizando a PCM de $\Phi = 50$ nm como molde e $j =$ (A e C) $1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ e (B e D) $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$. As barras de escala marcam $1 \mu\text{m}$ (A e B) e 100 nm (C e D).

Nas micrografias com maiores magnificações é possível observar a presença majoritária de AuNFs para $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ (Figura 27C) e AuNTs para $j = 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$ (Figura 27D) – observe que a obtenção de AuNFs para $\Phi = 50 \text{ nm}$ e $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ confirma os resultados da ref. 87. Como a densidade de corrente de $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$ resultou em AuNTs para $\Phi = 50 \text{ nm}$, não é provável que esta densidade de corrente seja capaz de gerar uma nanoestrutura maciça em poros com diâmetros maiores, de modo que, são esperados AuNTs em todos os valores de Φ . Assim, os tipos de nanoestruturas esperados em cada condição de j e Φ , de acordo com as micrografias acima e os resultados da ref. 86, são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Tipo de nanoestrutura esperado nas condições de eletrodeposição empregadas.

Φ / nm	j / mA.cm ⁻²	
	1,000	0,100
50	AuNF	AuNT
100	AuNF	AuNT
200	AuNT	AuNT
400	AuNT	AuNT

* AuNF: nanofio de Au

* AuNT: nanotubo de Au

Os oito substratos tiveram seus espectros de extinção registrados. Estes são apresentados na Figura 28 e a discussão de suas características espectrais é semelhante à exposta na seção 4.2.1. para os AuNTs sintetizados por sputtering.

Figura 28. Espectros de extinção dos substratos obtidos na eletrodeposição de Au nos poros da PCM. (A) $j = 1,000$ mA.cm⁻² e (B) $j = 0,100$ mA.cm⁻². A queda abrupta observada em 623 nm deve-se a um artefato do equipamento.

A forte extinção centrada em ≈ 480 nm para os substratos obtidos em ambas as densidades de corrente utilizadas é atribuída ao plásmom bulk do filme fino de Au que suporta os AuNT/AuNF. Sua assimetria em direção ao UV decorre do policarbonato remanescente do processo de dissolução do molde. As nanoestruturas de Au têm suas ressonâncias plasmônicas

localizadas em maiores comprimentos de onda [7,23,24] e a primeira diferença a ser observada, em comparação com os AuNTs obtidos por sputtering (Figura 21), é a maior intensidade relativa da banda atribuída ao plásmon de superfície das nanoestruturas eletrodepositadas com relação à banda atribuída ao plásmon do Au bulk. Esse aumento deve-se à melhora morfológica obtida na eletrodeposição, pois a aplicação de um campo elétrico constante permite melhor organização dos átomos de Au no interior dos poros da PCM. A eletrodeposição, portanto, leva à nanoestruturas mais homogêneas em sua morfologia, acarretando em ressonâncias plasmônicas mais intensas e com FWHM muito menores comparativamente às registradas para os AuNTs sintetizados por sputtering.

As absorção plasmônicas das nanoestruturas eletrodepositadas situam-se entre 550-750 nm, região característica da absorção plasmônica de nanoestruturas ocas de Au [40,41,78,80,132], no entanto, AuNFs apresentam o modo longitudinal de sua ressonância plasmônica nesta mesma região [29,43,71], impossibilitando uma possível identificação das nanoestruturas geradas com base no espectro de extinção no UV-VIS. Em consequência de suas menores FWHM, é possível observar um deslocamento batocrômico da banda atribuída às ressonâncias plasmônicas das nanoestruturas com o aumento de Φ , efeito este que é bem estabelecido na literatura [25,34,40,41].

Além do deslocamento batocrômico, nas Figura 28A e B observa-se o aumento da FWHM da banda atribuída ao plásmon de superfície das nanoestruturas com o aumento de Φ . Isto decorre da maior ocorrência de nanoestruturas coalescidas em diâmetro de poros maiores, como discutido na seção 4.2.1.. Ao coalescerem, estas nanoestruturas geram hot-spots em suas junções [82,83] cujas absorções plasmônicas situam-se deslocadas para o vermelho com relação às absorções plasmônicas de nanoestruturas isoladas [42,43]. Com efeito, o aumento de Φ leva ao aumento gradativo na quantidade de nanoestruturas coalescidas no total de

nanoestruturas geradas, de tal maneira que a FWHM das bandas aumenta ao passar a incluir contribuições de nanoestruturas isoladas e coalescidas.

Por fim, a queda abrupta observada em 623 nm deve-se a um artefato do equipamento utilizado para registrar os espectros de extinção, pois esta é tão mais visível quanto menor for a relação sinal/ruído do espectro.

4.3.2. Atividade SERS e distribuição espacial dos fatores de intensificação

Espectros SERS representativos da molécula-prova 4MPy utilizando como substratos as nanoestruturas eletrodepositadas com $j = 1,000$ e $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$ são mostrados nas Figura 29A e B, respectivamente. Para fins de comparação é mostrado um espectro Raman convencional de uma solução aquosa a $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ da mesma molécula-prova; sua intensidade foi multiplicada por 100 para facilitar a visualização. Tanto nos espectros SERS quanto no espectro bulk foi utilizada densidade de potência na amostra de $4,0 \times 10^4 \text{ W.cm}^{-2}$.

Figura 29. Espectros SERS representativos da 4MPy nos AuNTs/AuNFs eletrodepositados nas PCMs com $\Phi = 50, 100, 200$ e 400 nm . (A) $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ e (B) $j = 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$. O espectro Raman

convencional de uma solução aquosa 1×10^{-2} M de 4MPy é apresentado para comparação. Para facilitar sua visualização este último teve sua intensidade multiplicada por 100.

As características espectrais observadas para estes substratos são muito semelhantes às apresentadas pelo espectro SERS da 4MPy sobre AuNTs gerados por sputtering (Figura 22), no entanto, maiores intensificações já podem ser inferidas sem o cálculo do *EF* como sugerem (i) a maior barra de escala utilizada (500 cps contra 250 cps) e (ii) a intensidade do espectro Raman convencional da molécula-prova multiplicada por 100 (ao invés de 50) para que as bandas deste fossem visíveis. A atribuição das bandas presentes nos espectros SERS é apresentada na tabela abaixo.

Tabela 9. Frequências e atribuição das bandas observadas no espectro Raman convencional e SERS da 4MPy adsorvida nos AuNTs/AuNFs eletrodepositados dentro da janela espectral estudada.

Solução 1×10^{-2} M $\bar{\nu}$ / cm^{-1}	SERS	Atribuição
	AuNF/AuNT – Eletrodeposição $\bar{\nu}$ / cm^{-1}	
999	1002/1012/1021	$\nu_{\text{CC,resp. anel}}$
1051	1059	β_{CH}
1114	1094	$\nu_{\text{CC,trigonal}}/\nu_{\text{C=S}}$
-	1198/1215	$\beta_{\text{CH}}/\delta_{\text{NH}}$

Devido à similaridade apresentada pelos espectros SERS da 4MPy nos substratos obtidos por sputtering (Figura 22) e eletrodeposição (Figura 29), a discussão quanto à orientação da 4MPy adsorvida apresentada anteriormente (seção 4.2.2.) continua válida para este substrato eletrodepositado.

Nas Figura 29A e B a banda atribuída ao $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ também apresenta uma grande FWHM, porém, este efeito é mais intenso se comparado ao observado utilizando AuNTs depositados por sputtering como substrato (Figura 22). São observadas pelo menos duas componentes que se apresentam resolvidas ou juntas dentro de um envelope com grande FWHM. Contrariamente ao observado nos espectros SERS suportados por AuNT depositados por sputtering, a banda atribuída ao $\beta_{\text{CH}}/\delta_{\text{NH}}$ se apresenta resolvida em duas componentes:

1198 e 1215 cm^{-1} , onde a componente de menor (maior) frequência refere-se ao anel piridínico protonado (desprotonado) [127,136,137]. É observado que quando a banda relativa ao modo $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ está em maiores frequências (1021 cm^{-1}) a banda relativa ao anel piridínico desprotonado (1215 cm^{-1}) é mais intensa que sua contraparte protonada (1198 cm^{-1}). Esta explicação envolve os equilíbrios tautomérico e de *N*-protonação da 4MPy em superfície, foco do último capítulo desta dissertação.

Da mesma maneira que os AuNTs depositados por sputtering, os AuNTs/AuNFs eletrodepositados são arranjos fixos de nanoestruturas numa superfície, assim, a equação 14 foi novamente aplicada para a determinação dos *EFs* com base na banda em 1094 cm^{-1} ($\nu_{\text{CC,trigonal}}$) que não é afetada aos equilíbrios acima citados.

$$EF = \frac{\frac{I_{SERS}}{A_{confocal} \times \mu_M \times d_{AuNF/AuNT}}}{\frac{I_{bulk}}{C_{bulk} \times H_{confocal}}} \quad (17)$$

Os valores de I_{SERS} e I_{bulk} são obtidos das áreas integradas da banda em 1094 cm^{-1} nas condições SERS e convencional, respectivamente. $A_{confocal}$ e $H_{confocal}$ valem 1,0 μm^2 e 14,6 μm , respectivamente. C_{bulk} e μ_M valem 1×10^{-2} M e $4,7 \times 10^{-10}$ mol.cm⁻², respectivamente. Com relação à densidade de nanoestruturas (d_{AuNT}), uma vez que não foi possível a obtenção das imagens de SEM dos substratos eletrodepositados, e considerando que o molde utilizado é o mesmo, foram admitidos os mesmos valores para d_{AuNT} reportados para os AuNTs depositados por sputtering (Tabela 4). Para cada valor de Φ e *j* foram mapeadas três áreas de (10×10) μm^2 a passos de 1 μm , resultando num espaço amostral de 363 espectros para cada combinação de Φ e *j*. A Tabela 10 apresenta os resultados em termos de fator de intensificação máximo ($EF_{\text{máx}}$), médio ($EF_{\text{méd}}$) e seu desvio-padrão (σ) e seu desvio-padrão relativo ($\%_{\text{erro}}$), definido como a razão $\frac{\sigma}{EF_{\text{méd}}} \times 100\%$. A Figura 30 mostra graficamente os

valores de $EF_{m\acute{a}x}$ e $(EF_{m\acute{e}d} \pm \sigma)$ obtidos para $j = (A) 1,000$ e $(B) 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$ em função do diâmetro de poro da PCM utilizada como molde.

Tabela 10. Valores de $EF_{m\acute{a}x}$, $EF_{m\acute{e}d}$, σ e $\%_{erro}$ obtidos para os espectros SERS suportados pelos AuNTs/AuNFs eletrodepositados e a correspondência com os mapas de contorno apresentados nas Figura 33 e Figura 34.

AuNTs/AuNFs – Eletrodeposição						
Φ / nm	$j / \text{mA.cm}^{-2}$	$EF_{m\acute{a}x}$	$EF_{m\acute{e}d}$	σ	$\%_{erro}$	Figura
50	1,000	$5,0 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$	$7,0 \times 10^3$	20	33A
		$7,5 \times 10^4$	$3,9 \times 10^4$	$9,6 \times 10^3$	25	33B
		$4,9 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$	$5,2 \times 10^3$	16	33C
	0,100	$6,4 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$	$7,4 \times 10^2$	29	34A
		$5,1 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$	$5,9 \times 10^2$	19	34B
		$6,7 \times 10^3$	$3,4 \times 10^3$	$1,0 \times 10^2$	31	34C
100	1,000	$8,7 \times 10^4$	$5,9 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	21	33D
		$1,1 \times 10^5$	$6,7 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$	26	33E
		$9,2 \times 10^4$	$6,1 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	17	33F
	0,100	$4,6 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$	$4,2 \times 10^3$	19	34D
		$3,9 \times 10^4$	$2,7 \times 10^4$	$4,2 \times 10^3$	16	34E
		$4,4 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$	$4,1 \times 10^3$	15	34F
200	1,000	$3,4 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	$3,3 \times 10^4$	29	33G
		$4,9 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	$5,6 \times 10^4$	45	33H
		$4,4 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$4,8 \times 10^4$	43	33I
	0,100	$2,9 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5$	$4,5 \times 10^4$	24	34G
		$2,7 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$4,6 \times 10^4$	29	34H
		$2,8 \times 10^5$	$1,7 \times 10^5$	$4,4 \times 10^4$	26	34I
400	1,000	$1,3 \times 10^6$	$5,9 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	28	33J
		$1,2 \times 10^6$	$6,6 \times 10^5$	$1,7 \times 10^5$	26	33K
		$1,3 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5$	32	33L
	0,100	$1,2 \times 10^6$	$4,2 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	36	34J
		$1,1 \times 10^6$	$4,1 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$	44	34K
		$1,5 \times 10^6$	$3,8 \times 10^5$	$2,1 \times 10^5$	56	34L

Para ambas as densidades de corrente foi observado um aumento nos valores de $EF_{m\acute{a}x}$ e $EF_{m\acute{e}d}$ quando o diâmetro das nanoestruturas também aumenta. Para os AuNTs/AuNFs eletrodepositados utilizando $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ observa-se que os valores de $EF_{m\acute{e}d}$ variam de $3,3 \times 10^4$ a $6,6 \times 10^5$, representando um aumento de 20 vezes quando Φ vai de 50 para 400 nm. O maior valor de $EF_{m\acute{a}x}$ registrado para estes substratos é $1,3 \times 10^6$ quando $\Phi = 400 \text{ nm}$.

Quando a densidade de corrente é diminuída para $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$ os valores de $EF_{\text{méd}}$ variam de $2,6 \times 10^3$ a $4,2 \times 10^5$, aumentando ≈ 160 vezes com o aumento de Φ , e com valor máximo de $EF_{\text{máx}}$ de $1,5 \times 10^6$ para AuNTs com $\Phi = 400 \text{ nm}$.

Figura 30. Valores de EF médios e máximos determinados para os AuNTs/AuNFs eletrodepositados utilizando $j =$ (A) $1,000$ e (B) $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$ nas PCM em função de Φ .

Assim como os AuNTs depositados por sputtering, a eletrodeposição preserva a morfologia das PCMs e, deste modo, há um aumento no número de nanoestruturas coalescidas para maiores valores de Φ . A Figura 31 apresenta exemplos destas nanoestruturas eletrodepositadas coalescidas.

Figura 31. Micrografias apresentando exemplos de AuNTs coalescidos eletrodepositados em PCMs com $\Phi = 400 \text{ nm}$. As barras de escala marcam 100 nm .

Como mostrado de maneira experimental [82] e teórica [83], a junção entre duas ou mais nanoestruturas coalescidas é um hot-spot, de modo que a crescente presença destes eleva concomitantemente os valores de EF s calculados nos substratos em que estão presentes. O crescente aumento na quantidade de nanoestruturas coalescidas já poderia ser inferido a partir

dos espectros de extinção destes substratos que mostram a banda atribuída ao plásmon de superfície dessas nanoestruturas com crescente valor de FWHM conforme Φ também aumenta.

É interessante comparar os valores de EF s para os dois valores de densidade de corrente utilizados. No limite superior os valores de $EF_{máx}$ e $EF_{méd}$ são os mesmos dentro dos desvios-padrão calculados, no entanto, no limite inferior, os valores de $EF_{máx}$ e $EF_{méd}$ para $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ são cerca de 10 vezes superiores aos apresentados pelas AuNTs eletrodepositados com $j = 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$. Um exame atento da Figura 30 revela que os valores divergem apenas $\Phi = 50$ e 100 nm . Nestes diâmetros supõem-se que sejam formados AuNFs para $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ e AuNTs para $j = 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$, levando a supor que esse aumento de 10 vezes deva-se à uma melhor performance SERS dos AuNFs frente a AuNTs de mesmo diâmetro. Concordando isto, nestes mesmos diâmetros, os valores dos EF s para AuNTs depositados por sputtering (Tabela 6 e Figura 24) apresentam as mesmas magnitudes determinadas para os AuNTs eletrodepositados com $j = 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$. Estas observações reforçam a identificação tentativa das nanoestruturas geradas com cada densidade de corrente e diâmetro de poro (Tabela 8).

Figura 32. Comparação entre os $EF_{méd}$ dos AuNTs/AuNFs eletrodepositados obtidos na ref. 87 e nesta dissertação. Os valores de $EF_{méd}$ foram normalizados e as linhas foram traçadas para facilitar a visualização.

A comparação dos resultados obtidos nesta seção com os apresentados na literatura para este sistema (ref. 86) é mostrada na Figura 32 e revela o mesmo comportamento apresentado na comparação entre os AuNTs depositados por sputtering e os dados da mesma referência (Figura 25). Conforme discutido na seção 4.2.2., a presença de nanoestruturas coalescidas em diâmetros de poro maiores acrescida à ausência de nanoestruturas colapsadas em diâmetros de 50 nm faz com que os valores de EF_{med} normalizados aumentem com Φ pela presença crescente de hot-spots, num comportamento oposto ao valores de EF_{med} normalizados da ref. 86, que apresentam AuNFs colapsados em $\Phi = 50$ nm, que também são hot-spots, e ausência de AuNTs coalescidos em valores maiores de Φ .

São observados desvios-padrão relativos ($\%_{erro}$) de $\approx 36\%$ e 38% para os substratos eletrodepositados com $j = 1,000$ e $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$, respectivamente (Tabela 10). Isto representa um grande aumento na reprodutibilidade espacial dos EF s quando comparados com os valores de $\%_{erro}$ determinados para os AuNTs depositados por sputtering, calculados como $\approx 64\%$. Esse aumento na reprodutibilidade espacial nos valores de EF s deve-se ao fato da eletrodeposição direcionar os íons Au^{3+} diretamente para dentro dos poros da PCM, enquanto que na deposição por sputtering os átomos de Au são aleatoriamente depositados dentro destes poros. Deste modo, as nanoestruturas eletrodepositadas são morfologicamente mais homogêneas do que as obtidas por sputtering e, portanto, suportam intensificações semelhantes ponto-a-ponto.

Da mesma maneira que feita na seção 4.2.2., foram construídos mapas de contorno para as áreas mapeadas nos substratos eletrodepositados para que a variação espacial nos valores de EF fosse melhor visualizada. Esses mapas são apresentados nas Figura 33 e Figura 34 para os substratos eletrodepositados com densidades de corrente iguais a $1,000$ e $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$, respectivamente. Como esperado, a preservação das características morfológicas do molde pela eletrodeposição leva à presença de ilhas de maior intensificação formadas por (i)

AuNFs ($j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$) ou AuNTs ($j = 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$) isolados e com orientação adequada com relação ao vetor campo elétrico da radiação incidente nos menores valores de Φ ($= 50$ e 100 nm) ou por (ii) AuNTs coalescidos, formando hot-spots, nas maiores valores de Φ ($= 200$ e 400 nm). Novamente, estas ilhas têm dimensões da ordem de micrômetros em decorrência de A_{confocal} valer $1,0 \text{ }\mu\text{m}^2$ e são cercadas por regiões onde as intensificações não atingem valores tão elevados.

Figura 33. Mapas de contorno para as regiões mapeadas nos substratos eletrodepositados ($j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$) com $\Phi =$ (A-C) 50, (D-F) 100, (G-I) 200 e (J-L) 400 nm.

Figura 34. Mapas de contorno para as regiões mapeadas nos substratos eletrodepositados ($j = 0,100$ $\text{mA}\cdot\text{cm}^{-2}$) com $\Phi =$ (A-C) 50, (D-F) 100, (G-I) 200 e (J-L) 400 nm.

4.4. Outros substratos

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos para substratos clássicos dentro da espectroscopia SERS: suspensão coloidal de nanoesferas de Au, eletrodo ativado de Au e o substrato comercial Klarite®. A intenção dessa seção é fornecer dados que permitam uma comparação com os substratos sintetizados utilizando as PCMs como molde apresentados nas seções anteriores.

4.4.1. Suspensão coloidal de nanoesferas de Au

Nanoesferas de Au (AuNSs) foram sintetizadas de acordo com a síntese de Frens [59], onde os íons Au^{3+} são reduzidos a Au^0 pela ação do citrato, que também age como estabilizante das nanopartículas. A Figura 35 apresenta micrografias das AuNSs obtidas, onde se observa a obtenção de nanopartículas esféricas, como esperado pela rota sintética empregada.

Figura 35. Micrografia das AuNSs obtidas na síntese de Frens [59] realizada. As barras de escala marcam 100 nm.

Os diâmetros de 371 AuNSs foram medidos e resultaram numa distribuição normal de diâmetros em torno de um valor médio de (45 ± 5) nm, mostrado no histograma da Figura 36A. Este diâmetro médio está em concordância com a rota sintética escolhida, que reporta um diâmetro médio de 41 nm [59]. Foi registrado o espectro de extinção no UV-VIS de sua

suspensão coloidal como parte da caracterização das AuNSs. Este segue na Figura 36B e apresenta uma banda centrada em 528 nm em concordância com a esfericidade das nanopartículas de Au e com seu diâmetro médio de (45 ± 5) nm [28,40,41].

Figura 36. (A) Histograma e distribuição normal de diâmetros das AuNSs sintetizadas. (B) Espectro de extinção da suspensão coloidal de AuNSs sintetizada.

A partir do espectro de extinção apresentado na Figura 36B é possível determinar a concentração de AuNSs (C_{NP}) na suspensão coloidal uma vez que a absorbância (A) de uma suspensão coloidal de nanopartículas e sua concentração se relacionam por [138]:

$$A = \frac{C_{NP} \times \sigma_{ext} \times d}{2,303} \quad (18)$$

Onde d é o caminho óptico e σ_{ext} é a seção de choque de extinção, que para uma nanopartícula esférica vale [138,139]:

$$\sigma_{ext} = 9 \times \left(\frac{\omega}{c} \right) \times \epsilon_0^{3/2} \times \left(\frac{4}{3} \times \pi \times R^3 \right) \times \left(\frac{\text{Im}[\epsilon_i(\omega)]}{(\text{Re}[\epsilon_i(\omega)] + 2\epsilon_0)^2 + (\text{Im}[\epsilon_i(\omega)])^2} \right) \quad (19)$$

Onde $\omega \equiv$ frequência da radiação eletromagnética; $c \equiv$ velocidade da luz; ϵ_0 é a constante dielétrica do meio, água neste caso; R é o raio da nanopartícula; $\text{Re}[\epsilon_i(\omega)]$ e $\text{Im}[\epsilon_i(\omega)]$ são as componentes real e imaginária da função dielétrica complexa dependente da frequência ($\epsilon_i(\omega)$) do metal que compõe a nanopartícula.

O valor da constante dielétrica da água (ϵ_0) na temperatura do experimento (22,5 °C) é 79,32 [140]. Os valores de $\text{Re}[\epsilon_i(\omega)]$ e $\text{Im}[\epsilon_i(\omega)]$ para o comprimento de onda de extinção

máxima ($\lambda_{\text{máx}} = 528 \text{ nm}$) foram obtidos do trabalho de Johnson e Christy [141] e valem -4,36 e 2,67, respectivamente. Assim, a partir da equação 19, com $R = 22,5 \text{ nm}$ (Figura 36A), obtém-se $\sigma_{\text{ext}} = 6,4 \times 10^{-13} \text{ cm}^2$ para $\lambda_{\text{máx}}$. Com $A = 0,4738$ e $d = 5,00 \text{ mm}$, a equação 15 resulta então em $C_{\text{NP}} = 3,4 \times 10^{12} \text{ AuNS.cm}^{-3}$.

Para o estudo do desempenho SERS das AuNSs, foram preparados três sistemas distintos, descritos na Tabela 2. Estes diferem na concentração da molécula-prova 4MPy que varia desde a concentração utilizada nos estudos com AuNTs depositados por sputtering e AuNFs/AuNTs eletrodepositados ($1 \times 10^{-2} \text{ M}$) até a concentração mínima aproximada para que se forme uma monocamada sobre um eletrodo liso de Au: $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ [87,115,116,117,118]. Para cada um dos três sistemas foram registrados 350 espectros consecutivos, após cinco minutos do preparo de cada amostra.

Cada sistema teve seu espectro de extinção no UV-VIS registrado a intervalos de cinco minutos, por uma hora (tempo aproximado para a aquisição dos 350 espectros SERS nas condições experimentais empregadas). Esses conjuntos de espectros são apresentados na Figura 37. Nos primeiros quinze minutos após o preparo de cada sistema o espectro já se apresenta praticamente na sua configuração final, após uma hora. Ainda assim, essa convergência é mais rápida para o sistema 1 do que para os demais, isso decorrendo da maior quantidade de analito empregada neste sistema. Como os três sistemas apresentam comportamentos muito semelhantes em função (i) da adição de analitos e (ii) do tempo, a discussão das variações espectrais observadas será feita conjuntamente.

Após a adição dos analitos é observada a perda de intensidade da banda centrada em 528 nm e o aparecimento de uma absorção na região do vermelho se estendendo em direção ao NIR. Este comportamento é bem estabelecido como indicativo da agregação das AuNSs após a remoção do citrato, que as separava por repulsão coulômbica, e sua substituição por íons Cl^- e/ou por 4MPy. É importante observar que os espectros se mantêm estáveis durante o

tempo de medida, o que indica que não há precipitação das AuNSs e permite afirmar que qualquer variação nos 350 espectros SERS registrados para cada sistema não é devida à deposição de material.

Figura 37. Espectros de extinção dos três sistemas estudados utilizando AuNSs como substratos SERS e a 4MPy como molécula-prova (Tabela 2): (A) sistema 1, (B) sistema 2 e (C) sistema 3. Os espectros foram registrados a cada 5 minutos por uma hora.

A Figura 38 apresenta espectros SERS da 4MPy representativos de cada um dos três sistemas estudados. Um espectro Raman convencional de uma solução aquosa 1×10^{-2} M de 4MPy é também apresentado para fins de comparação, em ambas condições a densidade de potência na amostra foi de $8,0 \times 10^4$ W.cm⁻². Na Tabela 11 são apresentadas as atribuições das bandas observadas nestes espectros.

Figura 38. Espectros SERS representativos da 4MPy nos três sistemas apresentados na Tabela 2 utilizando AuNSs como substrato SERS. O espectro Raman convencional de uma solução aquosa 1×10^{-2} M de 4MPy é apresentado para comparação.

Tabela 11. Frequências e atribuição das bandas observadas no espectro Raman convencional e SERS da 4MPy adsorvida nas AuNSs dentro da janela espectral estudada.

Solução 1×10^{-2} M $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	SERS	Atribuição
	AuNS – Coloide $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	
1000	999/996/993	$\nu_{\text{CC,resp. anel}}$
1052	1044	β_{CH}
1114	1091	$\nu_{\text{CC,trigonal}}/\nu_{\text{C=S}}$
1204	1197/1208	$\beta_{\text{CH}}/\delta_{\text{NH}}$

Via de regra, são observadas as mesmas características apresentadas pelos espectros SERS da 4MPy adsorvida nos AuNTs depositados por sputtering (seção 4.2.2.) e AuNFs/AuNTs eletrodepositados (seção 4.3.2.). No entanto, algumas características novas estão presentes: (i) a presença de apenas uma componente na banda atribuída ao $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$, sugerindo não haver deslocamento dos equilíbrios tautomérico e de *N*-protonação durante a aquisição dos 350 espectros em cada sistema. (ii) a frequência da banda atribuída ao $\beta_{\text{CH}}/\delta_{\text{NH}}$

flutua entre 1197 e 1208 cm^{-1} . Com a diminuição da concentração de 4MPy nos sistemas ocorre (iii) o deslocamento da banda atribuída ao $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ para maiores frequências e (iv) o aumento da intensidade relativa da banda atribuída ao $\nu_{\text{CC,trigonal}}/\nu_{\text{C=S}}$ com relação à banda atribuída ao $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$. Os itens (i) e (ii) serão discutidos no último capítulo desta dissertação. Os itens (iii) e (iv) podem ser entendidos considerando uma diferença fundamental nesses sistemas de AuNSs em comparação com os substratos obtidos anteriormente: não há como remover o excesso de 4MPy após a adsorção desta sobre as superfícies de Au se completar.

Uma estimativa para o excesso de 4MPy não adsorvida pode ser feita. Considerando o volume amostrado pelo laser na configuração utilizada para registrar os espectros ($V_{\text{confocal}} = 14,6 \mu\text{m}^3$), da Tabela 2, tem-se que 45 AuNSs são amostradas em média. Juntas essas 45 AuNSs têm uma área superficial de $2,86 \times 10^{-9} \text{ cm}^2$, sendo a cobertura superficial (μM) da 4MPy igual a $4,7 \times 10^{-10} \text{ mol.cm}^{-2}$, é adsorvido um total de $1,31 \times 10^{-18} \text{ mol}$ de 4MPy. Se para o sistema 1 a quantidade de matéria de 4MPy livre antes da adsorção era $1,46 \times 10^{-16} \text{ mol}$ de 4MPy dentro de V_{confocal} , restam após a adsorção $1,45 \times 10^{-16} \text{ mol}$ de 4MPy, resultando numa concentração final de 4MPy de $9,98 \times 10^{-3} \text{ M}$ – admitindo-se a formação de uma monocamada de 4MPy nas 45 AuNSs isoladas e que o equilíbrio de adsorção já esteja estabelecido.

Tabela 12. Quantidade de 4MPy livre na calota esférica compreendida nos 40 nm a partir da superfície de uma única AuNS. São admitidos a formação de uma monocamada com o equilíbrio de adsorção estabelecido e AuNS isolada.

Sistema	Moléculas de 4MPy livres após adsorção
1	5828
2	535
3	6

De acordo com Tian *et al.*, a intensificação do campo elétrico é significativa num raio de 40 nm a partir da superfície de uma nanopartícula [27]. Logo, se calcularmos a quantidade de matéria de 4MPy livre após a adsorção na calota esférica compreendida no raio de 40 nm a partir da superfície de uma única AuNS obtém-se 5828 moléculas de 4MPy para o sistema 1.

Se esses cálculos forem expandidos para os sistemas 2 e 3, obtêm-se os resultados expressos na Tabela 12.

É observado que o espectro SERS da 4MPy no sistema 1 (Figura 38) é semelhante ao espectro da 4MPy livre (Figura 17B) ao passo que o espectro SERS da 4MPy no sistema 3 é idêntico ao obtido quando AuNTs depositados por sputtering e AuNFs/AuNTs eletrodepositados foram utilizados como substratos SERS (Figura 22 e Figura 29) – substratos onde era possível se remover o excesso de 4MPy restando apenas a monocamada de 4MPy adsorvida. A transição entre estes dois tipos de espectro é facilmente vista quando tanto a posição da banda atribuída ao $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$ quanto a intensidade relativa das bandas atribuídas aos modos $\nu_{CC,trigonal}/\nu_{C=S}$ e $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$ são plotadas contra a concentração inicial de 4MPy em cada sistema. Esse gráfico é apresentado na Figura 39 e mostra a relação direta entre a frequência da banda atribuída ao $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$ e a intensidade relativa das bandas atribuídas aos modos $\nu_{CC,trigonal}/\nu_{C=S}$ e $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$ com a concentração inicial de 4MPy nos três sistemas estudados.

A Figura 39 suporta a explicação acima ao demonstrar uma transição contínua entre um espectro SERS com características do espectro bulk da 4MPy quando sua concentração inicial é 1×10^{-2} M (sistema 1, excesso de $\approx 5 \times 10^3$ moléculas de 4MPy livres), passando por uma situação intermediária quando a concentração inicial de 4MPy é 1×10^{-3} M (sistema 2, excesso de $\approx 5 \times 10^2$ moléculas de 4MPy livres) e uma situação final onde a concentração inicial de 4MPy é 1×10^{-4} M (sistema 3, excesso de apenas 6 moléculas de 4MPy livres), sendo um espectro virtualmente de monocamada, como esperado por esta ser a concentração mínima para a formação de uma monocamada de 4MPy. Portanto, as mudanças nas características espectrais observadas na Figura 38 e ilustradas na Figura 39 devem-se ao espectro registrado ser a soma do espectro SERS da 4MPy adsorvida mais o espectro SERS da 4MPy livre nos entornos das AuNSs.

Figura 39. Posição da banda atribuída ao $\nu_{CC,resp. anel}$ e intensidade relativa das bandas atribuídas aos modos $\nu_{CC,trigonal}/\nu_{C=S}$ e $\nu_{CC,resp. anel}$ plotadas contra a concentração inicial de 4MPy em cada sistema mostrado na Tabela 2. As linhas foram traçadas para facilitar a visualização.

Os fatores de intensificação foram calculados para os conjuntos de 350 espectros em cada sistema com base na banda atribuída ao $\nu_{CC,resp. anel}$ ($\approx 999 \text{ cm}^{-1}$), supondo que as 45 AuNSs dentro de $V_{confocal}$ estejam isoladas e que exista uma monocamada completa e em equilíbrio de 4MPy sobre as mesmas. A partir da equação 10:

$$EF = \frac{\frac{I_{SERS}}{N_{SERS}}}{\frac{I_{bulk}}{N_{bulk}}} \quad (10)$$

Onde I_{SERS} e I_{bulk} são as áreas integradas da banda atribuída ao $\nu_{CC,resp. anel}$ nos espectros SERS e bulk, respectivamente. N_{SERS} é o número de moléculas de 4MPy adsorvidas nas 45 AuNSs amostradas pelo laser dentro de $V_{confocal}$ ($= 14,6 \mu\text{m}^3$) e vale $1,31 \times 10^{-18}$ mol de 4MPy. N_{bulk} é o número de moléculas de 4MPy na condição bulk dentro de $V_{confocal}$ e vale $1,46 \times 10^{-16}$, $1,46 \times 10^{-17}$ e $1,46 \times 10^{-18}$ mol de 4MPy nos sistemas 1, 2 e 3, respectivamente.

Os valores de EF para os sistemas estudados calculados com a metodologia acima seguem na Tabela 13 expressos em termos de fator de intensificação máximo ($EF_{m\acute{a}x}$), médio

($EF_{méd}$) e seu desvio-padrão (σ) e seu desvio-padrão relativo ($\%_{erro}$), definido como a razão

$$\frac{\sigma}{EF_{méd}} \times 100\% .$$

Tabela 13. Valores de $EF_{máx}$, $EF_{méd}$, σ e $\%_{erro}$ obtidos para os espectros SERS suportados pelas AuNSs nos três sistemas estudados (Tabela 2).

AuNSs – Coloide				
Sistema	$EF_{máx}$	$EF_{méd}$	σ	$\%_{erro}$
1	$1,7 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$	$1,9 \times 10^2$	24
2	$4,1 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	$7,0 \times 10^2$	65
3	$9,6 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	90

Apesar da quantidade de espalhadores não ser a mesma, os valores calculados de EF são os mesmos dentro dos desvios-padrão para os três sistemas estudados. Isto se deve, primeiramente, ao excesso de moléculas de 4MPy ser de 135 a $1,3 \times 10^5$ vezes inferior à quantidade de moléculas de 4MPy adsorvidas. Além disto, o campo elétrico intensificado decai exponencialmente a partir da superfície da AuNS, assim as moléculas livres de 4MPy nos entornos da AuNS não são em quantidade suficiente para modificar substancialmente os valores de EF . Os valores de EF calculados para estes sistemas são semelhantes aos anteriormente apresentados pelos AuNTs e AuNFs com $\Phi = 50$ e 100 nm e até 10^3 vezes inferiores nos AuNTs onde a coalescência atua como geradora de hot-spots ($\Phi = 200$ e 400 nm). Esse desempenho inferior das AuNSs frente aos AuNTs e AuNFs depositados por sputtering ou eletrodepositados pode ser entendido com base nos espectros de extinção apresentados na Figura 37. A radiação incidente em $632,8$ nm excita mais eficientemente o plásmon de superfície de AuNSs isoladas, nesta condição as intensificações atingidas são inferiores às que poderiam ser atingidas excitando-se o espectro SERS com uma linha próxima ao NIR, 785 nm por exemplo, onde o plásmon das AuNSs agregadas seria eficientemente excitado [13,15,16,23,25,29,42,44]. Ao passo que as nanoestruturas depositadas por sputtering ou eletrodepositadas têm suas ressonâncias plasmônicas já

posicionadas na região do vermelho (Tabela 6 e Tabela 10) o que permite as maiores intensificações obtidas.

Também é observado um aumento nos valores de desvio-padrão relativo com a diminuição da concentração de 4MPy. Uma hipótese seria a formação de uma sub-monocamada de 4MPy nas concentrações inferiores de 4MPy, uma vez que o valor de $\approx 10^{-4}$ M é válido para uma superfície lisa de Au. Deste modo, como as AuNSs em suspensão são um sistema dinâmico, a inexistência de uma cobertura uniforme de 4MPy causaria flutuações no sinal, resultando na variação dos valores de EF de espectro para espectro e, acarretando o aumento observado para o desvio-padrão.

4.4.2. Eletrodo ativado de Au

Outro substrato a ser estudado foi o eletrodo de Au ativado por ciclos de oxidação e redução (AuEle), que é o substrato mais utilizado na espectroscopia SERS. Após o processo de ativação e adsorção da 4MPy, descritos na seção 3.3.5, três regiões de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$ foram mapeadas com passos de $1 \mu\text{m}$, resultando num total de 121 espectros para cada área mapeada. A Figura 40 apresenta espectros SERS da 4MPy representativos obtidos nestes mapeamentos mais um espectro Raman convencional de uma solução aquosa de 4MPy a 1×10^{-2} M, apresentado para fins de comparação. Para ambas as condições a densidade de potência incidente na amostra foi de $4,0 \times 10^4 \text{ W.cm}^{-2}$.

Os espectros SERS da 4MPy adsorvida no AuEle são bastante semelhantes aos observados para os AuNTs depositados por sputtering, AuNFs/AuNTs eletrodepositados e no sistema 3 de AuNSs, ou seja, é um espectro SERS de uma monocamada de 4MPy sem que haja moléculas de 4MPy livres na região de intensificação de campo elétrico. Neste sentido a discussão sobre a orientação da 4MPy adsorvida é a mesma desenvolvida nas seções anteriores. Similarmente ao observado nas AuNSs, a banda atribuída ao $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ apresenta

apenas uma componente, resultado que será discutido no último capítulo desta dissertação. A Tabela 14 traz a atribuição das bandas observadas nos espectros SERS dentro da janela espectral estudada.

Figura 40. Espectros SERS representativos da 4MPy nas três regiões mapeadas no AuEle. O espectro Raman convencional de uma solução aquosa 1×10^{-2} M de 4MPy é apresentado para comparação. Para facilitar sua visualização este último teve sua intensidade multiplicada por 100.

Tabela 14. Frequências e atribuição das bandas observadas no espectro Raman convencional e SERS da 4MPy adsorvida no AuEle dentro da janela espectral estudada.

Solução 1×10^{-2} M $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	SERS AuEle $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	Atribuição
999	1002	$\nu_{\text{CC, resp. anel}}$
1051	1060	β_{CH}
1114	1092	$\nu_{\text{CC, trigonal}}/\nu_{\text{C=S}}$
-	1205	$\beta_{\text{CH}}/\delta_{\text{NH}}$

A Figura 41 traz uma micrografia SEM de um eletrodo ativado de Au onde se pode ver que o processo de ativação gera uma série de nanoestruturas com geometria e dimensões diversas, que aumentam a rugosidade da superfície do eletrodo. Adiante será mostrado que a

heterogeneidade nas nanoestruturas responsáveis pela intensificação do campo elétrico causa uma grande variação espacial nos valores de EF neste substrato.

Figura 41. Micrografia SEM de um eletrodo de Au ativado por ciclos de oxidação e redução. A barra de escala marca 0,5 μm . Adaptado de Batista *et al.* [87].

Um eletrodo com rugosidade aumentada tem uma área real maior do que sua área geométrica, assim, para o cálculo adequado do fator de intensificação, a rugosidade da superfície deve ser conhecida e incluída na expressão para EF . Neste sentido, foi utilizada uma proposta semelhante à apresentada por Cai *et al.* [47]. O fator de rugosidade é definido como a razão entre as áreas real (A_{real}) e geométrica ($A_{geométrica}$) de um eletrodo, isto é:

$$R = \frac{A_{real}}{A_{geométrica}} \quad (20)$$

Assim, o produto $A_{confocal} \times R$ resulta na área real do eletrodo e, portanto, na quantidade real de moléculas de 4MPy iluminadas pelo laser dentro das configurações experimentais utilizadas para a excitação do espectro SERS. Desta maneira, os fatores de intensificação podem ser calculados através de:

$$EF = \frac{\frac{I_{SERS}}{N_{SERS}}}{\frac{I_{bulk}}{N_{bulk}}} = \frac{\frac{I_{SERS}}{A_{confocal} \times R \times \mu_M}}{\frac{I_{bulk}}{C_{bulk} \times V_{confocal}}} \rightarrow EF = \frac{\frac{I_{SERS}}{R \times \mu_M}}{\frac{I_{bulk}}{C_{bulk} \times H_{confocal}}} \quad (21)$$

O eletrodo ativado de Au teve A_{real} determinada através da carga total da onda de redução obtida em um voltamograma cíclico registrado na cela eletroquímica descrita na seção 3.3.5.. O potencial foi variado entre -0,3 e +1,5 V, partindo-se de 0 V no sentido catódico a 100 mV.s^{-1} em meio de $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$ 0,5 M. Este voltamograma é mostrado na Figura 42.

Figura 42. Voltamograma obtido para a determinação de A_{real} do AuEle utilizado como substrato SERS. O voltamograma foi registrado entre -0,3 e +1,5 V, partindo-se de 0 V no sentido catódico a 100 mV.s^{-1} em meio de $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$ 0,5 M. A área destacada refere-se à onda de redução do Au.

Na Figura 42 a onda de redução do Au está presente em $\approx 0,9 \text{ V}$ e é destacada, dela obtém-se uma carga total de $-8,80 \times 10^{-5} \text{ C}$. De acordo com Trasatti e Petrii [142] cada unidade de área, em cm^2 , em um eletrodo de Au corresponde a uma carga na redução de $390 \times 10^{-6} \text{ C}$, de onde se obtém que $A_{real} = 0,22 \text{ cm}^2$. Como o eletrodo utilizado tem $A_{geométrica}$ de $0,12 \text{ cm}^2$ (seção 3.3.5.), a equação 20 fornece um fator de rugosidade, R , de 1,8.

Com este valor de R , e com $\mu_M = 4,7 \times 10^{-10} \text{ mol.cm}^{-2}$, $H_{confocal} = 14,6 \text{ μm}$, $C_{bulk} = 1 \times 10^{-2} \text{ M}$ e obtendo I_{SERS} e I_{bulk} das áreas integradas da banda atribuída ao modo $\nu_{CC, \text{trigonal}}/\nu_{C=S}$, pode-se calcular os fatores de intensificação em cada área mapeada. Estes valores são apresentados

na Tabela 15 em termos de fator de intensificação máximo ($EF_{m\acute{a}x}$), m\'edio ($EF_{m\acute{e}d}$) e seu desvio-padr\~ao (σ) e seu desvio-padr\~ao relativo ($\%_{erro}$), definido como a raz\~ao $\frac{\sigma}{EF_{m\acute{e}d}} \times 100\%$.

Os valores de EF obtidos s\~ao compar\'aveis aos encontrados para os maiores di\~ametros dos AuNTs depositados por sputtering (Tabela 7) e ligeiramente inferiores aos AuNFs/AuNTs eletrodepositados (Tabela 10), por\'em os valores de desvio-padr\~ao e desvio-padr\~ao relativo s\~ao extremamente elevados.

Tabela 15. Valores de $EF_{m\acute{a}x}$, $EF_{m\acute{e}d}$, σ e $\%_{erro}$ obtidos para os espectros SERS suportados pelo eletrodo ativado por ciclos de oxida\~cao e redu\~cao (AuEle).

AuEle – Eletrodo ativado					Figura 43
Mapeamento	$EF_{m\acute{a}x}$	$EF_{m\acute{e}d}$	σ	$\%_{erro}$	
1	$2,4 \times 10^5$	$2,6 \times 10^4$	$2,9 \times 10^4$	110	A
2	$7,1 \times 10^5$	$3,9 \times 10^4$	$7,3 \times 10^4$	185	B
3	$6,8 \times 10^5$	$5,9 \times 10^4$	$7,3 \times 10^4$	125	C

Ambas as caracter\'isticas devem-se \`a morfologia do AuEle, observe na Figura 41 a extrema irregularidade nas dimens\~oes das nanoestruturas geradas, com isso, a condi\~cao de resson\~ancia plasm\~onica com a radia\~cao incidente, que \`e fixa, \`e cumprida em diferentes extens\~oes, causando grande variabilidade espacial nos valores de EF . Dentro deste espa\~co amostral ocorrem poucos pontos de alt\'issima intensifica\~cao, hot-spots, que s\~ao respons\'aveis pela detec\~cao at\'e de mol\'eculas em regimes de mol\'eculas individuais [47,50,52], cercados por regi\~oes com intensifica\~coes inferiores com valores variando em at\'e tr\~es ordens de grandeza. O exposto acima \`e bem ilustrado se mapas de contorno forem constru\'idos para estas \`areas mapeadas da mesma maneira feita para as nanoestruturas depositadas por sputtering e eletrodepositadas (se\~coes 4.2.2. e 4.3.2.), estes s\~ao apresentados na Figura 43.

Figura 43. Mapas de contorno para as regiões mapeadas no eletrodo ativado de Au.

Nos mapas de contorno acima é observada a enorme variação nos valores de EF ponto-a-ponto e também a presença de apenas uma ou duas regiões com intensificações extremamente elevadas, cercadas por regiões de intensificações extremamente baixas. Os hot-spots identificados tem dimensão aproximada de $1\ \mu\text{m}$, como esperado por $A_{confocal}$ ter $1,0\ \mu\text{m}^2$ e estão presentes em quantidades muito inferiores se estes mapas de contorno são comparados com os construídos para os substratos depositados por sputtering e eletrodepositados, demonstrando o aumento da reprodutibilidade espacial dos EF quando substratos são sintetizados com o auxílio das PCMs como molde.

4.4.3. Klarite®

Os substratos Klarite®, gentilmente cedidos pela fabricante RENISHAW, foram morfologicamente caracterizados com imagens SEM, conforme a Figura 44 apresenta. Nestas micrografias é possível se observar a homogeneidade morfológica dos poços piramidais que compõe a parte ativa destes substratos. Estes poços são micrométricos e têm $1,5\ \mu\text{m}$ de aresta e profundidade, com faces de $1,7\ \mu\text{m}$, sendo espaçados $0,5\ \mu\text{m}$ um do outro. O substrato apresenta uma densidade de microestruturas (d_{ME}) de $2,5 \times 10^8\ \text{cm}^{-2}$, isto é, a mesma ordem de grandeza das densidades de nanoestruturas determinadas para os AuNTs depositados por sputtering (Tabela 4) e esperado para os AuNFs/AuNTs eletrodepositados utilizando as PCMs como molde.

Figura 44. Micrografias do substrato Klarite®. As barras de escala marcam (A) 10 e (B) 2 µm.

Diferentemente do feito para os substratos anteriores, neste foi feito um mapeamento em três dimensões, isto é, uma mesma área de $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$ foi mapeada a intervalos de 0,5 µm a partir do plano do substrato e indo em direção à extremidade inferior dos poços, o que resulta em quatro planos mapeados. Outra diferença com relação aos experimentos com os substratos anteriores foi o passo utilizado durante o mapeamento. Este foi reduzido a 0,5 µm (Figura 11B), resultando num total de 441 espectros para cada plano mapeado. Isto se deve ao fato de que, agora, as estruturas responsáveis pela intensificação do sinal SERS têm dimensões maiores que do A_{confocal} na configuração utilizada para registrar os espectros, assim, ao se fazer um passo menor que a dimensão da estrutura mapeada garante-se uma transição suave entre regiões ativas e inativas do substrato.

Assim, após a preparação de amostra exposta na seção 3.3.6., foram feitos os mapeamentos discutidos acima. A Figura 45 traz espectros SERS representativos obtidos durante os mapeamentos. Para fins de comparação um espectro Raman convencional de uma solução 1×10^{-2} M de 4MPy é mostrado. Em ambas as condições a densidade de potência incidente na amostra foi $8,0 \times 10^4 \text{ W.cm}^{-2}$.

A Tabela 16 apresenta a atribuição das bandas observadas nestes espectros SERS. Novamente é observado um comportamento nos espectros SERS típico de monocamada sem excesso de 4MPy livre na região de campo intensificado – como já era esperado pelo substrato ter sido lavado para a remoção de 4MPy não adsorvida. Também é observada

apenas uma componente dentro da banda atribuída ao $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$, o que indica que a monocamada está em equilíbrio de *N*-protonação e tautomerismo, como será mostrado no último capítulo desta dissertação. Por essas razões a discussão se mantém a mesma apresentada nas seções anteriores.

Figura 45. Espectros SERS representativos da 4MPy dos quatro planos mapeados no Klarite®. O espectro Raman convencional de uma solução aquosa 1×10^{-2} M de 4MPy é apresentado para comparação. Para facilitar sua visualização este último teve sua intensidade multiplicada por 50.

Tabela 16. Frequências e atribuição das bandas observadas no espectro Raman convencional e SERS da 4MPy no substrato Klarite® dentro da janela espectral estudada.

Solução 1×10^{-2} M $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	SERS Klarite® $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	Atribuição
999	1000	$\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$
1052	1061	β_{CH}
1114	1091	$\nu_{CC,trigonal}/\nu_{C=S}$
1204	1203	β_{CH}/δ_{NH}

Como o Klarite® é um arranjo fixo de nanoestruturas, a equação 17 foi utilizada para o cálculo dos *EFs* com base na banda atribuída ao $\nu_{CC,trigonal}/\nu_{C=S}$:

$$EF = \frac{\frac{I_{SERS}}{A_{confocal} \times \mu_M \times d_{ME}}}{\frac{I_{bulk}}{C_{bulk} \times H_{confocal}}} \quad (17)$$

Onde I_{SERS} e I_{bulk} são as áreas integradas da banda atribuída ao $\nu_{CC, trigonal}/\nu_{C=S}$ na condição SERS e bulk. $A_{confocal}$, $H_{confocal}$, C_{bulk} , μ_M e d_{ME} valem, respectivamente, $1,0 \mu m^2$, $14,6 \mu m$, $1 \times 10^{-2} M$, $4,7 \times 10^{-10} mol.cm^{-2}$ e $2,5 \times 10^8 cm^{-2}$.

Estes resultados são expressos em termos de fator de intensificação máximo ($EF_{máx}$), médio ($EF_{méd}$) e seu desvio-padrão (σ) e desvio-padrão relativo ($\%erro$), definido como a razão $\frac{\sigma}{EF_{méd}} \times 100\%$ na Tabela 17.

Tabela 17. Valores de $EF_{máx}$, $EF_{méd}$, σ e $\%erro$ obtidos para os espectros SERS suportados pelos poços piramidais do substrato Klarite® nos quatro planos mapeados.

Klarite®				
Profundidade* / μm	$EF_{máx}$	$EF_{méd}$	σ	$\%erro$
0	$1,5 \times 10^4$	$4,2 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$	48
0,5	$1,8 \times 10^4$	$4,8 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$	54
1,0	$1,9 \times 10^4$	$4,7 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	53
1,5	$2,1 \times 10^4$	$4,6 \times 10^4$	$2,8 \times 10^3$	61

* A partir da superfície

São encontrados valores de $EF_{máx}$ e $EF_{méd}$ idênticos dentro dos desvios-padrão apresentados para as quatro profundidades mapeadas. Isto decorre da altura mapeada ($= 1,5 \mu m$) ser cerca de uma ordem de grandeza inferior a $H_{confocal}$ ($= 14,6 \mu m$), de modo que não há diferença significativa na radiação espalhada captada pela lente objetiva utilizada na radiação incidente escolhida.

Os valores de EF calculados são inferiores aos determinados para os AuNTs depositados por sputtering e AuNFs/AuNTs eletrodepositados. Dois fatos contribuem para o baixo desempenho do Klarite®. Primeiramente, com o aumento da dimensão das estruturas cuja ressonância plasmônica está sendo excitada, há o deslocamento da ressonância plasmônica dipolar progressivamente para o vermelho/NIR [25,28,29] – de fato, na maioria

dos trabalhos o utilizando como substrato SERS, há a utilização de um laser com comprimento de onda de 785 nm para excitar os espectros [143]. Além disto, o aumento da dimensão das estruturas também leva ao aparecimento de ressonâncias plasmônicas de ordens superiores, levando a perda de eficiência na ressonância plasmônica dipolar [25,28,29].

É interessante observar na Tabela 17 que os valores de $\%_{erro}$ são bastante altos, contrariando um dos principais argumentos a favor do uso deste substrato: sua reprodutibilidade espacial. Os valores de $\%_{erro}$ estão em torno de 55%. A variação espacial nos valores de EF é mais bem observada com o auxílio de mapas de contorno construídos analogamente às seções anteriores. Apenas o mapa de contorno referente ao mapeamento no plano do substrato (profundidade = 0 μm) será mostrado e discutido em razão da semelhança de comportamento nos quatro planos mapeados.

Figura 46. Mapas de contorno para a área mapeada no plano do substrato (profundidade = 0 μm). As intensidades estão em função do (A) fator de intensificação e (B) área integrada do sinal do fundo (background).

Do mapa de contorno da Figura 46A é possível se inferir duas possíveis origens para os elevados valores de $\%_{erro}$ obtidos. A mais clara delas é que as seções de Au que separam os poços piramidais são mapeadas. Como estas seções têm extensão aproximada de metade do diâmetro de $A_{confocal}$ (0,5 e 1,1 μm , respectivamente), são amostrados ao mesmo tempo esta seção e uma parte do poço mais próximo, assim fornecendo um valor de EF diferente de zero,

mas inferior ao obtido quando $A_{confocal}$ está contido dentro de um poço piramidal: em geral estes EFs estão em torno de $\approx 10^3$. A segunda possível origem vem do fato de que, as intensidades geradas não são reproduzíveis mesmo quando $A_{confocal}$ está totalmente dentro de um dos poços. Dentro do contexto do mecanismo eletromagnético do SERS, uma possível hipótese seria a superfície do substrato apresentar pequenos desníveis com dimensões da mesma ordem de grandeza da radiação incidente, assim, algumas seções apresentariam poços com ressonâncias plasmônicas mais eficientes do outras. Com estes dois desvios, a morfologia do substrato (Figura 44) é reproduzida apenas grosso modo na Figura 46A.

Porém, a morfologia do substrato é bem reproduzida se um mapa de contorno é construído com a área integrada do sinal do fundo (background) dos espectros ao invés dos fatores de intensificação (Figura 46B). Isto ocorre porque o background depende da interação da 4MPy com o átomos de Au onde há a ligação Au-S e com os átomos de Au do entorno [89]. Esta interação é a mesma em toda a superfície do substrato, portanto há uma excelente reprodutibilidade espacial das áreas integradas dos backgrounds tanto dentro quando fora dos poços, o que leva à reprodução das características morfológicas do substrato neste tipo de mapa de contorno.

4.5. Comparação dos substratos entre si e com a literatura

No total foram estudados 17 substratos SERS variando-se geometria, dimensão e composição dos sistemas. Nas medidas do desempenho SERS destes substratos todas as condições instrumentais (radiação incidente, rede de difração, óptica, lente objetiva) foram mantidas constantes e em todos os substratos estudados o cálculo dos fatores de intensificação envolveu uma caracterização morfológica cuidadosa, de modo a descrever com a maior precisão possível o termo N_{SERS} da equação 10. Ao se proceder desta maneira, qualquer variação nos valores de EF deve-se apenas às características morfológicas das nanoestruturas responsáveis pela intensificação do campo elétrico na superfície – ou seja, a discussão é reduzida apenas ao mecanismo eletromagnético do SERS, uma vez que qualquer intensificação devida ao mecanismo químico deve ser a mesma em todos os substratos por depender somente da interação 4MPy-Au [16,17,20,21,22]. Todos os fatores de intensificação máximos, médios e seus desvios-padrão e desvios-padrão relativos calculados são apresentados nas Figura 47A, B e C, respectivamente.

Os sistemas mais eficientes em termos de EF (Figura 47A e B) são os AuNFs/AuNTs eletrodepositados, cujos valores de EF estão dentro do intervalo de 10^3 a 10^6 . Nestas nanoestruturas foi determinado um aumento nos valores de EF em função do aumento de seus diâmetros, isto ocorre pelo aumento na quantidade de nanoestruturas coalescidas, que agindo como hot-spots suportam intensificações muito superiores em comparação às nanoestruturas com diâmetros menores, onde a coalescência é desprezível. Em diâmetros de poro maiores ($\Phi = 200$ e 400 nm) não foi verificada diferença significativa entre as nanoestruturas eletrodepositadas com $j = 1,000$ e $0,100$ mA.cm⁻². O mesmo não é verdade nos diâmetros inferiores ($\Phi = 50$ e 100 nm), onde as nanoestruturas eletrodepositadas com $j = 1,000$ mA.cm⁻² apresentaram um desempenho SERS de 10 a 100 superior.

Figura 47. Quadro resumo dos fatores de intensificação (A) máximo e (B) médio e seu desvio-padrão e (C) desvio-padrão relativo para todos os substratos estudados.

Com base nos resultados da Tabela 8, pode-se dizer que estas diferenças nos valores de EF vêm do tipo de nanoestrutura gerada em cada condição. Com $\Phi = 200$ e 400 nm são obtidos AuNTs em ambas densidades de corrente, já com $\Phi = 50$ e 100 nm são obtidos AuNTs para $j = 0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$ e AuNFs para $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$. Para um mesmo diâmetro, são esperadas nanoestruturas axialmente maiores quando a densidade de corrente aplicada na eletrodeposição também é maior, no entanto, esse aumento de altura da nanoestrutura não se reflete em aumento nos valores de EF , uma vez que o desempenho SERS dos AuNTs eletrodepositados ($\Phi = 200$ e 400 nm) com $j = 1,000$ e $0,100 \text{ mA.cm}^{-2}$ é o mesmo. Isto demonstra que o SERS tem origem no modo transversal dos AuNTs nesses sistemas, que é o mesmo independentemente da densidade de corrente utilizada. Como a altura das nanoestruturas não tem efeito sobre o seus desempenhos SERS, pode-se dizer que o aumento de 10-100 vezes nos valores de EF quando j é aumentada de $0,100$ para $1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ deve-se a um melhor desempenho dos AuNFs frente aos AuNTs enquanto substratos SERS.

Observe que este aumento também não pode ser atribuído a AuNFs colapsados, como os apresentados na ref. 86, pois estes estão ausentes nos substratos apresentados nesta dissertação (Figura 27).

Também é observado aumento nos valores de EF para os AuNTs coalescidos. O comportamento em função de Φ semelhante entre nanoestruturas eletrodepositadas e depositadas por sputtering era esperado, pois o molde utilizado em suas sínteses é o mesmo. Comparativamente, AuNTs depositados por sputtering têm intensificações em média 10 vezes inferiores às apresentadas pelas nanoestruturas eletrodepositadas (10^3 - 10^5). Isto se deve à deposição dos átomos ocorrer aleatoriamente no sputtering. Isto gera nanoestruturas com irregularidades morfológicas: compare, por exemplo, as nanoestruturas da Figura 19 depositadas por sputtering com as nanoestruturas das Figura 27 e Figura 31. Deste modo, a melhora na morfologia das nanoestruturas eletrodepositadas aumenta a eficiência da ressonância plasmônica que suportam, resultando num aumento de 10 vezes no desempenho SERS frente às nanoestruturas depositadas por sputtering.

Dos substratos auxiliares, o eletrodo ativado de Au tem o maior EF . Em termos de $EF_{méd}$ está entre os AuNTs depositados por sputtering com diâmetros de 200 e 400 nm e entre os diâmetros inferiores nas nanoestruturas eletrodepositadas. Por fim, apesar do Klarite® ser um substrato comercial de fácil acesso e a suspensão coloidal de AuNSs ter uma síntese extremamente simples, ambos apresentaram as menores intensificações. Como os EF foram calculados normalizando-se pelo número de espalhadores responsáveis pelo sinal SERS e pelo número de nanoestruturas amostradas, pode-se fazer uma comparação direta entre os substratos e dizer que as intensificações superiores obtidas nos AuNTs depositados por sputtering e AuNFs/AuNTs eletrodepositados, juntamente com seus melhores desvios-padrão, frente aos três substratos utilizados como referência demonstram o altíssimo desempenho desses substratos gerados através da síntese assistida por um molde.

Outros valores de EF encontrados na literatura para nanoestruturas de Au utilizando-se a 4MPy como molécula-prova envolvem valores na ordem de grandeza de 10^3 - 10^5 , em média [75,144,145,146], com exceção do trabalho de He *et al.* onde é reportado um valor de 10^8 [147]. Porém as metodologias de cálculos apresentadas nestes trabalhos não envolvem a caracterização adequada do termo N_{SERS} , envolvendo subestimativas da quantidade de 4MPy adsorvida. Como o termo N_{SERS} está no denominador da expressão geral para o cálculo do EF (equação 10), a subestimativa de N_{SERS} resulta em valores de EF superestimados. Porém, ainda que superestimados, os valores de EF da literatura [75,87,144,145,146,147] são, em sua maioria, da mesma ordem de grandeza dos apresentados nesta dissertação de mestrado, o que reforça a qualidade dos substratos aqui preparados.

Ao utilizar um molde na obtenção das nanoestruturas que compõe o substrato também é melhorada a reprodutibilidade espacial dos EF s. Como mostrado na Figura 47C, os substratos obtidos por eletrodeposição apresentam desvio-padrão relativo ($\%_{erro}$) de $\approx 20\%$, resultados muito superiores aos determinados para qualquer outro substrato, com exceção das AuNS com $[4MPy] = 1 \times 10^{-2}$ M que apresentam valores de $\%_{erro}$ também de $\approx 20\%$. Tanto o Klarite® quanto os AuNTs depositados por sputtering têm $\%_{erro}$ de ≈ 50 - 60% e, por fim, as piores reprodutibilidades espaciais são encontradas com o eletrodo ativado de Au.

É claro do exposto acima, que os substratos estudados nesta dissertação de mestrado são os que apresentam não só as melhores intensificações, como também as melhores reprodutibilidades espaciais. Isso fica comprovado frente a substratos consagrados na espectroscopia SERS estudados da mesma maneira e também com comparações com dados presentes na literatura.

4.6. Estudo dos equilíbrios de superfície da molécula-prova 4-mercaptopiridina

Esta seção se dedica ao estudo sistemático dos equilíbrios tautomérico e de *N*-protonação da 4MPy adsorvida em função do tempo de exposição ao laser, sua densidade de potência e o pH do meio. Com isto pretende-se explicar as variações nos espectros SERS em alguns modos vibracionais da 4MPy nos diferentes substratos apresentados até o momento e/ou reportadas na literatura.

Nos espectros SERS da 4MPy obtidos em AuNTs depositados por sputtering (Figura 22), AuNFs/AuNTs eletrodepositados (Figura 29), AuNSs (Figura 38), AuEle (Figura 40) e Klarite® (Figura 45) é facilmente observado que a banda atribuída ao modo $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$, centrada entre 1000 e 1020 cm^{-1} , apresenta variações em sua frequência e FWHM. A banda atribuída aos modos acoplados β_{CH}/δ_{NH} aparenta variar de frequência conforme a posição da banda $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$: $\approx 1200 \text{ cm}^{-1}$ se a banda $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$ está centrada em *ca.* de 1000 cm^{-1} , e 1215 cm^{-1} se a banda $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$ está centrada em *ca.* de 1020 cm^{-1} . As variações descritas acima são frequentemente encontradas na literatura, por exemplo, as referências [63,87,110,120,121,126,137,148] apresentam uma ou ambas as situação descritas acima.

Tentativas de explicação deste fenômeno nem sempre são referidas e apoiam-se no pH do meio e na *N*-protonação do anel piridínico, por exemplo, os trabalhos de Jung *et al.* [136] e Yu *et al.* [137]. que estabeleceram que, sendo o tautômero tiona predominante em solução [131], o adsorbato é a 4MPy na forma tiolato; se ocorre a *N*-protonação, o tautômero tiol *N*-protonado predomina. Ao fim desta seção, será obtido um mecanismo semelhante, porém, dependente do pH local e não somente do meio em que se encontra o conjunto (substrato + adsorbato). A Figura 48 apresenta os possíveis tautômeros em seus estados de *S*- e *N*-protonação da 4MPy em solução.

Figura 48. Tautômeros e formas *S*- e *N*-protonada possíveis para a 4MPy. Adaptado de Jung *et al.* [136].

Inicialmente foi estudado o comportamento da 4MPy em solução (1×10^{-2} M) em diferentes pHs, estes são mostrados na Figura 49 para pHs 1, 6 e 10. Em pH 1 (10) houve ajuste com $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ ($\text{NaOH}_{(\text{aq})}$); para pH 6 não houve ajuste. A Tabela 18 resume as principais bandas e suas atribuições [63,120,121,127].

Figura 49. Espectros Raman de soluções aquosas de 4MPy a 1×10^{-2} M em meios com diferentes pHs: 1, 6 e 10.

Em solução a 4MPy pode ser protonada nos átomos de S e N, estas protonações têm pK_a de 1,43 e 8,83, respectivamente [127,136,137]. Jung *et al.* [136] obtiveram o espectro da 4MPy em solução em pHs próximos aos aqui utilizados e grande semelhança com espectros aqui apresentados é observada. Assim, tomando-se por base a ref. 136 é possível estabelecer as identidades químicas dos tautômeros em cada pH estudado.

Tabela 18. Principais bandas observadas no espectro Raman convencional da 4MPy em solução em diferentes pHs.

pH 1 $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	pH 6 $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	pH 10 $\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	Atribuição
720	720	720	$\nu_{\text{C-S}}$
1000	1000	1000	$\nu_{\text{CC,resp. anel}}$
1053	1053	1053	β_{CH}
1117	1117	1108	$\nu_{\text{CC,trigonal}}/\nu_{\text{C=S}}$
1208	1208	1218	$\beta_{\text{CH}}/\delta_{\text{NH}}$
1628	1622	1582	ν_{CC}

Baseados em medidas de absorção no UV-VIS, Stoyanov *et al.* [131] propuseram que o tautômero tiona *N*-protonado (espécie V, Figura 48) predomina em solução com pH 6. Em pH = 1, abaixo do primeiro pK_a , coexistem os tautômeros tiol e tiona da forma *N* e *S*-protonados (espécies I e II, Figura 48). Seria possível a estrutura de ressonância tiona *N*-biprotonada (espécie III, Figura 48), no entanto, o estiramento S–H é observado como uma banda larga em 2200-2500 cm^{-1} , excluindo, portanto, esta espécie [136]. Para pH = 10, acima do segundo pK_a , as formas tiol e tiona *N* e *S*-desprotonada (espécies VII e VIII, Figura 48) coexistem. A Tabela 19 apresenta os tautômeros da 4MPy *N*- e *S*-protonados e desprotonado relevantes até este ponto, nela mantém-se a identificação da Figura 48.

A adsorção da 4MPy em superfícies de Au ocorre através de uma ligação química S–Au, deste modo, após sua adsorção, a protonação só é possível através do átomo de N, cujo pK_a é *ca.* 5,3 [137], este valor foi determinado através dos espectros SERS de 4MPy em nanoesferas de Ag em meios com diversos valores de pH.

Tabela 19. Tautômeros da 4MPy predominantes em solução com pHs 1, 6 e 10.

Numa primeira etapa foram registrados 200 espectros consecutivos no mesmo ponto da 4MPy adsorvida em AuNTs depositados por sputtering com $\Phi = 400$ nm, resultando num tempo total de exposição à radiação incidente de ≈ 33 minutos. Este experimento com meio em pH = 6 e densidades de potência incidentes (A) $4,0 \times 10^4$, (B) $8,0 \times 10^3$ e (C) $4,0 \times 10^3$ W.cm⁻² é mostrado na Figura 50 para número do espectro (n) iguais a 1, 50, 100, 150 e 200.

Figura 50. Espectros sequenciais da 4MPy adsorvida em AuNTs depositados por sputtering ($\Phi = 400$ nm) com pH do meio em 6 e densidades de potência (A) $4,0 \times 10^4$, (B) $8,0 \times 10^3$ e (C) $4,0 \times 10^3$ W.cm⁻².

Na Figura 50A, para o primeiro espectro da série ($n = 1$) são observadas as bandas em 1002, 1056, 1091, 1204, 1580 e 1609 cm⁻¹, cujas atribuições são apresentadas na Tabela 18. Com o tempo ocorrem o alargamento e deslocamento da banda em 1002 cm⁻¹ para 1018 cm⁻¹, o deslocamento da banda em 1204 cm⁻¹ para 1213 cm⁻¹ e a inversão da intensidade relativa das bandas em 1580 e 1609 cm⁻¹. Esse comportamento é conhecido [63,136,137] e indica a *N*-

desprotonação da 4MPy, pois a protonação de anéis piridínicos faz com que o modo em 1580 cm^{-1} (ν_{CC}) sofra um deslocamento para maiores frequências de $\approx 40 \text{ cm}^{-1}$ [136]. Também seria esperada a inversão de intensidades relativas das bandas em ≈ 1200 e 1220 cm^{-1} , no entanto, a configuração experimental utilizada, ao permitir o registro rápido de uma grande janela espectral, compromete a resolução espectral. O que é observado, portanto, é o deslocamento desta banda de 1204 cm^{-1} para 1213 cm^{-1} .

Interessantemente, o comportamento descrito acima não é observado para as sequências espectrais apresentadas nas Figura 50B e C, ainda que o perfil dos primeiros espectros das séries sejam os mesmos. Em outras palavras, a adsorção acontece sempre pela forma *N*-protonada com sua desprotonação podendo ocorrer a partir de duas alternativas: (i) induzida pelo pH local e/ou (ii) pela densidade de potência. Para testar essas possibilidades, o mesmo experimento foi repetido em meios com pHs 1 e 10, ajustados após a etapa de adsorção da 4MPy. Espectros destas sequências são apresentados na Figura 51. Para o pH 1: (A) $4,0 \times 10^4$, (B) $8,0 \times 10^3$ e (C) $4,0 \times 10^3 \text{ W.cm}^{-2}$; para o pH 10: (D) $4,0 \times 10^4$, (E) $8,0 \times 10^3$ e (F) $4,0 \times 10^3 \text{ W.cm}^{-2}$.

Como esperado, nas Figura 51A-C a 4MPy se apresenta na forma *N*-protonada, ou seja, os espectros apresentam, principalmente: a banda relativa ao $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ em $\approx 1005 \text{ cm}^{-1}$ e com pequena FWHM. A banda relativa aos modos $\beta_{\text{CH}}/\delta_{\text{NH}}$ centrada em 1200 cm^{-1} e o duplete $1580/1609 \text{ cm}^{-1}$ com a componente 1609 cm^{-1} mais intensa que seu par em 1580 cm^{-1} . Dois fatos são importantes nestes resultados. Primeiro, os espectros mantêm seus padrões durante todo o tempo de medida e nas três densidades de potência. O segundo e mais importante, estes espectros são muito semelhantes aos espectros iniciais em pH = 6 (Figura 50), comprovando que a adsorção da 4MPy ocorre na sua forma tiol *N*-protonada.

Nas Figura 51D-F as mesmas sequências espectrais (pH = 10) mostram características agora da 4MPy *N*-desprotonada, isto é, $\nu_{\text{CC,resp. anel}}$ em $\approx 1015 \text{ cm}^{-1}$ e com maior FWHM. A

banda relativa ao $\beta_{\text{CH}}/\delta_{\text{NH}}$ centrada em 1210 cm^{-1} e o duplete $1580/1609\text{ cm}^{-1}$ com a componente de menor frequência mais intensa. Novamente, esse comportamento se mantém para todos os espectros das sequências e em todas as densidades de potência utilizadas. As características acima citadas são semelhantes ao espectro $n = 200$ na Figura 50A, confirmando a hipótese da *N*-desprotonação da 4MPy com o decorrer do experimento. As bandas marcadas como “*” são atribuídas ao policarbonato restante da dissolução da PCM presente na base dos AuNTs, que é facilitada pela basicidade do meio [109,149].

Figura 51. Espectros sequenciais da 4MPy adsorvida em AuNTs depositados por sputtering ($\Phi = 400$ nm). Para pH =1: densidades de potência (A) $4,0 \times 10^4$, (B) $8,0 \times 10^3$ e (C) $4,0 \times 10^3\text{ W.cm}^{-2}$. Para pH = 10: densidades de potência (D) $4,0 \times 10^4$, (E) $8,0 \times 10^3$ e (F) $4,0 \times 10^3\text{ W.cm}^{-2}$.

Um esquema com as estruturas de ressonância e os tautômeros possíveis para a 4MPy adsorvida em cada condição *N*-protonada e desprotonada é apresentado na Figura 52. Observe que a estrutura 2 possui duas cargas positivas no N e uma negativa no S, sendo, portanto, bastante suprimida em função de seu tautômero tiol. As estruturas 3 e 4 podem coexistir pelo fato da primeira manter a aromaticidade do anel e ser eletricamente neutra e a segunda ser estabilizada pela maior eletronegatividade do N frente à do S. Assim, em pH baixos (Figura 51A-C), apenas o tautômero tiol existe; em pHs altos (Figura 51D-F) ambos os tautômeros coexistem.

Figura 52. Tautômeros da 4MPy *N*-protonados e desprotonados.

A existência de apenas um tautômero em pH baixos e de dois tautômeros em pH mais elevados é claramente mostrada pela FWHM da banda atribuída ao modo $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$ (Figura 53). Os valores médios e desvios-padrão da FWHM aumentam de $\approx 5 \text{ cm}^{-1}$ em pH 1 para $\approx 12 \text{ cm}^{-1}$ em pH 6 e 10.

Figura 53. Largura a meia-altura (FWHM) da banda atribuída ao modo $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$ em todas as sequências espectrais registradas. As linhas foram traçadas para facilitar a visualização.

Isto confirma o efeito do pH local na região provada pelo laser e exclui a dependência da densidade de potência incidida, pois os valores de FWHM em cada pH são os mesmos dentro dos desvios-padrão calculados. Ainda, em pH 6, onde não há ajuste do pH do meio, os valores de desvio-padrão mantêm-se próximos aos valores determinados para pH 10, onde há dois tautômeros. De fato, como o pH 6 é muito próximo ao pK_a da 4MPy adsorvida (5,3) existem ao mesmo tempo os tautômeros tiol *N*-protonado e tiol e tiona *N*-desprotonados da 4MPy dentro da região provada pelo laser. Com efeito, os valores de desvio-padrão da FWHM para as sequências espectrais em pH 6 são maiores dos que os observados para pH 10, onde apenas 2 tautômeros coexistem. Estes por sua vez são maiores do que os valores de desvios-padrão da FWHM para pH 1, onde apenas um tautômero existe.

Em suma, não havendo dependência da densidade de potência incidente nos equilíbrios de superfície observados, é possível concluir para uma solução com pH neutro que, a partir do tautômero tiona *N*-protonado presente em solução, a adsorção ocorre com a forma tiol *N*-protonada, podendo haver ou não sua desprotonação e, uma vez ocorrida, ambos os tautômeros podem coexistir. Esse mecanismo é esquematizado na Figura 54 considerando a exposição acima.

Figura 54. Mecanismos de adsorção e equilíbrios de superfície e tautomérico da 4MPy adsorvida em Au. Onde “ads” $\equiv$ adsorção.

O processo de dissolução do molde empregado é incapaz de remover completamente o policarbonato [87,109,110], assim, a variação no pH local é atribuída aos diferentes conteúdos

de policarbonato restantes nos entornos dos AuNT. Iwasita e Hart [150] mostraram que o pH da região da dupla-camada elétrica não é necessariamente o mesmo do bulk da solução. Assim, uma vez que o conteúdo de policarbonato é variável nas redondezas dos AuNT, o pH varia localmente.

Na Figura 55 são mostrados espectros SERS da 4MPy (obtidos a partir de AuNTs com $\Phi = 400$ nm eletrodepositados com $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$) de diferentes pontos do substrato. Abaixo é mostrado em (A) predominância do tautômero tiol *N*-protonado, em (B) predominância dos tautômeros tiol/tiona *N*-desprotonados e em (C) uma situação intermediária.

Figura 55. Espectros SERS obtidos utilizando AuNT eletrodepositados com $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ em PCMs com $\Phi = 400$ nm ilustrando a presença majoritária dos tautômeros (A) tiol *N*-protonado (B) tiol/tiona *N*-desprotonado e (C) uma situação intermediária.

Pode ser visto que quando a componente em 1000 cm^{-1} é mais intensa que seu par em 1020 cm^{-1} , a banda em 1200 cm^{-1} também é mais intensa que seu par em 1210 cm^{-1} , como exposto anteriormente. Nas Figura 55B e C a componente em 1210 cm^{-1} é mais intensa, o que demonstra a *N*-desprotonação da 4MPy e permite, portanto, a coexistência dos tautômeros tiol/tiona (espécies 2 e 3, Figura 54). Observe, no entanto, que a intensidade da componente em 1020 cm^{-1} varia, sugerindo que na Figura 55B o equilíbrio tautomérico está mais deslocado para o tautômero tiona *N*-desprotonado (espécie 3, Figura 54) do que na Figura 55C, onde as intensidades relativas das componentes em 1000 e 1020 cm^{-1} são equivalentes.

Disto resulta que o pH na região do espectro da Figura 55A é menor do que na região do espectro da Figura 55C, que por sua vez, é menor do que na região do espectro da Figura 55B.

Assim, com os mesmos mapeamentos realizados na seção 6, pode-se obter a relação entre as formas tiol *N*-protonado (espécie 1, Figura 54) e tiol/tiona *N*-desprotonados (espécies 2 e 3, Figura 54) da 4MPy ao se calcular a intensidade relativa das bandas em ≈ 1000 e 1020 cm^{-1} (I_{1000}/I_{1020}). Será definido que se $I_{1000}/I_{1020} > 1,1$ há predominância do tautômero tiol *N*-protonado. Se $I_{1000}/I_{1020} < 0,9$, coexistem os tautômeros tiol/tiona *N*-desprotonados e se $0,9 < I_{1000}/I_{1020} < 1,1$ existe uma situação intermediária. Esses mapeamentos são exemplificados na Figura 56 para (A) $\Phi = 50$, (B) $\Phi = 100$, (C) $\Phi = 200$ e (D) $\Phi = 400 \text{ nm}$.

Figura 56. Mapas de contorno mostrando a presença dos tautômeros tiol *N*-protonado e tiol/tiona *N*-desprotonados dentro das mesmas regiões mapeadas. O substrato é composto por AuNTs eletrodepositados com $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ e (A) $\Phi = 50$, (B) $\Phi = 100$, (C) $\Phi = 200$ e (D) $\Phi = 400 \text{ nm}$.

Como pode ser visto, em todos os casos mostrados acima, a mudança de um tautômero para o outro, por exemplo, de tiol *N*-protonado (espécie 1, Figura 54, cinza escuro) para

tiol/tiona *N*-desprotonados (espécies 2 e 3, Figura 54, cinza claro), é sempre acompanhado de uma região intermediária, onde as intensidades relativas das componentes em 1000 e 1020 cm^{-1} são equivalentes (região rachurada). Isso confirma as hipóteses levantadas acima sobre diferentes conteúdos de polycarbonato nos substratos e sua influência no pH local, o que se reflete nas espécies químicas da 4MPy que são detectadas no espectro SERS.

Figura 57. Mapas de contorno dos fatores de intensificação calculados para a banda em 1094 cm^{-1} nas mesmas áreas mapeadas mostradas na Figura 56.

É interessante observar que os tautômeros tiol/tiona *N*-desprotonados tendem a estar presentes em regiões de maior intensificação do sinal SERS. Nas Figura 57A-D são mostrados os mapas de contorno dos EF calculados para os mapeamentos nestas mesmas regiões com base na banda em 1094 cm^{-1} , como discutido na seção 4.3.2.. Estes tautômeros só podem estar presentes em regiões com maiores pH locais, e eles também estão presentes em regiões de maior intensificação. Isto é, onde as nanoestruturas tendem a se apresentar coalescidas e, portanto, com maior conteúdo de polycarbonato, ilustrando visualmente a

dependência do pH local com o potencial elétrico da dupla-camada e na maneira como ele é afetado pelo conteúdo variável de policarbonato nesses substratos.

Comprovando a dependência entre pH local e conteúdo de policarbonato remanescente da dissolução da PCM, se os mesmos mapeamentos feitos na Figura 56 forem repetidos para os substratos sintetizados sem o auxílio das PCMs (AuNSs, AuEle e Klarite®), é observada apenas a presença do tautômero tiol *N*-protonado (espécie 1, Figura 54), isto é $I_{1000}/I_{1020} > 1,1$ para todos os casos. Isto é mostrado na Figura 58: Em (A) é mostrada a razão I_{1000}/I_{1020} em função do número do espectro nos experimentos com AuNSs como substrato SERS (Sistema 1, Tabela 2); em (B) mapa de contorno da razão I_{1000}/I_{1020} para a primeira área mapeada no AuEle (Tabela 15, Figura 43A); em (C) mapa de contorno da razão I_{1000}/I_{1020} no plano do substrato Klarite® (profundidade = 0 μm , Tabela 17, Figura 46A).

Figura 58. Mapas de contorno mostrando a presença somente do tautômero tiol *N*-protonado nos espectros SERS da 4MPy com os substratos (A) AuNSs, (B) AuEle e (C) Klarite®.

Conclui-se, portanto, que a adsorção em todos os substratos envolve o mecanismo exposto na Figura 54, com a 4MPy inicialmente em solução na sua forma tiona *N*-protonada e com a adsorção ocorrendo via forma tiol *N*-protonado. No entanto, a etapa de *N*-desprotonação apenas pode acontecer nos substratos obtidos utilizando as PCMs como moldes, pois o policarbonato remanescente nos entornos dos AuNTs/AuNFs modula localmente o pH, afetando a posição do equilíbrio de *N*-protonação e, assim, os tautômeros da 4MPy adsorvida. A Tabela 20 resume os tautômeros da 4MPy e seus estados de protonação para cada substrato estudado nesta dissertação de mestrado conforme determinado neste capítulo.

Tabela 20. Quadro resumo dos tautômeros da 4MPy e seus estados de protonação encontrados nos substratos estudados nesta dissertação de mestrado.

Substrato	Tautômero da 4MPy	
	Tiol <i>N</i> -protonado	Tiol/Tiona <i>N</i> -desprotonados
AuNTs depositados por sputtering	X	X
AuNFs/AuNTs eletrodepositados	X	X
AuNSs	X	
AuEle	X	
Klarite®	X	

* “X” $\equiv$ presença do tautômero

5. Conclusões

Esta dissertação versou sobre a preparação e caracterização de substratos SERS baseados em Au de alto desempenho tanto em termos de magnitude das intensificações quanto em termos de reprodutibilidade espacial das intensificações. Estes substratos poderão ser utilizados em diferentes campos de investigação onde a identificação da espécie molecular e suas características de adsorção sejam requeridas.

O fator de intensificação SERS foi definido de várias maneiras levando em conta a geometria de cada sistema estudado, para isso a instrumentação utilizada em todos os experimentos e a molécula-prova 4-mercaptopiridina foram cuidadosamente caracterizados e como resultado foi possível a comparação direta entre todos os 17 sistemas estudados.

Estratégias de síntese utilizando uma membrana de policarbonato com poros nanodimensionados através do sputtering (vaporização catódica) e da eletrodeposição de Au foram aplicadas com sucesso, resultando na obtenção de nanotubos (AuNTs) e nanofios (AuNFs) de Au.

A síntese utilizando sputtering resultou em AuNTs para os diâmetros de poro do molde utilizados (50, 100, 200 e 400 nm), conforme imagens de microscopia eletrônica de varredura demonstraram. O plásmon de superfície destes AuNTs foi registrado através de espectroscopia de absorção no UV-VIS e apresentou absorção na região do vermelho, em concordância com a morfologia dos AuNTs. O desempenho enquanto substrato SERS resultou numa dependência exponencial do fator de intensificação (*EF*) com o diâmetro dos AuNTs. Quanto maior o diâmetro dos AuNTs maior é o *EF* médio obtido, uma vez que também aumenta a quantidade de AuNTs coalescidos, que atuam como hot-spots. Os valores de *EFs* médio variam entre $2,3 \times 10^3$ e $1,2 \times 10^5$, com *EF* máximo de $2,5 \times 10^5$.

As eletrodeposições foram realizadas com duas densidades de corrente e, apesar não ter sido possível completar a etapa de caracterização morfológica, foi verificada a obtenção

preferencial de AuNFs (AuNTs) na maior (menor) densidade de corrente para os diâmetro de 50 e 100 nm enquanto que AuNTs são obtidos independentemente da densidade de corrente nos diâmetros de 200 e 400 nm. A espectroscopia de absorção no UV-VIS mostrou uma forte dependência da posição da absorção plasmônica com o diâmetro e a coalescência das nanoestruturas. O desempenho enquanto substratos SERS resultou em EF s entre $2,6 \times 10^3$ e $6,6 \times 10^5$, com EF máximo de $1,5 \times 10^6$. Novamente foi observado um crescimento exponencial nos valores de EF s com o aumento do diâmetro das nanoestruturas, decorrendo da presença de nanoestruturas coalescidas. Foi observado um desempenho 10 vezes melhor dos AuNFs frente a AuNTs de mesmo diâmetro. As nanoestruturas obtidas através de eletrodeposição apresentaram um desempenho cerca de 10 vezes superior frente às mesmas nanoestruturas depositadas por sputtering. Estas também são superiores às depositadas por sputtering quanto à reprodutibilidade espacial nos valores de EF dos substratos, apresentando valores da ordem de 30%, enquanto que as nanoestruturas depositadas por sputtering apresentam valores de cerca de 50-60%.

Substratos consagrados na espectroscopia SERS foram utilizados para uma comparação mais ampla quanto à qualidade dos substratos aqui confeccionados. Foram utilizados uma suspensão coloidal de nanoesferas de Au (AuNS), um eletrodo ativado de Au (AuEle) e o substrato comercial Klarite®. Através de metodologias de cálculo para os EF s que levam em conta a morfologia de cada substrato, foi possível fazer uma comparação direta entre todos os substratos, esta revelou uma grande superioridade dos substratos sintetizados neste estudo em relação aos substratos clássicos – tanto em termos de valores absolutos de EF quanto em termos de reprodutibilidade espacial.

Foi apresentada uma discussão sobre a origem na variação tanto de frequência, quanto FWHM, da banda atribuída ao modo $\nu_{CC,resp. \text{ anel}}$ ($\approx 1000 \text{ cm}^{-1}$) nos diferentes substratos estudados. O policarbonato presente no molde, ao não ser completamente removido dos

entornos dos AuNTs altera localmente o pH e causa o deslocamento dos equilíbrios de *N*-protonação e tautomérico da molécula-prova 4MPy – que se refletem nas variações de frequência e FWHM da banda atribuída ao modo $\nu_{CC,resp. \text{ anel.}}$. Além da identificação, foi possível determinar a distribuição espacial destas espécies químicas e (i) correlacionar a presença de espécies *N*-desprotonadas com regiões de maior conteúdo de policarbonato e (ii) demonstrar a ausência destes deslocamentos nos equilíbrios de *N*-protonação e tautomérico em substratos onde não há policarbonato (AuNS, AuEle e Klarite®).

Como perspectiva se projeta a continuação desses estudos em sistemas onde as nanoestruturas de Au crescidas com o auxílio de um molde sejam recobertas com uma fina camada de Pt, de modo a atuar como um eletrodo de Pt mas ainda reter a intensificação SERS provida pelo Au. Estas seriam empregadas no campo da eletroquímica ou para a detecção de moléculas de interesse tais como proteínas, corantes e agrotóxicos. Em especial destaca-se as aplicações acima nos substratos obtidos com $j = 1,000 \text{ mA.cm}^{-2}$ em PCMs com diâmetro de poro de 200 nm por apresentarem melhor compromisso entre altas intensificações e melhores reprodutibilidades espaciais.

Referências bibliográficas

- [1] O. Sala, *Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho*, Editora Unesp, 2008.
- [2] C. V. Raman, *Indian J. Phys.* **2**, 387 (1928).
- [3] C. V. Raman e K. S. Krishnan, *Nature* **121**, 501 (1928).
- [4] C. V. Raman, *Nature* **121**, 619 (1928).
- [5] http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/
- [6] G. W. Faris e R. A. Copeland, *Appl. Optics* **36**, 2686 (1997).
- [7] E. C. Le Ru e P. G. Etchegoin, *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*, Elsevier, 2009.
- [8] M. Fleischmann, P. J. Hendra, A. J. McQuillan, *Chem. Phys. Lett.* **26**, 163 (1974).
- [9] D. L. Jeanmarie e R. P. Van Duyne, *J. Electroanal. Chem.* **84**, 1 (1977).
- [10] M. G. Albrecht e J. A. Creighton, *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 5215 (1977).
- [11] M. Moskovits, *J. Chem. Phys.* **69**, 4159 (1978).
- [12] R. P. Van Duyne, *Laser Excitation of Raman Scattering from Adsorbed Molecules on Electrodes Surfaces*. In: C. B. Moore (Ed.), *Chemical and Biochemical Applications of Laser*, vol. 4, Academic Press, 1979. pp. 101-185.
- [13] A. Campion e P. Kambhampati, *Chem. Soc. Rev.* **27**, 241 (1998).
- [14] D. L. A. de Faria, M. L. A. Temperini, O. Sala, *Quím. Nova* **22**, 541 (1999).
- [15] M. Moskovits, *J. Raman Spectrosc.* **36**, 485 (2005).
- [16] J. R. Lombardi e R. L. Birke, *J. Phys. Chem. C* **112**, 5605 (2008).
- [17] J. R. Lombardi e R. L. Birke, *J. Chem. Phys.* **136**, 144704 (2012).
- [18] R. J. H. Clark e T. J. Dines, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **25**, 131 (1986).
- [19] M. C. C. Ribeiro e P. S. Santos, *Quím. Nova* **15**, 317 (1992).
- [20] A. Otto, *J. Raman Spectrosc.* **36**, 497 (2005).
- [21] J. R. Lombardi, R. L. Birke, T. Lu, J. Xu, *J. Chem. Phys.* **84**, 4174 (1986).

- [22] D. J. Wu, J. F. Li, B. Ren, Z. Q. Tian, *Chem. Soc. Rev.* **37**, 1025 (2008).
- [23] E. A. Coronado e G. C. Schatz, *J. Phys. Chem.* **119**, 3926 (2003).
- [24] K. M. Mayer e J. H. Hafner, *Chem. Rev.* **111**, 3828 (2011).
- [25] K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, G. C. Schatz, *J. Phys. Chem. B* **107**, 668 (2003).
- [26] H. Gao, J. Henzie, T. W. Odom, *Nano Lett.* **6**, 2104 (2006).
- [27] Z. Q. Tian, B. Ren, J. F. Li, Z. L. Yang, *Chem. Commun.* 3514 (2007).
- [28] C. Ziegler e A. Eychmüller, *J. Phys. Chem. C* **115**, 4502 (2011).
- [29] S. Link, M. B. Mohamed, M. A. El-Sayed, *J. Phys. Chem.* **103**, 3073 (1999).
- [30] S. Underwood e P. Mulvaney, *Langmuir* **10**, 3427 (1994).
- [31] G. Chumanov, K. Sokolov, B. W. Gregory, T. M. Cotton, *J. Phys. Chem.* **99**, 9466 (1995).
- [32] C. L. Haynes e R. P. Van Duyne, *J. Phys. Chem. B* **105**, 5599 (2001).
- [33] A. H. Ali e C. A. Foss, *J. Electrochem. Soc.* **146**, 628 (1999).
- [34] E. Hao e G. C. Schatz, *J. Chem. Phys.* **120**, 357 (2004).
- [35] Y. Y. Yu, S. S. Chang, C. L. Lee, C. R. C. Wang, *J. Phys. Chem. B* **101**, 6661 (1997).
- [36] J. M. Petroski, Z. L. Wang, T. C. Green, M. A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B* **102**, 3316 (1998).
- [37] R. Jin, Y. Cao, C. A. Mirkin, K. L. Kelly, G. C. Schatz, *Nature* **294**, 1901 (2003).
- [38] L. Rodríguez-Lorenzo, R. A. Álvarez-Puebla, F. J. G. de Abajo, L. M. Liz-Marzán, *J. Phys. Chem. C* **114**, 7336 (2010).
- [39] L. M. Liz-Marzán, *Langmuir* **22**, 32 (2006).
- [40] Y. Sun, e Y. Xia, *Anal. Chem.* **74**, 5297 (2002).
- [41] Y. Sun, e Y. Xia, *Analyst* **128**, 686 (2003).
- [42] P. Etchegoin, L. F. Cohen, H. Hartigan, R. J. C. Brown, M. J. T. Milton, J. C. Gallop, *J. Chem. Phys.* **119**, 5281 (2003).

- [43] P. K. Jain e M. A. El-Sayed, *Chem. Phys. Lett.* **487**, 153 (2010).
- [44] E. C. Le Ru, P. G. Etchegoin, M. Meyer, *J. Chem. Phys.* **125**, 204701 (2005).
- [45] L. Qin, S. Zou, C. Xue, A. Atkinson, G. C. Schatz, C. A. Mirkin, *PNAS* **103**, 13300 (2006).
- [46] E. C. Le Ru, E. Blackie, M. Meyer, P. G. Etchegoin, *J. Phys. Chem. C* **111**, 13794 (2007).
- [47] W. B. Cai, B. Ren, X. Q. Li, C. X. She, F M. Liu, X. W. Cai, Z. Q. Tian, *Surf. Sci.* **406**, 9 (1998).
- [48] M. L. A. Temperini, H. C. Chagas, O. Sala, *Chem. Phys. Lett.* **79**, 75 (1981).
- [49] M. L. A. Temperini, W. J. Barreto, O. Sala, *Chem. Phys. Lett.* **99**, 148 (1983).
- [50] X. M. Lin, Y. Cui, Y. H. Xu, B. Ren, Z. Q. Tian, *Anal. Bioanal. Chem.* **394**, 1729 (2009).
- [51] M. Fan, G. F. S. Andrade, A. G. Brolo, *Anal. Chim. Acta*, **693**, 7 (2011).
- [52] D. P. dos Santos, G. F. S. Andrade, M. L. A. Temperini, A. G. Brolo, *J. Phys. Chem. C*, **113**, 17737 (2009).
- [53] S. Zou e M. J. Weaver, *Anal. Chem.* **70**, 2387 (1998).
- [54] M. F. Mrozek, Y. Xie, M. J. Weaver, *Anal. Chem.* **73**, 5953 (2001).
- [55] M. F. Mrozek, S. A. Wasileski, M. J. Weaver, *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 12817 (2001).
- [56] Z. Q. Tian, B. Ren, D. Y. Wu, *J. Phys. Chem. B* **106**, 9463 (2002).
- [57] Z. Q. Tian, Z. L. Yang, B. Ren, J. F. Li, Y. Zhang, X. F. Lin, J. W. Hu, D. Y. Wu, *Faraday Discuss.* **132**, 159 (2006).
- [58] G. F. S. Andrade e M. L. A. Temperini, *J. Phys. Chem. C* **111**, 13821 (2007).
- [59] G. Frens, *Nature* **241**, 20 (1973).
- [60] P. C. Lee e D. Meisel, *J. Phys. Chem.* **86**, 3391 (1982).
- [61] M. C. Daniel e D. Astruc, *Chem. Rev.* **104**, 293 (2004).
- [62] S. Nie e S. R. Emory, *Science* **275**, 1102 (1997).

- [63] J. Hu, B. Zhao, W. Xu, B. Li, Y. Fan, *Spectrochim. Acta Part A* **58**, 2827 (2002).
- [64] H. Xu, C. H. Tseng, T. J. Vickers, C. K. Mann, J. B. Schlenoff, *Surf. Sci.* **311**, L707 (1994).
- [65] E. C. Le Ru, M. Meyer, P. G. Etchegoin, *J. Phys. Chem. B* **110**, 1944 (2006).
- [66] T. L. Haslett, L. Tay, M. Moskovits, *J. Chem. Phys.* **113**, 1641 (2000).
- [67] R. C. Maher, P. G. Etchegoin, E. C. Le Ru, L. F. Cohen, *J. Phys. Chem. B* **110**, 11757 (2006).
- [68] R. C. Maher, L. F. Cohen, E. C. Le Ru, P. G. Etchegoin, *J. Phys. Chem. B* **110**, 19469 (2006).
- [69] S. Park, P. Yang, P. Corredor, M. J. Weaver, *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 2428 (2002).
- [70] J. F. Li, Y. F. Huang, Y. Ding, Z. L. Yang, S. B. Li, X. S. Zhou, F. R. Fan, W. Zhang, Z. Y. Zhou, D. Y. Wu, B. Ren, Z. L. Wang, Z. Q. Tian, *Nature* **464**, 392 (2010).
- [71] N. R. Jana, L. Gearheart, C. J. Murphy, *J. Phys. Chem. B* **105**, 4065 (2001).
- [72] P. Pramod e K. G. Thomas, *Adv. Mater.* **20**, 4300 (2008).
- [73] X. Ye, L. Jin, H. Caglayan, J. Chen, G. Xing, C. Zheng, V. Doan-Nguyen, Y. Kang, N. Engheta, C. R. Kagan, C. B. Murray, *ACS Nano* **6**, 2804 (2012).
- [74] C. L. Nehl, H. Liao, J. H. Hafner, *Nano Lett.* **6**, 683 (2006).
- [75] L. Vigderman e E. R. Zubarev, *Langmuir* **28**, 9034 (2012).
- [76] K. M. Mayer e J. H. Hafner, *Chem. Rev.* **111**, 3828 (2011).
- [77] J. B. Jackson e N. J. Halas, *J. Phys. Chem. B* **105**, 2743 (2001).
- [78] Y. Sun, B. Mayers, Y. Xia, *Adv. Mater.* **15**, 641 (2003).
- [79] J. B. Jackson, S. L. Westcott, L. R. Hirsch, J. L. West, N. L. Halas, *Appl. Phys. Lett.* **82**, 257 (2003).
- [80] E. Hao, S. Li, R. C. Bailey, S. Zou, G. C. Schatz, J. T. Hupp, *J. Phys. Chem. B* **108**, 1224 (2004).

- [81] K. L. Shuford, M. A. Ratner, S. K. Gray, G. C. Schatz, *Appl. Phys. B* **84**, 11 (2006).
- [82] A. Lesuffleur, L. K. S. Kumar, A. G. Brolo, K. L. Kavanagh, R. Gordon, *J. Phys. Chem. C* **111**, 2347 (2007).
- [83] Q. Min, M. J. L. Santos, E. M. Girotto, A. G. Brolo, R. Gordon, *J. Phys. Chem. C* **112**, 15098 (2008).
- [84] J. C. Hulteen e C. R. Martin, *J. Mater. Chem.* **7**, 1075 (1997).
- [85] F. Sun, W. Cai, Y. Li, B. Cao, F. Lu, G. Duan, L. Zhang, *Adv. Mater.* **16**, 1116 (2004).
- [86] S. Mahajan, J. Richardson, T. Brown, P. N. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 15589 (2008).
- [87] E. A. Batista, D. P. dos Santos, G. F. S. Andrade, A. C. Sant'Ana, A. G. Brolo, M. L. A. Temperini, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **9**, 3233 (2009).
- [88] L. Cui, M. Mahajan, R. M. Cole, B. Soares, P. N. Bartlett, J. J. Baumberg, I. P. Hayward, B. Ren, A. E. Russell, Z. Q. Tian, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11**, 1023 (2009).
- [89] S. Mahajan, R. M. Cole, J. D. Speed, S. H. Pelfrey, A. E. Russell, P. N. Bartlett, S. M. Barnett, J. J. Baumberg, *J. Phys. Chem. C* **114**, 7242 (2010).
- [90] F. M. Huang, D. Wilding, J. D. Speed, A. E. Russell, P. N. Bartlett, J. J. Baumberg, *Nano Lett.* **11**, 1221 (2011).
- [91] S. H. Yoo, L. Liu, S. Park, *J. Colloid Interf. Sci.* **339**, 183 (2009).
- [92] W. C. Yoo e J. K. Lee, *Adv. Mater.* **16**, 1097 (2004).
- [93] Z. Wang, Y. K. Su, H. L. Li, *Appl. Phys. A* **74**, 563 (2002).
- [94] D. Barreca, A. Gasparotto, E. Tondello, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **5**, 994 (2005).
- [95] L. Liu, W. Lee, Z. Huang, R. Scholz, U. Gösele, *Nanotechnology* **19**, 335604 (2008).
- [96] C. Mu, J. P. Zhang, D. Xu, *Nanotechnology* **21**, 015604 (2010).
- [97] H. Cao, L. Wang, Y. Qiu, Q. Wu, G. Wang, L. Zhang, X. Liu, *ChemPhysChem* **7**, 1500 (2006).

- [98] I. Mita, R. F. T. Stepto, U. W. Suter, *Pure & Appl. Chem.* **66**, 2483 (1994).
- [99] <http://www.sterlitech.com/c5878/Track-Etch-FAQ.html>
- [100] E. Ferain e R. Legras, *Nucl. Instr. And Meth. In Phys. Res. B.* **84**, 331 (1994).
- [101] E. Ferain e R. Legras, *Nucl. Instr. And Meth. In Phys. Res. B.* **131**, 97 (1997).
- [102] W. S. Sutherland e J. D. Winefordner, *J. Colloid Interf. Sci.* **148**, 129 (1992).
- [103] J. S. Taurozzi e V. V. Tarabara, *Environ. Eng. Sci.* **24**, 122 (2007).
- [104] K. R. Wigginton e P. J. Vikesland, *Analyst* **135**, 1320 (2010).
- [105] J. Verbeeck, O. I. Lebedev, G. Van Tendeloo, L. Cagnon, C. Bougerol, G. Tourillon, *J. Electrochem. Soc.* **150**, E468 (2003).
- [106] Y. Fukunaka, M. Motoyama, Y. Konishi, R. Ishii, *Electrochem. Solid-State Lett.* **9**, C62 (2006).
- [107] M. Motoyama, Y. Fukunaka, T. Sakka, Y. H. Ogata, *Electrochim. Acta* **53**, 205 (2007).
- [108] C. Schönenberger, B. M. I. van der Zande, L. G. J. Fokkink, H. Henny, C. Schmid, M. Krüger, A. Bachtold, R. Huber, H. Birk, U. Staufer, *J. Phys. Chem. B* **101**, 5497 (1997).
- [109] D. Barreca, A. Gasparotto, C. Maragno, E. Tondello, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **5**, 1883 (2005).
- [110] D. C. Rodrigues, G. F. S. Andrade, M. L. A. Temperini, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15**, 1169 (2013).
- [111] K. C. Vernon, T. J. Davis, F. H. Scholes, D. E. Gómez, D. Lau, *J. Raman Spectrosc.* **41**, 1106 (2010).
- [112] C. Steuwe, C. F. Kaminski, J. J. Baumberg, S. Mahajan, *Nano Lett.* **11**, 5339 (2011).
- [113] F. H. Scholes, T. J. Davis, K. C. Vernon, D. Lau, S. A. Furman, A. M. Glenn, *J. Raman Spectrosc.* **43**, 196 (2012).
- [114] J. C. Miller e J. N. Miller, *Estadística para Química Analítica*, Addison-Wesley Iberoamericana, 1993.

- [115] L. J. Wan, Y. Hara, H. Noda, M. Osawa, *J. Phys. Chem. B* **10**, 5943 (1998).
- [116] I. Taniguchi, S. Yoshimoto, M. Yochida, S. Kobayashi, T. Miyawaki, Y. Aono, Y. Sunatsuki, H. Taira, *Eletrochim. Acta* **45**, 2843 (2000).
- [117] T. Sawaguchi, F. Mizutani, S. Yoshimoto, I. Taniguchi, *Eletrochim. Acta* **45**, 2861 (2000).
- [118] E. A. Ramírez, E. Cortés, A. A. Rubert, P. Carro, G. Benítez, M. E. Vela, R. C. Salvarezza, *Langmuir* **28**, 6839 (2012).
- [119] A. M. Macdonald e A. S. Vaughan, *J. Raman Spectrosc.* **38**, 584 (2007).
- [120] J. Baldwin, N. Schöler, I. S. Butler, M. P. Andrews, *Langmuir* **12**, 6389 (1996).
- [121] J. A. Baldwin, B. Vlčková, M. P. Andrews, I. S. Butler, *Langmuir* **13**, 3744 (1997).
- [122] T. Baunach, V. Ivanova, D. A. Scherson, D. M. Kolb, *Langmuir* **20**, 2797 (2004).
- [123] Z. Wang e L. J. Rothberg, *J. Phys. Chem. B* **109**, 3387 (2005).
- [124] H. L. Zhang, S. D. Evans, J. R. Henderson, R. E. Miles, T. Shen, *J. Phys. Chem. B* **107**, 6087 (2003).
- [125] J. Kučera e A. Gross, *Langmuir* **24**, 13985 (2008).
- [126] N. G. Tognalli, E. Cortés, A. D. Hernández-Nieves, P. Carro, G. Usaj, C. A. Balseiro, M. E. Vela, R. C. Salvarezza, A. Fainstein, *ACS Nano* **5**, 5433 (2011).
- [127] Y. Chao, Q. Zhou, Y. Li, Y. Yan, Y. Wu, J. Zheng, *J. Phys. Chem. C* **111**, 16990 (2007).
- [128] F. R. Dollish, W. G. Fateley, F. F. Benteley, *Characteristic Raman Frequencies of Organic Compounds*, John Wiley & Sons, 1974.
- [129] H. I. S. Nogueira, S. M. G. Cruz, P. C. R. Soares-Santos, P. J. A. Ribeiro-Claro, T. Trindade, *J. Raman Spectrosc.* **34**, 350 (2003).
- [130] B. D. Lamp, D. Hobara, M. D. Porter, K. Niki, T. M. Cotton, *Langmuir* **13**, 736 (1997).

- [131] S. Stoyanov, I. Petkov, L. Antonov, T. Stoyanova, P. Karagiannidis, P. Aslanidis, *Can. J. Chem.* **68**, 1482 (1990).
- [132] S. L. Westcott, S. J. Oldenburg, T. R. Lee, N. J. Halas, *Chem. Phys. Lett.* **300**, 651 (1999).
- [133] M. Moskovits e D. P. Dilella, *J. Chem. Phys.* **73**, 6068 (1980).
- [134] M. Moskovits, *J. Chem. Phys.* **77**, 4408 (1982).
- [135] K. L. Wustholz, A. I. Henry, J. M. McMahon, R. G. Freeman, N. Valley, M.E. Piotti, M. J. Natan, G. C. Schatz, R. P. Van Duyne, *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 10903 (2010).
- [136] H. S. Jung, K. Kim, M. S. Kim, *J. Mol. Struct.* **407**, 139 (1997).
- [137] H. Z. Yu, N. Xia, Z. F. Liu, *Anal. Chem.* **71**, 1354 (1999).
- [138] H. E. Toma, V. M. Zamarion, S. H. Toma, K. Araki, *J. Braz. Chem. Soc.* **21**, 1158 (2010).
- [139] M. M. Alvarez, J. T. Khoury, T. G. Schaaff, M. N. Shafigullin, I. Vezmar, R. L. Whetten, *J. Phys. Chem B* **101**, 3706 (1997).
- [140] D. G. Archer e P. Wang, *J. Phys. Chem. Ref. Data* **19**, 371 (1990).
- [141] P. B. Johnson e W. Christy, *Phys. Rev. B* **6**, 4370 (1972).
- [142] S. Trasatti e O. A. Petrii, *Pure & Appl. Chem.* **63**, 711 (1991).
- [143] Folhetos de divulgação do substrato Klarite®. Cortesia da fabricante RENISHAW.
- [144] Y. Shen, J. Wang, U. Kuhlmann, P. Hildebrandt, K. Ariga, H. Möhwald, D. G. Kurth, T. Nakanishi, *Chem.-Eur. J.* **15**, 2763 (2009).
- [145] C. J. Orendorff, L. Gearheart, N. R. Jana, C. J. Murphy, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **8**, 165 (2006).
- [146] E. N. Esenturk e A. R. H. Walker, *J. Raman Spectrosc.* **40**, 86 (2009).
- [147] J. He, P. Zhang, J. Gong, Z. Nie, *Chem. Commun.* **48**, 7344 (2012).
- [148] S. E. J. Bell e M. R. McCourt, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11**, 7455 (2009).

- [149] J. Dybal, P. Schmidt, J. Baldrian, J. Kratochvil, *Macromolecules* **31**, 6611 (1998).
- [150] T. Iwasita e F. C. Nart, *Prog. Surf. Sci.* **55**, 271 (1997).

Súmula curricular

1. DADOS PESSOAIS

Nome

Daniel Cardoso Rodrigues

Local e data de nascimento

São Paulo, 08 de janeiro de 1986.

2. EDUCAÇÃO

Ensino fundamental e médio

Colégio Brasília de São Paulo

Colégio Nossa Senhora de Lourdes

Ensino superior

Bacharelado em Química. Instituto de Química de Universidade de São Paulo (IQUSP), São Paulo, 2010.

Prêmio Lavoisier de Melhor Aluno do Curso de Bacharelado em Química no período de 2006 a 2010. Conselho Regional de Química (CRQ) – IV Região.

3. OCUPAÇÃO

Bolsista de Iniciação Científica. CNPq. 07/2007-01/2009.

Bolsista do Programa de Internacionalização da Graduação do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Nantes, França. 01/2009-02/2009.

Estagiário. Clariant. 07/2009-12/2009.

Bolsista de Iniciação Científica. CNPq. 01/2010-07/2010.

Bolsista de Mestrado. FAPESP. 08/2010-07/2012.

4. PUBLICAÇÕES (Artigos Completos e Resumos em Congressos)

Artigos:

D. C. Rodrigues, G. F. S. Andrade, M. L. A. Temperini, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15**, 1169 (2013).

C. M. S. Izumi, D. C. Rodrigues, M. L. A. Temperini, *Synth. Met.* **160**, 2552 (2010).

Resumos em congressos:

D. C. Rodrigues, G. F. S. Andrade, M. L. A. Temperini. “Gold nanotubes obtained via sputtering on to polymeric templates: characterization and potentialities for surface-enhanced Raman spectroscopy”. 7th International Symposium on Advanced Materials and Nanostructures. 2012. Painel.

D. C. Rodrigues, G. F. S. Andrade, M. L. A. Temperini. “Dependência temporal da intensidade SERS da 4-mercaptopiridina adsorvida em nanotubos de ouro”. 2º Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman. 2011. Painel.

D. C. Rodrigues, G. F. S. Andrade, M. L. A. Temperini. “Membranas de policarbonato: moldes para substratos metálicos eficientes para espectroscopia Raman intensificada por superfície”. 34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2011. Painel.

C. M. S. Izumi, L. A. G. Pelaes, D. C. Rodrigues, M. L. A. Temperini. “Estudo espectrocópico da interação da polianilina e diferentes sais de cobre”. 34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2011. Painel.

D. C. Rodrigues, C. M. S. Izumi, M. L. A. Temperini. “Estudos sobre o efeito do solvente na interação entre a polianilina e os íons Fe(III) e Cu(II). 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2008. Painel.

D. C. Rodrigues, C. M. S. Izumi, M. L. A. Temperini. “Estudo espectroscópico da dopagem da polianilina por íons Fe^{3+} e Cu^{2+} em meio de *m*-cresol”. 16º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo. 2008. Painel.

D. C. Rodrigues, C. M. S. Izumi, M. L. A. Temperini. “Estudos sobre o efeito do solvente na interação entre a polianilinae os íons Fe(III) e Cu(II) ”. 25ª Semana da Química do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 2008. Painel.

D. C. Rodrigues, C. M. S. Izumi, M. L. A. Temperini. “Estudo espectrocópico da interação entre a polianilina e os íons Fe(III) e Cu(II) em *N,N*-dimetilacetamida”. 15º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo. 2007. Painel.

D. C. Rodrigues, C. M. S. Izumi, M. L. A. Temperini. “Estudo espectrocópico da interação entre a polianilina e os íons Fe(III) e Cu(II) em *N,N*-dimetilacetamida”. 24ª Semana da Química do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 2007. Painel.